



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

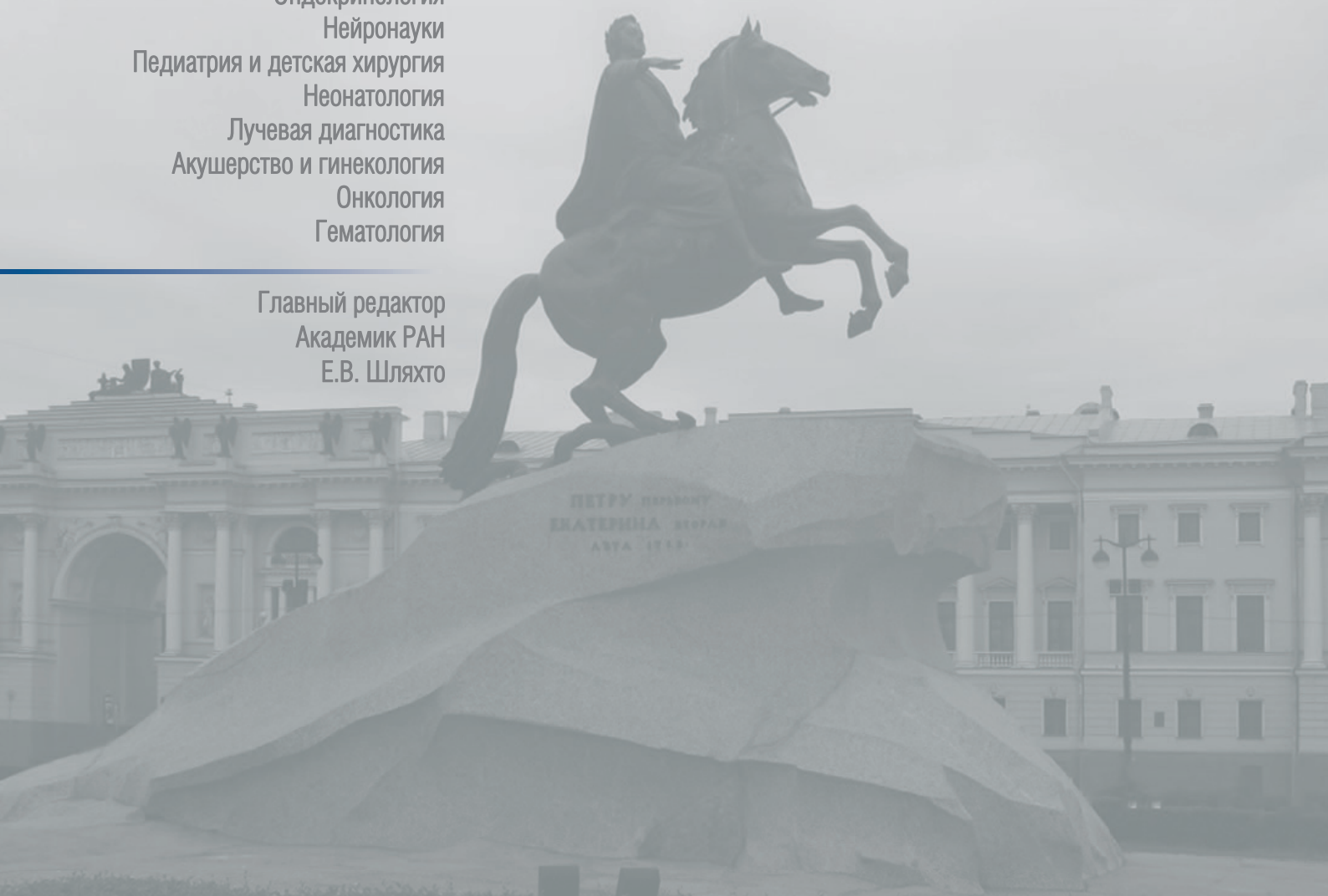
Трансляционная Медицина Translational Medicine

Научно-практический рецензируемый медицинский журнал

том 9 № 6 / 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 № 6 / 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. Nedoshivin (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

CONTENT

ОНКОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

CANCER

5 Назаралиева Э. Т., Федоров В. С., Забродская Ю. М., Ким А. В., Джаналиев Б. Р., Шевцов М. А., Самочерных К. А.
БЕЛКИ ТЕПЛООВОГО ШОКА В КАЧЕСТВЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ И ПРОГНОСТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

5 Eleonora T. Nazaralieva, Vyacheslav S. Fedorov, Yulia M. Zabrodskaya, Alexander V. Kim, Bolot R. Djanaliev, Maxim A. Shevtsov, Konstantin A. Samochernych
HEAT SHOCK PROTEINS AS DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC MARKERS IN MALIGNANT TUMORS OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

16 Каприн Д. А.
ВНУТРИАРТЕРИАЛЬНАЯ РЕГИОНАРНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

16 Dmitriy A. Kaprin
INTRA-ARTERIAL REGIONAL CHEMOTHERAPY FOR PANCREATIC CANCER (REVIEW)

СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

CARDIOVASCULAR MEDICINE

26 Андреева С. Е., Снетков П. П., Вахрушев Ю. А., Пьянков И. А., Язневич О. О., Борцова М. А., Морозкина С. Н., Каява А. В., Костарева А. А., Успенская М. В.
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ АМИЛОИДНОГО ПОРАЖЕНИЯ МИОКАРДА: НЕ ТОЛЬКО ATTR И AL. КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

26 Sofiya E. Andreeva, Petr P. Snetkov, Yuriy A. Vakhrushev, Ivan A. Piankov, Oksana O. Yaznevich, Mariya A. Bortsova, Svetlana N. Morozkina, Andrey V. Kajava, Anna A. Kostareva, Mayya V. Uspenskaya
MOLECULAR BASIS OF AMYLOID DEPOSITION IN MYOCARDIUM: NOT ONLY ATTR AND AL. CASE REPORT

НЕВРОЛОГИЯ

NEUROLOGY

36 Одинцова Г. В., Ермолаева В. Д., Самочерных К. А., Иванова Н. Е., Деньгина Н. О.
СКРИНИНГОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОМОРБИДНЫХ АФФЕКТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ У ПАЦИЕНТОВ С ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ В НЕЙРОХИРУРГИЧЕСКОМ СТАЦИОНАРЕ

36 Galina V. Odintsova, Valentina D. Ermolaeva, Konstantin A. Samochernykh, Natalia E. Ivanova, Nina O. Dengina
COMORBID EMOTIONAL DISTURBANCES IN DRUG-RESISTANT EPILEPSY IN NEUROSURGICAL PATIENTS DURING THE PREOPERATIVE AND POSTOPERATIVE PERIODS

ЛУЧЕВАЯ ДИАГНОСТИКА И ТЕРАПИЯ

DIAGNOSTIC RADIOLOGY AND THERAPY

44 Боршевецкая А. А., Трушина Л. И., Ефимцев А. Ю., Терновых И. К., Галютдинова Л. Э., Егорова В. С., Алексеева Т. М., Труфанов Г. Е.
МЕТОДЫ ЛУЧЕВОЙ ДИАГНОСТИКИ НАРУШЕНИЙ СНА У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

44 Anastasia A. Borshevetskaya, Lidiya I. Trushina, Aleksandr Yu. Efimtsev, Ivan K. Ternovykh, Lina E. Galyautdinova, Veronika S. Yegorova, Tat'yana M. Alekseeva, Gennadiy E. Trufanov
RADIOLOGIC IMAGING OF SLEEP DISORDERS IN PATIENTS WITH ACUTE ISCHEMIC STROKE

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

EXPERIMENTAL STUDIES

59 Левчук К. А., Богданова Д. А., Ершова А. Е., Смирнов С. В., Голдаева А. А., Васютина М. Л., Истомина М. С., Демидов О. Н., Петухов А. В., Торопова Я. Г.
ПРЯМОЕ СРАВНЕНИЕ ВАРИАНТОВ ДАЛЬНЕ-КРАСНЫХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ КАТУШКА С ЛЮЦИФЕРАЗНОЙ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЕЙ НА КСЕНОГРАФТНЫХ МЫШИНЫХ МОДЕЛЯХ ИЗУЧЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

59 Ksenia A. Levchuk, Daria A. Bogdanova, Alina E. Ershova, Sergey V. Smirnov, Alexandra A. Goldaeva, Marina L. Vasyutina, Maria S. Istomina, Oleg N. Demidov, Alexey V. Petukhov, Yana G. Toropova
DIRECT COMPARISON OF KATUSHKA FAR-RED FLUORESCENT PROTEIN VARIANTS WITH LUCIFERASE BIOLUMINESCENCE IN XENOGRAFT MOUSE MODELS OF EPITHELIAL TUMOR STUDIES

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

71 Зайцева А. К., Костарева А. А.
МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ, ТРАНСПОРТА И БИОФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫХ НАТРИЕВЫХ КАНАЛОВ СЕРДЦА

71 Anastasia K. Zaytseva, Anna A. Kostareva
MECHANISMS OF REGULATION OF EXPRESSION, TRANSPORT AND BIOPHYSICAL ACTIVITY OF POTENTIAL-GATED HEART SODIUM CHANNELS

БЕЛКИ ТЕПЛОВОГО ШОКА В КАЧЕСТВЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ И ПРОГНОСТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Назаралиева Э. Т.¹, Федоров В. С.², Забродская Ю. М.¹, Ким А. В.³,
Джаналиев Б. Р.⁴, Шевцов М. А.^{2,3}, Самочерных К. А.¹

Контактная информация:

Назаралиева Элеонора Тууганбаевна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: neleonora@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 28.11.2022
и принята к печати 11.01.2023.

¹ Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт имени профессора А. Л. Поленова — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт цитологии Российской академии наук», Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Научный центр мирового уровня «Центр персонализированной медицины», Санкт-Петербург, Россия

⁴ Кыргызская государственная медицинская академия имени И. К. Ахунбаева, Бишкек, Кыргызстан

Резюме

В настоящем обзоре представлены литературные данные об эпидемиологии злокачественных опухолей центральной нервной системы, определено значение молекулярной диагностики и экспрессии белков теплового шока в туморогенезе. Особое внимание уделяется описанию молекулярных шаперонов в качестве диагностических и прогностических маркеров, а также перспективам использования шаперонов в персонализированной терапии опухолей центральной нервной системы. Поиск литературы, как отечественной, так и зарубежной, опубликованной в период с 1988 по 2022 годы, осуществлялся на платформах баз данных Medline (через PubMed) и Scopus, Cochrane Library, The Lancet Public Health Journal. Поиск материала проводился по ключевым словам и терминам, включающим «белки теплового шока», «опухоли центральной нервной системы», «опухоли головного мозга», «молекулярная диагностика», «экспрессия молекулярных шаперонов», HSP110, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40, small HSPs.

Молекулярные шапероны из-за их важной роли в физиологических процессах в клетке высоко экспрессируются в опухолях головного мозга, а уровень экспрессии HSPs сильно коррелирует со степенью злокачественности, инвазивным потенциалом, а также устойчивостью к радиохимиотерапии. Для некоторых представителей HSPs (то есть HSP10, HSPB1, DNAJC10, HSPA7, HSP90) выявлена прямая корреляция между уровнем экспрессии белка (на основе анализа ИHC) и плохим общим прогнозом выживаемости для пациентов с глиальными опухолями. Это указывает на прогностические значения этих маркеров, которые в будущем могут быть включены в диагностическую панель при исследовании образца опухоли.

Ключевые слова: белки теплового шока, молекулярная диагностика, молекулярные шапероны, опухоли головного мозга, опухоли центральной нервной системы, терапия.

Для цитирования: Назаралиева Э.Т., Федоров В.С., Забродская Ю.М., Ким А.В., Джаналиев Б.Р., Шевцов М.А., Самочерных К.А. Белки теплового шока в качестве диагностических и прогностических маркеров при злокачественных опухолях центральной нервной системы. Трансляционная медицина. 2022;9(6):5-15. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-5-15

HEAT SHOCK PROTEINS AS DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC MARKERS IN MALIGNANT TUMORS OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Eleonora T. Nazaralieva¹, Vyacheslav S. Fedorov²,
Yulia M. Zabrodskaya¹, Alexander V. Kim³, Bolot R. Djanaliev⁴,
Maxim A. Shevtsov^{2,3}, Konstantin A. Samochernych¹

¹ Polenov Russian Scientific Research Institute of Neurosurgery,
Saint Petersburg, Russia

² Institute of Cytology of the Russian Academy of Science,
Saint Petersburg, Russia

³ Almazov National Medical Research Centre, World-Class Research
Centre for Personalized Medicine, Saint Petersburg, Russia

⁴ I. K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, Bishkek, Kyrgyzstan

Corresponding author:

Eleonora T. Nazaralieva,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: neleonora@yandex.ru

Received 28 November 2022; accepted
11 January 2023.

Abstract

This review overview current epidemiology data of malignant tumors of the central nervous system, and determines the significance of molecular diagnostics and expression of heat shock proteins in tumorigenesis. Particular attention is paid to the description of molecular chaperones as diagnostic and prognostic markers, as well as the prospects for chaperones using in personalized therapy the central nervous system tumors. The search for literature was carried out on the database platforms Medline (via PubMed) and Scopus, Cochrane Library, The Lancet Public Health Journal published between 1988 and 2022. The material was searched for keywords and terms, including “heat shock proteins”, “tumors of the central nervous system”, “brain tumors”, “molecular diagnostics”, “expression of molecular chaperones”, Hsp110, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40, small HSPs. Molecular chaperones, due to their important role in physiological processes in the cell, are highly expressed in brain tumors, and the expression level of HSPs strongly correlates with the degree of malignancy, invasive potential, and resistance to radiochemotherapy. For some HSPs (i.e. HSP10, HSPB1, DNAJC10, HSPA7, HSP90) a direct correlation has been found between the level of protein expression (based on IHC analysis) and a poor overall survival prognosis for patients with glial tumors. This indicates the prognostic value of these markers, which in the future may be included in the diagnostic panel when examining a tumor sample.

Key words: brain tumors, heat shock proteins, molecular chaperones, molecular diagnostics, therapy, tumors of the central nervous system.

For citation: Nazaralieva ET, Fedorov BC, Zabrodskaya YuM, Kim AV, Djanaliev BR, Shevtsov MA, Samochernych KA. Heat shock proteins as diagnostic and prognostic markers in malignant tumors of the central nervous system. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2022;9(6):5-15. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-5-15

Список сокращений: АКТ — аберрантная активация, АТФ — аденозинтрифосфорная кислота, ИГХ — иммуногистохимическое исследование, МБ — медуллобластома, ОБ — общая выживаемость, ПТМ — посттрансляционная модификация, РНК — рибонуклеиновая кислота, ЦНС — центральная нервная система, АDR — адриамицин, HSP (heat shock proteins) — белок теплового шока, PI3K/AKT/mTOR — ферменты фосфоинозитид-3-киназа (PI3K), киназы АКТ и mTOR, TMZ — темозоломид, TTF — тиреоидный транскрипционный фактор.

Злокачественные опухоли головного мозга отличаются агрессивным течением, высоким уровнем смертности и низким качеством жизни пациентов. Как правило, лечение злокачественных опухолей головного мозга включает хирургическую резекцию с последующей лучевой терапией, химиотерапию темозоломидом (TMZ) и паллиативную помощь. Однако вероятность успеха этой схемы лечения остается низкой; выживаемость не превышает 15 месяцев (Stupp и др., 2009 г. [1]). Добавление к стандартной терапии электрических полей для лечения опухолей (TTF) привело к улучшению общей выживаемости (20,9 месяца) (Stupp и др. [1], JAMA, 2015 г. [2]). Одна из многообещающих стратегий лечения могла бы быть основана на применении таргетной терапии. Помимо широко используемых целей в сигнальных путях при глиобластоме (например, TP53, рецепторы тирозинкиназы, путь PI3K/AKT/mTOR и т. д.), белки теплового шока представляют собой особо значимый источник информации для разработки новых терапевтических подходов.

Белки теплового шока (англ.: heat shock proteins, HSPs) относятся к семейству высококонсервативных белков, которые участвуют в регуляции протеостаза у архей, прокариотических и эукариотических организмов [3]. Главная функция шаперонов состоит в восстановлении правильной нативной третичной или четвертичной структуры белков, а также в образовании и диссоциации белковых комплексов. Шапероны классифицируют в соответствии с их молекулярной массой: шесть подсемейств — HSP104, HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 — и малые шапероны (sHSP) — (20–27 кДа) HSP (HSPB) [4–7]. В клетке шапероны регулируют укладку полипептидных цепей и конформационные переходы в молекулах различных белков. Такая активность позволяет шаперонам контролировать биосинтез, созревание и деградацию белков, участвовать в транспорте белков через мембраны, сборке белковых олигомеров,

обеспечивать конформационно-зависимые функции различных ферментов, рецепторов, факторов транскрипции и т. д. [5, 8–10].

По характеру синтеза HSP подразделяются на конститутивные и индуцибельные. Конститутивные HSP синтезируются в клетке постоянно, и для их активации не требуется воздействия на клетку повреждающего фактора.

Все группы шаперонов способны различать нативные и неправильно собранные белки и формировать комплексы с белками, содержащими открытые гидрофобные участки. Часть шаперонов (holdases) способна лишь пассивно образовывать комплексы с неправильно собранными белками и удерживать их в таком положении, защищая тем самым от агрегации. Другая часть шаперонов (unfoldases) активно способствует диссоциации агрегата и рефолдингу белковой макромолекулы.

Особый интерес вызывает роль HSP и других молекулярных шаперонов в ходе клеточной передачи сигналов в онкогенезе. Так, HSP90 представляет собой молекулярный шаперон, играющий важную роль в поддержании функциональной стабильности и жизнеспособности клеток [11]. Стоит отметить, что при подавлении HSP90 под воздействием различных ингибиторов происходит активация транскрипционного фактора HSF-1, что, в свою очередь, способствует компенсаторному синтезу белков HSP70 и HSP40, а также других шаперонов, которые участвуют в дезагрегации и деградации протеинов [12]. Среди прочих функций HSP90 было показано, что шаперон также поддерживает функциональную стабильность нейрональных белков в астроцитах и глиальных клетках [13].

Шапероны семейства HSP70 высококонсервативны во всех организмах, от бактерий до человека, и характеризуются способностью поддерживать комплекс «белок-субстрат» посредством ван-дер-ваальсового притяжения между гидрофобными участками в полипептидной цепи субстрата. Шаперонная функция обеспечивается за счет гидролиза АТФ, в результате которой стабильная денатурированная форма «белка-субстрата» с низкой свободной энергией превращается в результате раскручивания полипептидной цепи (активность шаперона — unfoldase) в «открытый» конформер с высокой свободной энергией, который затем может спонтанно перейти в состояние нативного конформера с низкой свободной энергией [14]. Многие клеточные сигнальные события опосредованы посттрансляционной химической модификацией белков, которая может изменить их конформацию и активность, хотя пока неизвестно,

зависят ли эти изменения, вызванные посттрансляционными модификациями (PTM), от HSP и их взаимодействия. Высказываются предположения, что белки HSP70 и HSP90 могут взаимодействовать на уровне клеточной передачи сигналов, связывающих PTMs с механизмом фолдинга (то есть укладки) белков [15].

Малые белки-шапероны sHSP (13–43 kDa) также широко представлены в эукариотических и прокариотических организмах. В бактериях *E. coli* малые белки-шапероны IbpA и IbpB (14 и 16 кДа соответственно) принадлежат семейству АТФ-независимых шаперонов (holding-шапероны) и впервые были обнаружены в «телах включения» [16]. Гены *ibpAB* формируют оперон с промотором, «узнаваемым» субъединицей РНК-полимеразы σ_{32} , транскрипция которого индуцируется при тепловом шоке. Белки IbpA и IbpB, как и все малые шапероны sHSP, состоят из центральной области, высокоомологичной α -кристаллинам позвоночных, фланкированной N- и C-терминальными последовательностями [17].

Стоит отметить, что помимо описанной регуляции протеостаза HSP также участвуют в процессах апоптоза. Так, в исследовании Комаровой Е. Ю. и соавторов было показано, что при воздействии на клетки лейкемии человека U937 противоопухолевыми препаратами, индуцирующими апоптоз (этопозид, адриамицин (ADR)), белок HSP70 связывался с неактивными каспазами -3 и -7, подавляя дальнейший каскад апоптотической гибели клеток [18].

Учитывая протективную роль HSP, не удивительно, что при различных стрессорных воздействиях (например, гипоксия, гипертермия, ионизирующее излучение, действие ряда химиопрепаратов и т. д.) наблюдается повышение экспрессии шаперонов [19].

Синтез HSP в первую очередь является результатом активности фактора транскрипции — фактора теплового шока 1 (англ.: Heat shock factor 1, HSF1), который при протеотоксическом стрессе приводит к транскрипции всей когорты генов HSP [20].

Так, исследования показали, что при различных значительных и гематологических новообразованиях (например, рак легкого, рак молочной железы, рак желудка, лейкемия) наблюдается повышение экспрессии представителей различных семейств HSP [21]. Отчасти это объясняется воздействием на опухолевые клетки различных стрессорных факторов микроокружения, включая гипоксию, низкие значения pH, геномную нестабильность, нехватку питательных веществ. Стоит

особо подчеркнуть, что в силу своих шаперонных свойств HSP также участвуют в регуляции сигнальных путей.

Молекулярные шапероны в качестве диагностических и прогностических маркеров в опухолях ЦНС

Как и любые злокачественные новообразования, опухоли центральной нервной системы в силу воздействия стрессорного микроокружения также отличаются повышенной экспрессией HSP [22].

Ранее активно изучалась экспрессия малых шаперонов (в особенности альфа-В кристаллина и HSP27) при различных патологиях ЦНС, включая новообразования. Например, в ранних работах Kato и соавторов (1992 г.) приводятся результаты сравнительного иммуногистохимического исследования экспрессии кристаллина альфа-В, убиквитина и белка HSP27 в «баллонных» нейронах при различных заболеваниях, а также экспрессии HSP27 при стрессорных воздействиях на клетки (тепловой шок) (*grp 27*) в различных опухолях головного мозга человека. Так, белок *grp 27* был обнаружен в метастазах опухоли молочной железы ($n = 5$) и в 5(21) случаях менингиом. Белок также идентифицирован в 5(11) глиобластомах и 2(5) аденомах гипофиза. Для сравнения, положительное окрашивание наблюдалось только у 1(15) астроцитом и 1(7) медуллобластом, а при тестировании олигодендроглиом, шванном и ганглиоглиом экспрессия белка не отмечалась. Эти наблюдения указывают на тот факт, что *grp 27* может экспрессироваться некоторыми первичными внутричерепными опухолями [23].

В свою очередь, в работе Aoyama и коллег показано, что альфа-В-кристаллин представляет собой белок теплового шока, который специфическим образом накапливается в ответ на экспрессию онкогенов *c-Ha-ras* и *v-mos*. Авторы полагают, что повышенные уровни мРНК или белка альфа-В-кристаллина связаны с патологическими состояниями головного мозга, ввиду чего была исследована экспрессия альфа-В-кристаллина в нормальном человеческом мозге и опухолях головного мозга с помощью иммуноблотинга. Стоит отметить, что альфа-В-кристаллин умеренно экспрессируется в мозге взрослого человека, но не плода. Повышенные уровни экспрессии альфа-В-кристаллина наблюдаются в глиальных опухолях, таких как астроцитоме, мультиформная глиобластома и олигодендроглиоме. Альфа-В-кристаллин в этих опухолях преимущественно не фосфорилирован. Высокое количество накопленного альфа-В-кристаллина в астроцитарных опухолях

главным образом обнаруживается на более агрессивных стадиях. Так, мультиформная глиобlastома характеризуется тем, что высокая экспрессия альфа-В-кристаллина наблюдается только в половине проанализированных образцов, тогда как в другой части он не присутствует. Отсюда можно заключить, что альфа-В-кристаллин может быть полезным маркером для изучения патогенеза различных опухолей головного мозга человека [24].

В работе Nitotsumatsu и соавторов представлен сравнительный иммуногистохимический анализ 198 опухолей головного мозга человека для изучения экспрессии HSP27 и альфа-В-кристаллина [25]. Отмечено, что положительное окрашивание HSP27 часто наблюдалось при шванномах, краниофарингиомах, эпидермоидных кистах и метастатических опухолях головного мозга. Иммунопозитивность HSP27 была относительно низкой в опухолях, происходящих из нейроэпителия, а также в менингиомах; однако статистически значимо то, что более высокий процент HSP27-позитивных клеток был отмечен в анапластических опухолях, таких как глиобlastомы, анапластические олигодендроглиомы, анапластические эпендимомы и анапластические менингиомы ($P < 0,005$). И наоборот, уменьшение иммуноэкспрессии альфа-В-кристаллина часто наблюдалось среди астроцитарных опухолей, шванном, гемангиобlastом и хордом. Таким образом, экспрессия HSP27 и альфа-В-кристаллина различалась в зависимости от гистологического типа опухоли. Кроме того, иммунопозитивность по белку HSP27, который, как считалось, играет роль не только в лекарственной устойчивости, но и в регуляции клеточной пролиферации, зависела от степени анаплазии опухолей [25].

Отдельный интерес представляет исследование Rozsgai и коллег, в котором установлено, что малые белки теплового шока обладают антиапоптотической активностью и играют важную роль в развитии опухолей. Так, небольшой белок теплового шока, HSP16.2, проявляет повышенную экспрессию в нейроэктодермальных опухолях. В данном исследовании эта экспрессия была верифицирована при различных типах опухолей головного мозга ($n = 91$) и соотнесена с гистологической степенью опухоли. В соответствии с интенсивностью иммунореактивности HSP16.2 присваивались низкие (+), умеренные (++) , высокие (+++) или нулевые (-) баллы. Было выявлено, что опухоли головного мозга низкой степени злокачественности (1–2 степени) демонстрировали низкую цитоплазматическую иммунореактивность HSP16.2, опухоли 3 степени показывали умеренное цитоплазматическое окра-

шивание, в то время как опухоли высокой степени злокачественности (4 степень) имели интенсивное цитоплазматическое окрашивание HSP16.2. Также была выявлена положительная корреляция между уровнем экспрессии HSP16.2 и уровнем анаплазии в различных образцах злокачественной ткани. Таким образом, экспрессия HSP16.2 прямо коррелирует с гистологической степенью анаплазии опухоли головного мозга, и поэтому HSP16.2 может выступать в качестве маркера [26].

В исследовании Alexiou и соавторов было показано, что нодулярная медуллобlastома имела значительно более низкую экспрессию HSP27 (pSer15) ($p = 0,039$), при этом отмечался высокий уровень экспрессии HSP60 ($p = 0,021$) по сравнению с классической МБ. Крупноклеточная МБ имела значительно более высокую экспрессию HSP70 ($p = 0,028$), чем классическая МБ. При анализе всех МБ были выявлены достоверная отрицательная корреляция между HSP27 (pSer15) и индексом Ki-67 ($r = -0,475$, $p = 0,016$); значительная положительная корреляция между экспрессией HSP70 и индексом Ki-67 ($r = 0,407$, $p = 0,043$); и значительная положительная корреляция между экспрессией HSP70 и индексом bcl-2 ($r = 0,491$, $p = 0,023$) [27].

В более раннем исследовании Hauser и соавторов иммуногистохимически оценивалась экспрессия HSP27, HSP70 и HSP90 в медуллобlastомах ($n = 65$) и связь экспрессии шаперонов с различными прогностическими параметрами. По результатам исследования было показано, что экспрессия значительно различалась в опухолевых образцах. Так, было выделено две подгруппы в зависимости от экспрессии шаперонов: 1-я группа с менее чем 10 % экспрессии белков в образце и 2-я группа с 70 % присутствием указанных шаперонов. Уровень экспрессии любого из семейств HSP не был значимо связан с известными прогностическими факторами (возраст пациента, степень резекции, наличие метастазов) и гистологическим подтипом. По окончании периода наблюдения (около 4 лет) также не наблюдалось существенной разницы в выживаемости в зависимости от экспрессии HSP27, HSP70 или HSP90. Тем не менее, авторы отмечали зависимость уровня шаперонов от степени анаплазии опухоли [28]. В другом исследовании, Rappa и соавторов, было обнаружено, что уровень экспрессии HSP60 был значительно выше, чем уровень HSP70 в нейроэпителиальных опухолях, в то время как уровни обеих молекул не отличались друг от друга в менингеальных новообразованиях слишком явно [29]. Стоит отметить, что шаперон HSP60 преимущественно локализовался в цитоплазме (по данным ИГХ), тогда как HSP70

присутствовал как в цитоплазме, так и в ядре опухолевых клеток.

Несмотря на существенный прогресс в лечении многих видов рака, глиобластома остается разрушительным заболеванием с неблагоприятным прогнозом. В этой связи интерес представляют результаты исследования Lobinger и коллег, в котором были определены биомаркеры, связанные с шаперонами и иммунитетом, для улучшения прогнозирования исхода глиобластомы [30]. Авторы полагают, что в зависимости от своей внутри- или внеклеточной локализации основной индуцируемый стрессом белок теплового шока 70 (HSP70) выполняет разные задачи. Так, будучи локализованным в цитозоле, HSP70 подавляет проапоптотические сигнальные пути и тем самым защищает опухолевые клетки от запрограммированной клеточной гибели. Доказано, что внеклеточный HSP70 вместе с провоспалительными цитокинами стимулирует экспрессию активирующих рецепторов NK-клеток. Поэтому внутри-, внеклеточный и связанный с мембраной уровень HSP70 оценивали в глиомах вместе с активацией рецепторов NK-клеток. Было обнаружено, что все глиальные опухоли несут на своей поверхности HSP70, а глиомы высокой степени злокачественности (GIV) чаще демонстрируют гиперэкспрессию HSP70 в ядре и цитозоле. Значительно повышенные внеклеточные уровни HSP70 выявляют в глиобластомах с большими участками некроза. Общая выживаемость (ОВ) более благоприятна у пациентов с низким уровнем HSP70 в сыворотке, что указывает на то, что высокая экспрессия HSP70 связана с неблагоприятным прогнозом [30]. В свою очередь, в исследовании Kato и соавторов HSP70 представлен на плазматической мембране всех глиом в качестве потенциальной мишени для NK-клеток, при этом сильная ядерная и цитозольная экспрессия HSP70 связана с глиомами высокой степени злокачественности. Авторами были предоставлены доказательства того, что низкие уровни HSP70 и повышенная доля активированных CD94+/CD69+ NK-клеток, способных распознавать опухолевые клетки, несущие на поверхности мембраны mHsp70 (Multhoff и др., 1999 г. [31]), что может способствовать более благоприятному клиническому исходу у пациентов с глиобластомой. Однако из-за относительно небольшого числа пациентов с глиомами низкой степени злокачественности результаты должны быть подтверждены на примере более крупных групп пациентов.

В другом исследовании был произведен анализ экспрессии белка SRP60 в серии из 158 опухолей головного мозга человека. Приблизительно половина мультиформных глиобластом (17/31), метастазов рака молочной железы (6/10) и метастазов рака лег-

ких (5/11), а также около одной трети астроцитом (5/13) и менингиом (8/11), содержали опухолевые клетки, экспрессирующие *srp 60*. Положительная реакция на *srp 60* также наблюдалась при некоторых медуллобластомах (2/16), примитивных нейроэктодермальных опухолях (PNET) (2/11), шванномах (2/21) и аденомах гипофиза (2/7), но при олигодендроглиомах и эпендимомах положительных реакций не отмечалось. По сравнению с *srp 60*-отрицательными опухолями, *srp 60*-положительные опухоли ко-экспрессировали один или несколько связанных со стрессом белков, среди которых *srp 90*, *srp 72*, *srp 27*, альфа-В-кристаллин и убиквитин встречались с большей частотой; высокая корреляция между *srp 60* и другими пятью *srps* (0,88–0,97, $p < 0,01$, коэффициент корреляции Пирсона) наблюдалась в *srp 60*-положительных опухолях. Напротив, коэффициент корреляции в *srp 60*-негативных опухолях был незначительным (-0,26–0,71). Экспрессия ядерного антигена пролиферирующих клеток (PCNA) чаще наблюдалась в глиобластомах, астроцитомах, медуллобластомах, PNET и метастазах карциномы молочной железы и легких, которые экспрессировали *srp 60* по сравнению с *srp60*-опухолями. Таким образом, выявлено, что первичные и метастатические опухоли головного мозга экспрессируют *srp 60*, при этом в некоторых опухолевых клетках наблюдается ко-экспрессия шаперона с другими пятью белками [32].

Экспрессия другого представителя семейства HSP70, GRP75 (морталин), присутствующего в митохондриях, была повышена в астроцитомах. При этом степень экспрессии коррелировала со злокачественностью новообразования. Так, Takano и соавторы провели иммуногистохимические исследования морталина в нормальных и опухолевых срезах головного мозга человека [33]. В нормальных срезах мозга незначительная экспрессия наблюдалась в основном в нейронах, в то время как при исследовании астроцитарных опухолей (астроцитомы низкой степени злокачественности, анапластическая астроцитома и глиобластома) было показано увеличение количества морталин-позитивных клеток. Другие типы опухолей головного мозга, такие как менингиомы, невриномы, аденомы гипофиза и метастазы, также показали повышенные уровни экспрессии морталина по сравнению с таковыми в нормальной ткани головного мозга. Как известно, морталин имеет различное внутриклеточное распределение в нормальных и трансформированных клетках, что, вероятно, обусловлено участием белка в туморогенезе, однако необходимы дальнейшие исследования.

В работе Vabi и коллег (2022 г.) описываются диагностические и прогностические значения экс-

прессии HSP при злокачественных новообразованиях центральной нервной системы (ЦНС), а также новые подходы к лечению для модуляции уровней шаперонов посредством применения ингибиторов (в виде монотерапии или в сочетании с другими методами лечения). В частности, для нескольких белков (например, HSP10, HSPB1, DNAJC10, HSPA7, HSP90) была продемонстрирована прямая корреляция между уровнем экспрессии белка и плохим прогнозом общей выживаемости пациентов, что дает возможность использовать их в качестве прогностических маркеров в нейроонкологии [34].

Иммуногистохимический анализ, проведенный Fan и соавторами, показал, например, не только высокую экспрессию HSP10 в ткани астроцитомы, но и позволил установить его статус как независимого фактора, связанного с плохим прогнозом, с учетом степени опухоли, пройденным курсом лечения, размером опухоли, возрастом, полом и белками с-PARP. Отсюда следует, что высокая экспрессия HSP10 приводит к ингибированию апоптоза в опухолевых клетках и, как следствие, к плохой выживаемости пациентов (рис. 1) [35].

Кстати, задолго до этого исследования было выявлено, что опухоли могут экспрессировать морталин. Увеличение количества морталин-позитивных

клеток при злокачественном прогрессировании опухолей головного мозга и его корреляция с Ki-67-позитивными клетками также свидетельствовали об участии непанцитозольного морталина(ов) в злокачественной трансформации клеток *in vivo* [33].

В работе Alexiou и соавторов описано исследование экспрессии HSP в опухолях головного мозга. Одновременное определение HSP27, HSP40, HSP60, HSP70, HSP90a, общего количества Akt и фосфо-Akt в 19 образцах опухолей головного мозга проводилось с использованием мультиплексного матричного анализа. Экспрессия HSP27 (pSer82), HSP27 (pSer15), HSP40, HSP60, HSP70, HSP90a, total-Akt и фосфо-Akt наблюдалась как в глиомах, так и в менингиомах. Значительно более высокие уровни HSP70 и тенденция к более высоким уровням HSP40 были обнаружены в менингиомах по сравнению с глиомами. Выявлена значительная корреляция между экспрессией HSP27 (pSer82) и HSP27 (pSer15), а также между HSP90a и общей АКТ и фосфо-АКТ. Также наблюдалась значительная корреляция между HSP27 и общим уровнем АКТ [36].

Уникальной особенностью некоторых опухолей, не относящихся к ЦНС, является сверхэкспрессия белка теплового шока 70 (HSP70, HSPA1A) в ци-

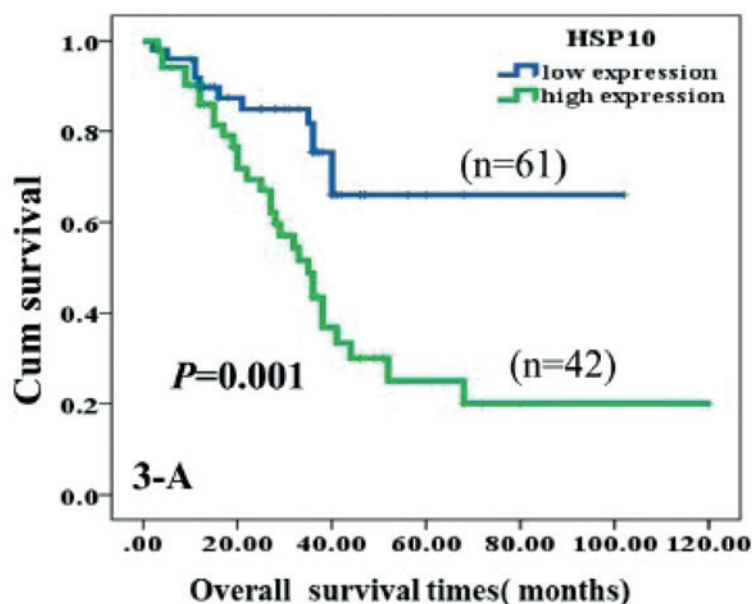


Рис. 1. Разделение кривых Каплана-Мейера на высокую и низкую экспрессию в соответствии с экспрессией белка HSP10. Высокая экспрессия HSP10 в значительной степени коррелировала с плохим прогнозом у пациентов с астроцитомой ($P = 0,001$, двусторонний)

Figure 1. Separation of Kaplan-Meier curves into high and low expression according to HSP10 protein expression. High expression of HSP10 was significantly correlated with poor prognosis in patients with astrocytoma ($P = 0.001$, bilateral)

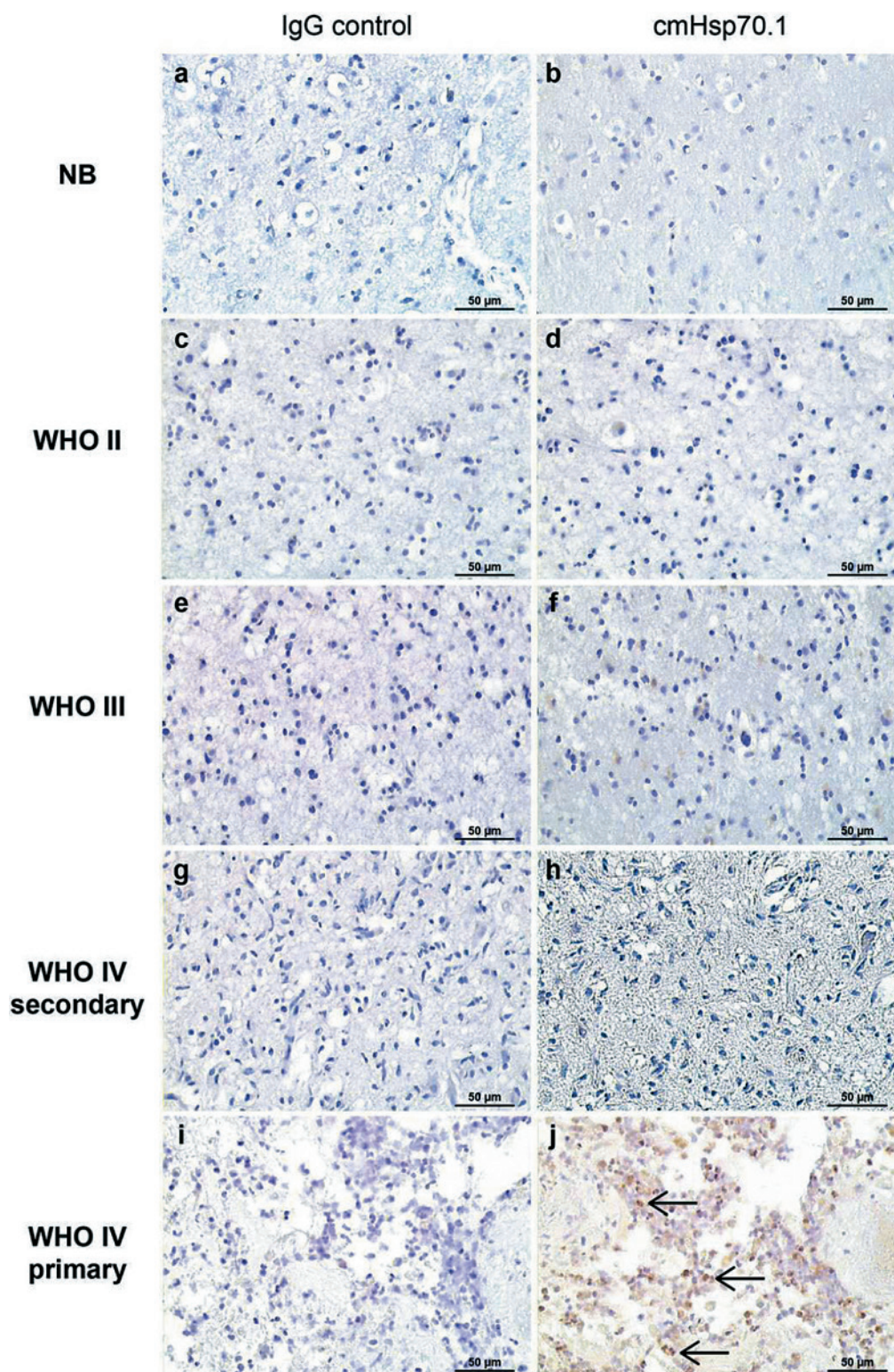


Рис. 2. Экспрессия мембранного HSP70. Экспрессия мембранного HSP70 в неопухловом головном мозге (b), диффузной астроцитоме (d), анапластической астроцитоме (f), вторичной ГБМ (h) и первичной ГБМ (j) и соответствующих отрицательных тестах (a, c, e, g, i) по определению ИHC. Увеличение: x20. Масштабная линейка 50 мкм. Источник: [37]

Figure 2. Membrane HSP70 expression. Membrane HSP70 expression in non-tumor brain (b), diffuse astrocytoma (d), anaplastic astrocytoma (f), secondary GBM (h) and primary GBM (j) and corresponding negative tests (a, c, e, g, i) as defined by the IHC. Magnification: x20. Scale bar 50 µm. Reference: [37]

тозоле, а также его локализация на поверхности плазматической мембраны. Хотя в глиомах уровни цитозольного HSP70 не связаны с гистологической классификацией, роль связанного с мембраной и высвобождаемого во внеклеточное пространство HSP70 до сих пор полностью не известна. Так, Thorsteinsdottir и коллеги проанализировали уровни мембранно-связанного HSP70 в первичных и вторичных глиомах (биопсийный материал) и в изолированных субпопуляциях клеток (эндотелиальные клетки, CD133-положительные клетки, первичные опухолевые культуры) с помощью иммуногистохимии и проточной цитометрии [37]. Внеклеточный HSP70 определялся с помощью коммерческого сэндвич-ИФА HSP70 (R&D) в образцах плазмы пациентов с глиобластомой и здоровых добровольцев. Была обнаружена сверхэкспрессия HSP70 в первичных глиобластомах по сравнению с низкодифференцированными, анапластическими или вторичными глиомами. При проточной цитометрии значительная экспрессия HSP70 на плазматической мембране наблюдалась только в первичных, но не во вторичных глиобластомах. В гетерогенной опухолевой массе стволовые CD133-положительные клетки и клетки первичной глиобластомы продемонстрировали высокую плотность экспрессии HSP70 в мембране, тогда как эндотелиальные клетки, выделенные из тканей глиобластомы, показали только слабую картину окрашивания. Также в образцах плазмы секретируемый белок HSP70 был значительно повышен у лиц с первичными глиобластомами по сравнению с пациентами со вторичными глиобластомами и глиобластомами низкой степени злокачественности. Иными словами, было показано, что цитозольный, связанный с мембраной и внеклеточный HSP70 преимущественно гиперэкспрессируется в первичных глиобластомах (рис. 2) [37].

Таким образом, преимущественно во всех новообразованиях ЦНС наблюдается повышенная экспрессия основных представителей семейств HSP (по сравнению со здоровой тканью головного мозга), причем уровень экспрессии коррелирует со степенью злокачественности опухоли. И, кроме того, экспрессия HSP коррелирует со снижением общей выживаемости пациентов. Отсюда можно сделать вывод о том, что экспрессия HSP выступает причиной первичной резистентности злокачественных глиом человека к цитотоксической радиохимиотерапии.

Заключение

Молекулярные шапероны из-за их важной роли в физиологических процессах в клетке высоко

экспрессируются в опухолях головного мозга, а уровень экспрессии HSPs сильно коррелирует со степенью злокачественности, инвазивным потенциалом, а также устойчивостью к радиохимиотерапии. Для некоторых представителей HSPs (то есть HSP10, HSPB1, DNAJC10, HSPA7, HSP90) выявлена прямая корреляция между уровнем экспрессии белка (на основе анализа ИHC) и плохим общим прогнозом выживаемости для пациентов с глиальными опухолями. Это указывает на прогностические значения этих маркеров, которые в будущем могут быть включены в диагностическую панель при исследовании образца опухоли. Одним из ограничений является отсутствие стандартизированных протоколов для обнаружения HSP, когда в основном используются ИГХ-анализ (для оценки цитозольной и ядерной экспрессии HSP) и проточная цитометрия (для обнаружения форм HSP, связанных с плазматической мембраной). Более того, до сих пор нет согласия между исследователями относительно того, следует ли отдельно оценивать цитозольную и ядерную экспрессию HSP на парафиновых срезах ИHC и их прогностическую и диагностическую ценность. В большинстве исследований сообщается об экспрессии HSPs без такого различия. Однако, как было показано ранее, при различных стрессовых состояниях HSPs действительно мигрируют в ядро клетки (хотя об их функции в ядре ничего не известно). Предположительно, в срезах опухоли эти два паттерна экспрессии HSPs должны оцениваться независимо.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального 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 № 075-15-2022-301 от 20.04.2022). / 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. 075-15-2022-301 от 20.04.2022).

Список литературы / References

1. Stupp R, Hegi ME, Mason WP, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol.* 2009; 10(5):459–466. DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70025-7.

2. Stupp R, Taillibert S, Kanner AA, et al. Maintenance Therapy With Tumor-Treating Fields Plus Temozolomide vs Temozolomide Alone for Glioblastoma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2015; 314(23):2535–2543. DOI: 10.1001/jama.2015.16669.
3. Lindquist S, Craig EA. The heat-shock proteins. *Annu Rev Genet*. 1988; 22:631–677. DOI: 10.1146/annurev.ge.22.120188.003215.
4. Kampinga HH, Hageman J, Vos MJ, et al. Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins. *Cell Stress Chaperones*. 2009; 14(1):105–111. DOI: 10.1007/s12192-008-0068-7.
5. Dahiya V, Buchner J. Functional principles and regulation of molecular chaperones. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2019; 114:1–60. DOI: 10.1016/bs.apcsb.2018.10.001.
6. Shevtsov M, Huile G, Multhoff G. Membrane heat shock protein 70: a theranostic target for cancer therapy. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2018; 373(1738):20160526. DOI: 10.1098/rstb.2016.0526.
7. Wu J, Liu T, Rios Z, et al. Heat Shock Proteins and Cancer. *Trends Pharmacol Sci*. 2017; 38(3):226–256. DOI: 10.1016/j.tips.2016.11.009.
8. Hartl FU, Bracher A, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature*. 2011; 475(7356):324–332. DOI: 10.1038/nature10317.
9. Calderwood SK. Heat shock proteins and cancer: intracellular chaperones or extracellular signalling ligands? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2018; 373(1738):20160524. DOI: 10.1098/rstb.2016.0524.
10. Srivastava P. Roles of heat-shock proteins in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*. 2002; 2(3):185–194. DOI: 10.1038/nri749.
11. Workman P, Burrows F, Neckers L, et al. Drugging the cancer chaperone HSP90: combinatorial therapeutic exploitation of oncogene addiction and tumor stress. *Ann N Y Acad Sci*. 2007; 1113:202–216. DOI: 10.1196/annals.1391.012.
12. Brown IR. Heat shock proteins and protection of the nervous system. *Ann N Y Acad Sci*. 2007; 1113:147–158. DOI: 10.1196/annals.1391.032.
13. Waza M, Adachi H, Katsuno M, et al. Modulation of Hsp90 function in neurodegenerative disorders: a molecular-targeted therapy against disease-causing protein. *J Mol Med (Berl)*. 2006; 84(8):635–646. DOI: 10.1007/s00109-006-0066-0.
14. Sharma SK, De los Rios P, Christen P, et al. The kinetic parameters and energy cost of the Hsp70 chaperone as a polypeptide unfoldase. *Nat Chem Biol*. 2010; 6(12):914–920. DOI: 10.1038/nchembio.455.
15. Lang BJ, Prince TL, Okusha Y, et al. Heat shock proteins in cell signaling and cancer. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 2022; 1869(3):119187. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2021.119187.
16. Allen SP, Polazzi JO, Gierse JK, et al. Two novel heat shock genes encoding proteins produced in response to heterologous protein expression in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 1992; 174(21):6938–6947. DOI: 10.1128/jb.174.21.6938-6947.1992.
17. Haslbeck M, Franzmann T, Weinfurtner D, et al. Some like it hot: the structure and function of small heat-shock proteins. *Nat Struct Mol Biol*. 2005; 12(10):842–846. DOI: 10.1038/nsmb993.
18. Komarova EY, Afanasyeva EA, Bulatova MM, et al. Downstream caspases are novel targets for the antiapoptotic activity of the molecular chaperone hsp70. *Cell Stress Chaperones*. 2004; 9(3):265–275. DOI: 10.1379/csc-27r1.1.
19. Walter S, Buchner J. Molecular chaperones — cellular machines for protein folding. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2002; 41(7):1098–1113. DOI: 10.1002/1521-3773(20020402)41:7<1098::aid-anie1098>3.0.co;2-9.
20. Wu C. Heat shock transcription factors: structure and regulation. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 1995; 11:441–469. DOI: 10.1146/annurev.cb.11.110195.002301.
21. DeMaio A. Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams. *Shock*. 1999; 11(1):1–12. DOI: 10.1097/00024382-199901000-00001.
22. Kobayakov GL, Absalyamova OV, Poddubskiy AA, et al. The 2016 WHO classification of primary central nervous system tumors: a clinician's view. *Problems of Neurosurgery named after N.N. Burdenko*. 2018; 82(3):88–96. In Russian [Кобяков Г.Л., Абсальмова О.В., Поддубский А.А. и др. Классификация ВОЗ первичных опухолей центральной нервной системы 2016 г.: взгляд клинициста. Журнал «Вопросы нейрохирургии» имени Н. Н. Бурденко. 2018; 82(3):88–96.] DOI: 10.17116/neiro201882388.
23. Kato S, Hirano A, Umahara T, et al. Comparative immunohistochemical study on the expression of alpha B crystallin, ubiquitin and stress-response protein 27 in ballooned neurons in various disorders. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1992; 18(4):335–340. DOI: 10.1111/j.1365-2990.1992.tb00795.x.
24. Aoyama A, Steiger RH, Fröhli E, et al. Expression of alpha B-crystallin in human brain tumors. *Int J Cancer*. 1993; 55(5):760–764. DOI: 10.1002/ijc.2910550511.
25. Hitotsumatsu T, Iwaki T, Fukui M, et al. Distinctive immunohistochemical profiles of small heat shock proteins (heat shock protein 27 and alpha B-crystallin) in human brain tumors. *Cancer*. 1996; 77(2):352–361. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142(19960115)77:2<352::AID-CNCR19>3.0.CO;2-0.
26. Pozsgai E, Gomori E, Szigeti A, et al. Correlation between the progressive cytoplasmic expression of a novel small heat shock protein (Hsp16.2) and malignancy in brain tumors. *BMC Cancer*. 2007; 7:233. DOI: 10.1186/1471-2407-7-233.

27. Alexiou GA, Vartholomatos G, Stefanaki K, et al. Expression of heat shock proteins in medulloblastoma. *J Neurosurg Pediatr.* 2013; 12(5):452–457. DOI: 10.3171/2013.7.PEDS1376.
 28. Hauser P, Hanzély Z, Jakab Z, et al. Expression and prognostic examination of heat shock proteins (HSP 27, HSP 70, and HSP 90) in medulloblastoma. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2006; 28(7):461–466. DOI: 10.1097/01.mph.0000212954.35727.ad.
 29. Rappa F, Unti E, Baiamonte P, et al. Different immunohistochemical levels of Hsp60 and Hsp70 in a subset of brain tumors and putative role of Hsp60 in neuroepithelial tumorigenesis. *Eur J Histochem.* 2013; 57(2):e20. DOI: 10.4081/ejh.2013.e20.
 30. Lobinger D, Gempt J, Sievert W, et al. Potential Role of Hsp70 and Activated NK Cells for Prediction of Prognosis in Glioblastoma Patients. *Front Mol Biosci.* 2021; 8:669366. DOI: 10.3389/fmolb.2021.669366.
 31. Multhoff G, Mizzen L, Winchester CC, et al. Heat shock protein 70 (Hsp70) stimulates proliferation and cytolytic activity of natural killer cells. *Exp Hematol.* 1999; 27(11):1627–1636. DOI: 10.1016/s0301-472x(99)00104-6.
 32. Kato S, Kato M, Hirano A, et al. The immunohistochemical expression of stress-response protein (srp) 60 in human brain tumours: relationship of srp 60 to the other five srps, proliferating cell nuclear antigen and p53 protein. *Histol Histopathol.* 2001; 16(3):809–820. DOI: 10.14670/HH-16.809.
 33. Takano S, Wadhwa R, Yoshii Y, et al. Elevated levels of mortalin expression in human brain tumors. *Exp Cell Res.* 1997; 237(1):38–45. DOI: 10.1006/excr.1997.3754.
 34. Babi A, Menlibayeva K, Bex T, et al. Targeting Heat Shock Proteins in Malignant Brain Tumors: From Basic Research to Clinical Trials. *Cancers (Basel).* 2022; 14(21):5435. DOI: 10.3390/cancers14215435.
 35. Fan W, Fan SS, Feng J, et al. Elevated expression of HSP10 protein inhibits apoptosis and associates with poor prognosis of astrocytoma. *PLoS One.* 2017; 12(10):e0185563. DOI: 10.1371/journal.pone.0185563.
 36. Alexiou GA, Karamoutsios A, Lallas G, et al. Expression of heat shock proteins in brain tumors. *Turk Neurosurg.* 2014; 24(5):745–749. DOI: 10.5137/1019-5149.JTN.9852-13.0.
 37. Thorsteinsdottir J, Stangl S, Fu P, et al. Overexpression of cytosolic, plasma membrane bound and extracellular heat shock protein 70 (Hsp70) in primary glioblastomas. *J Neurooncol.* 2017; 135(3):443–452. DOI: 10.1007/s11060-017-2600-z.
- Федоров Вячеслав Сергеевич, старший лаборант-исследователь Института цитологии РАН;
- Забродская Юлия Михайловна, д.м.н., заведующий НИЛ патоморфологии нервной системы, РНХИ им. проф. А. Л. Поленова — филиал ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;
- Ким Александр Вонгиевич, д.м.н., доцент кафедры нейрохирургии, заведующий ДНХО № 7, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;
- Джаналиев Болот Рахманович, д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии Кыргызской государственной медицинской академии им. И. К. Ахунбаева;
- Шевцов Максим Алексеевич, д.б.н., ведущий научный сотрудник Института цитологии РАН; заведующий НИО трансляционной онкологии НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;
- Самочерных Константин Александрович, д.м.н., профессор РАН, директор РНХИ им. проф. А. Л. Поленова — филиала ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, заведующий научно-исследовательским центром персонализированной онкологии НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Eleonora T. Nazaralieva, MD, Researcher, Research Laboratory of Pediatric Neurosurgery, Polenov Russian Scientific Research Institute of Neurosurgery;

Vyacheslav S. Fedorov, senior laboratory assistant-researcher, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences;

Yulia M. Zabrodskaya, ScD, Head of the Research Laboratory of Pathomorphology of the Nervous System, Polenov Russian Scientific Research Institute of Neurosurgery;

Alexander V. Kim, ScD, Associate Professor, Department of Neurosurgery, Head of the Children's Neurosurgical Department № 7, Almazov National Medical Research Centre;

Bolot R. Djanaliev, ScD, Professor, Department of Pathological Anatomy, I. K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy;

Maxim A. Shevtsov, ScD, Leading Researcher, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences; Head of Research Center for Translational Oncology, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Konstantin A. Samochernych, ScD, professor of the Russian Academy of Sciences, director of Polenov Russian Scientific Research Institute of Neurosurgery, Head of the Research Center for Personalized Oncology, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre.

Информация об авторах:

Назаралиева Элеонора Тууганбаевна, к.м.н., научный сотрудник НИЛ нейрохирургии детского возраста, РНХИ им. проф. А. Л. Поленова — филиал ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

ВНУТРИАРТЕРИАЛЬНАЯ РЕГИОНАРНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Каприн Д. А.

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения
«Городская клиническая больница имени М. П. Кончаловского
департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

Контактная информация:

Каприн Дмитрий Андреевич,
ГБУЗ «ГКБ им. М. П. Кончаловского
ДЗМ»,
ул. Каштановая аллея, д. 2, стр. 1, Москва,
Россия, 124489.
E-mail: kaprind@gmail.com

Статья поступила в редакцию 01.12.2022
и принята к печати 19.12.2022.

Резюме

Рак поджелудочной железы, несмотря на низкую встречаемость, является четвертой наиболее распространенной причиной смертности от рака, с 5-летней выживаемостью не более 10 %. Согласно предварительным оценкам экспертов, к 2030 году рак поджелудочной железы станет второй наиболее распространенной причиной смерти от злокачественных новообразований, обойдя колоректальный рак и рак молочной железы. Таким образом, рак поджелудочной железы характеризуется очень неблагоприятными прогнозами прежде всего ввиду химиорезистентной природы опухоли.

В настоящее время доступны лишь несколько вариантов лечения рака поджелудочной железы с низкой частотой ответа, короткой выживаемостью без прогрессирования и непродолжительной общей выживаемостью, а также тяжелой токсичностью. С целью улучшения клинических результатов в ряде исследований по применению регионарной химиотерапии как варианта лечения рака поджелудочной железы была продемонстрирована дозозависимая чувствительность опухоли. Химиотерапия методом внутриартериальной перфузии поджелудочной железы позволила повысить локальные концентрации химиотерапевтических агентов с минимальным воздействием на здоровые ткани и более низкой частотой развития побочных эффектов по сравнению с системной химиотерапией. Этот терапевтический подход продемонстрировал хороший лечебный эффект при лечении злокачественных новообразований других локализаций. В данном обзоре представлены обобщенные данные о клинических подходах к введению химиопрепаратов путем внутриартериальной перфузии поджелудочной железы с точки зрения методов, фармакокинетики и клинических исходов.

Ключевые слова: внутриартериальная перфузия поджелудочной железы, злокачественные образования, рак поджелудочной железы, терапия рака поджелудочной железы.

Для цитирования: Каприн Д.А. Внутриартериальная регионарная химиотерапия рака поджелудочной железы (обзор литературы). Трансляционная медицина. 2022;9(6):16-25. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-16-25

INTRA-ARTERIAL REGIONAL CHEMOTHERAPY FOR PANCREATIC CANCER (REVIEW)

Dmitriy A. Kaprin

Konchalovsky City Clinical Hospital of Moscow Healthcare
Department, Moscow, Russia

Corresponding author:

Dmitriy A. Kaprin,
Konchalovsky City Clinical Hospital,
Kashtanovaya alley str. 2/1, Moscow, Russia,
124489.
E-mail: kaprind@gmail.com

Received 01 December 2022; accepted 1
9 December 2022.

Abstract

Pancreatic cancer, despite its low prevalence, is the fourth most common cause of cancer death, with a 5-year survival rate of no more than 10 %. Experts predict that by 2030, pancreatic cancer will become the second most common cause of death from malignant neoplasms, surpassing colorectal and breast cancers. Thus, pancreatic cancer is characterized by very unfavorable prognosis, primarily due to the chemoresistant nature of the tumor.

Only a few treatment options for pancreatic cancer are currently available, with low response rates, short progression-free survival and short overall survival, and severe toxicity. In order to improve clinical outcomes, a number of studies on the use of regional chemotherapy as a treatment option for pancreatic cancer have demonstrated dose-dependent tumor sensitivity. Chemotherapy by intra-arterial perfusion of the pancreas made it possible to increase local concentrations of chemotherapeutic agents with minimal effect on healthy tissues and a lower incidence of side effects compared to systemic chemotherapy. This therapeutic approach has demonstrated a good therapeutic effect in the treatment of malignant neoplasms of other localizations. This review summarizes clinical approaches to chemotherapeutic administration by intra-pancreatic intra-arterial perfusion in terms of methods, pharmacokinetics, and clinical outcomes.

Key words: intra-arterial perfusion of the pancreas, malignant tumors, pancreas cancer, pancreatic cancer therapy.

For citation: Kaprin DA. Intra-arterial regional chemotherapy for pancreatic cancer (review). Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2022;9(6):16-25. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-16-25

Список сокращений: ВАППЖ — внутри-артериальная перфузия поджелудочной железы, ЗНО — злокачественные новообразования, РПЖ — рак поджелудочной железы.

Введение

Рак поджелудочной железы (РПЖ), несмотря на низкую встречаемость, является четвертой наиболее распространенной причиной смертности от рака, с 5-летней выживаемостью не более 10 % [1–9]. Более того, по оценкам экспертов, к 2030 году РПЖ станет второй наиболее распространенной причиной смерти от ЗНО, обойдя колоректальный рак и рак молочной железы [10].

Комбинированная терапия РПЖ включает применение как радикальной хирургической резекции, так и различных химиотерапевтических агентов, однако у 60–70 % пациентов наблюдается рецидив в течение первых двух лет после лечения [11]. Что касается метастатических форм РПЖ, в исследовании, опубликованном в 2011 году, были оценены исходы у 342 ранее не получавших лечение пациентов с метастатическим РПЖ, которые были рандомизированы на две группы. Основная группа больных получала FOLFIRINOX (5-фторурацил 400 мг/м², фоллиевая кислота, лейковорин 400 мг/м², иринотекан 180 мг/м², оксалиплатин 85 мг/м²) — первая доза в виде болюса, далее

2 400 мг/м² в виде 46-часовой непрерывной инфузии каждые 2 недели. Контрольная группа пациентов получала гемцитабин в дозе 1 000 мг/м² еженедельно в течение 7–8 недель, а затем еженедельно в течение 3–4 недель [12]. Результаты исследования показали значительное преимущество основной группы по сравнению с контрольной: медиана выживаемости без прогрессирования составила 6,4 против 3,3 месяца, показатель риска угроз (hazard rate, HR) — 0,47 (0,37–0,59), а медиана общей выживаемости составила 11,1 месяца против 6,8 месяца, HR 0,57 (0,45–0,73). Различия между исследуемыми группами были статистически значимыми. Тем не менее, у ряда пациентов были отмечены побочные эффекты по классификации Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) III–IV степени: астения — у 23 %, рвота — у 15 %, диарея — у 13 %, периферическая невропатия — у 9 % пациентов.

РПЖ, как правило, имеет очень плохой прогноз, поскольку доступно лишь несколько вариантов лечения. Кроме того, РПЖ обладает высокой токсичностью и низкой эффективностью [13, 14], что связано с лекарственной устойчивостью клеток опухоли РПЖ, которая в основном зависит от одновременного наличия механического и биологического барьеров [14]. Первый представлен очень плотной, плохо васкуляризированной, фиброзной, почти непроницаемой для лекарств оболочкой, окружающей область опухоли поджелудочной железы [15, 16]. Эти особенности препятствуют попаданию системных химиотерапевтических средств в поджелудочную железу и, следовательно, в опухолевые клетки в достаточном для терапевтического эффекта количестве [2, 17–19]. Второе препятствие связано с высокой экспрессией клеток, содержащих ген множественной лекарственной устойчивости (MDR1) — продукт, связанный с мембранным гликопротеином Р-170, который является частью АТФ-зависимой ферментативной системы оттока лекарственных средств, способной быстро выводить химиотерапевтические препараты из опухолевых клеток [20–22]. В связи с этим в ряде исследований продемонстрировали, что РПЖ обладает дозозависимой чувствительностью к регионарной химиотерапии [21, 23–25]. Более того, доза препарата, доставляемая к опухоли поджелудочной железы, должна быть по меньшей мере в 5 раз выше, чтобы преодолеть устойчивость опухолевых клеток посредством гликопротеина Р-170 [21]. Таким образом, плохой прогноз, ограниченные варианты лечения, а также анатомические и биологические особенности тканей РПЖ обуславливают поиск новых терапевтических страте-

гий. Одним из многообещающих путей является применение методов регионарной доставки химиотерапевтических препаратов, в частности ВАППЖ, обеспечивающей значительно более высокие концентрации противоопухолевых агентов к раковым клеткам по сравнению с системным методом введения. Этот тип терапевтического подхода уже был успешно оценен при различных солидных опухолях, в частности при первичном и метастатическом раке печени [26–32]. При этом отмечалось уменьшение числа побочных эффектов химиотерапии при регионарном введении по сравнению с системным внутривенным введением этих же препаратов [27–31, 33–43]. Что касается прогрессирующего РПЖ, то лишь в нескольких клинических испытаниях безопасность и эффективность ВАППЖ была исследована с точки зрения показателей ответа на этот метод введения по сравнению с системной химиотерапией [21].

Следует признать, что, несмотря на некоторое повышение резектабельности и снижение послеоперационной летальности, результаты хирургического лечения остаются неудовлетворительными [44–47]. Роль неoadьювантных подходов до хирургической резекции возрастает. Поскольку развитие заболевания при гематогенном пути распространения носит каскадный характер, когда одни метастазы становятся источниками других отдаленных метастазов, логично предположить, что локорегионарная терапия в области первичного очага позволит сдержать развитие метастазов. Этому способствует уникальная возможность создания очень высокой концентрации химиопрепарата в местных тканях при его внутриартериальном введении [29].

Во многих исследованиях отечественных и зарубежных авторов было показано, что РПЖ обладает дозозависимой чувствительностью именно к регионарной химиотерапии. При этом было доказано, что химиоэмболизация увеличивает продолжительность жизни пациентов с нерезектабельным или местнораспространенным РПЖ [23, 48]. Одним из методов регионарной химиотерапии является внутриартериальное введение препаратов в сосуды, питающие поджелудочную железу.

Фармакокинетика регионарной внутриартериальной перфузии поджелудочной железы

Современные знания о фармакокинетике препаратов при ВАППЖ очень скудны. Только несколько исследований пытались оценить преимущества внутриартериальной химиотерапии с точки зрения кинетики, однако большинство из них носили экс-

периментальный характер. Гемцитабин является одним из наиболее часто используемых препаратов в лечении распространенного РПЖ [49]. С фармакологической точки зрения, это аналог пиримидина, который активируется в клетках ферментом дезоксицитидинкиназой, высокое содержание которой характерно практически для всех раковых клеток [50]. Гемцитабин изменяет синтез ДНК посредством ингибирования фермента рибонуклеотидредуктазы. Исследование на животных моделях показало, что концентрация гемцитабина в опухолевых клетках выше при внутриартериальной химиотерапии, чем при внутривенном его введении [51]. К точно таким же выводам пришли исследователи, изучавшие фармакокинетику 5-фторурацила при его введении методом внутриартериальной химиотерапии: концентрация в клетках РПЖ при внутриартериальном введении была выше, чем при внутривенном [52].

Только в одном исследовании оценивались фармакокинетические параметры внутриартериальной химиотерапии в человеческом организме. К. Kakizaki и соавторы (1989 г.) показали, что концентрация цисплатина выше в 1,3 раза при внутриартериальной химиотерапии, чем при внутривенном введении, но надо отметить, что наряду с цисплатином в схему терапии был введен ангиотензин-2 [53].

Регионарная внутриартериальная перфузия поджелудочной железы в качестве первой линии монотерапии РПЖ

В 2000 году М. Cantore и коллеги изучили клинические исходы у пациентов с III–IV стадиями РПЖ, которые получали ВАППЖ по схеме FLEC (5-фторурацил, фолиевая кислота, эпирубицин, карбоплатин) каждые 3 недели в течение 3 циклов [48]. С фармацевтической точки зрения выбор карбоплатина по отношению к цисплатину был стратегически связан с его основной растворимостью в водном растворе, что привело к более высокой дозировке препарата при меньшем объеме введения. Каждый цикл выполняли с использованием ангиографического катетера, который помещали в гастродуоденальную артерию для опухолей головки поджелудочной железы, в селезеночную артерию для тела поджелудочной железы и хвоста, а также в печеночную артерию при наличии метастазов в печени, что позволяло половину общей дозы препарата вводить в печень. Когда этот технический подход был невозможен, химиотерапевтические препараты вводились в чревной ствол. Общая выживаемость пациентов достигла 9,9 месяца (10,6 и 6,8 месяца для стадий III и IV соответственно). Гематологическая токсичность

III–IV степени по классификации СТCAE наблюдалась у 25 % пациентов, гематемезис — у 4 %, желудочно-кишечная токсичность 3 степени — у 3 %; алопеция 3 степени — у 16 %. В числе послеоперационных осложнений: по одному случаю были зафиксированы внезапная смерть (острый коронарный синдром), стенокардия напряжения и преходящая ишемическая атака. Единственным осложнением, связанным с ангиографической процедурой, было травма интимы подвздошной артерии [48].

В 2000 году Н. Nomma и соавторы проанализировали результаты применения ВАППЖ у 31 пациента с протоковой аденокарциномой головки поджелудочной железы. Авторы обосновывали способ ВАППЖ особенностями артериальной системы, питающей головку поджелудочной железы [54]. В эту систему входят передняя и задняя верхние панкреатодуоденальные артерии, идущие из гастродуоденальной артерии, и нижняя панкреатодуоденальная артерия, которая разветвляется из верхней брыжеечной артерии, — все эти артерии объединяются в панкреатодуоденальный бассейн, питающий головку поджелудочной железы. Что касается артериальной системы тела поджелудочной железы и ее хвоста, задняя панкреатическая артерия, большая артерия поджелудочной железы и хвостовая панкреатическая артерия, которые непосредственно разветвляются из селезеночной артерии, питают паренхиму поджелудочной железы и образуют поперечную панкреатическую артерию. Авторы исследования в качестве новой стратегии лечения прогрессирующей аденокарциномы поджелудочной железы предложили селективно эмболизировать микроспиралями артерии поджелудочной железы, оставив для проведения ВАППЖ большую артерию поджелудочной железы и хвостовую панкреатическую артерию. Схема селективного «выключения» артерий поджелудочной железы представлена на рисунке. Далее инфузионный катетер для введения препаратов помещали в селезеночную артерию в случае отсутствия метастазов либо в общую печеночную артерию при метастатической форме РПЖ. Пациенты получали 5-фторурацил в дозе 250 мг/м² каждые 24 часа в течение 7 дней и цисплатин в дозе 10 мг/м² в 1-й, 3-й и 5-й дни лечения на 1-й и 3-й неделе (курс лечения — 28 дней). Показатели 1-летней, 2-летней и 3-летней выживаемости у пациентов без метастазов составили 90,9 %, 42,8 % и 18,3 % соответственно с медианой общей выживаемости 19 месяцев. У пациентов с метастазами в печени медиана общей выживаемости достигла 16,3 месяца против 22,9 месяца у пациентов без

метастазов. Из числа осложнений у 20 % пациентов отмечены технические осложнения, такие как вывих кончика катетера, артериальная обструкция и абсцесс в бедренной области, в то время как осложнений по системе STCAE III–IV степени не возникало [54].

В 2004 году М. Cantore и соавторы (2004 г.) сравнили системное введение гемцитабина (32 пациента с III стадией и 35 пациентов с IV стадией РПЖ) с введением препарата по схеме FLEC с использованием ангиографического катетера, который размещали в чревном стволе (35 пациентов с III стадией и 36 пациентов с IV стадией РПЖ). Медиана общей выживаемости в группе FLEC составила 7,9 месяца против 5,8 месяца в контрольной группе. Однолетняя выживаемость после стандартного введения гемцитабина — 21 %, после ВАППЖ — 35 % [55].

В 2005 году К. Aigner и коллеги оценили эффективность ВАППЖ в чревный ствол или общую печеночную артерию митомицина, митоксантрона и цисплатина, адсорбированных на разлагаемых крахмальных микросферах, в течение 5 циклов с последующим одним курсом изолированной гипоксической абдоминальной перфузии с митомицином и цисплатином для профилактики или лечения перитонеального канцероматоза в исследовании 265 пациентов с метастатическим РПЖ. Медиана общей выживаемости составила 9 месяцев. Сообщений о тяжелой токсичности не было отмечено [56].

D. Mambrini и соавторы (2006 г.) изучали результативность FLEC в качестве перфузии в чревный ствол у 211 пациентов с III–IV стадией РПЖ. Медиана общей выживаемости составила 9,2 месяца. Каких-либо осложнений, связанных с ангиографической процедурой, не наблюдалось, хотя сообщалось о трех незначительных повреждениях интимы подвздошной артерии. Гематологическая и желудочно-кишечная токсичность 3–4 степени выявлена у 24 % и 3 % пациентов соответственно; алоpecia 3 степени была отмечена у 15 % пациентов [57].

T. Ishikawa и коллеги в 2007 году с целью увеличения притока крови к опухолевым клеткам добавляли ангиотензин II к внутриартериальной химиотерапии гемцитабином, 5-фторурацилом и цисплатином у 20 пациентов с поздними стадиями РПЖ. Медиана общей выживаемости составила 12 месяцев [58].

В 2008 году К. Miyanishi и соавторы исследовали ВАППЖ гемцитабином в различных дозировках (600, 800, 1000 мг/м²) на 1-й и 15-й день лечения в сочетании с 5-фторурацилом (300 мг/м²) в 1–5-й

и 15–19-й дни каждые 2 недели) у 12 пациентов с метастатическим РПЖ. Медиана выживаемости составила 22,7 месяца [59].

В 2008 году T. Sasada и коллеги оценили ВАППЖ 5-фторурацилом (250 мг/м² в сутки в течение 7 дней) и болюсной инфузией цисплатином (5 мг/м² в сутки в течение 5 дней) у 16 пациентов с распространенным РПЖ. Медиана общей выживаемости составила 22 месяца [60].

В 2012 году T. Tanaka и соавторы опубликовали результаты исследования ВАППЖ гемцитабином (1 000 мг/м²) и 5-фторурацилом (с увеличением дозы от 750 до 1 000 мг/м²). Из побочных эффектов были выявлены нейтропения (15,8 %) и тромбоцитопения (5,3 %) [61].

Результаты опубликованного в 2012 году метаанализа, включившего 6 рандомизированных клинических исследований с разными режимами ВАППЖ по сравнению с системной химиотерапией у пациентов с распространенным РПЖ, продемонстрировали, что ВАППЖ более эффективна и имеет меньшее количество побочных явлений, чем системная химиотерапия. Общая выживаемость пациентов составила от 5 до 21 месяца и от 2,7 до 14 месяцев соответственно. Что касается системной токсичности, то побочные эффекты при ВАППЖ были отмечены у 49 % пациентов, тогда как при системной химиотерапии — у 71 % [62].

В 2014 году Y. Chen и коллеги оценили безопасность и эффективность ВАППЖ гемцитабином (1 000 мг/м²) и оксалиплатином (100 мг/м²) каждые 4 недели у 32 пациентов с местнораспространенным РПЖ. Медиана общей выживаемости составила 10 месяцев. Нежелательные явления были отмечены у 21,9 % пациентов [63].

В 2016 году X. Liu и соавторы [63] ретроспективно изучили ВАППЖ гемцитабином (1 000 мг/м²) и оксалиплатином (100 мг/м²) у 187 пациентов с III стадией и 87 с IV стадией РПЖ. Медиана общей выживаемости составила 7 месяцев. Данных о токсичности ВАППЖ не сообщалось [64].

В 2019 году B. Qiu и коллеги изучили применение ВАППЖ у 115 пациентов с II–IV стадией РПЖ. Медиана общей выживаемости составила 4,9 месяца [65].

Внутриартериальная перфузия химиопрепаратов в сочетании с системной химиотерапией при РПЖ

В 2006 году O. Ikeda и соавторы оценили клинические результаты ВАППЖ 5-фторурацилом в сравнении с системным введением гемцитабина у 17 пациентов с метастатическим РПЖ. Медиана общей выживаемости составила 8,8 месяца. Ка-

ких-либо нежелательных явлений, связанных с ангиографической процедурой, отмечено не было. Наиболее частыми побочными эффектами являлись гематологические изменения. У 23,5 % пациентов были обнаружены такие осложнения, как холангит, инфаркт головного мозга, язва двенадцатиперстной кишки и частичная эмболизация селезенки [42].

В 2013 году S. Heinrich и коллеги опубликовали результаты применения ВАППЖ (митомидин С 8,5 мг/м² и гемцитабин 500 мг/м² на 1-й и 22-й дни лечения) в сравнении с системным введением гемцитабина (500 мг/м²) на 8-й и 15-й дни лечения у 17 пациентов с распространенным РПЖ. Медиана выживаемости составила 9,1 месяца. Осложнений, связанных с процедурой ВАППЖ, не было выявлено. Гематологические нарушения были наиболее частыми побочными эффектами [66].

В 2013 году T. Uwagawa и соавторы опубликовали результаты лечения 35 пациентов с РПЖ, которым была проведена процедура ВАППЖ. Медиана общей выживаемости составила 10 месяцев [67].

Внутриартериальная перфузия химиопрепаратов в качестве второй линии терапии РПЖ

В 2006 году E. Barletta и коллеги исследовали клинические исходы применения ВАППЖ в режиме FLEC в качестве лечения второй линии у 32 пациентов с РПЖ. Медиана общей выживаемости составила 11,8 месяца с момента постановки диагноза [68].

Заключение

Несмотря на усовершенствование алгоритма клинической постановки диагноза РПЖ, ранняя диагностика остается до сих пор сложной задачей, а существенного улучшения результатов лечения пациентов пока не наблюдается. Точный скрининг групп высокого риска с помощью подходящих биомаркеров и/или визуализации — это область будущих исследований, которые могут стать ключом к долгожданному улучшению выживаемости при РПЖ.

Пациенты с РПЖ имеют неудовлетворительные результаты ввиду хеморезистентности этого типа опухоли по двум причинам: наличия очень плотной, плохо васкуляризированной, фиброзной оболочки опухоли и высокой экспрессии Р-гликопротеина [69, 70]. С одной стороны, эти факторы препятствуют достижению системными химиотерапевтическими средствами опухолевых клеток в достаточном количестве, чтобы быть эффективными, а с другой стороны, АТФ-зависимая фер-

ментная система быстро устраняет из опухолевых клеток химиотерапевтические препараты, поэтому они имеют ограниченный успех в лечении РПЖ [2, 17–19].

В ряде исследований было показано, что РПЖ обладает дозозависимой чувствительностью именно к регионарной химиотерапии [23, 48]. Кроме того, в этих работах было доказано, что химиоэмболизация увеличивает продолжительность жизни пациентов с нерезектабельным или местно-распространенным РПЖ.

Одним из методов, который позволяет увеличить локальное воздействие на опухолевую ткань РПЖ, является РМХЭА поджелудочной железы с целью селективного введения химиопрепаратов. В исследованиях, выполненных на базе ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А. М. Гранова» (Санкт-Петербург), убедительно показана возможность преодоления устойчивости РПЖ к химиопрепаратам при повышении их концентрации и увеличении экспозиции воздействия [26, 27]. Однако авторы метода не изучали в опубликованных исследованиях безрецидивную и общую выживаемость в группах пациентов с резектабельным и условно резектабельным РПЖ.

В этой связи с целью улучшения результатов комбинированной терапии, включающей регионарную предоперационную химиоэмболизацию ПАК поджелудочной железы, нами была поставлена задача создания и клинической оценки усовершенствованной методики химиоэмболизации, позволяющей улучшить регионарную доставку химиопрепарата к опухоли. Эта задача была реализована в виде изобретения (патент № 2624323 «Способ селективной химиоэмболизации злокачественных опухолей поджелудочной железы»), при котором вместо установки спиралей в желудочно-сальниковую артерию вводят баллонный катетер, соответствующий диаметру данного сегмента артерии. Использование такой усовершенствованной методики позволило стабилизировать скорость линейного кровотока в общей печеночной артерии и улучшить условия для концентрации химиоэмболизации в зоне опухолевого процесса.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Gurmikov BN, Bolokov MS, Gurmikova NL. Long-term results of surgical treatment for pancreatic cancer. A review

of the literature. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2017; 1(2):142–147. In Russian [Гурмиков Б.Н., Болоков М.С., Гурмикова Н.Л. Отдаленные результаты хирургического лечения рака поджелудочной железы. Обзор литературы. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2017;1(2):142–147. DOI: 10.25207/1608-6228-2017-2-142-147.]

2. Ammendola M, Currò G, Laface C, et al. Mast Cells Positive for c-Kit Receptor and Tryptase Correlate with Angiogenesis in Cancerous and Adjacent Normal Pancreatic Tissue. *Cells*. 2021;10(2):444. DOI: 10.3390/cells10020444.

3. Dolgushin BI. Interventional radiology in oncology: National guidelines in 3 volumes. Moscow: Vidar-M Publishing House, 2022. p.783. In Russian [Долгушин Б.И. Интервенционная радиология в онкологии: Национальное руководство в 3-х томах. Москва: Издательский дом Видар-М, 2022. С. 783.]

4. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer*. 2021. DOI: 10.1002/ijc.33588.

5. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer Statistics, 2021. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(1):7–33. DOI: 10.3322/caac.21654.

6. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin*. 2022;72(1):7–33. DOI: 10.3322/caac.21708.

7. Søreide K, Stättner S. Textbook of pancreatic cancer: principles and practice of surgical oncology. Cham: Springer International Publishing, 2021. p. 1339 DOI: 10.1007/978-3-030-53786-9.

8. Strobel O, Büchler MW. Evolution of Surgery for Pancreatic Cancer and Future Directions In: Søreide K, Stättner S. Textbook of Pancreatic Cancer: Principles and Practice of Surgical Oncology. Cham: Springer International Publishing, 2021:999–1015. DOI: 10.1007/978-3-030-53786-9_65.

9. Swords DS, Mulvihill SJ, Brooke BS, et al. County-level Variation in Use of Surgery and Cancer-specific Survival for Stage I-II Pancreatic Adenocarcinoma. *Ann Surg*. 2020;272(6):1102–1109.

10. Rahib L, Smith BD, Aizenberg R, et al. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer Res*. 2014;74(11):2913–2921. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0155.

11. Tempero MA, Malafa MP, Al-Hawary M, et al. Pancreatic Adenocarcinoma, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2021;19(4):439–457. DOI: 10.6004/jnccn.2021.0017.

12. Conroy T, Desseigne F, Ychou M, et al. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med*. 2011;364(19):1817–1825. DOI: 10.1056/NEJMoa1011923.

13. Principe DR, Underwood PW, Korc M, et al. The Current Treatment Paradigm for Pancreatic

Ductal Adenocarcinoma and Barriers to Therapeutic Efficacy. *Front Oncol*. 2021;11:688377. DOI: 10.3389/fonc.2021.688377.

14. Laface C, Laforgia M, Zito AF, et al. Chymase-positive Mast cells correlate with tumor angiogenesis: first report in pancreatic cancer patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2021 Nov; 25(22):6862–6873. DOI: 10.26355/eurrev_202111_27234.

15. Zeng S, Pöttler M, Lan B, et al. Chemoresistance in Pancreatic Cancer. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18):4504. DOI: 10.3390/ijms20184504.

16. Ammendola M, Gadaleta CD, Frampton AE, et al. The density of mast cells c-Kit⁺ and tryptase⁺ correlates with each other and with angiogenesis in pancreatic cancer patients. *Oncotarget*. 2017;8(41):70463–70471. DOI: 10.18632/oncotarget.19716.

17. Ishida H, Makino T, Kobayashi M, et al. Laparoscopic measurement of pancreatic blood flow. *Endoscopy*. 1983;15(3):107–110. DOI: 10.1055/s-2007-1021480.

18. Ammendola M, Sacco R, Marech I, et al. Microvascular density and endothelial area correlate with Ki-67 proliferative index in surgically-treated pancreatic ductal adenocarcinoma patients. *Oncol Lett*. 2015;10(2):967–971. DOI: 10.3892/ol.2015.3286.

19. Passantino L, Patruno R, Valerio P, et al. Thymidine phosphorylase profiles in nonmalignant and malignant pancreatic tissue. Potential therapeutic role of capecitabine on tumoral and endothelial cells and tumor-infiltrating macrophages. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2005;27(1):95–107. DOI: 10.1081/iph-51753.

20. Callaghan R, Luk F, Bebaawy M. Inhibition of the multidrug resistance P-glycoprotein: time for a change of strategy? *Drug Metab Dispos*. 2014;42(4):623–631. DOI: 10.1124/dmd.113.056176.

21. Ishikawa T. Is it relevant that intra-arterial chemotherapy may be effective for advanced pancreatic cancer? *World J Gastroenterol*. 2007;13(32):4306–4309. DOI: 10.3748/wjg.v13.i32.4306.

22. Marin JJG, Monte MJ, Macias RIR, et al. Expression of Chemoresistance-Associated ABC Proteins in Hepatobiliary, Pancreatic and Gastrointestinal Cancers. *Cancers (Basel)*. 2022;14(14):3524. DOI: 10.3390/cancers14143524.

23. Guadagni S, Clementi M, Valenti M, et al. Hypoxic abdominal stop-flow perfusion in the treatment of advanced pancreatic cancer: a phase II evaluation/trial. *Eur J Surg Oncol*. 2007;33(1):72–78. DOI: 10.1016/j.ejso.2006.10.042.

24. Link K, -H, Gansauge F, Pillasch J, et al. Regional Treatment of Advanced Nonresectable and of Resected Pancreatic Cancer via Celiac Axis Infusion. *Dig Surg*. 1994;11:414–419. DOI: 10.1159/000172295.

25. Muchmore JH, Preslan JE, George WJ. Regional chemotherapy for inoperable pancreatic carcinoma. *Cancer*.

- 1996;78(3 Suppl):664–73. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142(19960801)78:3<664::AID-CNCR47>3.0.CO;2-U.
26. Ranieri G, Marech I, Porcelli M, et al. Complete response in a patient with liver metastases from breast cancer employing hepatic arterial infusion 5-fluorouracil based chemotherapy plus systemic nab-paclitaxel. *Oncotarget*. 2017;9(8):8197–8203. DOI: 10.18632/oncotarget.23793.
27. Gadaleta CD, Ranieri G. Trans-arterial chemoembolization as a therapy for liver tumours: New clinical developments and suggestions for combination with angiogenesis inhibitors. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2011;80(1):40–53. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2010.10.005.
28. Laface C, Laforgia M, Molinari P, et al. Hepatic Arterial Infusion of Chemotherapy for Advanced Hepatobiliary Cancers: State of the Art. *Cancers (Basel)*. 2021;13(12):3091. DOI: 10.3390/cancers13123091.
29. Ranieri G, Laface C. Loco-Regional and Systemic Chemotherapies for Hepato-Pancreatic Tumors: Integrated Treatments. *Cancers (Basel)*. 2020;12(10):2737. DOI: 10.3390/cancers12102737.
30. Ranieri G, Laforgia M, Nardulli P, et al. Oxaliplatin-Based Intra-arterial Chemotherapy in Colo-Rectal Cancer Liver Metastases: A Review from Pharmacology to Clinical Application. *Cancers (Basel)*. 2019;11(2):141. DOI: 10.3390/cancers11020141.
31. Datta J, Narayan RR, Kemeny NE, et al. Role of Hepatic Artery Infusion Chemotherapy in Treatment of Initially Unresectable Colorectal Liver Metastases: A Review. *JAMA Surg*. 2019;154(8):768–776. DOI: 10.1001/jamasurg.2019.1694.
32. Doussot A, Kemeny NE, D'Angelica MI. Hepatic arterial infusion chemotherapy in the management of colorectal cancer liver metastases. *Hepat Oncol*. 2015;2(3):275–290. DOI: 10.2217/hep.15.9.
33. Bondar GV, Ischenko RV, Sidyuk AV, et al. Immediate results of regional chemotherapy in locally advanced pancreatic cancer. *Bulletin of rehabilitation medicine*. 2012;13(3):321–323. In Russian [Бондарь Г.В., Ищенко Р.В., Сидюк А.В. и др. Непосредственные результаты регионарной химиотерапии при местнораспространенном раке поджелудочной железы. Вестник неотложной и восстановительной медицины. 2012;13(3):321–323.]
34. Granov DA, Pavlovskiy AV, Suvorova IuV, et al. Neoadjuvant intra-arterial oil chemoembolization and adjuvant selective intra-arterial chemoinfusion in the combined treatment of pancreatic cancer. *Vopr Onkol*. 2008;54(4):501–503. In Russian [Гранов Д.А., Павловский А.В., Суворова Ю.В. и др. Неоадьювантная внутриартериальная масляная химиоэмболизация и адьювантная регионарная химиоинфузия в комбинированном лечении рака поджелудочной железы. Вопросы онкологии. 2008;54(4):501–503.]
35. Granov DA, Polikarpov AA, Pavlovskiy AV, et al. Evaluation of intra-arterial chemotherapy safety by using of gemcitabine and oxaliplatin in combined treatment of pancreatic head adenocarcinoma. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii = Annals of HPB Surgery*. 2017;22(2):54–59. In Russian [Гранов Д.А., Поликарпов А.А., Павловский А.В. и др. Оценка безопасности внутриартериальной химиотерапии гемцитабином и оксалиплатином в комбинированном лечении аденокарциномы головки поджелудочной железы. Анналы хирургической гепатологии. 2017;22(2):54–59.] DOI: 10.16931/1995-5464.2017254-59.
36. Gulo AS. The role of intra-arterial chemotherapy with gemcitabine in the radical surgical treatment of patients with adenocarcinoma of the pancreatic head. 2013, Saint Petersburg. p.126. In Russian [Гуло А.С. Роль внутриартериальной химиотерапии гемцитабином при радикальном хирургическом лечении пациентов с аденокарциномой головки поджелудочной железы. 2013, СПб. С. 126.]
37. Tarazov PG, Polikarpov AA, Pavlovsky AV, et al. Regional chemotherapy for locally advanced pancreatic cancer. *Mezhdunarodniy zhurnal interventzionnoy kardioangiologii=International Journal of Interventional Cardioangiology*. 2011;24:113. In Russian [Таразов П.Г., Поликарпов А.А., Павловский А.В. и др. Регионарная химиотерапия местно-распространенного рака поджелудочной железы. Международный журнал интервенционной кардиоангиологии. 2011;24:113.]
38. Tibilov AM, Baimatov MS. Regional chemotherapy in the treatment of inoperable pancreatic cancer. *Journal Diagnostic & interventional radiology*. 2008;2(1): 111–114. In Russian [Тибилев А.М., Байматов М.С. Регионарная химиотерапия в лечении неоперабельного рака поджелудочной железы. Журнал «Диагностическая и интервенционная радиология». 2008;2(1):111–114.]
39. Shabunin AV, Kaprin DA, Tavobilov MM. Preoperative regional chemotherapy in the treatment of patients with pancreatic head carcinoma. *P. A. Herzen Journal of Oncology*. 2018;7(2):51–56. In Russian [Шабунин А.В., Каприн Д.А., Тавобилов М.М. Предоперационная регионарная химиотерапия в лечении больных раком головки поджелудочной железы. Онкология. Журнал им. П. А. Герцена. 2018;7(2):51–56.] DOI:10.17116/onkolog20187251-56.
40. Granov AM, Davydov MI. *Interventional radiology in oncology (development paths and technologies)*. St. Petersburg: Foliant Publishing LLC, 2013 p.560. In Russian [Гранов А.М., Давыдов М.И. Интервенционная радиология в онкологии (пути развития и технологии). СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2013. С. 560.]
41. Goffredo V, Gadaleta CD, Laterza A, et al. Tryptase serum levels in patients suffering from hepatocellular carcinoma undergoing intra-arterial chemoembolization: Possible predictive role of response to treatment. *Mol Clin Oncol*. 2013;1(2):385–389. DOI: 10.3892/mco.2013.59.
42. Ikeda O, Kusunoki S, Kudoh K, et al. Evaluation of the efficacy of combined continuous arterial infusion

and systemic chemotherapy for the treatment of advanced pancreatic carcinoma. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2006;29(3):362–370. DOI: 10.1007/s00270-004-7177-1.

43. Ranieri G, Ammendola M, Marech I, et al. Vascular endothelial growth factor and tryptase changes after chemoembolization in hepatocarcinoma patients. *World J Gastroenterol*. 2015;21(19):6018–6025. DOI: 10.3748/wjg.v21.i19.6018.

44. Dolgushin BI. Diagnostic and Interventional Radiology. *Journal of N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center*. 2002;13(1):3–12. In Russian [Долгушин Б.И. Интервенционная радиология в онкологии. Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. 2002;13(1):3–12.]

45. Usdyonov MB. Pancreatic cancer: the current state of the problem. *Uspehi sovremennoy nauki=Modern Science Success*. 2017;1(8):30–34. In Russian [Узденов М.Б. Рак поджелудочной железы: современное состояние проблемы. Успехи современной науки. 2017;1(8):30–34.]

46. Zimmerman YaS. Pancreatic cancer: Terra incognita of modern gastroenterology. *Clinical medicine (Russian Journal)*. 2015;93(10):5–13. In Russian [Циммерман Я.С. Рак поджелудочной железы: Terra incognita современной гастроэнтерологии. Клиническая медицина. 2015;93(10):5–13.]

47. Andersson R, Haglund C, Seppänen H, et al. Pancreatic cancer — the past, the present, and the future. *Scand J Gastroenterol*. 2022;57(10):1169–1177. DOI: 10.1080/00365521.2022.2067786.

48. Cantore M, Pederzoli P, Cornalba G, et al. Intra-arterial chemotherapy for unresectable pancreatic cancer. *Ann Oncol*. 2000;11(5):569–573. DOI: 10.1023/a:1008335331516.

49. de Sousa Cavalcante L, Monteiro G. Gemcitabine: metabolism and molecular mechanisms of action, sensitivity and chemoresistance in pancreatic cancer. *Eur J Pharmacol*. 2014; 741:8–16. DOI: 10.1016/j.ejphar.2014.07.041.

50. Spasokoukotskaja T, Arnér ES, Brosjö O, et al. Expression of deoxycytidine kinase and phosphorylation of 2-chlorodeoxyadenosine in human normal and tumour cells and tissues. *Eur J Cancer*. 1995;31A(2):202–208. DOI: 10.1016/0959-8049(94)00435-8.

51. Fu D, Ni Q, Yu X, et al. Regional intra-arterial infusion chemotherapy for pancreatic cancer: an experimental study. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2002;82(6):371–375.

52. Tanaka T, Yamamoto K, Sho M, et al. Pharmacokinetic evaluation of pancreatic arterial infusion chemotherapy after unification of the blood supply in an animal model. *J Vasc Interv Radiol*. 2010;21(1):116–121. DOI: 10.1016/j.jvir.2009.09.027.

53. Kakizaki K, Yamauchi H, Takahashi N, et al. Long-term arterial infusion chemotherapy in unresectable pancreatic cancer. *Gan To Kagaku Ryoho*. 1989 Aug; 16(8 Pt 2):2740–2742.

54. Homma H, Doi T, Mezawa S, et al. A novel arterial infusion chemotherapy for the treatment of patients with advanced pancreatic carcinoma after vascular supply distribution via superselective embolization. *Cancer*. 2000;89(2):303–313.

55. Cantore M, Fiorentini G, Luppi G, et al. Gemcitabine versus FLEC regimen given intra-arterially to patients with unresectable pancreatic cancer: a prospective, randomized phase III trial of the Italian Society for Integrated Locoregional Therapy in Oncology. *J Chemother*. 2004 Dec; 16(6):589–594. DOI: 10.1179/joc.2004.16.6.589.

56. Aigner KR, Gailhofer S. Celiac axis infusion and microembolization for advanced stage III/IV pancreatic cancer — a phase II study on 265 cases. *Anticancer Res*. 2005; 25(6C):4407–4412.

57. Mambrini A, Sanguinetti F, Pacetti P, et al. Intra-arterial infusion of 5-fluorouracil, leucovorin, epirubicin and carboplatin (FLEC regimen) in unresectable pancreatic cancer: results of a ten-year experience. *In Vivo*. 2006;20(6A):751–755.

58. Ishikawa T, Kamimura H, Tsuchiya A, et al. Clinical efficacy of intra-arterial pharmacokinetic chemotherapy with 5-fluorouracil, CDDP, gemcitabine, and angiotensin-II in patients with advanced pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology*. 2007;54(80):2378–2382.

59. Miyanishi K, Ishiwatari H, Hayashi T, et al. A Phase I trial of arterial infusion chemotherapy with gemcitabine and 5-fluorouracil for unresectable advanced pancreatic cancer after vascular supply distribution via superselective embolization. *Jpn J Clin Oncol*. 2008;38(4):268–274. DOI: 10.1093/jjco/hyn015.

60. Sasada T, Denno R, Tanaka T, et al. Intra-arterial infusion chemotherapy with 5-fluorouracil and cisplatin in advanced pancreatic cancer: a feasibility study. *Am J Clin Oncol*. 2008;31(1):71–78. DOI: 10.1097/COC.0b013e31807a328c.

61. Tanaka T, Sho M, Nishiofuku H, et al. Unresectable pancreatic cancer: arterial embolization to achieve a single blood supply for intraarterial infusion of 5-fluorouracil and full-dose IV gemcitabine. *AJR Am J Roentgenol*. 2012;198(6):1445–1452. DOI: 10.2214/AJR.11.8008.

62. Liu F, Tang Y, Sun J, et al. Regional intra-arterial vs. systemic chemotherapy for advanced pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One*. 2012;7(7):e40847. DOI: 10.1371/journal.pone.0040847.

63. Chen Y, Wang XL, Wang JH, et al. Transarterial infusion with gemcitabine and oxaliplatin for the treatment of unresectable pancreatic cancer. *Anticancer Drugs*. 2014;25(8):958–963. DOI: 10.1097/CAD.0000000000000120.

64. Liu X, Yang X, Zhou G, et al. Gemcitabine-Based Regional Intra-Arterial Infusion Chemotherapy in Patients With Advanced Pancreatic Adenocarcinoma.

Medicine (Baltimore). 2016;95(11):e3098. DOI: 10.1097/MD.0000000000003098.

65. Qiu B, Zhang X, Tsao J, et al. Transcatheter arterial infusion for pancreatic cancer: a 10-year National Cancer Center experience in 115 patients and literature review. *Abdom Radiol (NY)*. 2019;44(8):2801–2808. DOI: 10.1007/s00261-019-02022-2.

66. Heinrich S, Kraft D, Staib-Sebler E, et al. Phase II study on combined intravenous and intra-arterial chemotherapy with gemcitabine and mitomycin C in patients with advanced pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology*. 2013;60(126):1492–1496. DOI: 10.5754/hge11805.

67. Uwagawa T, Misawa T, Tsutsui N, et al. Phase II study of gemcitabine in combination with regional arterial infusion of nafamostat mesilate for advanced pancreatic cancer. *Am J Clin Oncol*. 2013;36(1):44–48. DOI: 10.1097/COC.0b013e31823a53b2.

68. Barletta E, Fiore F, Daniele B, et al. Second-line intra-arterial chemotherapy in advanced pancreatic adenocarcinoma. *Front Biosci*. 2006;11:782–787. DOI: 10.2741/1836.

69. Kulikov VA, Belyaeva LE. Cancer cell metabolism as a therapeutic target. *Vestnik Vitebskogo Gosudarstvennogo Meditsinskogo Universiteta*. 2016;15(6):7–20. In Russian [Куликов В.А., Беляева Л.Е. Метаболизм раковой клетки как терапевтическая мишень. Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2016;15(6):7–20.] DOI: 10.22263/2312-4156.2016.6.7.

70. Miller DW, Fontain M, Kolar C, et al. The expression of multidrug resistance-associated protein (MRP) in pancreatic adenocarcinoma cell lines. *Cancer Lett*. 1996;107(2):301–306. DOI: 10.1016/0304-3835(96)04384-4.

Информация об авторах:

Каприн Дмитрий Андреевич, заместитель главного врача по перспективному развитию, ГБУЗ «Городская клиническая больница им. М. П. Кончаловского департамента здравоохранения Москвы».

Author information:

Dmitriy A. Kaprin, deputy Chief Physician for Prospective Development, Konchalovsky City Clinical Hospital.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ АМИЛОИДНОГО ПОРАЖЕНИЯ МИОКАРДА: НЕ ТОЛЬКО ATTR И AL. КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Андреева С. Е.¹, Снетков П. П.², Вахрушев Ю. А.¹, Пьянков И. А.²,
Язневич О. О.¹, Борцова М. А.¹, Морозкина С. Н.², Каява А. В.³,
Костарева А. А.¹, Успенская М. В.²

Контактная информация:

Костарева Анна Александровна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: anna.kostareva@ki.se

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

² Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования «Национальный
исследовательский университет ИТМО», Санкт-Петербург, Россия

³ Исследовательский центр клеточной биологии Монпелье,
Монпелье, Франция

Статья поступила в редакцию 07.11.2022
и принята к печати 12.12.2022.

Резюме

Нарушение работы системы протеостаза и накопление конформационно-измененных белков в миокарде — одна из новых концепций патогенеза хронической сердечной недостаточности (ХСН). Мы предположили, что помимо хорошо изученных форм транстиретинового (ATTR) и AL-амилоидоза, у ряда пациентов может развиваться амилоидное поражение миокарда из ранее не описанных амилоидных предшественников, в связи с нарушением фолдинга структурных белков миокарда. Мы приводим описание клинического случая пациента с гипертрофическим и рестриктивным фенотипом кардиомиопатии, клиникой бивентрикулярной сердечной недостаточности, потребовавшей решения вопроса о трансплантации сердца, у которого были исключены известные формы амилоидоза.

По данным генетического тестирования у пациента была выявлена протяженная делеция в гене гигантского протеина тайтина (*TTN*). С помощью методов биоинформатического анализа и молекулярного моделирования мы показываем, как данная мутация потенциально могла привести к разворачиванию соответствующего ему белка и открытию мотивов, склонных к агрегации, для межмолекулярных взаимодействий и, таким образом, придать данному протеину амилоидогенные свойства.

Полученные результаты позволяют более детально расшифровать молекулярный патогенез ХСН на фоне кардиомиопатий и послужить планированию дальнейших исследований с целью индивидуального профилирования рисков при различных формах амилоидоза и разработки более персонализированного лечения таких пациентов в будущем.

Ключевые слова: амилоид, биоинформатический анализ, миокард, молекулярное моделирование, протеостаз, тайтин, хроническая сердечная недостаточность, *TTN*.

Для цитирования: Андреева С.Е., Снетков П.П., Вахрушев Ю.А., Пьянков И.А., Язневич О.О., Борцова М.А., Морозкина С.Н., Каява А.В., Костарева А.А., Успенская М.В. Молекулярные основы амилоидного поражения миокарда: не только ATTR и AL. Клинический случай. Трансляционная медицина. 2022;9(6):26-35. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-26-35

MOLECULAR BASIS OF AMYLOID DEPOSITION IN MYOCARDIUM: NOT ONLY ATTR AND AL. CASE REPORT

Sofiya E. Andreeva¹, Petr P. Snetkov², Yurii A. Vakhrushev¹,
Ivan A. Piankov², Oksana O. Yaznevich², Mariya A. Bortsova¹,
Svetlana N. Morozkina², Andrey V. Kajava³, Anna A. Kostareva¹,
Mayya V. Uspenskaya²

Corresponding author:

Anna A. Kostareva,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: anna.kostareva@ki.se

¹ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

² ITMO University, Saint Petersburg, Russia

³ Montpellier Cell Biology Research Center, Montpellier, France

Received 07 November 2022; accepted
12 December 2022.

Abstract

Alterations in the proteostasis network and accumulation of misfolded protein aggregates — is one of the new pathogenesis concepts of chronic heart failure. We hypothesis in addition to well-known transthyretin (ATTR) and AL-amyloidosis some patients may represent amyloid lesion in myocardium came from undescribed amyloidogenic precursors due to misfolding of myocardial structural proteins.

Here, we report on the case of patient with hypertrophic and restrictive phenotype of cardiomyopathy, biventricular heart failure, considered for heart transplant, and excluded known types of amyloidosis. Genetic testing revealed extended deletion in the gene of giant protein titin (*TTN*).

We present with the use of bioinformatic analysis and molecular modeling how this mutation could lead to unfolding of corresponding protein and open its amyloidogenic motifs for intermolecular interactions, therefore, provide amyloidogenic ability. This data enables in more detail to decipher the pathogenesis of chronic heart failure on the background of cardiomyopathy, planning further studies for development of personalized risk profiling in different types of amyloidosis and elaborate more personalized treatment approach for such patients in the future.

Key words: amyloid, bioinformatic analysis, chronic heart failure, molecular modeling, myocardium, proteostasis, titin, *TTN*.

For citation: Andreeva SE, Snetkov PP, Vakhrushev YuA, Piankov IA, Yaznevich OO, Bortsova MA, Morozkina SN, Kajava AV, Kostareva AA, Uspenskaya MV. Molecular basis of amyloid deposition in myocardium: not only ATTR and AL. Case report. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2022; 9(6):26-35. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-26-35

Список сокращений: ЛГ — легочная гипертензия, ЛЖ — левый желудочек, ФВ — фракция выброса, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, ХСНсФВ — хроническая сердечная недостаточность с сохранной фракцией выброса, ЭхоКГ — эхокардиография, ATTR — транстиретиновый амилоидоз, ATTRmut — транстиретиновый амилоидоз вследствие мутации в гене транстиретина, ATTRwt — транстиретиновый амилоидоз «дикого» типа.

Введение

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) остается одной из ведущих причин смерти в мире [1]. Согласно существующим моделям, она представляет растущую угрозу для здравоохранения будущего, преимущественно за счет когорты пожилых пациентов с сохранной фракцией выброса (ХСНсФВ) [1, 2]. Несмотря на значительные достижения в лечении ХСН в последние годы, для ХСНсФВ существует меньше

препаратов, влияющих на прогноз, что во многом связывают с большой гетерогенностью когорты ХСНсФВ в плане этиологии [1]. Относительно недавно ХСН и, в особенности, ХСНсФВ и основные предрасполагающие к ней факторы — старение, гипертензия, ожирение, сахарный диабет 2 типа — были ассоциированы с нарушениями в протеостазе и накоплением конформационно-измененных белков [3–5].

Одним из ярких примеров данного патогенетического механизма является амилоидное поражение сердца [1]. Точная его распространенность неизвестна, однако, по данным одного исследования, амилоидное поражение выявлялось у 14 % пациентов с сохранной фракцией выброса после эндомикардиальной биопсии [6]. В основе амилоидоза сердца лежит отложение нерастворимых макромолекулярных белковых масс, которые, образовавшись, не могут быть утилизированы системами протеостаза и белковой деградации. Находясь в интерстициальном пространстве миокарда или внутри самих кардиомиоцитов, такие массы нарушают механические свойства ткани, внутриклеточный гомеостаз, эластичность и сократимость, неблагоприятно влияют на процесс механотрансдукции и компенсаторной гипертрофии. Это ведет к формированию различных фенотипов кардиомиопатий — наиболее часто гипертрофической и рестриктивной, — что сопровождается развитием сначала диастолической, а на поздних стадиях и систолической дисфункции и сердечной недостаточности [3, 4, 7–9]. Инфильтрация проводящей системы приводит к блокадам проведения и фибрилляции предсердий, которая возникает практически у всех пациентов с амилоидозом сердца и ассоциирована с внутрисердечным тромбозом [9].

Отложения, возникающие в процессе амилоидоза, состоят из фибрилл, которые обычно образуются белками с длинными (более 30 остатков) участками с неструктурированной конформацией либо нестабильными и неправильно свернутыми третичными структурами [10]. Несмотря на разнообразие известных амилоидных предшественников, все они в итоге образуют базовый мотив в виде β -складчатого слоя [11]. Последний формирует характерные жесткие, неразветвленные, линейные фибриллы диаметром около 6–12 нм [11–13]. β -складчатые слои формируют β -арки, в которых слои взаимодействуют друг с другом по типу «стерической молнии», подобной молнии-застежке, что придает исключительную стабильность всей амилоидной фибрилле и обуславливает ее способность к самосборке [11, 12].

Вышеописанный механизм развития амилоидоза в принципе является универсальным и лежит в основе многих вариантов амилоидного поражения различных систем и органов, а также близок по молекулярному механизму ко многим заболеваниям, ассоциированным с накоплением малорастворимых белковых субстанций и нарушением белкового протеостаза, таким как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, многие формы скелетно-мышечных миопатий [11].

Амилоидогенез зависит от трех базовых факторов: конформационных свойств белка-предшественника амилоида, способности развернутых или структурно нестабильных участков к формированию амилоидных фибрилл и состояния системы протеостаза в организме у конкретного человека. Под протеостазом подразумевается баланс между синтезом, фолдингом белков и своевременным удалением старых, неправильно свернутых и поврежденных протеинов [4]. К основным эффекторным путям системы протеостаза относят направленную аккумуляцию и утилизацию неправильно свернутых белков в эндоплазматическом ретикулуле или в митохондриях, повышение экспрессии белков теплового шока и других шапероновых структур, а также пути деградации — убиквитин-протеасомную систему и аутофагию [3, 14, 15]. Еще одним фактором, определяющим амилоидогенный потенциал белка, являются его природные конформационные свойства, зависимость правильного сворачивания белка от шаперонов, степень испытываемого механического воздействия и эффективность работы систем белковой деградации в микроокружении. Локализация же амилоидных отложений во многом определяется характером формирующихся эпитопов при аномальной агрегации белка и их тропностью к белкам внеклеточного матрикса различных органов и систем [9, 16].

Так, пониженная структурная стабильность, конформационная неустойчивость белка транстиретина — сывороточного переносчика тиреоидных гормонов и ретинола — на фоне возрастного понижения эффективности белков-шаперонов приводит к формированию транстиретинового амилоидоза (ATTR) «дикого» типа (ATTRwt) — формы, которая раньше называлась сенильным амилоидозом [9, 16]. Тропность транстиретина к матриксным белкам, локализующимся, в частности, в миокарде, определяет его преимущественную локализацию в интерстициальном пространстве сердца и паренхиматозных органов и тот факт, что ATTRwt является одной из самых частых причин амилоидного поражения миокар-

да в пожилом возрасте. Еще большей тропностью к миокарду и склонностью к прогрессирующему агрессивному амилоидообразованию обладают мутантные формы транстиретина, что лежит в основе классического не сенильного транстиретинового амилоидоза (ATTRmut), который ранее назывался семейной формой ATTR [9, 17]. Схожий механизм поражения миокарда наблюдается при AL-амилоидозе, обусловленном большой концентрацией сывороточных молекул легких цепей иммуноглобулинов при онкогематологической патологии [18]. Спектр *сывороточных* предшественников амилоида постепенно расширяется, что ведет к описанию новых форм амилоидоза с интерстициальным поражением преимущественно почек и печени (LECT2), органа зрения и нервной системы (гелзолин), легких [19, 20].

Формирование нерастворимых белковых агрегатов может происходить и внутри самой клетки. Так, нарушение внутриклеточной работы системы протеостаза приводит не только к формированию классических амилоидных структур, но и к накоплению белковых масс в виде олигомеров, отдельных фибрилл и аморфных агрегатов [3]. Миофибриллярные миопатии, актинопатия и болезнь накопления миозина являются хорошо известными примерами из этой группы заболеваний [21, 22].

Диагностика амилоидоза сердца включает в себя как неинвазивные методы, такие как электрофорез, иммунофиксация белков крови и мочи, сцинтиграфия сердца с ⁹⁹Tc-DPD, генетическое тестирование (при подозрении на наследственные варианты амилоидоза), так и морфологическое исследование биоптатов различной локализации с окрашиванием в красный цвет Конго и поляризационной микроскопией [23].

Согласно большому числу публикаций по нарушению протеостаза при сердечной недостаточности, количество амилоидных протеинов, ассоциированных с поражением именно сердца, остается неизменным [3–5, 9]. Тем не менее, у ряда пациентов с агрессивным течением кардиомиопатий, положительной морфологической окраской на амилоидоз (Конго красный, Сириус красный), а также данными сцинтиграфии в пользу амилоидного поражения сердца нам не удавалось проверить известные кардиальные формы амилоида (ATTRwt, ATTRmut или AL-амилоидоз), что позволило заподозрить у них накопление амилоидных структур из ранее не описанных амилоидогенных белков-предшественников. Раскрытие молекулярных механизмов амилоидогенеза на примере этих случаев может стать шагом на пути к поиску бо-

лее эффективных терапевтических подходов у таких пациентов и при сердечной недостаточности в целом.

В данной работе представлен пример пациента с рестриктивным фенотипом кардиомиопатии, клиническими признаками подозрительными в отношении амилоидного поражения миокарда и отсутствием данных за известные формы амилоидоза сердца (AL или ATTR). Нашей задачей являлась идентификация новых белков, способных инициировать или усугубить амилоидное поражение миокарда с помощью методов секвенирования нового поколения, а также подходов молекулярного моделирования и биоинформатики, с целью оценки влияния мутаций в идентифицированных белках-кандидатах на предмет участия в амилоидогенезе.

Клинический случай

Мужчина 64 лет поступил в кардиологическое отделение федерального центра с жалобами на чувство нехватки воздуха и давящие боли за грудиной при незначительных физических нагрузках (ходьба на 40–60 метров). Пациент страдал артериальной гипертензией, имел постоянную форму фибрилляции предсердий около 10 лет, а также ишемическую болезнь сердца, которая была подтверждена по результатам стресс-эхокардиографии. Состояние пациента значительно ухудшалось в течение года до обращения, когда стали нарастать признаки прогрессирования сердечной недостаточности по обоим кругам кровообращения вплоть до эпизодов ортопноэ. Сопутствующие заболевания были представлены сахарным диабетом 2-го типа, облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей. Индекс курильщика — 38 пачка/лет.

Электрокардиограмма при поступлении выявила нормосистолическую форму фибрилляции предсердий и снижение вольтажа комплекса QRS во всех отведениях, эпизоды неустойчивой желудочковой тахикардии. По данным эхокардиографии (ЭхоКГ), у пациента была снижена фракция выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) по Симпсон до 24 %, миокард левого желудочка был умеренно утолщен, а соотношение размеров камер сердца носило рестриктивный характер: предсердия превышали размеры желудочков (табл. 1). Также имела место легочная гипертензия (ЛГ) умеренной степени и наличие умеренного выпота в полости перикарда. Анализ архива ЭхоКГ показал, что 10 лет назад ФВ ЛЖ была в норме, отмечалась гипертрофия ЛЖ по концентрическому типу с толщиной стенок миокарда до 16 мм,

Таблица 1. Результаты ЭхоКГ пациента с рестриктивным фенотипом кардиомиопатии в возрасте 64 лет

Сокращения: ЗС — задняя стенка левого желудочка, КДО — конечный диастолический объем, КДР — конечный диастолический размер, КСО — конечный систолический объем, КСР — конечный систолический размер, МЖП — межжелудочковая перегородка, УО — ударный объем, TAPSE — систолическая экскурсия кольца трикуспидального клапана.

Table 1. ECHO CG results of a patient with a restrictive cardiomyopathy phenotype at the age of 64 years

Параметры	Описание
Фракция выброса левого желудочка по Simpson, %	24
Левое предсердие	Объем 154 мл, индекс объема 82 мл/м ² Размер 60 мм
Левый желудочек	МЖП 12 мм, ЗС 12 мм КДР 46 мм, КСР 40 мм КДО 93 мл, индекс объема 49 мл/м ² КСО 73 мл, индекс объема 38 мл/м ² УО 20 мл
Индекс массы миокарда левого желудочка, г/м ²	109
Относительная толщина стенок левого желудочка	0,52
Правое предсердие, мм	48*67
Правый желудочек, мм	45
TAPSE, мм	9
Расчетное систолическое давление в легочной артерии	67 мм рт. ст. Нижняя полая вена спадается менее 50 %
Клапанный аппарат	Митральная регургитация 2 степени, трикуспидальная регургитация 2 степени
Расхождение листков перикарда	Максимально до 27 мм

и пациент долгое время трактовался в рамках диагноза ГКМП.

Проведено комплексное обследование, которое исключило возможные причины ухудшения: не выявлено гемодинамически значимого поражения коронарного русла при коронарной ангиографии, данных за текущий или констриктивный перикардит также получено не было. Снижение сократительной способности миокарда на фоне отсутствия дилатации, рубцовых изменений, стенозов коронарных артерий при сохранении умеренной толщины стенок миокарда заставило в качестве дифференциального диагноза исключать первичные генетически обусловленные заболевания миокарда, а также болезни накопления.

В связи с подозрением на амилоидоз сердца (рестриктивный фенотип, выпот в полости перикарда, снижение сократительной способности ми-

окарда при концентрическом ремоделировании) была выполнена магнитно-резонансная томография сердца, которая подтвердила отсутствие значимых рубцовых изменений миокарда и признаков известных болезней накопления.

Мужчина рассматривался в качестве кандидата на включение в лист ожидания трансплантации сердца, однако от данной стратегии было решено воздержаться в связи со множественной сопутствующей патологией и возрастом пациента. Была назначена комплексная терапия ХСН, включая сартаны, антагонисты минерал-кортикоидных рецепторов, бета-адреноблокаторы, ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера и петлевые диуретики, на фоне которой через 6 месяцев наблюдалось клиническое улучшение, явления сердечной недостаточности были компенсированы на уровне III функционального класса.

Генетическое исследование, биоинформатический анализ и молекулярное моделирование

Для уточнения молекулярной причины заболевания было выполнено сначала целевое (панель генов, ассоциированных с наследственным поражением миокарда), а в последующем экзомное секвенирование (параллельное экзомное секвенирование на приборе Illumina Nexseq 2000 с исполь-

зованием набора целевых экзомных зондов), проведен анализ выявленных генетических вариантов и дана их оценка в соответствии с действующими рекомендациями ACMG по интерпретации данных о последовательности ДНК человека. Было выявлено несколько генетических вариантов, потенциально ассоциированных с поражением миокарда: патогенный вариант в гене *TTN* (NM_001256850.1:c.69185_69186delCA: p.Leu23062GlnfsTer28)

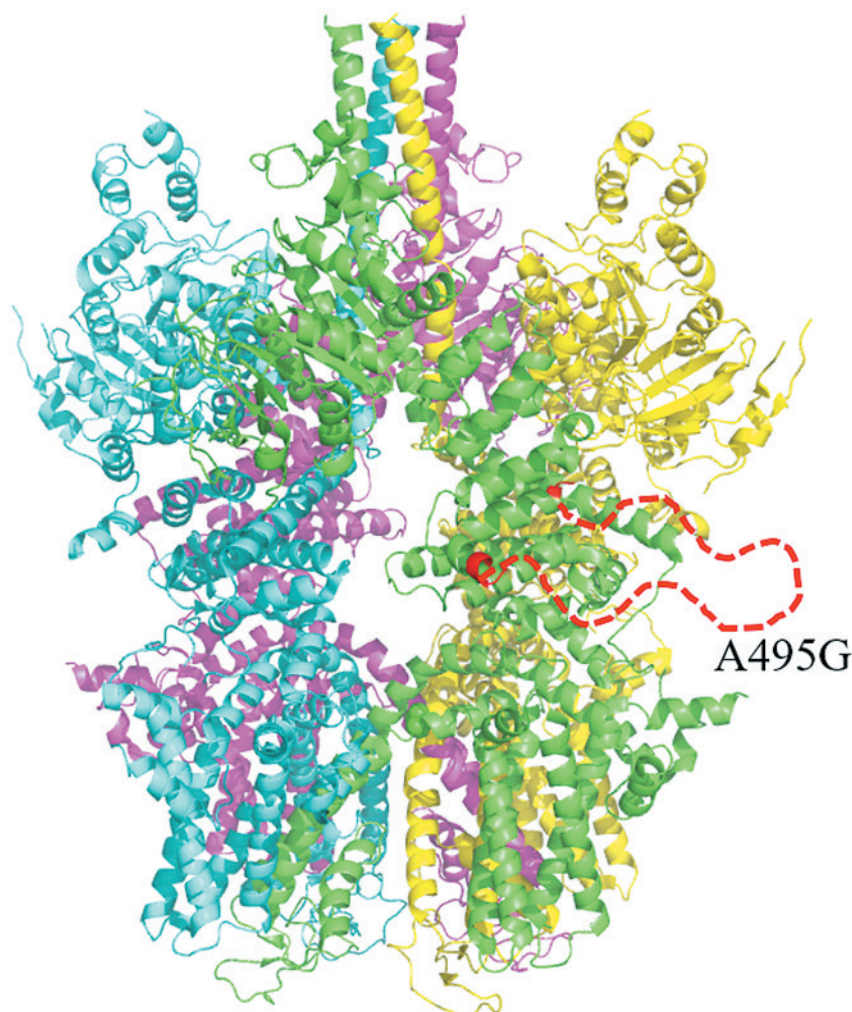


Рис. 1. Трехмерная структура катионного канала временного рецепторного потенциала TRPM4, определенная методом криоэлектронной микроскопии (код PDB 5WP6)

Отдельные субъединицы рецептора окрашены в зеленый, голубой, фиолетовый и желтый цвета. Замена A495G расположена в области, которая не была экспериментально определена в структуре. Эта область имеет гибкую, динамическую конформацию и схематично показана на одном из мономеров канала прерывистой красной линией. Рисунок подготовлен с использованием программы PyMol [31].

Figure 1. Three-dimensional structure of the TRPM4 temporal receptor potential cation channel determined by cryoelectron microscopy (PDB code 5WP6)

The individual subunits of the receptor are colored green, blue, violet, and yellow. The A495G substitution is located in a region that has not been experimentally determined in the structure. This region has a flexible, dynamic conformation and is shown schematically on one of the channel monomers as a dashed red line. The figure was prepared using the PyMol program [31].

и вероятно патогенный вариант в гене *MYH7* (14:23432746-G-A, *MYH7*:p.P132L, COSV62516204), а также вариант неопределенной значимости в гене *TRPM4* (rs756114804). Вариант P132L в гене *MYH7* ранее был ассоциирован с развитием гипертрофической кардиомиопатии и, вероятнее всего, определял у данного пациента развитие гипертрофии миокарда с толщиной стенок 16 мм и фенотип ГКМП на ранних этапах развития заболевания до присоединения систолической дисфункции и признаков рестриктивного ремоделирования. Таким образом, вклад варианта P132L в гене *MYH7* в формирование изначальных признаков заболевания с учетом данных литературы не представлялся сомнительным, однако он не мог полностью объяснить наблюдаемую у пациента динамику развития заболевания.

На следующем этапе нами было проведено сопоставление наблюдаемых аминокислотных замен в белках *TRPM4* и *TTN* с нативными белковыми структурами. В своем анализе влияния мутации на нативные структуры мы использовали банк данных PDB известных 3D-структур [24]. Когда необходимые структуры не были найдены в PDB, они были смоделированы новым методом молекулярного моделирования, AlphaFold (рис. 1 и 2) [25, 26]. Были проведен анализ пространственных структур нативных белков и их сравнение со структурами, содержащими мутации.

Далее нами был проведен биоинформатический анализ аминокислотных последовательностей выбранных белков и их мутантов с целью предсказания амилоидогенности. Для этого анализа использовался недавно разработанный пайплайн TAPASS [27, 28]. Этот пайплайн позволяет

обнаруживать амилоидогенные области, расположенные в неупорядоченных областях белков, что значительно улучшает предсказание образования амилоидов.

Первым был проанализирован вариант *TRPM4* (NM_017636.4):c.1484C>G(p.Ala495Gly) в белке кальций-активируемого неселективного катионного канала TRPM4. Трехмерная структура TRPM4 известна и представляет собой пору, образованную в мембране четырьмя идентичными цепями (рис. 1) [29, 30]. Локализация замены Ala495Gly в 3D-структуре показала, что она расположена в плохо структурированном участке и на периферии поры. Такая мутация не может повлиять на стабильность центральной части (кора) нативной структуры. В то же время, будучи неструктурированным, этот участок белка открыт для межмолекулярных взаимодействий, которые могут привести к агрегации. В целом, замена аланина на маленький глицин может увеличить агрегационный потенциал этой области, однако биоинформатические программы для предсказания амилоидогенности не обнаружили там склонных к агрегации мотивов [28].

На следующем этапе был детально проанализирован вариант *Leu23062GlnfsTer28* в гене *TTN*. Тайтин — самая длинная белковая молекула, состоящая из 26 000–34 000 остатков, и мутация представляет собой большую делецию — примерно половину всего белка [32]. Тайтин состоит из tandemных повторов домена, размером около 100 аминокислотных остатков [32]. Делеция затрагивает несколько полных доменов, образующих tandemные повторы, а также часть одного из доменов, в котором отсутствует существенная часть структуры (рис. 2). Такое изменение может привести к структурной дестаби-

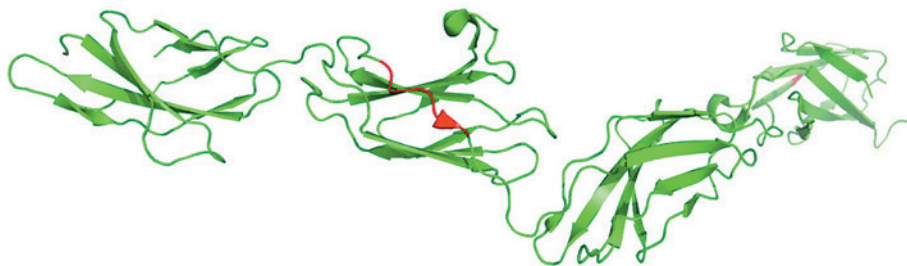


Рис. 2. Структурная модель фрагмента тайтина из четырех повторяющихся доменов

Красным цветом показано начало протяженной делеции в одном из доменов — примерно в положении 15 600 молекулы на 26 000–34 000 остатков. Рисунок подготовлен с использованием программы PyMol [31].

Figure 2. Structural model of a titin fragment of four repeat domains

Red color shows the beginning of an extended deletion in one of the domains — approximately at position 15 600 of the molecule for 26 000–34 000 residues. The figure was prepared using the PyMol program [31].

лизации или полному разворачиванию укороченного домена (рис. 2). Предсказание амилоидогенности укороченного домена продемонстрировало, что в его последовательности есть несколько склонных к агрегации мотивов. В отсутствие делеции эти амилоидогенные участки скрыты внутри 3D-структур доменов. Удаление же части домена может дестабилизировать структуру и открыть мотивы, склонные к агрегации, для межмолекулярных взаимодействий. Все это может привести к нарушению белковой структуры и указывать на непосредственное вовлечение данного белка в формирование внутриклеточных белковых агрегатов, ассоциированных с развитием кардиомиопатий.

Обсуждение

В представленном клиническом случае у пациента пожилого возраста с изначальным диагнозом ГКМП наблюдались клинические признаки, характерные для болезней накопления или амилоидного поражения миокарда, как то: рестриктивный фенотип кардиомиопатии, снижение сократимости миокарда на фоне отсутствия значимых стенозов коронарных артерий и рубцовых изменений в миокарде, низкий вольтаж комплексов QRS. Однако инструментальное, лабораторное и генетическое тестирование не подтвердило у пациента наличия наиболее частых форм амилоидного поражения сердца (ATTRwt, ATTRmut и AL-амилоидоза) [33]. Наличие гипертонической болезни, ишемической болезни сердца, сахарного диабета 2 типа и генерализованного атеросклероза, вероятно, могло способствовать диастолической и систолической дисфункции миокарда у данного пациента, однако не объясняло до конца прогрессирующего течения сердечной недостаточности и формирования систолической дисфункции и рестриктивного ремоделирования на фоне изначальных признаков ГКМП [34]. В связи с этим мы провели поиск молекулярно-генетических причин развития патологии и анализ потенциальной амилоидогенности выявленных вариантов для определения их вклада в прогрессирование заболевания. В результате экзомного секвенирования был обнаружен вариант в гене *MYH7*, характерный для ГКМП, а также варианты в генах *TRPM4* и *TTN*. Вариант в гене *MYH7* наиболее вероятно определял развитие гипертрофии левого желудочка у данного пациента на ранних этапах заболевания, однако его наличие изолированно не могло объяснить развитие систолической дисфункции и низкий вольтаж комплексов QRS на ЭКГ, что заставило провести дополнительный анализ, направленный на выявление потенциальных причин болезней накопления или амилоид-

ного поражения миокарда. Существует несколько причин, по которым мутации могут способствовать образованию белком агрегатов или амилоида. Во-первых, мутации могут изменять сворачивание белка в его нативную структуру [27]. Во-вторых, они могут дестабилизировать нативную трехмерную структуру белка, а развернутые области белка могут открывать свои валентности для межмолекулярных взаимодействий, наблюдаемых в амилоидах [27]. Наконец, мутации могут локально увеличивать амилоидообразующий потенциал белков [27]. Поэтому далее выявленные в генах *TRPM4* и *TTN* варианты были подробно проанализированы биоинформатическими методами на предмет их вовлечения в рассматриваемую кардиомиопатию.

Анализ варианта *TRPM4* не выявил вероятных связей с повышением амилоидогенности соответствующего ему белка. В то же время было продемонстрировано, что делеции, обнаруженные в *TTN*, составляющие практически половину кодируемого им гигантского протеина, могут привести к нарушению фолдинга и агрегации, что может свидетельствовать о непосредственном его участии в образовании внутриклеточных агрегатов, дисфункции кардиомиоцитов и формировании рестриктивного фенотипа кардиомиопатии.

К ограничениям данной работы можно отнести тот факт, что пациенту не было проведено морфологического исследования биоптата миокарда с целью верификации амилоидных отложений, а также сцинтиграфия миокарда с ⁹⁹Tc-DPD. Выдвинутые гипотезы о молекулярном патогенезе требуют дальнейшего экспериментального подтверждения с использованием протеомного анализа и масс-спектрометрии.

Заключение

В представленном клиническом примере продемонстрировано, что установление генетической этиологии заболевания в сочетании с современными методами биоинформатического анализа и молекулярного моделирования позволяют более детально расшифровывать патогенез хронической сердечной недостаточности в сложных клинических случаях. Полученные результаты не только позволяют улучшить понимание возможных молекулярных механизмов образования амилоида анализируемыми белками, но и проводить индивидуальное профилирование рисков для различных форм амилоидоза. Эти знания могут послужить основой для планирования и интерпретации последующих экспериментов, а также выбора эффективной фармацевтической терапии и перехода к персонализированной медицине в будущем.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Благодарности / Acknowledgments

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 21-74-20093). / The work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (project No. 21-74-20093).

Список литературы / References

- McDonagh TA, Metra M, Adamo M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2021;42(36):3599–3726. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab368.
- Lippi G, Sanchis-Gomar F. Global epidemiology and future trends of heart failure. *AME Med J*. 2020;5:15. DOI: 10.21037/amj.2020.03.03.
- Gouveia M, Schmidt C, Teixeira M, et al. Characterization of Plasma SDS-Protein Aggregation Profile of Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *J Cardiovasc Transl Res*. 2022. DOI: 10.1007/s12265-022-10334-w.
- Henning RH, Brundel BJM. Proteostasis in cardiac health and disease. *Nat Rev Cardiol*. 2017;14(11):637–653. DOI: 10.1038/nrcardio.2017.89.
- Ayyadevara S, Mercanti F, Wang X, et al. Age- and Hypertension-Associated Protein Aggregates in Mouse Heart Have Similar Proteomic Profiles. *Hypertension*. 2016;67(5):1006–1013. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06849.
- Hahn VS, Yanek LR, Vaishnav J, et al. Endomyocardial Biopsy Characterization of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction and Prevalence of Cardiac Amyloidosis. *JACC Heart Fail*. 2020;8(9):712–724. DOI: 10.1016/j.jchf.2020.04.007.
- Gouveia M, Xia K, Colón W, et al. Protein aggregation, cardiovascular diseases, and exercise training: Where do we stand? *Ageing Res Rev*. 2017;40:1–10. DOI: 10.1016/j.arr.2017.07.005.
- Predmore JM, Wang P, Davis F, et al. Ubiquitin proteasome dysfunction in human hypertrophic and dilated cardiomyopathies. *Circulation*. 2010;121(8):997–1004. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.904557.
- Rubin J, Maurer MS. Cardiac Amyloidosis: Overlooked, Underappreciated, and Treatable. *Annu Rev Med*. 2020;71:203–219. DOI: 10.1146/annurev-med-052918-020140.
- Baker KR, Rice L. The amyloidoses: clinical features, diagnosis and treatment. *Methodist Deakey Cardiovasc J*. 2012;8(3):3–7. DOI: 10.14797/mdcj-8-3-3.
- Sawaya MR, Hughes MP, Rodriguez JA, et al. The expanding amyloid family: Structure, stability, function, and pathogenesis. *Cell*. 2021;184(19):4857–4873. DOI: 10.1016/j.cell.2021.08.013.
- Kajava AV, Baxa U, Steven AC. Beta arcades: recurring motifs in naturally occurring and disease-related amyloid fibrils. *FASEB J*. 2010;24(5):1311–1319. DOI: 10.1096/fj.09-145979.
- Makin OS, Serpell LC. Structures for amyloid fibrils. *FEBS J*. 2005;272(23):5950–5961. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2005.05025.x.
- Morimoto RI. Cell-Nonautonomous Regulation of Proteostasis in Aging and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2020;12(4):a034074. DOI: 10.1101/cshperspect.a034074.
- Klaips CL, Jayaraj GG, Hartl FU. Pathways of cellular proteostasis in aging and disease. *J Cell Biol*. 2018;217(1):51–63. DOI: 10.1083/jcb.201709072.
- Ihne S, Morbach C, Obici L, et al. Amyloidosis in Heart Failure. *Curr Heart Fail Rep*. 2019;16(6):285–303. DOI: 10.1007/s11897-019-00446-x.
- Yamamoto H, Yokochi T. Transthyretin cardiac amyloidosis: an update on diagnosis and treatment. *ESC Heart Fail*. 2019;6(6):1128–1139. DOI: 10.1002/ehf2.12518.
- Blancas-Mejia LM, Misra P, Dick CJ, et al. Immunoglobulin light chain amyloid aggregation. *Chem Commun (Camb)*. 2018;54(76):10664–10674. DOI: 10.1039/c8cc04396e.
- Mann BK, Bhandohal JS, Cobos E, et al. LECT-2 amyloidosis: what do we know? *J Investig Med*. 2022;70(2):348–353. DOI: 10.1136/jim-2021-002149.
- Arias CQ, Martic S. Gelsolin Amyloidosis: aggregation propensities of wild and mutant peptides and their inhibition. *Alzheimer's Dement*. 2021;17(S2):e058332. DOI: 10.1002/alz.058332.
- Olivé M, Abdul-Hussein S, Oldfors A, et al. New cardiac and skeletal protein aggregate myopathy associated with combined MuRF1 and MuRF3 mutations. *Hum Mol Genet*. 2015;24(13):3638–3650. DOI: 10.1093/hmg/ddv108.
- Zaganas I, Mastorodemos V, Spilioti M, et al. Genetic cause of heterogeneous inherited myopathies in a cohort of Greek patients. *Mol Genet Metab Rep*. 2020;25:100682. DOI: 10.1016/j.ymgmr.2020.100682.
- Yilmaz A, Bauersachs J, Bengel F, et al. Diagnosis and treatment of cardiac amyloidosis: position statement of the German Cardiac Society (DGK). *Clin Res Cardiol*. 2021;110(4):479–506. DOI: 10.1007/s00392-020-01799-3.
- Protein Data Bank. <https://www.rcsb.org>
- Jumper J, Evans R, Pritzel A, et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*. 2021;596(7873):583–589. DOI: 10.1038/s41586-021-03819-2.
- Mirdita M, Schütze K, Moriwaki Y, et al. ColabFold: making protein folding accessible to all. *Nat Methods*. 2022;19(6):679–682. DOI: 10.1038/s41592-022-01488-1.

27. Falgarone T, Villain É, Guettaf A, et al. TAPASS: Tool for annotation of protein amyloidogenicity in the context of other structural states. *J Struct Biol.* 2022;214(1):107840. DOI: 10.1016/j.jsb.2022.107840.

28. TAPASS — Tool for Annotation of Protein Amyloidogenicity in the context of other Structural States.

<https://bioinfo.crbm.cnrs.fr/index.php?route=tools&tool=32>

29. Winkler PA, Huang Y, Sun W, et al. Electron cryo-microscopy structure of a human TRPM4 channel. *Nature.* 2017;552(7684):200–204. DOI: 10.1038/nature24674.

30. Osmanli Z, Falgarone T, Samadova T, et al. The Difference in Structural States between Canonical Proteins and Their Isoforms Established by Proteome-Wide Bioinformatics Analysis. *Biomolecules.* 2022;12(11):1610. DOI: 10.3390/biom12111610.

31. Schrödinger Technical. The PyMOL Molecular Graphics System.

<https://pymol.org/2/> (2015)

32. Azad A, Poloni G, Sontayananon N, et al. The giant titin: how to evaluate its role in cardiomyopathies. *J Muscle Res Cell Motil.* 2019;40(2):159–167. DOI: 10.1007/s10974-019-09518-w.

33. Garcia-Pavia P, Rapezzi C, Adler Y, et al. Diagnosis and treatment of cardiac amyloidosis: a position statement of the ESC Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J.* 2021;42(16):1554–1568. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab072.

34. Yan WF, Gao Y, Zhang Y, et al. Impact of type 2 diabetes mellitus on left ventricular diastolic function in patients with essential hypertension: evaluation by volume-time curve of cardiac magnetic resonance. *Cardiovasc Diabetol.* 2021;20(1):73. DOI: 10.1186/s12933-021-01262-1.

Информация об авторах:

Андреева София Евгеньевна, аспирант кафедры кардиологии, врач-кардиолог, лаборант-исследователь, НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Снетков Петр Петрович, к.т.н., старший инженер, Центр химической инженерии, Университет ИТМО;

Вахрушев Юрий Алексеевич, младший научный сотрудник НИЛ молекулярного и клеточного моделирования и геномной терапии, НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ассистент кафедры клинической лабораторной медицины и генетики Института медицинского образования, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Пьянков Иван Алексеевич, аспирант химико-биологического кластера, инженер научно-исследовательского центра биоинженерии, Университет ИТМО;

Язневич Оксана Олеговна, врач-кардиолог кардиологического отделения № 8 ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Борцова Мария Александровна, заведующий кардиологическим отделением № 8 ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Морозкина Светлана Николаевна, к.х.н., доцент центра химической инженерии, ведущий научный сотрудник научно-исследовательского центра биохимической инженерии, Университет ИТМО;

Каява Андрей Вилхович, к.х.н., профессор, руководитель лаборатории структурной биоинформатики и молекулярного моделирования исследовательского центра клеточной биологии Монпелье, Университет Монпелье;

Костарева Анна Александровна, д.м.н., доцент кафедры внутренних болезней Института медицинского образования, директор Институт молекулярной биологии и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Успенская Майя Валерьевна, д.т.н., профессор, директор центра химической инженерии, директор НОЦ «ГПН — ИТМО», руководитель МНИИ «БиоИнженерия», Университет ИТМО.

Author information:

Sofiya E. Andreeva, postgraduate student, cardiologist, research laboratory assistant, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Petr P. Snetkov, PhD, senior engineer, Center of Chemical Engineering, ITMO University;

Yurii A. Vakhrushev, research assistant, Research Laboratory of Molecular and Cellular Modeling and Gene Therapy, Almazov National Medical Research Centre;

Ivan A. Piankov, PhD student, ChemBio cluster, engineer of International Scientific and Research Institute of Bioengineering, ITMO University;

Oksana O. Yaznevich, cardiologist, Cardiology Department, Almazov National Medical Research Centre;

Mariya A. Bortsova, head of Cardiology Department, Almazov National Medical Research Centre;

Svetlana N. Morozkina, PhD, Associate Professor, leading researcher, Center for Chemical Engineering, ITMO University;

Andrey V. Kajava, PhD, Professor, head of Structural Bioinformatics and Molecular Modeling group, Centre de Recherche de Biochimie Macromoléculaire;

Anna A. Kostareva, D.M.Sc., PhD, Associate Professor, head of the Institute of Molecular Biology and Genetics, Almazov National Medical Research Centre;

Mayya V. Uspenskaya, D.Sc, Professor, Head of Chemical Engineering Center, Head of Gazprom Neft-ITMO Research Center, Head of Research Institute Bioengineering, ITMO University.

ISSN 2311-4495
ISSN 2410-5155 (Online)
УДК 616.853+616.89-
008.454:616.8-089

СКРИНИНГОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОМОРБИДНЫХ АФФЕКТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ У ПАЦИЕНТОВ С ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ В НЕЙРОХИРУРГИЧЕСКОМ СТАЦИОНАРЕ

Одинцова Г. В., Ермолаева В. Д., Самочерных К. А.,
Иванова Н. Е., Деньгина Н. О.

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

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

Статья поступила в редакцию 15.11.2022
и принята к печати 21.12.2022.

Резюме

Актуальность. Фармакорезистентная эпилепсия, то есть невозможность достижения соответствующего контроля приступов с помощью приема антиэпилептических препаратов, развивается у 30–40 % пациентов. Для данной группы больных особую значимость имеют хирургические формы лечения. Расстройства эмоциональной сферы являются частой коморбидной патологией у лиц с фармакорезистентной эпилепсией и оказывают негативное влияние на качество жизни пациентов. Однако недостаточно исследована их распространенность у пациентов нейрохирургического профиля с фармакорезистентной эпилепсией. **Цель.** Исследование коморбидности аффективных психических расстройств, депрессии и тревоги, у пациентов с фармакорезистентной эпилепсией до и после хирургического лечения. **Материалы и методы.** Дизайн исследования — одноцентровое поперечное когортное исследование. Проведено скрининговое исследование коморбидности аффективных расстройств с использованием ГШТД у 46 больных в двух группах: группа 1 — пациенты до операции и группа 2 — после операции. **Результаты.** В исследование включено 46 пациентов, в первую группу — 56,5 %, во вторую — 43,5 %. Средний возраст пациентов — $30,8 \pm 1,1$ года. Гендерное распределение: мужчины/женщины = 1,7:1. В когорте не испытывали тревогу 71,7 % пациентов, депрессию — 84,8 %, 13 % страдали тяжелой тревогой и 8,7 % — депрессией. Различия в группах статистически незначимы. **Заключение.** Большинство нейрохирургических пациентов с фармакорезистентной эпилепсией в периоперационный период не имеют коморбидной аффективной патологии в виде тревоги и депрессии.

Ключевые слова: ГШТД, депрессия, нейрохирургия, тревога, эпилепсия.

Для цитирования: Одинцова Г.В., Ермолаева В.Д., Самочерных К.А., Иванова Н.Е., Деньгина Н.О. Скрининговое исследование коморбидных аффективных расстройств у пациентов с фармакорезистентной эпилепсией в нейрохирургическом стационаре. Трансляционная медицина. 2022;9(6):36-43. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-36-43

COMORBID EMOTIONAL DISTURBANCES IN DRUG-RESISTANT EPILEPSY IN NEUROSURGICAL PATIENTS DURING THE PREOPERATIVE AND POSTOPERATIVE PERIODS

Galina V. Odintsova, Valentina D. Ermolaeva,
Konstantin A. Samochernykh, Natalia E. Ivanova, Nina O. Dengina

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

Corresponding author:

Galina V. Odintsova,
Polenov Russian Research Institute of
Neurosurgery,
Almazov National Medical Research Centre,
Mayakovsky str., 12, Saint Petersburg,
Russia, 191014.
E-mail: ajo@mail.ru

Received 15 November 2022; accepted
21 December 2022.

Abstract

Background. Pharmacoresistant epilepsy, i.e. failure to achieve adequate seizure control with antiepileptic drugs develops in 30–40 % of patients. The surgical treatment for these patients are of particular importance. The relevance of studying the emotional sphere of neurosurgical patients with drug-resistant epilepsy stems from the high incidence of this pathology and its impact on patients' quality of life. **Objective.** To investigate comorbidity indicators: depression and anxiety in neurosurgical patients with drug-resistant epilepsy during the preoperative and postoperative periods of epilepsy treatment. **Design and methods.** In 2019–2020, Polenov Neurosurgical Institute studied comorbid affective pathology in 46 neurosurgical patients with drug-resistant epilepsy in 2 groups: Group 1 — preoperative and Group 2 — postoperative patients, using HADS for screening. **Results.** The study included 46 patients in 2 groups. Group1 — 56.5 %, Group2 — 43.5 %. The mean age of the participants in the study was 30.8 ± 1.1 years. The sex ratio in the cohort was 1.7 males to 1 female. In the cohort, no anxiety was observed in 71.7 % and depression in 84.8 %, severe anxiety in 13 % and depression in 8.7 %. **Conclusion.** Among the neurosurgical patients with drug-resistant epilepsy, patients without symptoms of anxiety and depression predominated. There is a need to expand the sample and investigate further.

Key words: anxiety, depression, epilepsy, HADS, neurosurgery.

For citation: Odintsova GV, Ermolaeva VD, Samochernykh KA, Ivanova NE, Dengina NO. Comorbid emotional disturbances in drug-resistant epilepsy in neurosurgical patients during the preoperative and postoperative periods. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2022;9(6):36-43 (In Russ.) DOI: DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-36-43

Список сокращений: АЭП — антиэпилептический (ие) препарат(ы), ГШТД (HADS) — шкала генерализованного тревожного расстройства, ФРЭ — фармакорезистентная эпилепсия.

Введение

Развитие эпилептологии в последние годы характеризуется обновлением основных понятий и классификаций, признанием значимости эпилепсии в общественном здравоохранении [1].

В 2017 году в Киото, Япония, на XXIII Всемирном конгрессе по неврологии приняты новые классификации эпилепсий и приступов [2]. Важным изменением в новой классификации явилось введение нового раздела — коморбидной патологии. Это позволяет учитывать сопутствующую патологию, которая часто тесно связана иотягощает основное заболевание.

Несмотря на появление новых групп антиэпилептических препаратов (АЭП) и схем терапии,

достигнуть ремиссии удастся лишь в 70 % случаев. У 30–40 % пациентов формируется фармакорезистентная эпилепсия (**ФРЭ**) — невозможность достижения соответствующего контроля приступов при условии адекватного применения 2-х хорошо переносимых и правильно подобранных и используемых схем АЭП [3]. Это определяет значимость хирургических методов лечения эпилепсии [4]. Основным показанием к хирургическому лечению является фармакорезистентная эпилепсия с неконтролируемыми приступами.

В 60 % случаев фармакорезистентной эпилепсии сопутствуют расстройства в психической сфере, такие как депрессия и тревога, что значительно ухудшает качество жизни этих пациентов, снижает удовлетворенность результатом лечения, определяет суицидальное поведение [5]. Хирургический метод, как дополнительный фактор, также оказывает влияние на эмоциональную сферу и качество жизни пациента и на дооперационном, и на послеоперационном этапах лечения. Пациенты нейрохирургического профиля характеризуются более широким спектром и тяжестью психопатологических расстройств [6]. Нарушения эмоциональной сферы негативно сказываются на социальной активности и семейном функционировании людей с эпилепсией [7].

Однако недостаточно внимания уделяется исследованию коморбидных аффективных расстройств у пациентов с фармакорезистентной эпилепсией в до- и послеоперационный периоды, особенно на этапе скрининговой диагностики.

Цель исследования

Исследование коморбидной аффективной патологии у пациентов с фармакорезистентной эпилепсией на этапах до и после ее хирургического лечения.

Материалы и методы

Дизайн исследования

В рамках выполнения государственного задания ГЗ № 056-00119-22-00 «Стратификация рисков, выбор оптимальной стратегии хирургического лечения и прогнозирование исходов у пациентов с фармакорезистентной структурной эпилепсией» проведено одноцентровое, неконтролируемое открытое наблюдательное исследование. Объектом исследования явились пациенты нейрохирургического профиля с ФРЭ. Предмет исследования — коморбидные аффективные расстройства: распространенность и выраженность тревоги и депрессии по результатам скринингового исследования.

Пациенты

В исследование включены 46 пациентов обоего пола, проходивших обследование в РНХИ им. профессора А. Л. Поленова и перенесших нейрохирургическое вмешательство по поводу ФРЭ в 2019–2020 гг. Критерии включения: верифицированный диагноз эпилепсии в соответствии с классификацией эпилепсий 2017 года, возраст старше 18 лет, длительность заболевания более 3 лет, соответствие критериям ФРЭ. Критерии исключения: когнитивные нарушения, препятствующие пониманию вопросов анкеты, психогенные неэпилептические приступы, детский возраст до 18 лет.

Пациенты были разделены на две группы относительно времени проведения хирургического лечения: группа 1 — период предоперационной подготовки и группа 2 — послеоперационный период наблюдения.

Методы

Исследованы клинико-демографические показатели эпилепсии. Проведено тестирование по скрининговой шкале — госпитальной шкале тревоги и депрессии (HADS) (ГШТД). При интерпретации результатов учитывается общий балл по каждой субшкале: тревоги и депрессии. Оценка включала распределение по трем диапазонам значений: 0–7 = норма (отсутствие выраженных симптомов тревоги и депрессии), 8–10 = субклинически выраженная тревога/депрессия, 11 и выше = клинически выраженная тревога/депрессия.

Этические аспекты

Все респонденты подписали форму информированного согласия. Исследование проводилось с одобрения комитета по этике: было одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России (18 апреля 2022 г., № 2304-22).

Статистический анализ

Статистический анализ результатов исследования проводился с помощью пакета программ Statistica ver12. Использовался метод описательной статистики. Для непрерывных переменных значения были представлены как среднее $\pm$ стандартное отклонение (SD) и для категориальных переменных — как количество (процент) субъектов. *t*-критерий использовался в одномерных сравнениях. Значимым считалось значение *p* менее 0,05 (двустороннее).

Результаты

Проведено сквозное невыборочное анкетирование пациентов нейрохирургического стациона-

ра — отделения функциональной нейрохирургии № 2 (заведующий отделением — к.м.н. В. Г. Нездоровина), по мере госпитализации для предоперационной диагностики или послеоперационного этапного наблюдения. В исследование включены пациенты с верифицированной ФРЭ в до- и послеоперационном периодах.

Социально-демографические данные

В исследование включено 46 участников в двух группах. Первую группу составили 26 пациентов в дооперационном периоде (56,5 %), вторую — 20 пациентов в раннем и отдаленном послеоперационном периодах (43,5 %). Средний возраст составил $30,8 \pm 1,1$, мода — 31 г., с минимумом 18 и максимумом 49 лет. Распределение по полу в когорте: мужчины — 29 (63 %), женщины — 17 (37 %). Достоверных различий в группах по демографическим данным не отмечалось. Соотношение мужчины/женщины = 1,7:1 (табл. 1).

Количественное преобладание пациентов мужского пола объясняется особенностями эпидемиологии эпилепсии как заболевания, которое чаще встречается у мужчин.

Клинические данные

Распределение по формам эпилепсии представлено всеми случаями фокальной структурной или МР-негативной эпилепсией. Средний возраст дебюта заболевания составил $11,7 \pm 1,2$ г. Наименьший возраст начала эпилепсии в выборке — 3-й месяц жизни, наибольший — 40 лет. Средняя длительность заболевания составила $19,2 \pm 1,4$ г. с максимумом и минимумом 44,4 и 2 года соответственно. В подавляющем большинстве случаев оперативное лечение проводилось по поводу темпоральной эпилепсии,

экстратемпоральная форма в когорте представлена в меньшинстве — в 15 %, без различия в группах. Преобладала в когорте латерализация эпилептического очага в левом полушарии — 66,7 %, над правосторонней латерализацией — 33,3 %. Полученные данные свидетельствуют о слабой корреляционной связи $< 0,3$ в группах с латерализацией эпилептического очага согласно критерию корреляции Пирсона. Политерапию антиэпилептическими препаратами получало 90 % пациентов (60 % — дуотерапия, 30 % — три препарата) и лишь у 10 % применялась монотерапия антиэпилептическими препаратами. Почти у половины пациентов в лечении применялись препараты с нормотимическим эффектом, в 22 случаях это были препараты вальпроевой кислоты. Достоверных различий в группах по исследуемым клиническим данным не отмечалось за исключением частоты приступов.

В первой группе предоперационного периода все пациенты — 100 % — были с приступами, что является основным показанием для хирургического лечения, во второй группе полное отсутствие приступов — класс I по шкале исходов Международной противосудорожной лиги — отмечалось в 63,6 %, сохранение приступов с положительной динамикой по частоте и тяжести — в 36,4 %. Отсутствие положительной динамики или усиление частоты и тяжести приступов у пациентов второй группы не отмечалось.

Скрининговое исследование тревоги и депрессии

Применение шкалы ГШТД для скринингового исследования тревоги и депрессии экономит время и позволяет выявить основной вектор коморбидных нарушений.

Таблица 1. Социально-демографические характеристики пациентов с эпилепсией (n = 46)

Table 1. Sociodemographic characteristics of patients with epilepsy (n = 46)

Переменная	Когорта	I группа	II группа	p
Возраст				
Средний возраст	$30,8 \pm 7,2$	$31,0 \pm 7,2$	$30,2 \pm 7,7$	$p = 0,62$
Мода	31	31	31	
Медиана	31	31	30,5	
Минимальный возраст	18	18	20	
Максимальный возраст	49	49	45	

В исследуемой когорте доминировало отсутствие симптомов тревоги и депрессии, соответственно 71,7 % и 84,8 %. Существенных различий в группах не выявлено как в отношении тревоги ($p = 0,77$), так и депрессии ($p = 0,31$). Показатели нормы при исследовании уровня тревоги составили 76,9 % в первой группе и 65,0 % — во второй; субклинически выраженная тревога — 23,1 % и 5,0 %; клинически выраженная тревога — 0 % и у 3 % пациентов соответственно (рис. 1).

Аналогичная картина отмечалась при диагностике депрессивных расстройств: отсутствие — 88,4 % и 75 %, субклинические — 7,7 % и 1 %, клинически выраженные — 3,9 % и 15 % соответственно (рис. 2).

При выявлении на скрининге высоких показателей тревоги и депрессии дополнительно проводилось тестирование по специализированным шкалам тревоги (ГТР-7) и депрессии (шкала Бека, «Неврологический опросник депрессивного расстройства

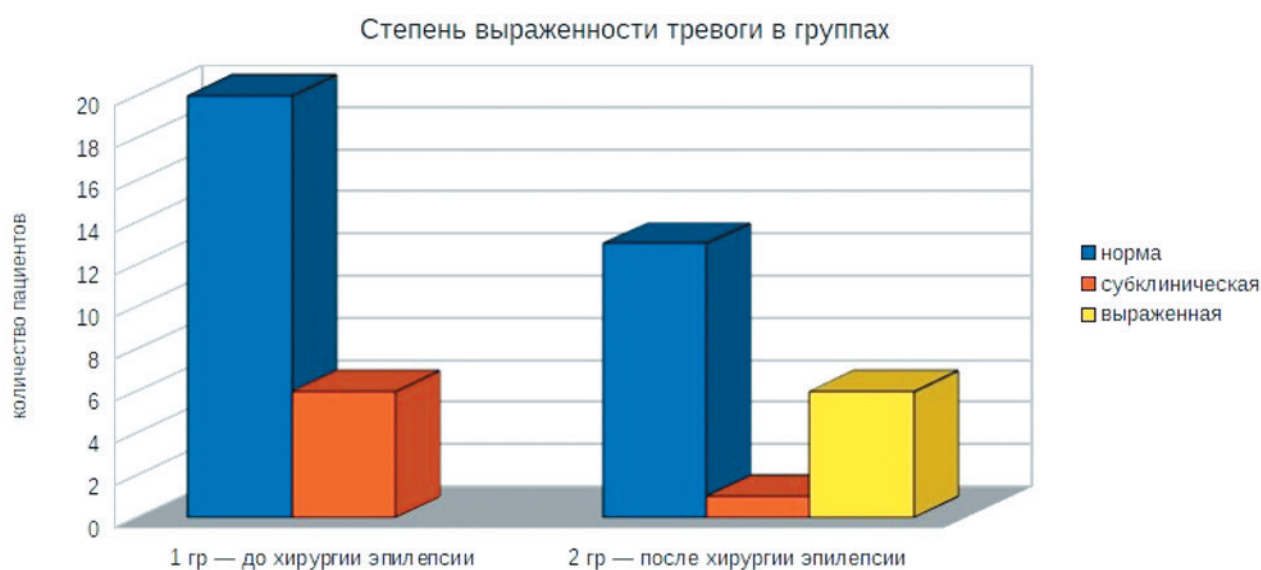


Рис. 1. Показатели тревоги в группах, по данным ГШТД

Figure 1. Anxiety scores in the groups, according to HADS

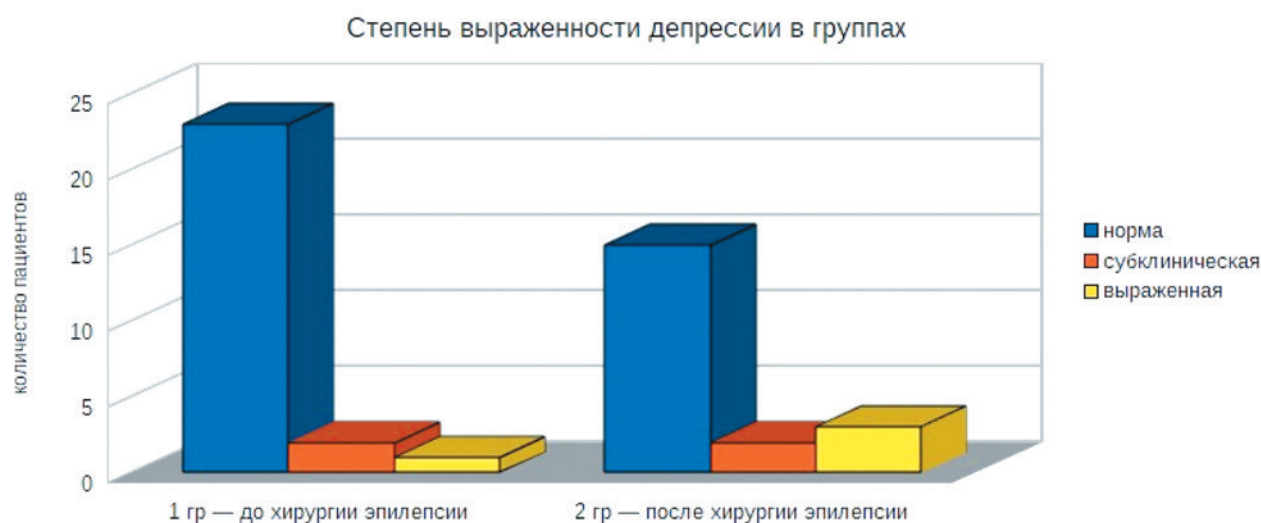


Рис. 2. Показатели депрессии в группах, по данным ГШТД

Figure 2. Depression scores in the groups, according to HADS data

при эпилепсии»), назначалась консультация психиатра и подбор соответствующего лечения.

Таким образом, при скрининговом исследовании пациентов нейрохирургического профиля с фармакорезистентной эпилепсией преобладало отсутствие тревоги и депрессии как на дооперационном, так и послеоперационном этапах.

Обсуждение

Результаты исследования показали, что у пациентов нейрохирургического стационара с фармакорезистентной эпилепсией в большинстве случаев отсутствуют признаки аффективных расстройств, таких как тревожность и депрессия, связанные с хирургическим методом лечения ФРЭ. Это подтверждает субъективную готовность пациентов к оперативному методу лечения ФРЭ [8].

Однако обращает на себя внимание высокая продолжительность заболевания до хирургического лечения, в среднем 19,2 г. с максимумом в 44 г., что ухудшает социальную адаптацию в обществе, способствует инвалидизации пациентов и снижению качества жизни. Проблема позднего обращения к хирургическим методам лечения ФРЭ остается актуальной во всем мире. Необходимо констатировать, что социальное сознание отстает от возможностей нейрохирургии. Ограниченный объем выборки, длительность эпилепсии, преобладание пациентов с темпоральной эпилепсией снижают достоверность данных о вкладе латерализации, локализации и этиологии поражения в формирование аффективных нарушений и не являлось задачей данного исследования. Известно о влиянии АЭП на эмоциональную сферу, но применение политерапии с высоким процентом препаратов с нормотимическим эффектом сглаживает негативное влияние медикаментозной терапии. Применение шкалы исходов хирургического лечения эпилепсии Международной противэпилептической лиги при исследовании аффективных нарушений имеет преимущества над шкалой Engel, так как 1 класс исходов по классификации Лиги подразумевает полное отсутствие всех видов приступов, в том числе и фокальных без нарушения осознанности, что до новой классификации приступов 2017 года называлось аурами.

Отсутствие нарушений аффективной сферы у большинства пациентов нейрохирургического профиля показывает, что нейрохирургическое вмешательство не несет выраженного негативного воздействия на аффективную сферу больного в периоперационный период, что мы расцениваем как субъективную готовность пациентов к хирургическому методу лечения. Эти результаты не проти-

воречат данным большинства интервенционных и наблюдательных исследований, которые показывают, что качество жизни лиц обоих полов, подвергшихся хирургическому лечению, значительно лучше по сравнению с пациентами, не леченными хирургическим путем [9]. В базах данных Medline и Cochrane в период с января 1993 года по июнь 2014 года по результатам систематических обзоров выявлено, что качество жизни пациентов улучшилось после операции, это наиболее выражено среди тех, у кого полностью прекратились приступы [10]. Наблюдается существенное преобладание результатов, показывающих, что нейрохирургическое лечение не вызывает негативных изменений качества жизни пациентов с ФРЭ.

Однако в ходе проводимого исследования выявлено увеличение выраженности тревожных и депрессивных расстройств во второй группе (послеоперационный период) в сравнении с первой группой (дооперационный период). Данные результаты не могут расцениваться как достоверно значимые, ввиду описательного характера наблюдения и небольшого размера выборки, планируется продолжить исследование. По мнению исследовательской группы, подобные результаты могут быть связаны с несколькими факторами. Во-первых, это беспокойство пациента о сохранении положительного результата хирургического лечения эпилепсии при контроле приступов. Длительное течение заболевания с отсутствием ремиссий или повторные рецидивы приступов после периодов ремиссий вызывают опасения возобновления приступов. Во-вторых, после достижения ремиссии приступов может наблюдаться развитие депрессивных настроений. С патофизиологической позиции необходимо проводить корреляцию с нормализацией электроэнцефалограммы для исключения механизма насильственной нормализации при синдроме Ландольта.

Таким образом, коморбидная аффективная патология у пациентов нейрохирургического профиля с фармакорезистентной эпилепсией является актуальной темой.

Заключение

Преобладание отсутствия симптомов тревоги и депрессии среди нейрохирургических пациентов с фармакорезистентной эпилепсией подтверждает субъективную готовность больных к хирургическому лечению эпилепсии и их веру в эффективность оперативного вмешательства. Длительность и тяжесть эпилепсии являются негативными факторами формирования коморбидных аффективных расстройств. Применение Госпитальной шкалы

тревоги и депрессии в пред- и послеоперативный периоды для исследования тревоги и депрессии является удобным скрининговым методом.

Необходимо расширить выборку и продолжить изучение эмоциональных нарушений у пациентов нейрохирургического профиля для повышения эффективности хирургического лечения фармакорезистентной эпилепсии.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Благодарности / Acknowledgments

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации № 056-00119-22-00 «Стратификация рисков, выбор оптимальной стратегии хирургического лечения и прогнозирование исходов у пациентов с фармакорезистентной структурной эпилепсией», номер ЕГИСУ — 122011900530-8. / The work was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 056-00119-22-00 «Risk stratification, selection of optimal surgical treatment strategy and prediction of outcomes in patients with pharmacoresistant structural epilepsy», EGISU number — 122011900530-8.

Список литературы / References

1. Epilepsy: a public health imperative. Summary. Geneva: World Health Organization; 2019 (WHO/MSD/MER/19.2). Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325440/WHO-MSD-MER-19.2-eng.pdf>
2. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017; 58(4):512–521. DOI: 10.1111/epi.13709.
3. Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, et al. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*. 2010; 51(6):1069–1077. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2009.02397.x.
4. Jobst BC, Cascino GD. Resective epilepsy surgery for drug-resistant focal epilepsy: a review. *JAMA*. 2015; 313(3):285–293. DOI: 10.1001/jama.2014.17426.
5. Shova NI, Mikhailov VA, Odintsova GV, et al. The Modern View on the Problem of Formation of Suicidal Behavior in Patients with a Pharmacoresistance Form of Epilepsy in the Postoperative Period (Review). *Translational Medicine*. 2019; 6(2):5–11. In Russian [Шова Н.И., Михайлов В.А., Одинцова Г.В. и др. Современный взгляд

на проблему формирования суицидального поведения у пациентов с фармакорезистентной формой эпилепсии в послеоперационном периоде (литературный обзор). *Трансляционная медицина*. 2019; 6(2):5–11.] DOI: 10.18705/2311-4495-2019-6-2-5-11.

6. Odintsova GV, Saikova LA. Side effects of antiepileptic drugs on reproductive health in women with epilepsy. *Farmateka*. 2012; 4(237):60–64. In Russian [Одинцова Г.В., Сайкова Л.А. Побочное действие антиэпилептических препаратов на репродуктивное здоровье при эпилепсии у женщин. *Фарматека*. 2012; 4(237):60–64.]

7. Ushanov VV, Odintsova GV, Gerasimov AP, et al. Surgical treatment of epilepsy: subjective readiness of patients. *Russian Neurosurgical Journal named after professor A.L. Polenov*. 2020; 12(3):31–36. In Russian [Ушанов В.В., Одинцова Г.В., Герасимов А.П. и др. Хирургическое лечение эпилепсии: субъективная готовность пациентов. *Российский нейрохирургический журнал им. профессора А. Л. Поленова*. 2020; 12(3):31–36.]

8. Liu SY, Yang XL, Chen B, et al. Clinical outcomes and quality of life following surgical treatment for refractory epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2015; 94(6):e500. DOI: 10.1097/MD.0000000000000500.

9. Garcia Gracia C, Yardi R, Kattan MW, et al. Seizure freedom score: a new simple method to predict success of epilepsy surgery. *Epilepsia*. 2015; 56(3):359–365. DOI: 10.1111/epi.12892.

10. Mula M, Zaccara G, Galimberti CA, et al. Validated outcome of treatment changes according to International League Against Epilepsy criteria in adults with drug-resistant focal epilepsy. *Epilepsia*. 2019; 60(6):1114–1123. DOI: 10.1111/epi.14685.

Информация об авторах:

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

Ермолаева Валентина Дмитриевна, лаборант-исследователь НИЛ эпилептологии, врач-невролог, РНХИ им. проф. А. Л. Поленова — филиал ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Самочерных Константин Александрович, д.м.н., профессор РАН, директор, РНХИ им. проф. А. Л. Поленова — филиал ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Деньгина Нина Олеговна, к.п.н., доцент, лаборант-исследователь НИЛ эпилептологии, РНХИ им. проф. А. Л. Поленова — филиал ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Иванова Наталия Евгеньевна, д.м.н., профессор, заведующий научным отделом, РНХИ им. проф.

А. Л. Поленова — филиал ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Galina V. Odintsova, MD, chief researcher, head of Epilepsy Research Laboratory, Polenov Russian Research Institute of Neurosurgery, branch of Almazov National Medical Research Centre;

Valentina D. Ermolaeva, research assistant, Epilepsy Research Laboratory, neurologist, Polenov Russian Research Institute of Neurosurgery, branch of Almazov National Medical Research Centre;

Konstantin A. Samochernykh, DMedSc, Professor of the Russian Academy of Sciences, director, Polenov Russian Research Institute of Neurosurgery, branch of Almazov National Medical Research Centre;

Nina O. Dengina, PhD, associate professor, research assistant, Epilepsy Research Laboratory, Polenov Russian Research Institute of Neurosurgery, branch of Almazov National Medical Research Centre;

Natalia E. Ivanova, DMedSc, Professor, Head of the Scientific Department, Polenov Russian Research Institute of Neurosurgery, branch of Almazov National Medical Research Centre.

ISSN 2311-4495
ISSN 2410-5155 (Online)
УДК 616.8-009.836:616.831-005.4

МЕТОДЫ ЛУЧЕВОЙ ДИАГНОСТИКИ НАРУШЕНИЙ СНА У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

Боршевецкая А. А., Трушина Л. И., Ефимцев А. Ю.,
Терновых И. К., Галяутдинова Л. Э., Егорова В. С.,
Алексеева Т. М., Труфанов Г. Е.

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

Контактная информация:
Боршевецкая Анастасия Александровна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: borshevetskaya@gmail.com

Статья поступила в редакцию 21.11.2022
и принята к печати 07.12.2022.

Резюме

Сон — это важный и сложный физиологический процесс, который необходим для нормального функционирования любого организма. Диагностика нарушений сна является актуальным вопросом при ведении пациентов с острым ишемическим инсультом. В настоящее время нарушения сна рассматриваются не только как последствия ишемического инсульта, но и как фактор риска возникновения острой церебральной патологии. Нарушения сна при ОНМК могут быть представлены различными формами: инсомния, нарушения дыхания во сне, гиперсомнии центрального происхождения, нарушения циркадного ритма сна и бодрствования, парасомнии, нарушения движений во сне, нарушение сна неуточненное или связанное с факторами окружающей среды, соматические и неврологические расстройства, связанные со сном.

Публикаций в отечественной и зарубежной литературе на тему нарушений сна при остром ишемическом инсульте крайне мало, хотя диагностика данных патологий по отдельности занимает весомую нишу.

Золотым стандартом диагностики различных форм нарушений сна является полисомнография. В то время как для точной диагностики острого нарушения мозгового кровообращения необходимы высокотехнологичные методы, такие как компьютерная (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ), в том числе и при различных формах нарушений сна.

В данной статье приведен обзор имеющейся на данном этапе литературы о методах лучевой визуализации в диагностике различных форм нарушений сна у пациентов с острым ишемическим инсультом.

Ключевые слова: лучевая диагностика, нарушения сна, острый ишемический инсульт, сон, функциональная МРТ.

Для цитирования: Боршевецкая А.А., Трушина Л.И., Ефимцев А.Ю., Терновых И.К., Галяутдинова Л.Э., Егорова В.С., Алексеева Т.М., Труфанов Г.Е. Методы лучевой диагностики нарушений сна у пациентов с острым ишемическим инсультом. Трансляционная медицина. 2022;9(6):44-58. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-44-58

RADIOLOGIC IMAGING OF SLEEP DISORDERS IN PATIENTS WITH ACUTE ISCHEMIC STROKE

Anastasia A. Borshevetskaya, Lidiia I. Trushina,
Aleksandr Yu. Efimtsev, Ivan K. Ternovykh, Lina E. Galyautdinova,
Veronika S. Yegorova, Tat'yana M. Alekseeva, Gennadiy E. Trufanov

Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Anastasia A. Borshevetskaya,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.

E-mail: borshevetskaya@gmail.com

Received 21 November 2022; accepted
07 December 2022.

Abstract

Sleep is an important and complex physiological process that is necessary for the normal functioning of any organism. Sleep disorders diagnostics is an issue of interest in patients with acute ischemic stroke management. Currently these disorders are considered not only as a consequence of earlier stroke but as an acute cerebrovascular disease risk factor itself. Sleep disorders in patients with acute cerebrovascular disease can be presented in different types, including: insomnia, sleep apnea, central disorders of hypersomnolence, circadian rhythm sleep-wake disorders, parasomnias, sleep related movement disorders, unspecified sleep related disorders.

There are very few publications on the subject of sleep disorders associated with acute ischemic stroke, despite the fact that imaging of each of these conditions separately occupies a significant place in radiology.

Polysomnography is considered to be the gold standard in sleep disorders diagnostics. Contrary to that, the precise imaging of acute cerebrovascular accidents requires high-technology modalities, such as computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI).

The article represents a current literature review regarding radiologic methods in diagnostics of sleep disorders in patients with acute ischemic stroke anamnesis.

Key words: acute ischemic stroke, functional MRI, radiology, sleep, sleep disorders.

For citation: Borshevetskaya AA, Trushina LI, Efimtsev AY, Ternovykh IK, Galyautdinova LE, Yegorova VS, Alekseeva TM, Trufanov GE. Radiologic imaging of sleep disorders in patients with acute ischemic stroke. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2022;9(6):44-58. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-44-58

Список сокращений: КТ — компьютерная томография, МРТ — магнитно-резонансная томография, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения.

Введение

Сон — это важный и сложный физиологический процесс, который необходим для нормального функционирования любого организма. Сложность такого привычного понятия состоит в его нейрофизиологических и химических особенностях, а также влиянии на психическое и неврологическое состояние человека. Сон уже не рас-

сматривается как простое состояние покоя или пониженной активности организма, благодаря многочисленным исследованиям в этой области. Мы знаем, что сон представляет собой многофазный процесс электрической активности определенных структур головного мозга. Придерживаясь этого принципа, Ковальзон В. М. (1993 г.) дал следующее определение: «Сон — это особое генетически детерминированное состояние организма гомеотермных животных, характеризующееся закономерной последовательной сменой определенных полиграфических картин в виде циклов, фаз и стадий» [1].

Соответственно, нарушение сна характеризуется расстройством его фаз, их очередности и продолжительности. Согласно российскому варианту международной классификации нарушений сна, утвержденной на конференции Российского общества сомнологов в 2017 году, нарушения сна подразделяют на 8 основных групп, каждая из которых имеет свои формы. К основным группам относятся:

- инсомния;
- нарушения дыхания во сне;
- гиперсомнии центрального происхождения;
- нарушения циркадного ритма сна и бодрствования;
- парасомнии;
- нарушения движений во сне;
- нарушение сна неуточненное или связанное с факторами окружающей среды;
- соматические и неврологические расстройства, связанные со сном.

По данным G. Maye и соавторов (2011 г.), нарушения сна способствуют развитию цереброваскулярных и неврологических заболеваний, к числу которых относится инсульт, наряду с болезнью Паркинсона, болезнью Альцгеймера, эпилепсией и рассеянным склерозом [2].

Острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) — это внезапное возникновение очаговой неврологической симптоматики, общемозгового, менингеального синдромов либо их сочетания, которые сохраняются в течение 24 часов и более или приводят к смерти пациента в ближайший период времени [3].

В клинических рекомендациях по ишемическому инсульту от 2020 года выделяют общепринятую классификацию церебрального ишемического инсульта (TOAST — Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment). Согласно данной классификации, существует пять подтипов ишемического инсульта: атеротромботический, кардиоэмболический, лакунарный, инсульт другой установленной этиологии и инсульт неустановленной этиологии [4].

Инсульт представляет собой важнейшую медико-социальную проблему современного общества, так как является преобладающей причиной инвалидизации населения (3,2 на 1000 населения). По данным Национального регистра инсульта, 31 % пациентов, перенесших ОНМК, не могут обходиться без посторонней помощи для ухода за собой, 20 % не могут самостоятельно ходить. Лишь 8 % выживших пациентов после инсульта могут вернуться к прежней работе [5].

Несмотря на то, что известно, по крайней мере, восемь типов нарушения сна, большинство уче-

ных сосредотачивают свое внимание на инсомнии, обструктивном апноэ во сне, и лишь малая часть занимается вопросами изучения гиперсомнии при остром ишемическом инсульте.

Поэтому задачей данного исследования является всесторонний анализ данных методов лучевой визуализации в диагностике различных форм нарушений сна при ОНМК.

В метаанализе Y. Leng и соавторов (2015 г.) показана связь между продолжительностью сна и риском возникновения ишемического инсульта. По результатам почти десятилетнего наблюдения было установлено, что при продолжительности сна менее 6 часов риск развития инсульта увеличивается на 32 %, а более 8 часов — на 71 %.

Еще одно исследование, D. F. Kripke и коллег (2002 г.), подтверждает повышенный на 15 % риск смертности у пациентов, спавших меньше 4,5 часа и больше 8,5 часа [6]. В данном исследовании был проведен анализ сна 1,1 млн человек на протяжении 20 лет.

J. C. Chen и соавторы (2008 г.) также отметили зависимость риска возникновения инсульта от продолжительности ночного сна, а именно: как длительный (более 9 часов), так и сокращенный (менее 6 часов) ночной сон приводил к возрастанию риска инсульта у женщин в постменопаузальный период [7].

Нарушения сна могут не только являться причиной развития сосудистой катастрофы, но и плохим прогностическим фактором после ишемического инсульта. Так, по данным Гасанова Р. Л. (2000 г.), неблагоприятным прогнозом для жизни пациента, перенесшего острый ишемический инсульт, является отсутствие положительной динамики в восстановлении качества сна в течение 7–10 дней после случившегося сердечно-сосудистого события [8].

Инсомния и острый ишемический инсульт

Инсомния является самым распространенным видом нарушений сна в популяции и составляет 20–48 % [9]. Международная классификация расстройств сна (МКРС-3, 2014 г.) определяет инсомнию как клинический синдром, характеризующийся наличием повторяющихся нарушений инициации, продолжительности, консолидации или качества сна, возникающих несмотря на наличие достаточного количества времени и условий для него и проявляющихся нарушениями дневной деятельности различного вида [10].

Известно, что инсомния может способствовать не только развитию соматической патологии, но и в целом негативно влиять на общее качество

жизни человека, вызывая психоэмоциональные проблемы. Так, L. E. Laugsand и коллеги (2014 г.) в исследовании 54 тыс. человек на протяжении 15 лет доказали, что инсомния в 2,8 раза повышает риск возникновения дорожно-транспортных происшествий и производственных травм, связанных с недосыпом [11].

Четырехлетнее исследование Ming-Ping Wu и соавторов (2014 г.), в которое было включено 85 752 человека, из них 21 438 пациентов, страдающих инсомнией, показало, что наличие инсомнии увеличивает риск развития инсульта на 54 %. Риск развития ишемического инсульта составил 1,48 % у пациентов с инсомнией и 0,48 % у пациентов без нее ($p < 0,0001$). Наибольшее влияние инсомнии на риск развития инсульта наблюдалось в группе молодых пациентов (18–34 года). Также на риск возникновения инсульта влияла и тяжесть инсомнии [12].

F. Sauvet и коллеги (2010 г.) в исследовании на 12 здоровых мужчинах в возрасте 26–32 года показали, что депривация сна может способствовать развитию эндотелиальной дисфункции. Тотальная депривация сна у здоровых добровольцев в течение 40 ч стала причиной сосудистой дисфункции с последующим увеличением симпатической активности. Усиление эндотелий-зависимой вазоконстрикции наблюдалось в группе здоровых людей, спящих менее 7 ч [13].

По данным M. L. Okun (2011 г.) и M. A. Grandner и соавторов (2013 г.) обуславливать влияние инсомнии на кардиоваскулярную патологию и, в частности, инсульт могут такие патофизиологические механизмы, как системный воспалительный ответ, эндокринные и метаболические нарушения, а также увеличение активности симпатической нервной системы [14, 15].

Исходя из всего вышеизложенного, можно согласиться с выражением Виноградовой О. И. и Кулагина А. М. (2015 г.), которые утверждают, что инсомния является «новым» фактором риска развития инсульта [16].

Обструктивное апноэ во сне и острый ишемический инсульт

Синдром нарушения дыхания во сне является не менее привлекательным для современных ученых. В этот собирательный термин входит ряд состояний, которые характеризуются изменениями дыхательных параметров, включая в себя синдромы обструктивного апноэ сна (СОАС), центрального апноэ, гипопноэ и центрального периодического дыхания. Большую часть всех нарушений дыхания составляют синдромы обструктивного апноэ сна и гипопноэ [17].

C. Guilleminault (1978 г.) описал СОАС как состояние, характеризующееся наличием храпа, периодическим спадением верхних дыхательных путей на уровне глотки и прекращением легочной вентиляции при сохраняющихся дыхательных усилиях, снижением уровня кислорода крови, грубой фрагментацией сна и избыточной дневной сонливостью [18].

Синдром обструктивного апноэ во сне, как и инсомния, имеет ряд патофизиологических проявлений, вызывая серию гемодинамических, механических, химических, нервных и воспалительных эффектов, неблагоприятно воздействует на функциональное состояние различных систем организма человека.

В частности, по данным J. C. Tsai (2010 г.), гипоксемические эпизоды сопровождаются увеличением выброса адреналина, а со временем происходит формирование стойкой симпатикотонии, что обуславливает увеличение системного артериального давления (АД), приводит к развитию и усугублению артериальной гипертензии [19].

В исследованиях разных лет (2010 и 2012 гг.) F. Pizza и соавторы к неблагоприятным механизмам, лежащим в основе нарушения дыхания во сне и влияющим на прогноз инсульта, относят изменения церебральной гемодинамики и оксигенации головного мозга [20]. C. W. Cereda и коллеги (2013 г.) и T. E. Wessendorf и соавторы (2000 г.) к таким неблагоприятным факторам также относят ряд гуморальных и системных изменений [21, 22].

В исследованиях F. Abboud и коллег (2014 г.) было показано, что повторяющиеся эпизоды ночного апноэ и тканевой гипоксии оказывают повреждающее воздействие на клетки и ткани, вызывая повышение уровня катаболизма и экскреции метаболитов белков, липидов и нуклеиновых кислот, что обуславливает гистохимические изменения, связанные с синдромом обструктивного апноэ во сне [23].

Волов Н. А. и соавторы (2008 г.) также обращают внимание на повышенный уровень медиаторов воспаления, таких как ФНО- α и ИЛ-6, что дополнительно вносит вклад в плохое самочувствие и является дополнительным риском развития сосудистых катастроф [24].

В исследовании M. Can и коллег (2006 г.) было обнаружено увеличение концентрации проатерогенных факторов у пациентов с ночным апноэ. Так, у лиц с СОАС статистически значимо ($p < 0,05$) были повышены уровень гомоцистеина и концентрация СРБ, которые могут в свою очередь являться предикторами основного прогноза сердечно-сосудистых заболеваний и лечения обструктивного апноэ во сне [25].

F. J. Nieto и соавторы (2000 г.) показали, что обструктивное апноэ во сне способствует развитию и прогрессированию заболеваний сердечно-сосудистой системы [26].

В исследовании A. S. Gami и коллег (2007 г.) было показано, что обструктивное апноэ во сне является независимым предиктором возникновения фибрилляции предсердий, что в свою очередь значительно повышает риск возникновения ишемического инсульта [27].

В работе C. Rangemark (1998 г.), результаты которой подтверждены данными более современного исследования K. Vagai и соавторов (2014 г.), выявлено парадоксальное ночное повышение свертываемости крови, которое рассматривается как возможный механизм повышения риска ишемических событий при обструктивном апноэ во сне. У пациентов с эпизодами ночного апноэ отмечено повышение активации и агрегации тромбоцитов, рост уровня фибриногена и снижение фибринолитической активности во время сна [28, 29].

Взаимосвязь синдрома обструктивного апноэ во сне и цереброваскулярных нарушений в настоящее время остается предметом углубленного изучения, что нашло отражение в работах Полуэктова М. г. и соавторов (2002 г.), E. R. Cho и коллег (2013 г.), S. M. Stahl и соавторов (2015 г.) [30–32].

По данным исследований O. Parra и коллег (2016 г.) и C. Sahlin (2008 г.), отмечается, что синдром обструктивного апноэ во сне является фактором риска острых нарушений мозгового кровообращения, что в свою очередь повышает риск смертности, обусловленной инсультом [23, 33].

Группами ученых — A. Iranzo и соавторами (2002 г.), Y. Kaneko и коллегами (2003 г.), C. Selic и соавторами (2005 г.) — было установлено, что наличие нарушений дыхания во сне после перенесенного ОНМК связано с более быстрым прогрессированием тяжести инсульта, повышенными уровнями артериального давления и более длительными сроками стационарного лечения в острой фазе [34–36].

В хронической фазе, по данным S. Yanfang и коллег (2009 г.), у пациентов с нарушениями дыхания во сне, перенесших инсульт, отмечаются неблагоприятные функциональные исходы и более высокая смертность, что подтверждают исследования C. Bassetti и соавторов (2006 г.) и O. Parra и коллег (2004 г.) [37–39].

По данным отечественной (Полуэктов М. г. и др., 2002 г.) и зарубежной (Parra O. и др., 2011 г.) литературы, частота нарушений дыхания во сне при ишемическом инсульте выше, чем в общей популяции, и отличается большой вариабельно-

стью — от 32 до 80 % больных [30, 40]. При этом синдром нарушения дыхания во сне до инсульта был выявлен только у 25 % пациентов, что наталкивает на мысль о влиянии собственно острого церебрального поражения на развитие нарушений дыхания во сне.

Так, в своем исследовании Фонякин А. В. и соавторы (2018 г.) показали, что у больных с острым ишемическим инсультом и хроническими формами цереброваскулярных заболеваний нарушения дыхания во сне имеют широкую распространенность. При этом при хронических цереброваскулярных заболеваниях дыхательные нарушения регистрируются несколько чаще, однако преимущественно синдром центрального апноэ обнаружен только при остром инсульте. Таким образом, выявленные отличия позволяют сделать вывод о том, что собственно инсульт не является причиной развития нарушений дыхания во сне, не приводит к существенному их нарастанию по типу обструктивного апноэ, но может индуцировать расстройства дыхания по типу центрального апноэ, а также усугублять существующие ранее дыхательные нарушения [41].

С другой стороны, в исследованиях W. N. Kernan и соавторов (2014 г.) и D. L. Brown (2014 г.) показано, что связь между инсультом и нарушением дыхания во сне может быть двусторонней. С одной стороны, синдром обструктивного апноэ во сне является самостоятельным фактором риска инсульта, а с другой — при инсульте может вовлекаться в поражение не только дыхательный центр, но и структуры, отвечающие за иннервацию дыхания и мускулатуры верхних дыхательных путей, что приводит к возникновению синдрома обструктивного апноэ во сне уже после развития инсульта [42, 43].

По данным метаанализа K. G. Johnson и коллег (2010 г.), распространенность нарушений дыхания во сне при остром нарушении мозгового кровообращения составляет от 30 до 80 % [44].

В более позднем метаанализе A. Seiler и соавторов (2019 г.), выполненном на материале 89 исследований с участием 7 096 пациентов, приводятся следующие результаты: распространенность нарушений дыхания во сне с индексом апноэ-гипопноэ выше 5/ч и выше 30/ч выявлена у 71 % и 30 % пациентов соответственно [45].

Кравченко М. В. и коллеги (2020 г.) утверждают, что острое нарушение мозгового кровообращения супратенториальной локализации может вызывать нарушения дыхания во сне или приводить к их усугублению. Они же пишут «о вероятной связи синдрома обструктивного апноэ во сне с нарушением

мозгового кровообращения кардиоэмболического и атеротромботического генеза» [46].

Гиперсомния и острый ишемический инсульт

Отдельное внимание в классификации расстройств сна при ишемическом инсульте стоит уделить нарушению бодрствования, или гиперсомнии. Смирнов А. (2017 г.) дает следующее определение: «Гиперсомния — это патологическое состояние, которое проявляется увеличением продолжительности сна на 20–25 % в сравнении с индивидуальной суточной продолжительностью сна» [47].

Согласно классификации Российского общества сомнологов, наиболее распространенными видами гиперсомнии являются нарколепсия, идиопатическая гиперсомния и гиперсомния при наличии соматического заболевания. Последний тип гиперсомнии диагностируется в том случае, когда присутствуют ишемические изменения головного мозга, вызывающие сонливость, что находит подтверждение и в Международной классификации расстройств сна 3-го пересмотра [49].

По данным разных авторов (Leppavuori A. и др., 2002 г.; Arzt M. и др., 2010 г.), распространенность гиперсомнии среди больных, перенесших инсульт, колеблется от 1,1 % до 27 % [49, 50].

Известно, что к структурам, ответственным за нормальное поддержание системы «сон-бодрствование», относится восходящая ретикулярная формация. Соответственно, снижение порога ее активации ведет к поражениям с развитием гиперсомнии, которые включают двусторонние таламические поражения, таламо-мезэнцефальные поражения, поражения верхнего моста и поражения в медиальной области моста, то есть в области, где концентрируются волокна восходящей ретикулярной формации. При корковых и подкорковых поражениях, за исключением поражений в таламусе, активирующая система страдает в меньшей степени, поскольку проекции восходящей ретикулярной формации более рассеяны, если только очень обширное поражение не сдавливает верхнюю часть ствола мозга из-за отека. Во время сна церебральные микровозбуждения, по-видимому, более часты у пациентов с медиальными поражениями, в то время как более латеральные поражения, как правило, вызывают двигательные микровозбуждения [51].

Менее типичные области поражения головного мозга при гиперсомнии включают полосатое тело, мостовую часть крыши, продолговатый мозг и полушария головного мозга. Поражения в полу-

шариях головного мозга вызывают гиперсомнию только в том случае, если они очень большие, причем более типично, если они поражают левое полушарие больше, чем правое, и переднюю область больше, чем заднюю [52].

Эти же данные находят свое подтверждение в исследовании A. Ferre и соавторов (2010 г.), которые обнаружили в работе M. Arzt и коллег (2013 г.) сведения о том, что поражение полушарий головного мозга вызывает гиперсомнию только в случае значительного объема очага повреждения, при этом гиперсомния чаще развивается при вовлечении в патологический процесс левого полушария, а не правого [53].

Наиболее тяжелые случаи гиперсомнии вызваны инфарктами парамедианного таламуса. Пациенты склонны к внезапно наступающему ступору, демонстрируя нормальные реакции на стимулы, связанные с дефицитом внимания и памяти. В то время как гиперсомния может улучшиться в течение 12 месяцев после инфаркта, когнитивный дефицит может сохраняться [54, 55].

Последствия инсульта также могут напоминать состояния, связанные с гиперсомнией центральной нервной системы, такие как нарколепсия с катаплексией и синдром Клейне-Левина. Нарколепсия была описана при поражениях, вызванных церебральной гипоксией, и при двусторонних диэнцефальных инфарктах [56, 57]. Единственный известный в литературе случай синдрома Клейне-Левина (гиперсомния с гиперфагией) был описан M. E. Drake и соавторами (1987 г.) у пациентов с множественными церебральными инфарктами [58].

Очень важно различать гиперсомнию, простое усиление потребности во сне, сонливость вследствие энцефалопатии (степень возбуждения) и быструю утомляемость. Усталость — это физическое ощущение усталости, нехватки энергии и выраженной сонливости, сопровождающееся нормальным или меньшим, чем обычно, количеством сна. Исследование C. Winward и коллег (2009 г.) показало усталость у 46 % пациентов с инсультом. Хотя гиперсомния может улучшиться после первых нескольких месяцев, утомляемость сохраняется в хронической фазе [59]. Связать усталость с инсультом чрезвычайно сложно, поскольку симптомы могут совпадать с симптомами расстройств настроения, неврологических последствий и нейропсихологических последствий, вторичных по отношению к инсульту.

В своей работе Терновых И. К., Алексеева Т. М., Коростовцева Л. С. и др. (2021 г.) также обратили внимание на разную трактовку схожих понятий и разделяют понятие «нарушение бодрствования»

на различные дефиниции, предлагая разграничить такие варианты, как «сонливость, сонность, гиперсомния, избыточная дневная сонливость и даже усталость», опираясь на обзор Европейского совета экспертов-сомнологов (2020 г.), где были представлены четкие определения и критерии диагностики гиперсомнических расстройств [60]. По данным G. J. Lammers и соавторов (2020 г.), было предложено использовать обобщающий термин «гиперсомноленция» для двух клинических форм — избыточной дневной сонливости (ИДС) и избыточной потребности во сне (ИПС).

Таким образом, гиперсомноленция — это наличие жалоб на избыточную дневную сонливость и/или избыточную потребность во сне. Избыточная дневная сонливость была описана как «жалоба на неспособность бодрствовать в течение обычного периода дневного бодрствования»; а избыточная потребность во сне — как «жалоба на потребность в чрезмерном количестве сна (минимум 10 часов) в течение суток, с ночной составляющей не менее 9 часов; жалоба должна быть связана с нарушением, обуславливающим ухудшение качества дневного бодрствования, которое не может быть устранено увеличением количества сна». При объективном подтверждении избыточной потребности во сне, по предложению экспертов, выставляется диагноз «гиперсомния» [60].

Выше рассмотрены основные виды нарушений сна, которые преимущественно встречаются при ОНМК по ишемическому типу. В большинстве известных на данный период исследований сохраняется тенденция к теории о двунаправленности процесса развития нарушений сна как факторе риска развития ишемического инсульта, и к варианту последствий возникновения вторичных нарушений сна после перенесенного ишемического инсульта.

Лучевые методы диагностики нарушений сна у пациентов с острым ишемическим инсультом

На данный момент в отечественной литературе не описаны лучевые методы диагностики нарушений сна при остром ишемическом инсульте. В зарубежной литературе представлены единичные случаи применения КТ и МРТ для диагностики нарушений сна при остром ишемическом инсульте.

С развитием высокотехнологичных методов диагностики стало возможно визуализировать структурные изменения головного мозга в первые часы при цереброваскулярной патологии.

Ультразвуковая диагностика, по данным A. S. Jahromi и коллег (2005 г.), значительно уступает методам КТ и МРТ, поэтому не используется для

диагностики острого инсульта, но, по мнению авторов, могла бы стать скрининговым методом для оценки цереброваскулярного риска за счет своей неинвазивности и безопасности [61].

Методом выбора для диагностики ОНМК в настоящее время является КТ за счет высокой скорости выполнения и степени чувствительности к выявлению геморрагических инсультов, а также отсутствия противопоказаний в острый период инсульта [62–65]. Этот факт подтверждают исследования N. Sanossian и коллег (2017 г.), где оценивается распространенность применения мультимодальных КТ и МРТ, которые, в свою очередь, включают нативную КТ, КТ-ангиографию и перфузионную КТ; МРТ включает стандартные последовательности T1, T2, диффузионно-взвешенную визуализацию (DWI), визуализацию перфузии, инверсионное восстановление с ослаблением жидкости (FLAIR) и последовательности градиентного эхо (GRE) в сочетании с МР-ангиографией головы и шеи для диагностики острого ишемического инсульта [66, 67].

Компьютерно-томографическая ангиография (КТА) сосудов головы и шеи — лучший метод визуализации для выявления окклюзий сонных и основных внутричерепных артерий [68]. По данным M. H. Lev и соавторов (2001 г.), КТА продемонстрировала чувствительность — 98,4 %, специфичность — 98,1 % и точность — 99 % определения окклюзии большого сосуда [69]. Визуализация сонной артерии при оценке острого инсульта важна, потому что у пациентов с каротидным стенозом высокой степени тяжести могут быть эффективны каротидная эндартерэктомия или стентирование [70, 71].

Перфузионная КТ при остром инсульте находит свое применение в оценке гемодинамических изменений физиологических характеристик паренхимы головного мозга, определении объема инфарктного ядра и ишемической полутени [65]. Полутень может предсказать хороший или плохой исход в зависимости от статуса реканализации [72].

Мировой опыт использования методики диффузионно-взвешенной МРТ головного мозга показывает, что она является золотым стандартом и представляет доказательства уровня I для выявления инфарктного ядра [68]. Этот метод высокочувствителен (91–100 %) и специфичен (86–100 %) при выявлении ранней ишемии в течение 6 ч от начала инсульта [73, 74].

Методика МРТ с подавлением сигнала от свободной жидкости (FLAIR) является идентификатором времени, прошедшего с начала инсульта. В течение первых 6 ч после начала инсульта ги-

перинтенсивность в FLAIR увеличивается с каждым часом [75]. Гиперинтенсивность сосудов при FLAIR-визуализации у пациентов с острым ишемическим инсультом была связана с медленным кровотоком в коллатеральных артериях [76].

Методика МРТ в режиме SWI, взвешенная по неоднородности магнитного поля, является очень чувствительной к присутствию парамагнитных материалов [77]. Этот метод полезен для выявления внутриартериального тромба, который определяется как наличие гипоинтенсивности в сосуде, диаметр которого превышает диаметр контралатеральной стороны, по данным Rovira и соавторов (2004 г.), чувствительность и специфичность составляют 83 % и 100 % соответственно [78].

МР-ангиография является еще одной неинвазивной методикой оценки интра- и экстракраниальной сосудистой сети при стенозе, окклюзии, внутрисосудистых тромбах и сужении просвета [79]. Временипролетная ангиография (TOF-MRA) часто используется для оценки внутричерепной сосудистой системы, в то время как МРА с контрастным усилением лучше оценивает интра- и экстракраниальную сосудистую сеть [68]. В исследовании Adams и коллег (2007 г.) говорится, что чувствительность и специфичность МРА при обнаружении шейного и внутричерепного стеноза колеблется от 70 % до 100 % [80].

Перфузионная МРТ позволяет получить представление о состоянии мозгового кровотока, в том числе выявить область сниженного кровотока — гипоперфузии, которая соответствует пенумбре. Методика МРТ-перфузии базируется на двух способах получения изображения: основанном на анализе прохождения контрастного вещества по сосудистому руслу и методе маркирования артериальных спинов [86]. Все получаемые при МРТ показатели являются полуколичественными (относительными), так как вычисляются путем сравнения с симметричной областью контралатерального полушария большого мозга. Исследование I. Kane и соавторов (2007 г.) показало несоответствие объемов поражения и параметров перфузии [82].

Функциональная МРТ (фМРТ) является важной современной методикой нейровизуализации, которая позволяет визуализировать усиление локального мозгового кровотока и оценивать активацию нейронов головного мозга. На настоящий момент фМРТ не получила широкого клинического применения, хотя успешно используется в ведущих неврологических и нейрохирургических клиниках, а также в научных исследованиях, изучающих мозговую деятельность [83]. Оценка эффективности реабилитации после инсульта яв-

ляется одним из перспективных направлений использования фМРТ.

Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) представляет собой высокоинформативный радиоизотопный метод нейровизуализации, который позволяет одновременно исследовать показатели мозгового кровотока и метаболизма, оценивать эффективность медикаментозного и хирургического лечения [84].

ПЭТ с радиофармацевтическими препаратами считается эталонным методом выявления жизнеспособности нейронов. Снижение мозгового кровотока и метаболизма характерно в свою очередь для инфаркта мозга [81].

Для получения томографических изображений и количественного расчета показателей мозгового кровотока и метаболизма используют изотопы, способные к диффузии: ^{15}O (период полураспада 2 мин) в качестве метки кислорода, а также оксида углерода (CO и CO_2). Для оценки потребления глюкозы применяют 18-фтордезоксиглюкозу (период полураспада 110 мин), меченную изотопом ^{18}F [85].

При ПЭТ область «ишемической полутени» представляет собой область сниженного мозгового кровотока (22–12 мл на 100 г ткани мозга в 1 мин), нормальных показателей интенсивности поглощения кислорода (выше 65 ммоль на 100 г ткани мозга в 1 мин) и повышенной доли кислорода, извлеченного из артериальной крови. Область с необратимыми нарушениями («ядра» инфаркта) характеризуется снижением интенсивности поглощения кислорода (65 ммоль на 100 г ткани мозга в 1 мин и менее) и мозгового кровотока (12 мл на 100 г ткани мозга в 1 мин и менее) [84].

Однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ) также может применяться для исследования мозгового кровотока и визуализации области ишемии в течение первых 48 ч. В большинстве случаев можно осуществить лишь визуальный (качественный) анализ изображений или провести полуколичественную оценку полученных данных. Однако главным недостатком этого метода является невозможность оценки метаболизма мозга [81].

Несмотря на обилие исследований лучевой диагностики острого ишемического инсульта, а также представленных в зарубежной литературе разнообразных работ по изучению функциональных связей при нарушениях сна и циркадного ритма, в частности, о нарушениях сна у абстинентных пациентов мужского пола, страдающих алкогольной зависимостью (L. Jingjing и др., 2019 г.), о сочетанном влиянии нарушений сна и болезни Альцгейме-

ра на функции мозга (L. Kaicheng и др., 2021), о нарушениях сна при двигательных расстройствах (Y. Taууаbаh и др., 2021) [86–88], в современной отечественной и зарубежной литературе приводится небольшое количество исследований по изучению изменений головного мозга при нарушениях сна у пациентов с острым ишемическим инсультом.

В исследовании S. M. Stahl и соавторов (2015 г.) была изучена взаимосвязь между локализацией ишемического инсульта, распространенностью и тяжестью обструктивного апноэ на основе индекса апноэ-гипопноэ, частоты пробуждения и степени гипоксии; и количеством центральных и обструктивных респираторных событий [32].

В этом исследовании КТ и МРТ проводились пациентам в течение 48 часов после обращения в отделение неотложной помощи. При нескорректированном моделировании локализация острого ишемического инсульта была классифицирована на основе результатов визуализации головного мозга следующим образом: лобная (лобная, теменная, височная, островковая, затылочная), подкорковая (таламус, базальные ганглии, внутренняя капсула, лучистый венец, мозолистое тело), ствол головного мозга (средний мозг, мост, продолговатый мозг) и/или мозжечок/мозжечковая ножка. Группы локализации инсульта были распределены в следующие категории: заднее кровообращение, переднее кровообращение, подкорковое/лакунарное, супратенториальное, инфратенториальное и потенциальные двигательные пути. Потенциальные двигательные пути были оценены в попытке выделить пути, которые могут способствовать слабости бульбарных/верхних дыхательных путей, и определены как области, в которых потенциально могут быть задействованы двигательные пути (например, лобная доля, таламус, внутренняя капсула и расположение ствола мозга). Поскольку заключения о визуализации головного мозга не предусматривают измерение конкретного размера инфаркта, поэтому оценка размера инфаркта включена в эти анализы на основании количества вовлеченных долей.

Среди 135 пациентов с острым ишемическим инсультом распространенность обструктивного апноэ во сне составила 79 %. Однако результаты этого исследования не выявили достаточной связи между конкретной локализацией инсульта в головном мозге и развитием обструктивного апноэ во сне. Большой размер зоны инсульта, на который указывает количество вовлеченных долей, и его тяжесть также не коррелировали с более высокой распространенностью синдрома обструктивного апноэ во сне.

В трех разных случаях, представленных J. J. Askenasy и соавторами (1988 г.), B. A. Chaudhary и коллегами (1988 г.), V. Mohsenin и соавторами (1995 г.), исследователи отмечают наличие связи локализации инсульта в стволовых структурах с риском развития синдрома обструктивного апноэ во сне [89–91].

J. Harbison и коллеги (2002 г.) показали, что у пациентов с лакунарными инфарктами тяжесть синдрома обструктивного апноэ во сне была больше, чем у пациентов с инсультами коры головного мозга переднего круга кровообращения [92]. Однако данные S. M. Stahl и соавторов (2015 г.) не подтвердили связь между локализацией подкоркового/лакунарного инсульта и распространенностью обструктивного апноэ во сне.

В исследованиях A. T. Noradina и коллег (2006 г.) и M. Bonnin-Vilaplana и соавторов (2009 г.) также сообщалось о связи между тяжестью апноэ во сне и лакунарным инфарктом [93–95].

Таким образом, обструктивное апноэ во сне присутствует у большинства пациентов, перенесших инсульт. Была изучена взаимосвязь между локализацией инфаркта и апноэ во сне, с учетом разноплановых итоговых данных локализация ишемического инсульта не может быть надежно использована для выявления более высокого риска синдрома обструктивного апноэ во сне.

Так, A. L. Fisse и соавторы (2017 г.) исследуют связь локализации ишемического инсульта и нарушения дыхания, связанные со сном. Стоит отметить, что в данном исследовании МРТ оценивали с использованием стандартизированных карт для отображения распределения вероятности инфаркта по вокселям у пациентов с нарушениями дыхания во сне и без него. Группы сравнивались с помощью логистического регрессионного анализа. По результатам не было обнаружено связи между локализацией поражения и нарушением дыхания во сне у пациентов, перенесших инсульт. Учитывая высокую распространенность нарушений дыхания во сне у пациентов, перенесших инсульт, эти данные свидетельствуют о том, что ишемия головного мозга способствует возникновению нарушения дыхания во сне у пациентов с уже существующими факторами риска, а не вызывает его путем повреждения определенных структур центральной нервной системы [96].

Обсуждение

Острый ишемический инсульт в сочетании с нарушениями сна является признанной актуальной проблемой, так как помимо высокой смертности и инвалидизации населения влияет, в том

числе, на социально-экономические факторы развития общества.

Исходя из проанализированной литературы отечественных и зарубежных авторов, можно сделать вывод о том, что на данный вопрос в последнее время ученые стали обращать свое внимание, но доступных исследований остается по-прежнему недостаточно. Хотя в данной статье нами обобщены сведения иностранных авторов о результатах применения лучевых методов исследования в диагностике различных форм нарушений сна (инсомния, нарушения дыхания во сне, гиперсомнии центрального происхождения, нарушения циркадного ритма сна и бодрствования, парасомнии, нарушения движений во сне, нарушение сна неутонченное или связанное с факторами окружающей среды, соматические и неврологические расстройства, связанные со сном), для более детального и углубленного изучения проблемы нарушений сна у больных с ишемическим инсультом необходимо проведение большего количества исследований, включающих большие выборки пациентов.

В то же время нельзя не отметить, что основное внимание исследователей обращено только к одному из возможных нарушений сна, а именно: обструктивному апноэ во сне, вероятно, из-за того, что данное нарушение является наиболее очевидным и легким в своей диагностике. В то время как инсомния и гиперсомния, которые с не меньшей частотой встречаются у пациентов с ишемическим инсультом, остаются без должного внимания, а данные о лучевой диагностике этих нарушений вовсе не встречаются в доступной литературе.

В связи с этим, для изучения структурных и функциональных изменений головного мозга необходимо дальнейшее исследование нарушений сна у пациентов с острым ишемическим инсультом с применением высокотехнологичных доступных методов лучевой диагностики.

Заключение

Проведенный обзор литературных источников демонстрирует применение различных методов в диагностике нарушений сна при ОНМК, которые характеризуются неодинаковой информативностью. Результаты, изложенные в различных публикациях, носят неоднозначный характер. Общеизвестным является ведущая роль МРТ в выявлении структурных и функциональных изменений головного мозга у лиц с нарушениями сна при ОНМК. При этом некоторые авторы отдают предпочтение функциональным методикам МРТ, другие же подчеркивают роль ПЭТ для расчета показателей мозгового кровотока и метаболизма.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Благодарности / Acknowledgments

Работа поддержана грантом РФФИ №22-25-00766. / The work was supported by the RFNF grant No. 22-25-00766.

Список литературы / References

1. Koval'zon VM. On the functions of sleep. Journal of evolutionary biochemistry and physiology=Jurnal evolyucionnoy biohimii i fiziologii. 1993; 29(5–6):655–660. In Russian [Ковальзон В.М. О функциях сна. Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 1993; 29(5–6):655–660.]
2. Mayer G, Jennum P, Riemann D, et al. Insomnia in central neurologic diseases--occurrence and management. Sleep Med Rev. 2011; 15(6):369–378. DOI: 10.1016/j.smrv.2011.01.005.
3. Ababkov VA, Avakyan GN, Avdyunina IA, et al. Neurology. National guidance. 2nd ed. by Gusev EI, Konovalov AN, Geht AB. 2019. p.880. In Russian [Абабков В.А., Авакян Г.Н., Авдюнина И.А. и др. Неврология: Национальное руководство. 2-е изд. / Ред.: Гусев Е.И., Коновалов А.Н., Гехт А.Б. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2019. 880 с.]
4. Clinical guidelines: Ischemic stroke and transient ischemic attack in adults. In Russian [Клинические рекомендации: Ишемический инсульт и транзиторная ишемическая атака у взрослых.] https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/171_2 (2021)
5. Medical and demographic indicators of the Russian Federation in 2012. 2013: Stat. Reference book. Ministry of Health of Russia. In Russian [Медико-демографические показатели Российской Федерации в 2012 году. 2013: Стат. справочник. Минздрав России.] <https://minzdrav.gov.ru/documents/8029> (2013)
6. Kripke DF, Garfinkel L, Wingard DL, et al. Mortality associated with sleep duration and insomnia. Arch Gen Psychiatry. 2002; 59(2):131–136. DOI: 10.1001/archpsyc.59.2.131.
7. Chen JC, Brunner RL, Ren H, et al. Sleep duration and risk of ischemic stroke in postmenopausal women. Stroke. 2008; 39(12):3185–3192. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.521773.
8. Gasanov RL. Brain functioning in the cycle “wakefulness-sleep” in patients with cerebral stroke: Doctoral Thesis, 2000. In Russian [Гасанов Р.Л. Функционирование мозга в цикле «бодрствование–сон» у больных, перенесших мозговую инсульт. Диссертация доктора медицинских наук, 2000.]
9. Poluektov MG. Somnology and sleep medicine in Russia. Human physiology. 2013; 39(6):5–12. In Russian [Полуэктов М.Г. Сомнология и медицина сна в России.

Физиология человека. 2013; 39(6):5–12.] DOI: 10.7868/S0131164613060106.

10. American Academy of Sleep Medicine. International classification of sleep disorders, 3rd ed.: Diagnostic and coding manual. Westchester, III: American Academy of Sleep Medicine. 2014.

11. Laugsand LE, Strand LB, Vatten LJ, et al. Insomnia symptoms and risk for unintentional fatal injuries--the HUNT Study. *Sleep*. 2014; 37(11):1777–1786. DOI: 10.5665/sleep.4170.

12. Wu MP, Lin HJ, Weng SF, et al. Insomnia subtypes and the subsequent risks of stroke: report from a nationally representative cohort. *Stroke*. 2014; 45(5):1349–1354. DOI: 10.1161/STROKEAHA.113.003675.

13. Sauvet F, Leftheriotis G, Gomez-Merino D, et al. Effect of acute sleep deprivation on vascular function in healthy subjects. *J Appl Physiol* (1985). 2010; 108(1):68–75. DOI: 10.1152/japplphysiol.00851.2009.

14. Okun ML. Biological Consequences of Disturbed Sleep: Important Mediators of Health? *Jpn Psychol Res*. 2011; 53(2):163–176. DOI: 10.1111/j.1468-5884.2011.00463.x.

15. Grandner MA, Sands-Lincoln MR, Pak VM, et al. Sleep duration, cardiovascular disease, and proinflammatory biomarkers. *Nat Sci Sleep*. 2013; 5:93–107. DOI: 10.2147/NSS.S31063.

16. Vinogradov OI, Kulagina AM. Insomnia and sleep-related breathing disturbances are the new risk factors for ischemic stroke. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S. S. Korsakova*. 2015; 115(3–2):40–47. In Russian [Виноградов О.И., Кулагина А.М. Инсомния и расстройства дыхания во сне: новые факторы риска ишемического инсульта. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. Спецвыпуски. 2015;115(3–2):40–47.] DOI: 10.17116/jnevro20151153240-47.

17. Tsara V, Amfilochiou A, Papagrigrakis MJ, et al. Guidelines for diagnosis and treatment of sleep-related breathing disorders in adults and children. Definition and classification of sleep related breathing disorders in adults: different types and indications for sleep studies (Part 1). *Hippokratia*. 2009; 13(3):187–191.

18. Guilleminault C, Dement WC. Sleep apnoea syndromes. New York: Alan R, Liss Inc. 1978. p.390. DOI:10.1016/0013-4694(79)90271-2.

19. Tsai JC. Neurological and neurobehavioral sequelae of obstructive sleep apnea. *NeuroRehabilitation*. 2010; 26(1):85–94. DOI: 10.3233/NRE-2010-0538.

20. Pizza F, Biallas M, Kallweit U, et al. Cerebral hemodynamic changes in stroke during sleep-disordered breathing. *Stroke*. 2012; 43(7):1951–1953. DOI: 10.1161/STROKEAHA.112.656298.

21. Cereda CW, Tamisier R, Manconi M, et al. Endothelial dysfunction and arterial stiffness in ischemic stroke: the role of sleep-disordered breathing. *Stroke*. 2013; 44(4):1175–1178. DOI: 10.1161/STROKEAHA.111.000112.

22. Wessendorf TE, Thilman AF, Wang YM, et al. Fibrinogen levels and obstructive sleep apnea in ischemic stroke. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000; 162(6):2039–2042. DOI: 10.1164/ajrccm.162.6.2001048.

23. Sahlin C, Sandberg O, Gustafson Y, et al. Obstructive sleep apnea is a risk factor for death in patients with stroke: a 10-year follow-up. *Arch Intern Med*. 2008; 168(3):297–301. DOI: 10.1001/archinternmed.2007.70.

24. Volov NA, Shaydyuk OYu, Taratukhin EO. Sleep apnea syndrome and cardiovascular risk factors. *Russian Journal of Cardiology*. 2008; 3:65–70. In Russian [Волов Н.А., Шайдюк О.Ю., Таратухин Е.О. Синдром ночного апноэ и факторы риска сердечно-сосудистой патологии. Российский кардиологический журнал. 2008; 3:65–70.]

25. Can M, Açıkgöz Ş, Mungan G, et al. Serum cardiovascular risk factors in obstructive sleep apnea. *Chest*. 2006; 129(2):233–237. DOI: 10.1378/chest.129.2.233.

26. Nieto FJ, Young TB, Lind BK, et al. Association of sleep-disordered breathing, sleep apnea, and hypertension in a large community-based study. *Sleep Heart Health Study*. *JAMA*. 2000; 283(14):1829–1836. DOI: 10.1001/jama.283.14.1829.

27. Gami AS, Hodge DO, Herges RM, et al. Obstructive sleep apnea, obesity, and the risk of incident atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 49(5):565–571. DOI: 10.1016/j.jacc.2006.08.060.

28. Rångemark C, Hedner JA, Carlson JT, et al. Platelet function and fibrinolytic activity in hypertensive and normotensive sleep apnea patients. *Sleep*. 1995; 18(3):188–194. DOI: 10.1093/sleep/18.3.188.

29. Bagai K, Muldowney JA 3rd, Song Y, et al. Circadian variability of fibrinolytic markers and endothelial function in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep*. 2014; 37(2):359–367. DOI: 10.5665/sleep.3414.

30. Poluektov MG, Bahrevskiy IE, Koshelev IYu, et al. Breathing disorders during sleep in cerebral stroke. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S. S. Korsakova*. (Supplementary material: Insult). 2002; 5: 22–26. In Russian [Полуэктов М.Г., Бахревский И.Е., Кошелев И.Ю. и др. Расстройства дыхания во сне при церебральном инсульте. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова (приложение «Инсульт»), 2002; 5: 22–26.]

31. Cho ER, Kim H, Seo HS, et al. Obstructive sleep apnea as a risk factor for silent cerebral infarction. *J Sleep Res*. 2013; 22(4):452–458. DOI: 10.1111/jsr.12034.

32. Stahl SM, Yaggi HK, Taylor S, et al. Infarct location and sleep apnea: evaluating the potential association in acute ischemic stroke. *Sleep Med*. 2015; 16(10):1198–1203. DOI: 10.1016/j.sleep.2015.07.003.

33. Parra O, Arboix A. Stroke and sleep-disordered breathing: A relationship under construction. *World J Clin Cases*. 2016; 4(2):33–37. DOI: 10.12998/wjcc.v4.i2.33.

34. Iranzo A, Santamaría J, Berenguer J, et al. Prevalence and clinical importance of sleep apnea in the

- first night after cerebral infarction. *Neurology*. 2002; 58(6):911–916. DOI: 10.1212/wnl.58.6.911.
35. Selic C, Siccoli MM, Hermann DM, et al. Blood pressure evolution after acute ischemic stroke in patients with and without sleep apnea. *Stroke*. 2005; 36(12):2614–2618. DOI: 10.1161/01.STR.0000189689.65734.a3.
36. Kaneko Y, Hajek VE, Zivanovic V, et al. Relationship of sleep apnea to functional capacity and length of hospitalization following stroke. *Sleep*. 2003; 26(3):293–297. DOI: 10.1093/sleep/26.3.293.
37. Yan-fang S, Yu-ping W. Sleep-disordered breathing: impact on functional outcome of ischemic stroke patients. *Sleep Med*. 2009; 10(7):717–719. DOI: 10.1016/j.sleep.2008.08.006.
38. Bassetti CL, Milanova M, Gugger M. Sleep-disordered breathing and acute ischemic stroke: diagnosis, risk factors, treatment, evolution, and long-term clinical outcome. *Stroke*. 2006; 37(4):967–972. DOI: 10.1161/01.STR.0000208215.49243.c3.
39. Parra O, Arboix A, Montserrat JM, et al. Sleep-related breathing disorders: impact on mortality of cerebrovascular disease. *Eur Respir J*. 2004; 24(2):267–272. DOI: 10.1183/09031936.04.00061503.
40. Parra O, Sánchez-Armengol A, Bonnin M, et al. Early treatment of obstructive apnoea and stroke outcome: a randomised controlled trial. *Eur Respir J*. 2011; 37(5):1128–1136. DOI: 10.1183/09031936.00034410.
41. Fonyakin AV, Geraskina LA, Maksimova MYu, et al. Prevalence and character of sleep-disordered breathing in ischemic stroke. *Cardiosomatics*. 2018; 9(2):12–16. In Russian [Фонякин А.В., Гераскина Л.А., Максимова М.Ю. и др. Распространенность и характер нарушений дыхания во сне при ишемическом инсульте. *КардиоСоматика*. 2018; 9(2):12–16.] DOI: 10.26442/2221-7185_2018.2.12-16.
42. Kernan WN, Ovbiagele B, Black HR, et al. Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2014; 45(7):2160–2236. DOI: 10.1161/STR.0000000000000024.
43. Brown DL, McDermott M, Mowla A, et al. Brainstem infarction and sleep-disordered breathing in the BASIC sleep apnea study. *Sleep Med*. 2014; 15(8):887–891. DOI: 10.1016/j.sleep.2014.04.003.
44. Johnson KG, Johnson DC. Frequency of sleep apnea in stroke and TIA patients: a meta-analysis. *J Clin Sleep Med*. 2010; 6(2):131–137.
45. Seiler A, Camilo M, Korostovtseva L, et al. Prevalence of sleep-disordered breathing after stroke and TIA: A meta-analysis. *Neurology*. 2019; 92(7):e648–e654. DOI: 10.1212/WNL.0000000000006904.
46. Kravchenko MV, Korostovtseva LS, Golovkova-Kucheriavaia MS, et al. Sleep breathing disorders in ischemic stroke: relationship with the localization and toast classification subtypes. *Translational Medicine*. 2020; 7(3):14–20. In Russian [Кравченко М.В., Коростовцева Л.С., Головкова-Кучерявая М.С. и др. Нарушения дыхания во сне при ишемическом инсульте: связь с локализацией и типом классификации TOAST. *Трансляционная медицина*. 2020; 7(3):14–20.] DOI: 10.18705/2311-4495-2020-7-3-14-20.
47. Smirnov A. Hypersomnia. *Central Science Bulletin*. 2017; 12(29):42–44. Смирнов А. Гиперсомния. *Центральный научный вестник*. 2017; 12(29): 42–44.
48. American Academy of Sleep Medicine. International classification of sleep disorders, 3rd ed. Darien, IL: American Academy of Sleep Medicine. 2014.
49. Leppävuori A, Pohjasvaara T, Vataja R, et al. Insomnia in ischemic stroke patients. *Cerebrovasc Dis*. 2002; 14(2):90–97. DOI: 10.1159/000064737.
50. Arzt M, Young T, Peppard PE, et al. Dissociation of obstructive sleep apnea from hypersomnolence and obesity in patients with stroke. *Stroke*. 2010; 41(3):e129–e134. DOI: 10.1161/STROKEAHA.109.566463.
51. Passouant P, Cadilhac J, Baldy-Moulinier M. Physio-pathologie des hypersomnies [Physiopathology of hypersomnias]. *Rev Neurol (Paris)*. 1967; 116(6):585–629.
52. Vock J, Achermann P, Bischof M, et al. Evolution of sleep and sleep EEG after hemispheric stroke. *J Sleep Res*. 2002; 11(4):331–338. DOI: 10.1046/j.1365-2869.2002.00316.x.
53. Ferre A, Ribó M, Rodríguez-Luna D, et al. Strokes and their relationship with sleep and sleep disorders. *Neurologia*. 2013; 28(2):103–118. DOI: 10.1016/j.nrl.2010.09.016.
54. Hermann DM, Siccoli M, Brugger P, et al. Evolution of neurological, neuropsychological and sleep-wake disturbances after paramedian thalamic stroke. *Stroke*. 2008; 39(1):62–68. DOI: 10.1161/STROKEAHA.107.494955.
55. Catsman-Berrevvoets CE, von Harskamp F. Compulsive pre-sleep behavior and apathy due to bilateral thalamic stroke: response to bromocriptine. *Neurology*. 1988; 38(4):647–649. DOI: 10.1212/wnl.38.4.647.
56. Rivera VM, Meyer JS, Hata T, et al. Narcolepsy following cerebral hypoxic ischemia. *Ann Neurol*. 1986; 19(5):505–508. DOI: 10.1002/ana.410190516.
57. Scammell TE, Nishino S, Mignot E, et al. Narcolepsy and low CSF orexin (hypocretin) concentration after a diencephalic stroke. *Neurology*. 2001; 56(12):1751–1753. DOI: 10.1212/wnl.56.12.1751.
58. Drake ME Jr. Kleine-Levin syndrome after multiple cerebral infarctions. *Psychosomatics*. 1987; 28(6):329–330. DOI: 10.1016/s0033-3182(87)72524-9.
59. Winward C, Sackley C, Metha Z, et al. A population-based study of the prevalence of fatigue after transient ischemic attack and minor stroke. *Stroke*. 2009; 40(3):757–761. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.527101.

60. Ternovyykh IK, Alekseeva TM, Korostovtseva LS, et al. Hypersomnia and excessive daytime sleepiness in ischemic stroke. Arterial'naya Gipertenziya= Arterial Hypertension. 2021; 27(5):488–498. In Russian [Терновых И.К., Алексеева Т.М., Коростовцева Л.С. и др. Гиперсомния и избыточная дневная сонливость при ишемическом инсульте. Артериальная гипертензия. 2021; 27(5):488–498.] DOI: 10.18705/1607-419X-2021-27-5-488-498.
61. Jahromi AS, Cinà CS, Liu Y, et al. Sensitivity and specificity of color duplex ultrasound measurement in the estimation of internal carotid artery stenosis: a systematic review and meta-analysis. J Vasc Surg. 2005; 41(6):962–972. DOI: 10.1016/j.jvs.2005.02.044.
62. Bryan RN, Levy LM, Whitlow WD, et al. Diagnosis of acute cerebral infarction: comparison of CT and MR imaging. AJNR Am J Neuroradiol. 1991; 12(4):611–620.
63. Pexman JH, Barber PA, Hill MD, et al. Use of the Alberta Stroke Program Early CT Score (ASPECTS) for assessing CT scans in patients with acute stroke. AJNR Am J Neuroradiol. 2001; 22(8):1534–1542.
64. Ananyeva NI, Trofimova TN. CT- and MRI diagnostics of acute ischemic stroke. SPb:SPbMAPO, 2006. P. 136. In Russian [Ананьева Н.И., Трофимова Т.Н. КТ- и МРТ-диагностика острых ишемических инсультов. СПб: СПбМАПО, 2006. 136 с.]
65. Odinak MM, Voznyuk IA, Yanishevsky SN, et al. Opportunities in multimodal neuroimaging for optimizing thrombolytic therapy for ischemic stroke. Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics. 2016; 8(1):9–15. In Russian [Одинак М.М., Вознюк И.А., Янишевский С.Н. и др. Возможности мультимодальной нейровизуализации для оптимизации тромболитической терапии при ишемическом мозговом инсульте. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2016; 8(1):9–15.] DOI: 10.14412/2074-2711-2016-1-9-15.
66. Sanossian N, Fu KA, Liebeskind DS, et al. Utilization of Emergent Neuroimaging for Thrombolysis-Eligible Stroke Patients. J Neuroimaging. 2017; 27(1):59–64. DOI: 10.1111/jon.12369.
67. Nour M, Liebeskind DS. Brain imaging in stroke: insight beyond diagnosis. Neurotherapeutics. 2011; 8(3):330–339. DOI: 10.1007/s13311-011-0046-0.
68. Yalova EV, Skobeleva YuO, Abramov AS, et al. Radiation diagnosis of acute cerebrovascular accident. Student of the Year 2019: collection of articles from the International Research Competition: in 3 parts. 2019; 1:48–68. In Russian [Ялова Е.В., Скобелева Ю.О., Абрамов А.С. и др. Лучевая диагностика острого нарушения мозгового кровообращения. Студент года 2019: сборник статей Международного научно-исследовательского конкурса: в 3 частях. 2019; 1:48–68.]
69. Lev MH, Farkas J, Rodriguez VR, et al. CT angiography in the rapid triage of patients with hyperacute stroke to intraarterial thrombolysis: accuracy in the detection of large vessel thrombus. J Comput Assist Tomogr. 2001; 25(4):520–528. DOI: 10.1097/00004728-200107000-00003.
70. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators; Barnett HJM, Taylor DW et al. Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. N Engl J Med. 1991; 325(7):445–453. DOI: 10.1056/NEJM199108153250701.
71. Yadav JS, Wholey MH, Kuntz RE, et al. Protected carotid-artery stenting versus endarterectomy in high-risk patients. N Engl J Med. 2004; 351(15):1493–1501. DOI: 10.1056/NEJMoa040127.
72. Zhu G, Michel P, Aghaebrahim A, et al. Prediction of recanalization trumps prediction of tissue fate: the penumbra: a dual-edged sword. Stroke. 2013; 44(4):1014–1019. DOI: 10.1161/STROKEAHA.111.000229.
73. Fiebach JB, Schellinger PD, Jansen O, et al. CT and diffusion-weighted MR imaging in randomized order: diffusion-weighted imaging results in higher accuracy and lower interrater variability in the diagnosis of hyperacute ischemic stroke. Stroke. 2002; 33(9):2206–2210. DOI: 10.1161/01.str.0000026864.20339.cb.
74. Mullins ME, Schaefer PW, Sorensen AG, et al. CT and conventional and diffusion-weighted MR imaging in acute stroke: study in 691 patients at presentation to the emergency department. Radiology. 2002; 224(2):353–360. DOI: 10.1148/radiol.2242010873.
75. Aoki J, Kimura K, Iguchi Y, et al. FLAIR can estimate the onset time in acute ischemic stroke patients. J Neurol Sci. 2010; 293(1-2):39–44. DOI: 10.1016/j.jns.2010.03.011.
76. Sanossian N, Saver JL, Alger JR, et al. Angiography reveals that fluid-attenuated inversion recovery vascular hyperintensities are due to slow flow, not thrombus. AJNR Am J Neuroradiol. 2009; 30(3):564–568. DOI: 10.3174/ajnr.A1388.
77. Haacke EM, Xu Y, Cheng YC, et al. Susceptibility weighted imaging (SWI). Magn Reson Med. 2004; 52(3):612–618. DOI: 10.1002/mrm.20198.
78. Rovira A, Orellana P, Alvarez-Sabín J, et al. Hyperacute ischemic stroke: middle cerebral artery susceptibility sign at echo-planar gradient-echo MR imaging. Radiology. 2004; 232(2):466–473. DOI: 10.1148/radiol.2322030273.
79. Leiva-Salinas C, Wintermark M. Imaging of acute ischemic stroke. Neuroimaging Clin N Am. 2010; 20(4):455–468. DOI: 10.1016/j.nic.2010.07.002.
80. Adams HP Jr, del Zoppo G, Alberts MJ, et al. Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council, Clinical Cardiology Council, Cardiovascular Radiology and Intervention Council, and the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease and Quality of Care Outcomes in Research

Interdisciplinary Working Groups: the American Academy of Neurology affirms the value of this guideline as an educational tool for neurologists. *Stroke*. 2007; 38(5):1655–1711. DOI: 10.1161/STROKEAHA.107.181486.

81. Maksimova MYu, Korobkova DZ, Krotchenkova M. Neuroimaging of the penumbra in ischemic stroke. *Journal of Radiology and Nuclear Medicine*. 2013; 6:57–66. In Russian [Максимова М.Ю., Коробкова Д.З., Кротенкова М.В. Методы визуализации пенумбры при ишемическом инсульте //Вестник рентгенологии и радиологии. 2013; 6:57-66.]

82. Kane I, Carpenter T, Chappell F, et al. Comparison of 10 different magnetic resonance perfusion imaging processing methods in acute ischemic stroke: effect on lesion size, proportion of patients with diffusion/perfusion mismatch, clinical scores, and radiologic outcomes. *Stroke*. 2007; 38(12):3158–3164. DOI: 10.1161/STROKEAHA.107.483842.

83. Belyaevskaya AA, Meladze NV, Sharia MA, et al. Modern possibilities of functional magnetic resonance imaging in neuroimaging. *Medical Visualization*. 2018; 1:7–16. In Russian [Беляевская А.А., Меладзе Н.В., Шария М.А. и др. Современные возможности функциональной магнитно-резонансной томографии в нейровизуализации. Медицинская визуализация. 2018; 1:7–16.] DOI: 10.24835/1607-0763-2018-1-7-16.

84. Heiss WD. The concept of the penumbra: can it be translated to stroke management? *Int J Stroke*. 2010; 5(4):290–295. DOI: 10.1111/j.1747-4949.2010.00444.x.

85. González RG, Hirsch JA, Koroshetz WS, et al. Acute ischemic stroke: imaging and intervention. Berlin: Springer-Verlag; 2006. p.297.

86. Liu J, Cai W, Zhao M, et al. Reduced resting-state functional connectivity and sleep impairment in abstinent male alcohol-dependent patients. *Hum Brain Mapp*. 2019; 40(17):4941–4951. DOI: 10.1002/hbm.24749.

87. Zeng Q, Luo X, Li K, et al. Distinct Spontaneous Brain Activity Patterns in Different Biologically-Defined Alzheimer's Disease Cognitive Stage: A Preliminary Study. *Front Aging Neurosci*. 2019; 11:350. DOI: 10.3389/fnagi.2019.00350.

88. Yousaf T, Pagano G, Wilson H, et al. Neuroimaging of Sleep Disturbances in Movement Disorders. *Front Neurol*. 2018; 9:767. DOI: 10.3389/fneur.2018.00767.

89. Askenasy JJ, Goldhammer I. Sleep apnea as a feature of bulbar stroke. *Stroke*. 1988; 19(5):637–639. DOI: 10.1161/01.str.19.5.637.

90. Chaudhary BA, Elguindi AS, King DW. Obstructive sleep apnea after lateral medullary syndrome. *South Med J*. 1982; 75(1):65–67. DOI: 10.1097/00007611-198201000-00016.

91. Mohsenin V, Valor R. Sleep apnea in patients with hemispheric stroke. *Arch Phys Med Rehabil*. 1995; 76(1):71–76. DOI: 10.1016/s0003-9993(95)80046-8.

92. Harbison J, Ford GA, James OF, et al. Sleep-disordered breathing following acute stroke. *QJM*. 2002; 95(11):741–747. DOI: 10.1093/qjmed/95.11.741.

93. Noradina AT, Hamidon BB, Roslan H, et al. Risk factors for developing sleep-disordered breathing in patients with recent ischaemic stroke. *Singapore Med J*. 2006; 47(5):392–399.

94. Bonnin-Vilaplana M, Arboix A, Parra O, et al. Sleep-related breathing disorders in acute lacunar stroke. *J Neurol*. 2009; 256(12):2036–2042. DOI: 10.1007/s00415-009-5236-x.

95. Kepplinger J, Barlinn K, Boehme AK, et al. Association of sleep apnea with clinically silent microvascular brain tissue changes in acute cerebral ischemia. *J Neurol*. 2014; 261(2):343–349. DOI: 10.1007/s00415-013-7200-z.

96. Fisse AL, Kemmling A, Teuber A, et al. The Association of Lesion Location and Sleep Related Breathing Disorder in Patients with Acute Ischemic Stroke. *PLoS One*. 2017; 12(1):e0171243. DOI: 10.1371/journal.pone.0171243.

Информация об авторах:

Боршевецкая Анастасия Александровна, ординатор 2 года по специальности «Рентгенология», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Трушина Лидия Игоревна, аспирант, кафедра лучевой диагностики и медицинской визуализации Института медицинского образования, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Ефимцев Александр Юрьевич, д.м.н., доцент кафедры лучевой диагностики и медицинской визуализации Института медицинского образования, ведущий научный сотрудник НИЛ лучевой визуализации, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Терновых Иван Константинович, аспирант, ассистент кафедры неврологии и психиатрии с клиникой, лаборант-исследователь НИЛ неврологии и нейрореабилитации, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Галютдинова Лина Эриковна, ординатор 2 года по специальности «Рентгенология», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Егорова Вероника Сергеевна, ординатор 2 года по специальности «Рентгенология», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Алексеева Татьяна Михайловна, д.м.н., доцент, заведующий кафедрой неврологии и психиатрии, главный научный сотрудник НИЛ неврологии и нейрореабилитации, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Труфанов Геннадий Евгеньевич, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник НИО лучевой диагностики, заведующий кафедрой лучевой диагностики и медицинской визуализации Института медицинско-

го образования, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России.

Author information:

Anastasia A. Borshevetskaya, resident, Radiology and Medical Visualization Department, Almazov National Medical Research Centre;

Lidiia I. Trushina, postgraduate student, Radiology and Medical Visualization Department, Almazov National Medical Research Centre;

Aleksandr Yu. Efimtsev, PhD, Associate Professor, Radiology and Medical Visualization Department, leading researcher, Radiation Diagnostics Research Laboratory, Almazov National Medical Research Centre;

Ivan K. Ternovykh, Postgraduate Student, Assistant, Department of Neurology and Psychiatry with clinic, Assistant Researcher, Research Department of Neurology and Neurorehabilitation, Almazov National Medical Research Centre;

Lina E. Galyautdinova, resident, Radiology and Medical Visualization Department, Almazov National Medical Research Centre;

Veronika S. Yerogova, resident, Radiology and Medical Visualization Department, Almazov National Medical Research Centre;

Tat'yana M. Alekseeva, MD, PhD, DSc, Associate Professor, Head of Department of Neurology and Psychiatry, Main Researcher, Research Department of Neurology and Neurorehabilitation, Almazov National Medical Research Centre;

Gennadiy E. Trufanov, MD, PhD, professor, chief researcher, Radiology and Medical Visualization Department, Head of Radiology and Medical Visualization Department, Almazov National Medical Research Centre.

ПРЯМОЕ СРАВНЕНИЕ ВАРИАНТОВ ДАЛЬНЕ-КРАСНЫХ ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ KATUSHKA С ЛЮЦИФЕРАЗНОЙ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЕЙ НА КСЕНОГРАФТНЫХ МЫШИНЫХ МОДЕЛЯХ ИЗУЧЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Левчук К. А.¹, Богданова Д. А.^{2,3}, Ершова А. Е.^{1,3}, Смирнов С. В.¹,
Голдаева А. А.⁴, Васютина М. Л.¹, Истомина М. С.¹,
Демидов О. Н.^{1,2,3}, Петухов А. В.¹, Торопова Я. Г.^{1,5}

Контактная информация:

Левчук Ксения Александровна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: ksenialevchuk2@gmail.com

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 науки
«Институт цитологии Российской академии наук», Санкт-Петербург,
Россия

³ Автономная некоммерческая образовательная организация
высшего образования «Научно-технологический университет
«Сириус», Сочи, Россия

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский
государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

⁵ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург,
Россия

Статья поступила в редакцию 03.12.2022
и принята к печати 22.12.2022.

Резюме

Актуальность. Исследования в области онкологии требуют использования животных ксенографтных моделей, соответствующих принципам гуманности и рациональности. Доклинические исследования низкомолекулярных ингибиторов, противоопухолевых моноклональных антител, вакцин, клеточных препаратов, в том числе CAR-T клеток, нуждаются в прижизненном контроле динамики роста опухоли. Широко применяемая люциферазная детекция биолуминесценции ксенографтов требует введения субстрата, однако инъекции менее гуманны, более трудоемки, дорогостоящи, стрессируют животное. Альтернативой люциферазной биолуминесценции могут быть флуоресцентные белки дальне-красного спектра, визуализация эмиссии которых в экспериментальных моделях *in vivo* упростит манипуляции с животными и увеличит доступность детекции. **Цель.** Сравнить эффективность детекции динамики роста опухолевых ксенографтов *in vivo* в мышинных моделях с инъекцией опухоли шейки матки, применяя доступную линейку флуоресцентных дериватов красного белка одной кланды Katushka с распространенной в *in vivo* исследованиях люциферазой *Renilla*. **Материалы и методы.** Ксенографтные модели NSG-SGM3 мышей были получены подкожным введением модифицированных клеток линии HeLa, экспрессирующих флуоресцентные белки-репортеры Katushka, Katushka2S, TurboRFP, TurboFP650 и люциферазу *Renilla*. Исследование и оценку флуоресцентного и биолуминесцентного сигнала опухоли

проводили на 7, 14, 21 сутки после введения ксенографта. **Результаты.** Спектральные характеристики и детекция эмиссии белков-репортеров Katushka и Katushka2S выделяют данные маркеры среди всей линейки исследуемых белков дальне-красного спектра. **Заключение.** Детекция флуоресцентного сигнала дальне-красных белков-репортеров Katushka и Katushka2S может служить полноценной альтернативой люциферазной биолуминесценции фермента *Renilla* в экспериментальных моделях *in vivo* в рамках им-мунотерапевтических исследований.

Ключевые слова: биолуминесценция, визуализация ксенографтов *in vivo*, люциферазная детекция, флуоресцентные белки, флуоресценция в биомедицинских исследованиях.

Для цитирования: Левчук К.А., Богданова Д.А., Ершова А.Е., Смирнов С.В., Голдаева А.А., Васюткина М.Л., Истомина М.С., Демидов О.Н., Петухов А.В., Торопова Я.Г. Прямое сравнение вариантов дальне-красных флуоресцентных белков KATUSHKA с люциферазной биолуминесценцией на ксенографтных мышинных моделях изучения опухолей эпителиального происхождения. Трансляционная медицина. 2021;9(6):59-70. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-59-70

DIRECT COMPARISON OF KATUSHKA FAR-RED FLUORESCENT PROTEIN VARIANTS WITH LUCIFERASE BIOLUMINESCENCE IN XENOGRAFT MOUSE MODELS OF EPITHELIAL TUMOR STUDIES

Ksenia A. Levchuk¹, Daria A. Bogdanova^{2,3}, Alina E. Ershova^{1, 3}, Sergey V. Smirnov¹, Alexandra A. Goldaeva⁴, Marina L. Vasyutina¹, Maria S. Istomina¹, Oleg N. Demidov^{1, 2, 3}, Alexey V. Petukhov¹, Yana G. Toropova^{1, 5}

Corresponding author:

Ksenia A. Levchuk,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: ksenialevchuk2@gmail.com

¹ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

² Institute of Cytology, Russian Academy of Science, Saint Petersburg, Russia

³ Sirius University of Science and Technology, Sochi, Russia

⁴ Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

⁵ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

Received 03 December 2022; accepted
22 December 2022.

Abstract

Background. Research in oncology assumes establishment and usage of xenograft animal models, meeting the requirements of humanity and rationality. Although praised as promising field of research, preclinical studies of low-molecular-weight inhibitors, antitumor monoclonal antibodies, vaccines, cellular therapy products, CAR-T cells entail continuous control of tumor growth dynamics. Luciferase detection of bioluminescence requires injection of a reporter substrate. However, injections not only are laborious, time-consuming and expensive, but are also stressful for animals. Thus, a vast variety of new visualization methods is employed, including proteins of the far-red spectrum. **Objective.** The study aimed to compare detection efficiency of tumor growth dynamics in mice models of cervical cancer, applying a commercially available line of fluorescent red protein derivatives of Katushka clade and *Renilla* luciferase, that is commonly used in *in vivo* studies. **Design and methods.** Xenograft mice models were derived injecting modified HeLa cell line, that expresses fluorescent reporter proteins: Katushka, Katushka2S, TurboRFP, TurboFP650 and *Renilla* enzyme. **Results.** Spectral properties and emission wavelength

of far-red fluorescent protein Katushka and Katushka2S outlines these markers within RFP derivatives lineage as outstanding instrument for *in vivo* tumor visualization. **Conclusion.** Detection of fluorescent far-red reporters Katushka and Katushka2S can be considered as a credible alternative to *Renilla* luciferase bioluminescence in experimental models *in vivo* on the part of immunotherapy research.

Key words: bioluminescence, fluorescence in biomedical research, fluorescent proteins, luciferase detection, visualization of xenografts *in vivo*.

For citation: Levchuk KA, Bogdanova DA, Ershova AE, Smirnov SV, Goldaeva AA, Vasyutina ML, Istomina MS, Demidov ON, Petukhov AV, Toropova YG. Direct comparison of KATUSHKA far-red fluorescent protein variants with luciferase bioluminescence in xenograft mouse models of epithelial tumor studies. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2022;9(6):59-70. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-58-70

Введение

Биолуминесценция, созданная самой природой для целей полового размножения, привлечения жертвы, отпугивания и других нужд у различных организмов, стала незаменимым инструментом в биологических исследованиях [1–4]. Индуктором биолуминесценции могут служить свет (фотолюминесценция) или энергия химической реакции (хемилюминесценция). Сложно переоценить важность использования этого явления в колоссальном количестве исследований, что подтверждает Нобелевская премия по химии 2008 года за открытие и развитие исследований с применением зеленого флуоресцентного белка (англ. GFP). Ее были удостоены три биолога: Осаму Шимомура, Роджер Тсиен и Мартин Чалфи [5]. Нобелевскую премию по физиологии и медицине в 2008 году разделили три вирусолога, в том числе Харальд цур Хаузен, за открытие вирусов папилломы человека, вызывающих рак шейки матки. Весьма интересным является тот факт, что в нашей работе исследуются флуоресцентные белки, экзогенно экспрессирующиеся в линии рака шейки, объединив тем самым объекты двух Нобелевских премий одного года. GFP, ставший первым широко используемым в исследованиях флуоресцентным белком, был получен, а через 30 лет и клонирован как ген из медузы *Aequorea victoria*. Зеленое свечение этого белка было возможно только в присутствии источника света определенной длины волны, получаемого этим же организмом в результате окисления белка экворина и в присутствии ионов кальция. Кроме экворина известной группой светоизлучающих веществ являются люциферины. Люциферины излучают свет в результате их окисления ферментами люциферазами и встречаются у светлячков, моллюсков, бактерий, простейших, ракообразных, глубоководных рыб и грибов [6]. Еще один представитель книдарий, как и ранее упомяну-

тая медуза *Aequorea Victoria*, *Renilla reniformis*, или коралловый полип морские аниотины глазки синтезирует используемую нами мономерную люциферазу RLuc [7] (рис. 1).

Как фото-, так и хемилюминесценция позволяют визуализировать и отслеживать молекулы, отдельные клетки, ткани, органы, организмы и, конечно, опухоли. Применяя биолуминесценцию в изучении опухолей, можно отследить их рост и метастазирование в ксенографтных мышинных моделях без инвазивного вмешательства, эвтаназии животного или неточных наружных измерений приборами типа штангенциркуля, то есть возможно оценить рост и развитие опухоли в живом модельном организме в динамике и, например, под воздействием терапии. Существенной проблемой в такого рода исследованиях может быть поглощение биолуминесценции или интерференция тканями и органами животного, в том числе такими их компонентами, как гемоглобин и меланин. Длины волн от 650 нм до 900 нм проходят через ткани мышей практически беспрепятственно и характеризуются как «окно прозрачности». Термин «окно прозрачности» используется в работах Владислава Верхуши и его коллег, которыми в Медицинском колледже Альберта Эйнштейна в Нью-Йорке были получены фитокомные белки iRFP670, iRFP682, iRFP702, iRFP713 и iRFP720, поглощающие и излучающие свет в ближней инфракрасной части [8–10]. Другими флуоресцентными белками, попадающими в «окно прозрачности», являются дериваты красного флуоресцентного белка (RFP) актинии *Entacmaea quadricolor* (рис. 1): TurboFP635 или Katushka, его улучшенная версия Katushka2S и TurboFP650 [11–16] (рис. 2), полученные путем аминокислотных замен.

Собственно, дериваты ветки Katushka и экспрессирующие их опухолевые линии коммерчески

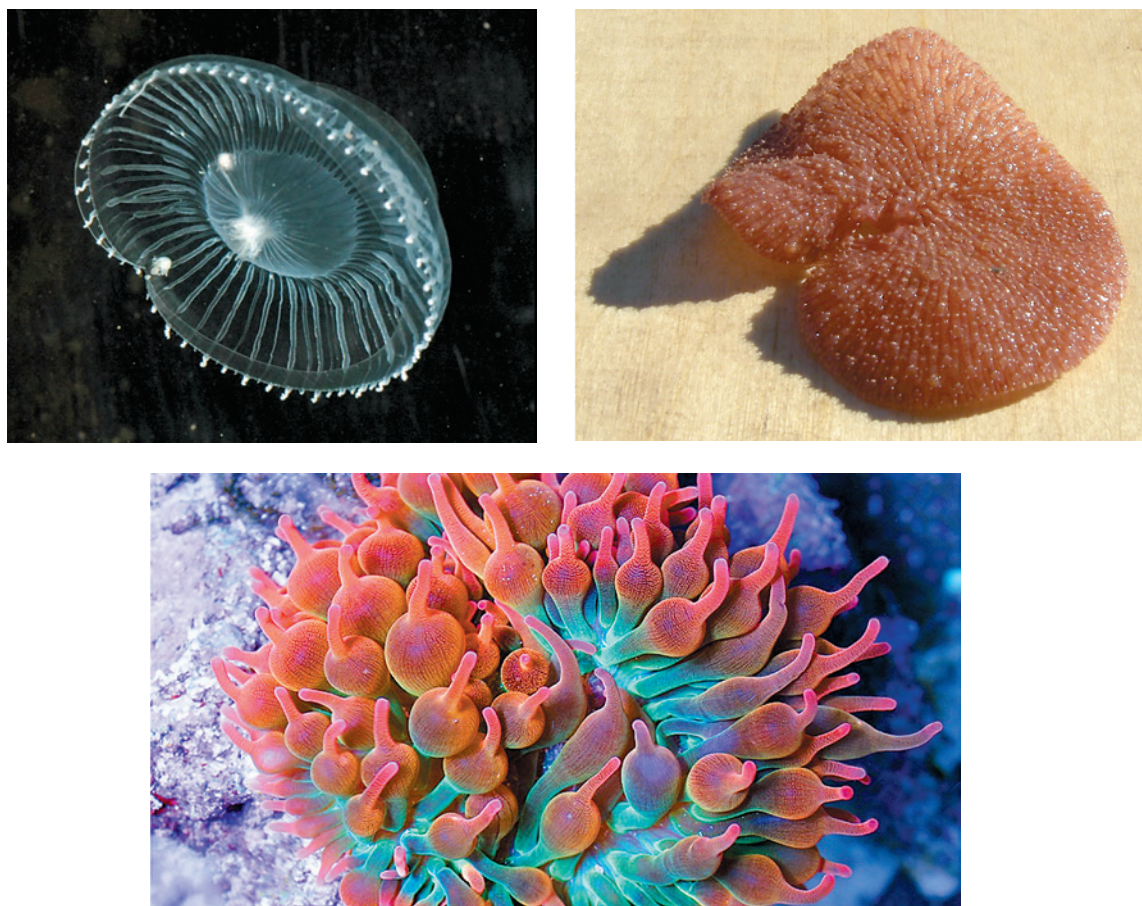


Рис. 1. Медуза *Aequorea Victoria*, коралловый полип *Renilla reniformis* и актиния *Entacmaea quadricolor* (фото Sierra Blakely, Gregory Badon и Matthew Zahler соответственно)

Figure 1. Jellyfish *Aequorea Victoria*, coral polyp *Renilla reniformis* and sea anemone *Entacmaea quadricolor* (photo by Sierra Blakely, Gregory Badon and Matthew Zahler, respectively)

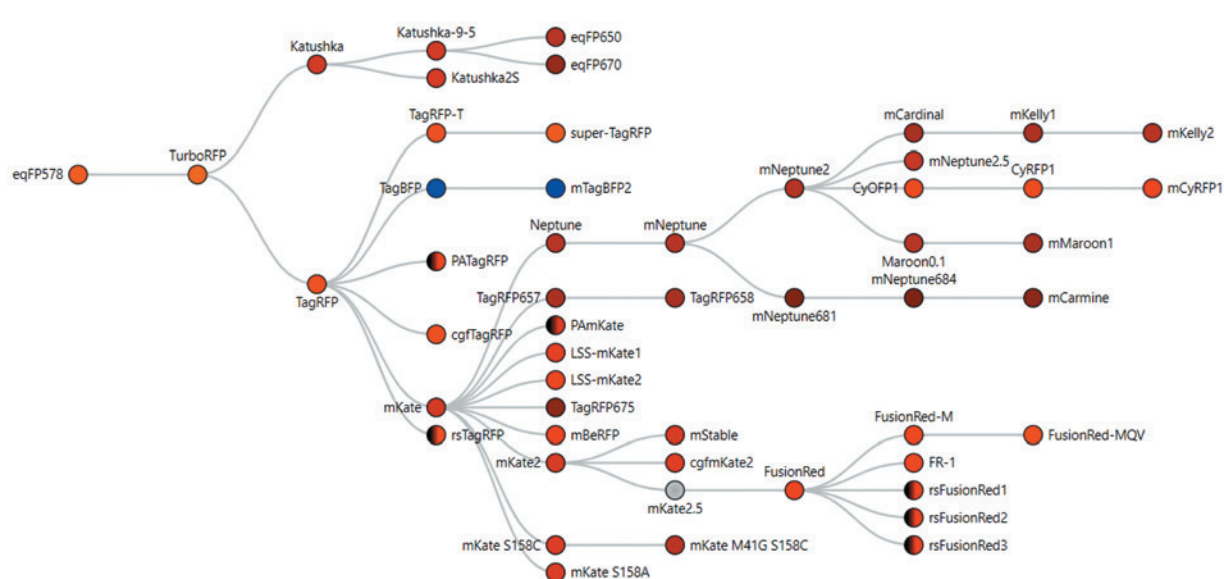


Рис. 2. Дериваты RFP [16]

Figure 2. RFP derivatives [16]

доступны, характеризуются быстрым созреванием при 37 °C, высокой pH-стабильностью и фотостабильностью, не образуют агрегатов и могут подходить для визуализации внутри целых организмов. Нами была изучена данная ветвь дериватов для выбора оптимального флуоресцентного белка в подкожной ксенографтной модели опухолевого роста NSG мышей, которые отличны от часто используемого штамма Nude наличием шерсти, также являющейся барьером для визуализации. Мыши NSG, благодаря их мутациям, дефицитны по В- и Т-клеткам и функциональным NK-клеткам, не имеют C5 комплимент и незаменимы в исследованиях иммунной функции человека, инфекционных заболеваний, диабета, онкологии и биологии стволовых клеток [17]. NSG мышей возможно гуманизировать прививанием CD34+ гемопоэтических стволовых клеток человека [18], и они подходят для исследований с использованием различных стратегий ксенотрансплантации [19], высокочувствительны к диабетогенным эффектам стрептозотоцина [20], применяются в исследованиях CAR-T препаратов [21].

Материалы и методы

Клеточные линии

Используемые клеточные линии аденокарциномы шейки матки HeLa, полученной от 31-летнего пациента, и иммортализованной почки эмбриона человека Hek293T культивировали в ростовой среде RPMI 1640 (Capricorn Scientific, RPMI-STA) с добавлением 10 % FBS (Thermo Fisher Scientific, 26140079) и пенициллин-стрептомицина (Capricorn Scientific, PS-B). Экспериментальные клеточные линии были любезно предоставлены Лабораторией регуляции экспрессии генов Института цитологии РАН (Санкт-Петербург).

Оверэкспрессия дальне-красных белков-репортеров

Флуоресцентные белки были клонированы в экспрессионные плазмиды для сборки лентивирусных векторов с бластицидиновой устойчивостью и ко-трансфицированы с векторами psPAX2 и pMD2.G, предоставленными Didier Trono в линию-упаковщик Hek293T. Для сборки лентивирусных векторов, несущих ген *Renilla*, использовалась плазида pLenti.PGK.blast-*Renilla*_Luciferase, предоставленная Reuben Shaw. Для трансфекции использовалось соотношение ДНК 3:3:1 между плазидами соответственно и 2:1 между катионным трансфицирующим реагентом PEI MAX (PEI MAX™, 24765-1) и смесью всех трех плазмид. Рекомбинантные лентивирусные частицы концентриро-

вали с использованием метода ультрафильтрации на модулях Amicon 100K (Millipore, ACS510024), линию HeLa трансдуцировали в условиях MOI 10 и применением реагента протамин сульфата (АО «ЭКОФАРМПЛЮС», V03AB14). Селекцию прошедших этап лентивирусной трансдукции клеток и экспрессирующих белок-репортер осуществляли в течение недели с помощью антибиотика бластицидина (InvivoGen, ant-bl-05) в концентрации 5 мкг/мл. Оценку флуоресценции также производили методом проточной цитофлуориметрии на оборудовании CytoFLEX (Beckman Coulter).

In vivo модели NSG-SGM3

Мыши NSG-SGM3 — линия иммунодефицитных трансгенных мышей, экспрессирующих SCF (*KITLG*), GM-CSF (*CSF2*) и IL-3, представляет собой главную экспериментальную *in vivo* модель в иммунотерапевтических исследованиях. Содержание мышей осуществляли в условиях стерильной зоны вивария ЦДТИ НМИЦ им. В. А. Алмазова. В эксперимент были отобраны 6 здоровых особей линии NSG-SGM3 в возрасте 14 недель без градации по половому признаку. Животным на первом этапе путем однократной подкожной инъекции были трансплантированы в объеме 0,2 мл 2 миллиона клеток опухоли HeLa, экспрессирующих флуоресцентные белки *Katushka*, *TurboRFP*, *Katushka2S*, *TurboRFP650*, а также ген люциферазы и контрольная клеточная линия без модификаций. Животные всех групп получили опухолевые клетки подкожно в зону бедра во внеклеточном матриксе матригеле (Merck Life Science LLC, CLS354234). Измерение размеров опухоли, взвешивание животных и осмотр производили один раз в неделю. Во временные точки эксперимента — день 1 (спустя сутки после введения), день 8, день 15 и день 22 была осуществлена оценка флуоресценции и биолюминесценции репортеров с помощью системы визуализации IVIS® Lumina LT series III (PerkinElmer, США). Для животного с опухолью HeLa *Renilla* внутрибрюшинно раз в неделю вводили субстрат *ViviRen* (Promega Corporation, P1231) для инициации реакции и детекции хемилюминесцентного сигнала (объем введения 0,2 мл).

Визуализация ксенографтов *in vivo*

Исследование люминесценции и флуоресценции произведено на флуоресцентном биоимиджере IVIS Lumina. Предварительно животные были наркотизированы 1,5 % раствором изофлурана («АЕППАН», Baxter), а затем перемещены в камеру для визуализации, где также продолжалось поддержание 1 % наркоза. Фильтры для эксперименталь-

ных групп выбирались исходя из спектров поглощения и излучения белков Katushka, Katushka2S, TurboRFP, TurboFP650, которые соответствуют встроенным фильтрам 640-Cy5.5 и 535-DsRed, а для фермента *Renilla* выбран люминесцентный режим съемки с автоматической настройкой экспозиции.

Обработка изображений произведена в ПО Living Image 4.7.4. Сигналы флуоресценции и люминесценции были измерены с помощью автоматического выделения контура ROI (изучаемая область) на оптическом изображении.

Результаты

Согласно результатам проточной цитофлуориметрии клеточных линий были обнаружены разные уровни инфекции рекомбинантными лентивирусными частицами и разный процент положительной по дальне-красному маркеру популяции (рис.

3). Наиболее эффективно прошла трансдукция клеточных линий Katushka и Katushka2S — 96,68 % и 98,37 % соответственно. Наиболее низкий процент эффективности трансдукции был обнаружен для клеточных линий HeLa с оверэкспрессией TurboRFP и TurboFP650 — 67,69 % и 25,39 %. Разница в процентах эффективности трансдукции и флуоресценции вводимых ксенографтов была учтена в дальнейшей обработке данных по расчетам интенсивности свечения *in vivo*.

Визуализацию функциональности репортерной конструкции с трансгеном *Renilla* осуществляли с помощью набора Dual-Luciferase® Reporter (DLR™, E1910), согласно протоколу производителя. Наличие экспрессии люциферазы *Renilla* в лизатах клеточных линий HeLa_{wt} (контроль) и HeLa_{Renilla} оценивали по катализу реакции окисления коэлектранта косвенно по испусканию квантов света. Детекцию испускаемых квантов

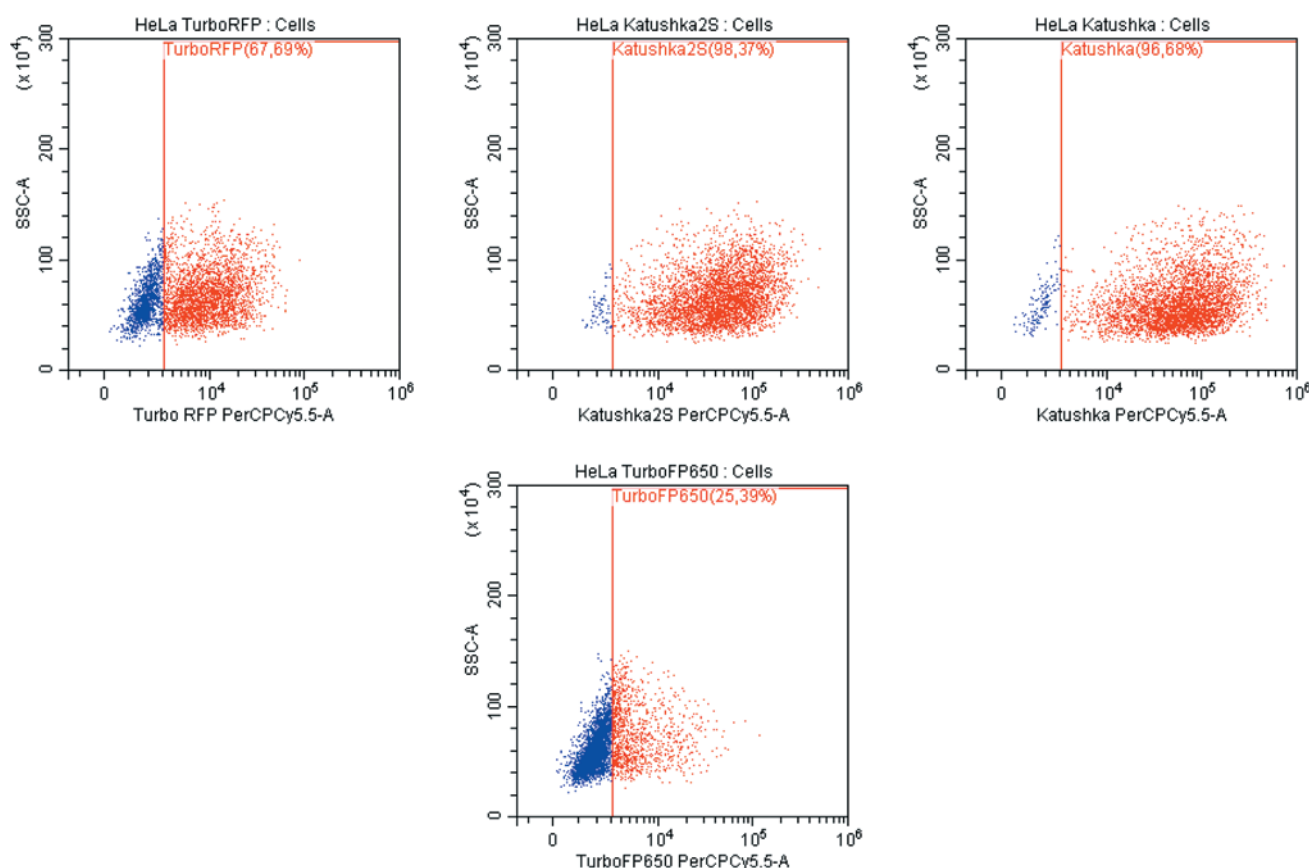


Рис. 3. Цитофлуориметрическая оценка линий HeLa с экспрессией белков дальне-красного спектра Katushka, TurboRFP, Katushka2S, TurboRFP650 после трансдукции рекомбинантными лентивирусными частицами

Красным выделены события, которые отражают процент успешно прошедших трансдукцию и селекцию клеток.

Figure 3. Cytofluorometric evaluation of HeLa lines expressing far-red proteins Katushka, TurboRFP, Katushka2S, TurboRFP650 after transduction with recombinant lentiviral particles

Events are highlighted in red, which reflect the percentage of successfully transduced and selected cells.

света проводили в канале хемилюминесценции системы визуализации ChemiDoc MP Imaging System (BioRad) (рис. 4).

Визуализацию ксенографтных моделей мышей *in vivo* осуществляли с помощью системы докли-

нической визуализации IVIS® Lumina LT series III (PerkinElmer, США). Экспериментальных животных временно подвергали ингаляционной анестезии, во время которой проводили визуализацию флуоресцентного сигнала ксенографтов. Опухоле-

Таблица 1. Показатели визуализации опухолевых ксенографтов линии NSG-SGM3 спустя 22 дня после подкожного введения (финальная точка)

Table 1. Visualization parameters of tumor xenografts of the NSG-SGM3 line after 22 days of subcutaneous injection (final point)

Белок-репортер	Реальная средняя интенсивность флуоресценции свечения на единицу площади опухоли (ИФ), [p/s/cm ² /sr]/ [μW/cm ²]	Пересчет интенсивности на процент трансдукции, [p/s/cm ² /sr]/ [μW/cm ²]	Эффективность детекции (ЭД), [p/s/cm ² /sr]/ [μW/cm ²]
TurboRFP	1,02E+09	1,50E+09	6,63E+03
TurboFP650	1,59E+08	6,25E+08	2,80E+03
Katushka	1,53E+09	1,58E+09	7,81E+03
Katushka2S	6,75E+08	6,86E+08	3,20E+03
<i>Renilla</i>	1,94E+05	1,94E+05	1,00E+00

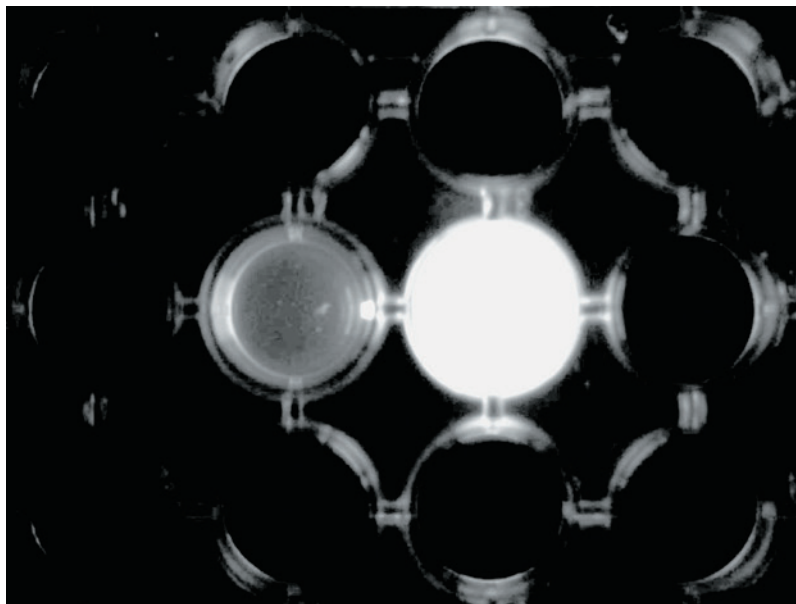


Рис. 4. Детекция люминесцентного сигнала в клеточных линиях HeLa_wt (негативный контроль, слева) и HeLa_Renilla (исследуемая линия, справа)

Экспрессия репортера люциферазы *Renilla* верифицируется испусканием квантов света при реакции окисления коэлютеразина.

Figure 4. Detection of the luminescent signal in the HeLa_wt (negative control, left) and HeLa_Renilla (test line, right) cell lines

The expression of the *Renilla* luciferase reporter is verified by the emission of light quanta during the oxidation reaction of coelenterazine.

вый ксенографт был обнаружен для всех исследуемых вариантов белков дальне-красного спектра. Прослеживалось увеличение размеров узла опухоли и вращение ксенографта в бедренную мышцу модельных животных. Наибольшими значениями средней эффективности излучения обладали ксенографты опухолей с экспрессией Katushka, TurboRFP,

Katushka2S — $1,53E+09$, $1,02E+09$, $6,75E+08$ [p/s/cm²/sr]/ [μW/cm²] соответственно (табл. 1). Для сравнения уровней детекции белков были вычислены единицы эффективности детекции для каждого исследуемого флуоресцентного маркера (рис. 5). Непосредственное сравнение интенсивности свечения ксенографтов проводили, используя данные



Рис. 5. Оценка единиц эффективности детекции флуоресценции белков дальне-красного спектра при визуализации мышей линии NSG-SGM3 с помощью системы IVIS® Lumina LT series III (PerkinElmer, США)

Сигнал биолуминесценции ксенографта с репортером *Renilla* является контрольным.

Figure 5. Evaluation of units of efficiency of detection of fluorescence of far-red spectrum proteins during imaging of NSG-SGM3 mice using the IVIS® Lumina LT series III system (PerkinElmer, USA).

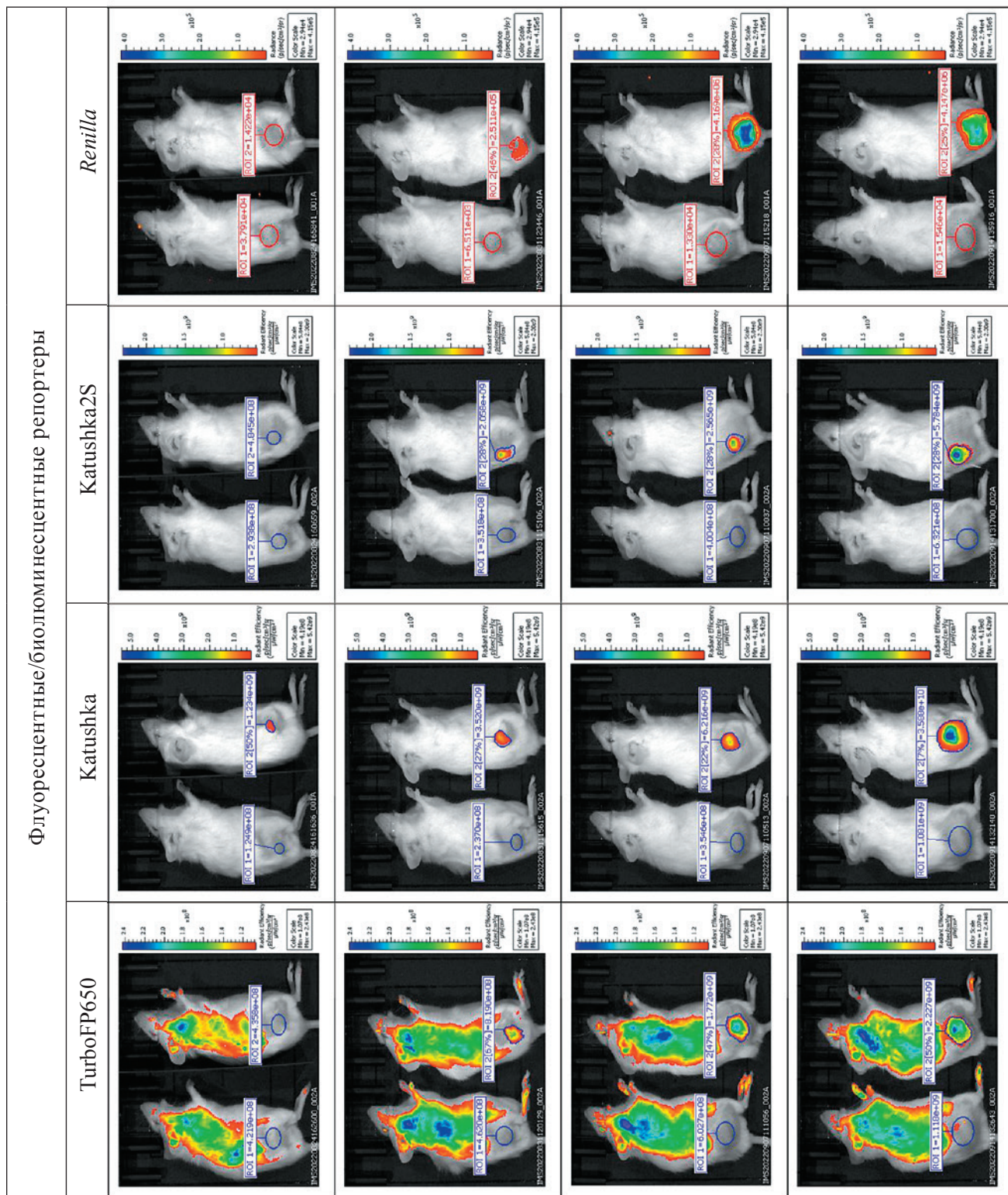
The bioluminescence signal of the xenograft with the *Renilla* reporter is the control.

$$\text{ЭД} = \frac{\text{ИФ/ЭТ} * 100 - \text{ФС}}{\text{РЗ}}$$

Рис. 6. Формула вычисления единиц эффективности детекции для сравнения детектируемого сигнала белков-репортеров дальне-красного спектра в *in vivo* моделях

ЭД — эффективность детекции, ИФ — интенсивность флуоресценции, ЭТ — эффективность трансдукции, ФС — фоновое свечение, РЗ — референтное значение.

Figure 6. Formula for calculating detection efficiency units for comparing the detected signal of far-red reporter proteins in *in vivo* models



Флуоресцентные/ биолюминесцентные репортеры	TurboRFP				
		1 день после введения инъекции (начальная точка)	8 день после введения инъекции	15 день после введения инъекции	22 день после введения инъекции (финальная точка)

Таблица 2. Визуализация флуоресцентного и биолюминесцентного сигнала опухоли.
Точки измерений: 2, 8, 15, 22 сутки после введения инъекции

Table 2. Visualization of fluorescent and bioluminescent tumor signal. Measurement points:
2, 8, 15, 22 days after injection

финальной точки визуализации, на 22 сутки после инъекции опухоли.

При прямом сравнении трех дериватов RFP, как и собственно самого красного флуоресцентного белка, со ставшей классической люциферазной детекцией отсутствие фонового сигнала показали только белки Katushka и Katushka2S. Ввиду разного уровня трансдуцированных клеток невозможно провести сравнение эффективности детекции, для получения возможности сопоставления эффективностей необходимо вычислить теоретическую среднюю интенсивность свечения на единицу площади при 100 % трансдукции. Для сравнения показателей нами была использована следующая формула расчета эффективности детекции (ЭД): значение средней интенсивности флуоресценции на единицу площади (ИФ), полученное с прибора, необходимо разделить на процент трансдукции для того, чтобы оценить уровень свечения при 1 % трансдукции (ИФ/ЭТ). Полученное значение следует умножить на 100 (ИФ/ЭТ*100), что позволит получить теоретическое значение средней интенсивности свечения на единицу площади опухоли. Далее по формуле мы вычитаем среднее свечение фона на единицу площади (ФС) и делим на референтное значение (РЗ) — среднее свечение ренилла на единицу площади, так мы сможем оценить эффективность свечения относительно *Renilla*. Формула, по которой производится расчет, представлена на рисунке 6.

В динамике детекция показала раннее обнаружение Katushka по сравнению с Katushka2S и

Renilla. Фото визуализации представлены в виде таблицы 2.

Обсуждение

Нами было установлено предпочтительное использование *in vivo* в подкожной ксенографтной модели NSG мышей опухоли шейки матки флуоресцентных белков Katushka и Katushka2S по сравнению с RFP и RFP650, так как при получении изображения флуоресценции FRP и RFP650 наблюдается свечение волосяного покрова мыши, что затрудняет визуализацию и, следовательно, не позволяет получить точного изображения ксенографта без фонового свечения. Эффективность детекции репортеров Katushka и Katushka2S в подкожных опухолевых ксенографтах солидной опухоли позволяет визуализировать изменения с той же чувствительностью, что и с помощью люциферазной биолюминесценции фермента *Renilla* и субстрата ViviRen. Раннее обнаружение флуоресценции белка Katushka по сравнению с детекцией других репортеров может быть вызвано разницей в эффективности свечения или динамике роста самой опухоли. В свою очередь последний показатель косвенно указывает на токсичность флуоресцентных белков. Отдельным вопросом остается возможность применения белков дальне-красного спектра Katushka и Katushka2S для иммунотерапевтических исследований в области онкогематологии и визуализации так называемых жидких опухолей, а также их иммуногенность, что может стать предметом наших дальнейших исследований.

Заключение

Визуализация флуоресценции белков-репортеров дальне-красного спектра Katushka и Katushka2S является эффективным и удобным инструментом детекции динамики опухолевых ксенографтов в *in vivo* моделях мышей. Использование данных белков позволяет эффективно заменить применение биолюминесцентных маркеров. Белки дальне-красного спектра Katushka и Katushka2S — удобный и точный инструмент визуализации опухолевых ксенографтов в иммунотерапевтических исследованиях *in vivo*.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Благодарности / Acknowledgments

Работа выполнена за счет средств РФ № 19-74-20026 от 16 апреля 2019 г. «Исследование механизмов эффективности Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR-T) против клеточных и животных моделей солидных опухолей» 2019-2022 гг. / Recent work was funded by the Russian Science Foundation No. 19-74-20026 dated April 16, 2019 “Investigation of the effectiveness of T-cells with a chimeric antigen receptor (CAR-T) against cell and animal models of solid tumors” 2019-2022.

Список литературы / References

- Shaner NC, Campbell RE, Steinbach PA, et al. Improved monomeric red, orange and yellow fluorescent proteins derived from *Discosoma* sp. red fluorescent protein. *Nat Biotechnol.* 2004; 22(12):1567–1572. DOI: 10.1038/nbt1037.
- Shaner NC, Patterson GH, Davidson MW. Advances in fluorescent protein technology. *J Cell Sci.* 2007; 120(Pt 24):4247–4260. DOI: 10.1242/jcs.005801.
- Shaner NC, Lambert GG, Chammas A, et al. A bright monomeric green fluorescent protein derived from *Branchiostoma lanceolatum*. *Nat Methods.* 2013; 10(5):407–409. DOI: 10.1038/nmeth.2413.
- Shaner NC. Fluorescent proteins for quantitative microscopy: important properties and practical evaluation. *Methods Cell Biol.* 2014; 123:95–111. DOI: 10.1016/B978-0-12-420138-5.00006-9.
- Swaminathan S. GFP: the green revolution. *Nat Cell Biol.* 2009; 11(S1):S20–S20. DOI: 10.1038/ncb1953.
- Hastings JW. Biological diversity, chemical mechanisms, and the evolutionary origins of bioluminescent systems. *J Mol Evol.* 1983; 19(5):309–321. DOI: 10.1007/BF02101634.
- Otto-Duessel M, Khankaldyyan V, Gonzalez-Gomez I, et al. *In vivo* testing of *Renilla* luciferase substrate analogs in an orthotopic murine model of human glioblastoma. *Mol Imaging.* 2006; 5(2):57–64.
- Filonov GS, Piatkevich KD, Ting LM, et al. Bright and stable near-infrared fluorescent protein for *in vivo* imaging. *Nat Biotechnol.* 2011; 29(8):757–761. DOI: 10.1038/nbt.1918.
- Shcherbakova DM, Verkhusha VV. Near-infrared fluorescent proteins for multicolor *in vivo* imaging. *Nat Methods.* 2013; 10(8):751–754. DOI: 10.1038/nmeth.2521.
- Krumholz A, Shcherbakova DM, Xia J, et al. Multicontrast photoacoustic *in vivo* imaging using near-infrared fluorescent proteins. *Sci Rep.* 2014; 4:3939. DOI: 10.1038/srep03939.
- Leblond F, Davis SC, Valdés PA, et al. Pre-clinical whole-body fluorescence imaging: Review of instruments, methods and applications. *J Photochem Photobiol B.* 2010; 98(1):77–94. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2009.11.007.
- Gurskaia NG, Staroverov DB, Fradkov AF, et al. Coding region of far-red fluorescent protein katushka contains a strong donor splice site. *Bioorg Khim.* 2011; 37(3):425–428. DOI: 10.1134/s1068162011030071.
- Luker KE, Pata P, Shemiakina II, et al. Comparative study reveals better far-red fluorescent protein for whole body imaging. *Sci Rep.* 2015; 5:10332. DOI: 10.1038/srep10332.
- Shcherbo D, Murphy CS, Ermakova GV, et al. Far-red fluorescent tags for protein imaging in living tissues. *Biochem J.* 2009; 418(3):567–574. DOI: 10.1042/BJ20081949.
- Shcherbo D, Shemiakina II, Ryabova AV, et al. Near-infrared fluorescent proteins. *Nat Methods.* 2010; 7(10):827–829. DOI: 10.1038/nmeth.1501.
- FPbase: The Fluorescent Protein Database. <https://www.fpbases.org/organism/6118/>
- The Jackson Laboratory. <https://www.jax.org/strain/005557>
- Xia X, Li H, Satheesan S, Zhou J, et al. Humanized NOD/SCID/IL2rynull (hu-NSG) Mouse Model for HIV Replication and Latency Studies. *J Vis Exp.* 2019; (143):10.3791/58255. DOI: 10.3791/58255.
- Skoda J, Neradil J, Stanickova Z, Zambo I, et al. Serial Xenotransplantation in NSG Mice Promotes a Hybrid Epithelial/Mesenchymal Gene Expression Signature and Stemness in Rhabdomyosarcoma Cells. *Cancers (Basel).* 2020; 12(1):196. DOI: 10.3390/cancers12010196.
- Jurczyk A, Diiorio P, Brostowin D, et al. Improved function and proliferation of adult human beta cells engrafted in diabetic immunodeficient NOD-scid IL2ry(null) mice treated with alogliptin. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2013; 6:493–499. DOI: 10.2147/DMSO.S53154.
- Wen H, Qu Z, Yan Y, et al. Preclinical safety evaluation of chimeric antigen receptor-modified T cells against CD19 in NSG mice. *Ann Transl Med.* 2019; 7(23):735. DOI: 10.21037/atm.2019.12.03.

Информация об авторах:

Левчук Ксения Александровна, аспирант, младший научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Богданова Дарья Алексеевна, младший научный сотрудник, аспирант Научно-технологического университета «Сириус»; старший лаборант-исследователь Института цитологии РАН;

Ершова Алина Евгеньевна, студент Научно-технологического университета «Сириус»; лаборант-исследователь ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Смирнов Сергей Владимирович, младший научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Голдаева Александра Андреевна, студент Санкт-Петербургского государственного университета;

Васютина Марина Львовна, научный сотрудник, ветеринарный врач вивария ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Истомина Мария Сергеевна, младший научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Демидов Олег Николаевич, д.м.н., ведущий научный сотрудник ФГБУН «Институт цитологии РАН»; ведущий научный сотрудник Научно-технологического университета «Сириус», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Петухов Алексей Вячеславович, научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Торопова Яна Геннадьевна, к.б.н., доцент кафедры патологической физиологии лечебного факультета Института медицинского образования, заведующий НИЛ биопротезирования и кардиопротекции ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, заместитель директора по научной работе ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины».

Maria S. Istomina, Junior researcher, Almazov National Medical Research Centre;

Oleg N. Demidov, MD, Leading researcher, Institute of Cytology Russian Academy of Science; Leading researcher, Sirius University of Science and Technology, Almazov National Medical Research Centre;

Alexey V. Petukhov, researcher, Almazov National Medical Research Centre;

Yana G. Toropova, Ph.D., assistant professor, Department of pathological physiology, Institute of medical education, Head of the Bioprosthetics and Cardioprotection Research Laboratory, Almazov National Medical Research Centre; deputy director of scientific work, Institute of experimental medicine.

Author information:

Ksenia A. Levchuk, PhD student, Junior researcher, Almazov National Medical Research Centre;

Daria A. Bogdanova, Senior laboratory researcher, Institute of Cytology Russian Academy of Science; Junior researcher, PhD student, Sirius University of Science and Technology;

Alina E. Ershova, student, Sirius University of Science and Technology; Laboratory researcher Almazov National Medical Research Centre;

Sergey V. Smirnov, Junior researcher, Almazov National Medical Research Centre;

Alexandra A. Goldaeva, student, Saint Petersburg State University;

Marina L. Vasyutina, Researcher, Vivarium veterinarian, Almazov National Medical Research Centre;

МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ, ТРАНСПОРТА И БИОФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫХ НАТРИЕВЫХ КАНАЛОВ СЕРДЦА

Зайцева А. К.^{1,2}, Костарева А. А.¹

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

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И. М. Сеченова Российской академии наук», Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Зайцева Анастасия Константиновна,
 ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
 Минздрава России,
 ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
 Россия, 197341.
 E-mail: zaytseva_ak@almazovcentre.com

Статья поступила в редакцию 13.10.2022
 и принята к печати 01.11.2022.

Резюме

Генетические варианты в гене *SCN5A*, кодирующем сердечную изоформу потенциал-зависимого натриевого канала $Na_v1.5$, были обнаружены у множества пациентов с различными наследственными заболеваниями сердца. Актуальными проблемами современной электрофизиологии являются, с одной стороны, поиск механизмов развития заболевания и, с другой — поиск способов коррекции дисфункции натриевого тока при патологических состояниях.

В последние десятилетия был достигнут значительный прогресс в понимании жизненного цикла $Na_v1.5$ и особенностей распределения каналов в различных микродоменах плазматической мембраны.

Регуляция $Na_v1.5$ осуществляется на всех возможных уровнях от экспрессии *SCN5A* до контроля убиквитин-зависимой деградации. В зависимости от микродомена плазматической мембраны $Na_v1.5$ входит в состав различных макромолекулярных комплексов. Так, в латеральной мембране $Na_v1.5$ ко-локализован с дистрофин-синтрофиновым комплексом, а в области вставочного диска натриевые каналы находятся в окружении десмосомальных белков, G-анкирина, белков щелевых контактов. В данном обзоре систематизированы знания о белковых-партнерах $Na_v1.5$ в разных участках мембраны кардиомиоцитов, а также о посттрансляционных модификациях $Na_v1.5$. Отдельное внимание уделяется вопросам потенциального клинического применения. Рассмотрены варианты терапии, направленные на синтез *SCN5A*, транспорт $Na_v1.5$ и поздний натриевый ток. Таким образом, изучение механизмов регуляции функционирования α - $Na_v1.5$ в будущем сыграет важную роль не только в понимании биологии и патофизиологии $Na_v1.5$, но и в поиске новых перспективных методов терапии.

Ключевые слова: аритмии, дифференциальное распределение ионных каналов в мембране, посттрансляционные модификации, потенциал-зависимые натриевые каналы сердца, регуляция, $Na_v1.5$.

Для цитирования: Зайцева А.К., Костарева А.А. Механизмы регуляции экспрессии, транспорта и биофизической активности потенциал-зависимых натриевых каналов сердца. Трансляционная медицина. 2022;9(6):71-94. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-71-94

MECHANISMS OF REGULATION OF EXPRESSION, TRANSPORT AND BIOPHYSICAL ACTIVITY OF POTENTIAL-GATED HEART SODIUM CHANNELS

Anastasia K. Zaytseva^{1,2}, Anna A. Kostareva¹

¹ Almazov National Medical Research Centre, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Saint Petersburg, Russia

² Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Anastasia K. Zaytseva,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.

E-mail: zaytseva_ak@almazovcentre.com

Received 13 October 2022; accepted
01 November 2022.

Abstract

Genetic variants in the *SCN5A* gene, encoding the cardiac isoform of the $\text{Na}_v1.5$ voltage-gated sodium channel, were observed in patients with various hereditary heart diseases. Actual problems of modern electrophysiology covers the search for mechanisms of the disease development and the search for approaches to correct sodium current dysfunction in pathological conditions.

In recent decades, significant progress has been achieved in understanding the life cycle of $\text{Na}_v1.5$ and the distribution of channels in various microdomains of the plasma membrane.

$\text{Na}_v1.5$ is regulated at all possible levels from *SCN5A* expression to control of ubiquitin-dependent degradation. Depending on the microdomain of the plasma membrane, $\text{Na}_v1.5$ is part of various macromolecular complexes. Thus, in the lateral membrane, $\text{Na}_v1.5$ is co-localized with the dystrophin-syntrophin complex, and in the region of the intercalated disc, sodium channels are surrounded by desmosomal proteins, G-ankyrin, and gap junction proteins. This review systematizes knowledge about $\text{Na}_v1.5$ protein partners in different regions of the cardiomyocyte membrane, as well as about post-translational modifications of $\text{Na}_v1.5$. Special attention is paid to potential clinical applications. Therapy strategies targeting *SCN5A* synthesis, $\text{Na}_v1.5$ transport, and late sodium current are considered. Thus, the study of the mechanisms regulating the functioning of $\alpha\text{-Na}_v1.5$ in the future will play an important role not only in understanding the biology and pathophysiology of $\text{Na}_v1.5$, but also in the search for new promising methods of therapy.

Key words: arrhythmia, cardiac voltage-gated sodium channels, differential distribution of ion channels in the membrane, $\text{Na}_v1.5$, post-translational modifications, regulation.

For citation: Zaytseva AK, Kostareva AA. Mechanisms of expression, trafficking and biophysical activity regulation of voltage-gated cardiac sodium channels. *Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine*. 2022;9(6):71-94. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-71-94

Список сокращений: АГ — аппарат Гольджи, АКМП — аритмогенная кардиомиопатия, АМРК — аденозин-50-монофосфат-активируемая протеинкиназа, ВД — вставочный диск, ИР — ишемия и реперфузия, ЛМ — латеральная мембрана, ПД — потенциал действия, ПТМ — посттрансляционные модификации, ЭПР —

эндоплазматический ретикулум, DGC — дистрофин-гликопротеиновый комплекс.

Введение

Потенциал-зависимый натриевый канал сердца $\text{Na}_v1.5$ состоит из порообразующей α -субъединицы (220 кДа) и вспомогательных β -субъединиц

(30 кДа). Ген *SCN5A* локализован на хромосоме 3p21, кодирует α -субъединицу $\text{Na}_v1.5$, которая состоит из четырех гомологичных доменов (I–IV), С-конца и N-конца. Каждый домен канала $\text{Na}_v1.5$ состоит из шести трансмембранных сегментов (S1–S6). Сегмент S4 выполняет функцию сенсора напряжения, в то время как трансмембранные сегменты S5 и S6 образуют пору с P-петлей, которая определяет селективность и поток ионов [1]. Канал $\text{Na}_v1.5$ опосредует быстрый вход ионов натрия (Na^+) в клетку, который инициирует потенциал действия (ПД) в сердце и вызывает быструю деполяризацию [2]. Натриевый ток (I_{Na}), генерируемый $\text{Na}_v1.5$, определяется плотностью каналов на плазматической мембране и биофизическими свойствами канала. Несмотря на то, что функциональной единицей $\text{Na}_v1.5$ традиционно считается мономер, общепризнано, что $\text{Na}_v1.5$ может организовываться в димеры и демонстрировать скоординированную работу [3]. Субъединицы $\beta 1$ – $\beta 4$, кодируемые генами *SCN1B-4B*, состоят из внеклеточного N-конца, трансмембранной α -спирали и внутриклеточного С-конца [4]. β -субъединицы действуют как модуляторы биофизических свойств $\text{Na}_v1.5$ и облегчают локализацию канала в области вставочных дисков.

Цель данного обзора — обобщить данные о регуляции потенциал-зависимых натриевых каналов сердца в различных микродоменах плазматической мембраны и на разных этапах жизненного цикла потенциал-зависимых натриевых каналов.

Специализированные мембранные домены в сарколемме сердца и распределение $\text{Na}_v1.5$

Кардиомиоциты, подобно нейронам или эпителиальным клеткам, представляют собой структурно поляризованные клетки, обладающие высокоорганизованными мембранными доменами. Они характеризуются наличием определенных наборов белков. В кардиомиоцитах ионные каналы локализованы в трех основных функциональных и структурных единицах (микродоменах плазматической мембраны): 1) вставочные диски, ответственные за электромеханическое взаимодействие; 2) Т-трубочки, где происходит сопряжение возбуждения и сокращения; и 3) фокально-адгезионные комплексы (костамеры), которые связывают соседние миоциты в миокарде посредством взаимодействия с внеклеточным матриксом. В то время как передача потенциала действия (ПД) между миоцитами происходит на вставочном диске (ВД), ПД проводится вдоль латеральной мембраны (ЛМ), где локализуются Т-трубочки и комплексы фокальных контактов. Эта специфическая организация обеспечивает анизотропное распространение ПД между сосед-

ними миоцитами и гармоничную деполяризацию всего миокарда.

Вставочные диски

Вставочные диски обеспечивают быстрое и скоординированное распространение ПД по длине сердечной мышцы, придавая миокарду синцитиеподобные свойства. В области ВД присутствуют три типа межклеточных адгезионных структур: щелевые контакты, адгезионные контакты и десмосомы [5].

Щелевые контакты — это адгезионная структура, ответственная за передачу ПД между соседними клетками. Они состоят из двух коннексонов (образованных шестью коннексинами), расположенных в соседних кардиомиоцитах [6]. Эти соединения обеспечивают неселективную диффузию молекул с молекулярным весом до ~1000 Да [7, 8], включая ионы и небольшие молекулы, такие как вторичные мессенджеры, что приводит к электрометаболическому взаимодействию. Области мембраны, где локализованы щелевые контакты, являются жесткими и подвержены разрушению в ответ на механический стресс. С целью скомпенсировать это влияние, щелевые контакты в кардиомиоцитах всегда располагаются в непосредственной близости от других адгезионных структур, особенно от адгезионных контактов.

Адгезионные контакты и десмосомы представляют собой механические соединения, ответственные за межклеточную адгезию. Они связывают как цитоскелетные структуры, так и белки соседней клетки во внеклеточном пространстве. В то время как адгезионные контакты являются местами закрепления актина для соединения клеток с саркомерами, десмосомы связывают промежуточные филаменты, соединяющие клетки вместе. У млекопитающих во вставочных дисках сердца существует соединительная структура смешанного типа, называемая «гибридным адгезионным контактом», или *area composita*, что позволяет предположить, что она эволюционно возникла для усиления механической связи между соседними клетками [9, 10]. В работающем миокарде как адгезионные контакты, так и десмосомы принимают непосредственное участие в восприятии и регулировании механических напряжений, действующих в продольном направлении.

Генетические дефекты в генах, кодирующих белки структур межклеточной адгезии, были обнаружены у пациентов с различными кардиомиопатиями [11]. Важность ассоциации между щелевыми контактами и адгезионными/механическими контактами была показана при таких заболеваниях

ях, как болезнь Наксоса и синдром Карвахалья, которые возникают в результате мутаций в плакоглобине и десмоплакине [12].

Латеральная мембрана

В физиологических условиях ПД распространяется вдоль латеральной мембраны кардиомиоцитов в сторону вставочных дисков. В латеральной мембране (ЛМ) кардиомиоцитов можно выделить две основные структуры: костамер и систему Т-трубочек. Костамер связывает кардиомиоциты с внеклеточным матриксом и гарантирует поддержание трехмерной организации миокарда. Система Т-трубочек связана с расширениями саркоплазматического ретикулула и инициирует сопряжение возбуждения и сокращения.

Костамер

Основным последствием мышечного сокращения является деформация клеток из-за изменения их длины. Во время этого процесса сократительный аппарат саркомеров должен оставаться связанным как с сарколеммой, так и с внеклеточным матриксом, чтобы должным образом координировать сокращение в трехмерной организации слоев сердечной мышцы. Костамеры представляют собой белковые структуры, которые связывают Z-диски с плазматической мембраной [13, 14]. Обеспечивая физическую связь между Z-дисками, сарколеммой и внеклеточным матриксом, они воспринимают и передают механические силы, возникающие как внутри клетки, так и извне [15–19]. Два различных макромолекулярных комплекса играют главные регуляторные роли на уровне костамеров: интегриновый комплекс и дистрофин-гликопротеиновый комплекс (DGC).

Интегрины связывают внеклеточный ламинин и связываются с актиновым цитоскелетом посредством взаимодействия с талином, винкулином и родственным небулину белком N-RAP, а также с саркомерным актинином [20]. В дополнение к их функции в качестве молекул адгезии, интегрины являются механотрансдукторами в кардиомиоцитах, а также в неммышечных клетках [21–23]. Комплекс интегрина необходим для поддержания нормального физиологического функционирования сердца, что было выявлено у мышей с нокаутом $\beta 1$ -интегрина и винкулина, у которых развиваются дилатационная кардиомиопатия [24] и кардиомиопатия, индуцированная стрессом, соответственно [25].

DGC представляет собой большой комплекс белков, присоединенных к внеклеточному ламинину через α -дистрогликан, связанный с трансмембранными белками β -дистрогликаном и сар-

когликанами. На цитоплазматической стороне дистрофин связывается с синтрофином, дистробревином и синтазой оксида азота (NOS) и прикрепляет весь макромолекулярный комплекс к актиновому цитоскелету. Исследования с использованием животных моделей мышечных дистрофий Дюшенна и Беккера показали физиологическую роль DGC [26, 27]. DGC необходим для стабилизации сарколеммы при физических нагрузках. Животные с дефицитом дистрофина демонстрируют хрупкость мембраны и потерю ее целостности [28, 29]. В дополнение к своим механическим и структурным функциям DGC участвует в клеточной коммуникации посредством взаимодействия с сигнальными молекулами NOS и Grb2 [30, 31].

Система Т-трубочек

Т-трубочки являются характерными узкими трубчатыми инвагинациями латеральной сарколеммы, наблюдаемыми в желудочковых кардиомиоцитах взрослых млекопитающих [32, 33]. Эти структуры находятся в непосредственной близости от прилежащей мембраны саркоплазматического ретикулула. Короткое межмембранное пространство между сарколеммой и ретикуломом образует диадическую щель для связи кальция, которая управляет сопряжением возбуждения и сокращения.

Локализация каналов $\text{Na}_v 1.5$ в мембранных микродоменах кардиомиоцитов

Вставочные диски делают возможным быстрое распространение ПД по сердечным волокнам. Это достигается благодаря тому, что в этой области локализован ряд ионных каналов. В частности, наблюдается дифференциальная концентрация каналов $\text{Na}_v 1.5$ в различных мембранных микродоменах; так, в области ВД наблюдается более высокая амплитуда натриевого тока, чем ток, зарегистрированный в средней части ЛМ с помощью метода макропатча [34–36]. Кроме того, модель мышечной дистрофии Дюшенна у мышей mdx с дефицитом дистрофина показала, что количество $\text{Na}_v 1.5$ в ЛМ сильно снижено, а I_{Na} уменьшается примерно на 30 % [37, 38]. Наконец, эксперименты по детубуляции с использованием обработки формамидом показали, что I_{Na} , генерируемый каналом $\text{Na}_v 1.5$ в Т-трубочках, составляет 20 % от общего тока [32].

Жизненный цикл $\text{Na}_v 1.5$

Жизненный цикл $\text{Na}_v 1.5$ начинается с транскрипции гена *SCN5A* и процессинга РНК. Затем белки $\text{Na}_v 1.5$ синтезируются в шероховатом эндоплазматическом ретикулуле (ЭПР) и следуют по секреторному пути, чтобы достичь плазматической

мембраны. Множество различных белков участвуют в биосинтезе, внутриклеточном транспорте, локализации канала в определенных микродоменах, посттрансляционных модификациях, регуляции биофизических свойств и деградации $\text{Na}_v1.5$ путем прямого или косвенного взаимодействия с различными мотивами и доменами $\text{Na}_v1.5$ [39].

Транскрипция *SCN5A* и процессинг РНК

Ген *SCN5A* человека состоит из приблизительно 8000 п.н. и представлен 28 экзонами. Экзоны 2–28 кодируют белок-кодирующую последовательность. Экзон 1 и часть экзона 2 кодируют 5'-нетранслируемую область мРНК (5'-UTR). Экзон 28 кодирует мРНК 3'-UTR [40]. Транскрипция гена *SCN5A* регулируется различными факторами транскрипции. Позитивная регуляция транскрипции (например, под действием транскрипционных факторов TBX5 и NF- κ B) [41, 42] приводит к повышению экспрессии *SCN5A* и дополнительно к увеличению количества каналов на мембране и увеличению плотности I_{Na} , в то время как негативная регуляция (например, с помощью транскрипционных факторов FOXO1 и Snail) демонстрирует противоположные эффекты [43, 44]. Микро-РНК (миРНК) регулируют экспрессию генов посредством ингибирования трансляции или деградации мРНК. Сообщается, что miR-192-5p негативно регулирует экспрессию $\text{Na}_v1.5$ и снижает плотность I_{Na} путем взаимодействия с 3'-UTR мРНК *SCN5A* человека [45].

В результате альтернативного сплайсинга образуется множество сплайс-вариантов $\text{Na}_v1.5$, включая функциональные и нефункциональные типы [46]. По сравнению с полноразмерным $\text{Na}_v1.5$, сплайс-варианты $\text{Na}_v1.5$, такие как $\text{Na}_v1.5a$, $\text{Na}_v1.5d$ и $\text{Na}_v1.5e$, демонстрируют изменение электрофизиологических свойств; биофизические характеристики $\text{Na}_v1.5c$ не отличаются; $\text{Na}_v1.5b$, $\text{Na}_v1.5f$ и укороченные варианты E28B–E28D образуют функционально неактивные каналы [46].

Внутриклеточный транспорт и микродоменная локализация

мРНК *SCN5A* экспортируется из ядра. Трансляция и фолдинг происходят в шероховатом ЭПР. Далее белок транслоцируется в аппарат Гольджи (АГ) для дальнейшей модификации и сортировки. После выхода из аппарата Гольджи $\text{Na}_v1.5$ транспортируется в плазматическую мембрану.

Экспорт из ядра

Ядерные поровые комплексы, также известные как нуклеопорины, опосредуют обмен молекулами между нуклеоплазмой и цитоплазмой.

Нуклеопорин 107 (Nup107) избирательно облегчает экспорт мРНК *SCN5A* из ядра в цитоплазму, не влияя на уровень мРНК *SCN5A* [47]. Кроме того, повышенный уровень Nup107 и $\text{Na}_v1.5$ наблюдался в кардиомиоцитах и тканях сердца в условиях гипоксического и окислительного стресса. Это говорит о том, что Nup107 является белком, который быстро реагирует на повреждения и может быть разработан в качестве новой молекулярной терапевтической мишени для лечения ишемического повреждения миокарда. MOG1 может также играть регуляторную роль в ядерно-цитоплазматическом транспорте мРНК *SCN5A*. Установлено, что MOG1 взаимодействует с Ran ГТФазой, небольшим белком, который опосредует импорт и экспорт белков, и РНК ядром [48]. Также было показано, что MOG1 способствует внутриклеточному переносу $\text{Na}_v1.5$ из ЭПР [49].

Экспорт из ЭПР

На уровне ЭПР протекают процессы фолдинга белков, контроля качества и сборки белковых комплексов. В ионных каналах идентифицировано несколько мотивов удержания и экспорта из ЭПР [50, 51]. Мотивы экспорта из ЭПР имеют решающее значение для эффективного экспорта зрелых и правильно свернутых белков из ЭПР с помощью везикул, покрытых COPII. COPII везикулы в ассоциации с Sec23/24, Sec13/31, Sar1 и Sec12 опосредуют антероградный перенос белка между ЭПР и АГ [52]. MOG1 способствует экспорту $\text{Na}_v1.5$ из ЭПР и улучшает экспрессию $\text{Na}_v1.5$ на клеточной поверхности, вероятно, за счет взаимодействия с Sar1A и Sar1B [49, 52–54]. В настоящее время признано, что сигналы удержания в ЭПР могут также играть важную роль в экспорте из ЭПР многих белков плазматической мембраны. После маскировки сигналов удержания в ЭПР белки высвобождаются из ЭПР. Линкерная область I–II $\text{Na}_v1.5$ содержит три предполагаемых мотива удержания в ЭПР RXR-типа (RKR479-481, RRR533-535 и RQR659-661). Опосредованное протеинкиназой A (PKA) фосфорилирование $\text{Na}_v1.5$ маскирует сигналы удержания в области линкера I–II $\text{Na}_v1.5$ и способствует экспорту $\text{Na}_v1.5$ из ЭПР в аппарат Гольджи [55, 56].

Тем не менее, механизм экспорта из ЭПР $\text{Na}_v1.5$ все еще плохо изучен. Rab ГТФазы, крупнейшие члены суперсемейства Ras, играют важную роль в транспортировке белков между внутриклеточными компартментами у эукариот [57]. Сообщается, что Rab1 и Rab2 регулируют транспорт белка между ЭПР и аппаратом Гольджи, но их роль в транспорте $\text{Na}_v1.5$ неясна и нуждается в дальнейших исследованиях.

Экспорт из аппарата Гольджи

Селективный экспорт белков из АГ на плазматическую мембрану является другим ключевым этапом в переносе белков, который был изучен на калиевых каналах внутреннего выпрямления [58]. Однако мало что известно о регуляции транспорта $\text{Na}_v1.5$ из АГ. Предполагается, что мотивы удержания и экспорта из АГ, возможно, модулируют выход $\text{Na}_v1.5$ из аппарата Гольджи [59].

Дегградация

Последним этапом жизненного цикла канала $\text{Na}_v1.5$ является дегградация, которую можно рассматривать как форму ретроградного транспорта. Существуют два основных пути дегградации $\text{Na}_v1.5$: протеасомный и аутофагический пути дегградации.

Путь протеасомной дегградации

Убиквитинирование является общим сигналом для интернализации и дегградации белка. Убиквитинлигаза E3 Nedd4-2 содержит домены WW, N-концевой домен C2, связывающий кальций/белок, и C-концевой домен HECT. Когда домен C2 связывается с доменом HECT, Nedd4-2 находится в неактивном состоянии. Когда Ca^{2+} связывается с доменом C2, домен HECT подвергается воздействию и активируется Nedd4-2. Активированный Nedd4-2 связывается с мотивами PY белков-мишеней через свои WW-домены для убиквитинирования [60]. Ионные каналы, помеченные убиквитином, обычно входят в состав везикул, предназначенных для дегградации (лизосомной или протеасомной системой), или возвращаются обратно в мембрану с помощью небольших Rab ГТФаз. Nedd4-2 связывается с PY-мотивом $\text{Na}_v1.5$ через WW-домены для убиквитинирования, что приводит к быстрой интернализации и дегградации $\text{Na}_v1.5$ [61]. Зависимая от кальция активация Nedd4-2 ускоряет дегградацию $\text{Na}_v1.5$ и снижает плотность I_{Na} [62]. Сообщается, что аВ-кристаллин [63], сывороточная и глюкокортикоид-индуцируемая киназа (SGK) [64] и UBC9 [65] взаимодействуют с Nedd4-2 для регуляции дегградации $\text{Na}_v1.5$.

Аутофагия

Аденозин-50-монофосфат-активируемая протеинкиназа (AMPK) играет важную роль в опосредовании аутофагической дегградации $\text{Na}_v1.5$ во время ишемии и реперфузии (ИР) сердца. Сообщалось, что стимуляция ИР снижает количество $\text{Na}_v1.5$ в сердцах крыс. Исследование *in vitro* показало, что в условиях ИР стресса $\text{Na}_v1.5$ дегградировал через AMPK-опосредованный аутофагический путь, а не через протеасомный путь [65]. AMPK помогает

$\text{Na}_v1.5$ связываться с адапторным белком аутофагии и легкой цепью 3 белка 1, ассоциированного с микротрубочками (LC3), путем фосфорилирования $\text{Na}_v1.5$ по треонину (T) 101 и усиливает последующую дегградацию посредством аутофагического пути [66].

Регуляция активности $\text{Na}_v1.5$

Активация $\text{Na}_v1.5$ во многом определяется сегментом S4, который содержит множество положительно заряженных аминокислот, которые перемещаются внутри мембраны в ответ на изменения мембранного потенциала. Потенциал-чувствительный домен (VSD), образованный S1–S4, меняет конформацию, когда деполяризация мембраны перемещает сегмент S4 внутри I–III наружу относительно других сегментов канала. Это позволяет ионам Na^+ проходить через пору, образованную сегментами S5 и S6 и P-петлей. Активация $\text{Na}_v1.5$ вызывает быструю инициацию ПД. Инактивация $\text{Na}_v1.5$ включает два различных процесса: быструю и медленную инактивацию. Быстрая инактивация тесно связана с активацией и происходит в течение миллисекунд. В этом процессе важную роль играет изолейцин-фенилаланин-метиониновый (IFM) мотив, который представляет собой высококонсервативный аминокислотный триплет в линкере III–IV [67]. В отличие от быстрой инактивации, медленная инактивация не связана с процессом активации и может длиться до нескольких секунд. Конформационные модификации в следующих трех доменах вызывают медленный процесс инактивации: трансмембранный сегмент S4/IV, петля между S5–S6/II (P-петля/II) и сегмент S6/II [68]. Когда каналы $\text{Na}_v1.5$ не полностью инактивированы, в кардиомиоцитах может детектироваться продолжительный натриевый ток с амплитудой менее 0,5 % от пикового тока, который известен как поздний I_{Na} ($I_{\text{Na-L}}$). Из-за короткой продолжительности плато ПД $I_{\text{Na-L}}$ может привести к ситуациям, когда «нагрузка» $\text{Na}_v1.5$ со временем становится в два раза больше, чем пиковый I_{Na} , и это играет важную роль при стенокардии, аритмии и сердечной недостаточности [69]. Было идентифицировано множество белков, которые модулируют биофизические свойства $\text{Na}_v1.5$: β -субъединицы, FGF, CaMKII и 14–3–3. Кроме того, модуляция внутриклеточного транспорта и биофизических свойств $\text{Na}_v1.5$ может осуществляться с помощью посттрансляционных модификаций.

Белки-партнеры $\text{Na}_v1.5$ и их роль в регуляции натриевого тока

В последнее десятилетие были сделаны важные наблюдения относительно регуляции функцио-

нальной экспрессии $\text{Na}_v1.5$ посредством его ассоциации со специфическими партнерами. Действительно, $\text{Na}_v1.5$ могут быть локализованы в разных мембранных доменах кардиомиоцитов и входить в состав различных макромолекулярных комплексов в зависимости от их связи с конкретными белками, такими как белки щелевых контактов [70, 71], десмосомальные белки [72, 73], актин-связывающие белки [74, 75] дистрофин-синтрофиновый комплекс [36–38] и мембранно-ассоциированные белки гуанилаткиназы (MAGUK) [38, 76, 77].

Белки-партнеры $\text{Na}_v1.5$ в ВД

Анкирин-G

Основная функция анкиринов заключается в закреплении мембранных белков ионного транспорта, таких как ионные каналы и ион-транспортирующие АТФазы, на актиновом и спектриновом цитоскелете. В то время как и анкирин-B (кодируемый ANK2), и анкирин-G (ANK3) экспрессируются в миокарде, было показано, что только анкирин-G взаимодействует с $\text{Na}_v1.5$ [78]. Анкирин-G локализуется во вставочном диске и в Т-трубочках взрослых миоцитов. Анкирин-G взаимодействует с $\text{Na}_v1.5$ через свой домен, связывающий анкирин-G (мотив VPIAVAESD на петле 2). Первое свидетельство о роли анкирина-G в направленном транспорте и обеспечении локализации канала $\text{Na}_v1.5$ в область ВД было получено при идентификации мутации (E1053K) у пациента с BrS, локализованной в анкирин-связывающем мотиве $\text{Na}_v1.5$ [79]. Мутация E1053K делает невозможным взаимодействие $\text{Na}_v1.5$ с анкирином-G и предотвращает его накопление на клеточной поверхности в желудочковых кардиомиоцитах без изменения фолдинга белка или опосредованного аппаратом Гольджи транспорта. Также на мышинной модели нокаутной по анкирину-G было показано нарушение СаМКП-зависимой регуляции позднего тока натрия при β -адренергической стимуляции и реорганизация белка вставочных дисков PKP2 [74].

Белки щелевых контактов

Делеция последних пяти аминокислот на С-конце cx43 у мышей (мотив связывания ZO-1) приводит к заметному нарушению свойств электрической активации сердца и тяжелым желудочковым аритмиям. Оптическое картирование выявляет обширные задержки проводимости вместе со сниженной плотностью натриевого и калиевого токов. У этой мыши экспрессия канала $\text{Na}_v1.5$ снижена в области ВД без изменения уровня белка. Следовательно, cx43-зависимые аритмии могут развиваться по механизмам, отличным от нарушения функ-

циональной активности щелевых соединений [80]. Группа Дельмара исследовала ультраструктурную организацию ВД у мутантных мышей и проверила гипотезу о том, что плюс-конец микротрубочки (EB1) лежит в основе взаимодействия cx43- $\text{Na}_v1.5$. Предыдущие исследования показали, что $\text{Na}_v1.5$ доставляется в мембрану через сеть микротрубочек [81] и что EB1 осуществляет доставку cx43 непосредственно в область адгезионных контактов [82]. На уровне сверхвысокого разрешения и EB1, и $\text{Na}_v1.5$ распределяются в кластеры N-кадгерина в области ВД. У мутантных мышей снижено количество кластеров EB1 и $\text{Na}_v1.5$, также показали снижение I_{Na} исключительно в области ВД. Следовательно, локализация $\text{Na}_v1.5$ и EB1 в ВД, по-видимому, зависит от cx43 [70, 71]. Авторы предложили модель, в которой cx43 является частью молекулярного комплекса, который захватывает плюс-конец микротрубочки, обеспечивая точную доставку $\text{Na}_v1.5$ в ВД. Эти наблюдения связывают возбудимость и электрическую связь через общий молекулярный механизм.

Десмосомальные белки

Плакофилин 2

Плакофилин 2 (PKP2) — один из белков, входящих в состав десмосомы, кодируется геном *PKP2*. Генетические варианты в гене *PKP2* были обнаружены у пациентов с аритмогенной кардиомиопатией (АКМП), наследственным заболеванием, связанным с желудочковыми аритмиями и внезапной смертью в молодом возрасте. Группой Дельмара было показано, что PKP2 и $\text{Na}_v1.5$ ко-локализованы в области ВД свежевыведенных миоцитов [73]. Сайленсинг PKP2 *in vitro* снижает I_{Na} в кардиомиоцитах и приводит к сдвигу кривой инактивации в сторону более отрицательных потенциалов. Важность PKP2 в модуляции I_{Na} была продемонстрирована *in vivo* с использованием мышинной модели гаплонедостаточности PKP2. У гетерозигот PKP2 (PKP2-hz) снижение уровней белка PKP2 не сопровождается снижением других белков ВД (cx43, N-кадгерин, плакоглобин) и $\text{Na}_v1.5$. Наблюдается снижение экспрессии PKP2 в ВД и изменение организации десмосом, однако изменений в локализации $\text{Na}_v1.5$, cx43, плакоглобина или N-кадгерина замечено не было. Аналогично результатам *in vitro* экспериментов, плотность I_{Na} снижается и сопровождается отрицательным сдвигом кривой инактивации. Микроскопия со сверхвысоким разрешением показала, что снижение I_{Na} связано с уменьшением количества каналов в области ВД [83].

Скрининг вариантов *PKP2* у пациентов с диагнозом синдрома Бругада (BrS) и отсутствием при-

знаков аритмогенной кардиомиопатии или мутаций в генах, связанных с BrS (*SCN5A*, *CACNA1C*, *GPD1L* и *MOG1*), выявил пять случаев одиночных аминокислотных замен [84]. Мутации, протестированные в клетках, происходящих из HL-1, эндогенно экспрессирующих $\text{Na}_v1.5$, но не *PKP2*, показали, что локализация $\text{Na}_v1.5$ восстанавливалась путем трансфекции *WT PKP2*. Этого не происходило при трансфекции генетическими вариантами в *PKP2*, обнаруженными у пациентов с BrS. Сходным образом, кардиомиоциты, полученные из иПСК, от пациента с мутацией *PKP2* показали резкое снижение I_{Na} , который можно восстановить путем трансфекции *WT PKP2*, но не мутантами *PKP2*, связанными с BrS [84].

Полноэкзомное секвенирование пациентов с АКМП без десмосомных мутаций выявило редкий миссенс-вариант в *SCN5A* p.Arg1898His, R1898H). В кардиомиоцитах, полученных из иПСК, в миссенс-варианте наблюдали заметное снижение I_{Na} и снижение экспрессии $\text{Na}_v1.5$ и N-кадгерина в ВД. Эти наблюдения предполагают, что $\text{Na}_v1.5$ существует в функциональных комплексах, состоящих из молекул адгезии, и раскрывают потенциальные неканонические механизмы, с помощью которых дисфункция $\text{Na}_v1.5$ может вызывать кардиомиопатию [85].

Десмоглеин 2

Десмоглеины относятся к семейству кадгеринов, состоящему из белков, кодируемых генами *DSG1*, *DSG2*, *DSG3* и *DSG4*. Десмоглеины представляют собой кальций-связывающие трансмембранные гликопротеиновые компоненты десмосом. Мутации в гене *DSG2* ассоциированы с АКМП. В исследовании, демонстрирующем роль десмоглеина-2 (*Dsg2*) в регуляции I_{Na} , использовалась мышинная модель АКМП со сверхэкспрессией мутантного десмоглеина-2 (*Dsg2-N271S*) [86], гомолога мутации *DSG2-N266S*, выявленной у пациента с АКМП [87]. До 6 недель мутантные по *Dsg2* мыши не проявляют кардиомиопатических изменений. В возрасте < 2 недель оптическое картирование выявило тенденцию к снижению скорости проведения. Через 3–4 недели наблюдалось дискретное замедление желудочковой проводимости (фракционирование комплекса QRS). На более поздних стадиях у мутантов *Dsg2* развивалось значительное удлинение QRS, аномальная морфология QRS, нарушения спонтанного желудочкового ритма и снижение скорости проведения. Авторы предположили, что замедление проводимости, наблюдаемое в сердце до кардиомиопатических изменений в возрасте 3–4 недель, может быть

связано с измененной локализацией или сниженным уровнем компонентов ВД. Кардиомиоциты, полученные из мутанта по *Dsg2*, показали более низкую скорость подъема ПД и сниженную плотность I_{Na} . Морфометрический анализ показал, что среднее межклеточное пространство расширялось у мутантных мышей в возрасте 3–4 недель и продолжало увеличиваться в более позднем возрасте. Таким образом, *Dsg2* и $\text{Na}_v1.5$ взаимодействуют *in vivo*, и замедление проводимости и развитие аритмии при АКМП проявляются раньше гистологических изменений сердца [86].

Плакоглобин

Плакоглобин, также известный как γ -катенин, кодируется геном *JUP*. Плакоглобин является членом семейства белков катенина и гомологичен β -катенину. Плакоглобин является цитоплазматическим компонентом десмосом и соединительных структур межпозвонкового диска. Мутации в плакоглобине связаны с АКМП. Используя данные свободной стенки левого и правого желудочка, полученные от пациентов с АКМП и контрольной группы, авторы показали сниженный иммунореактивный сигнал плакоглобина, *cx43* и $\text{Na}_v1.5$ в ВД, тогда как сигналы и распределение N-кадгерина и десмоплакина были нормальными у пациентов с АКМП. Сигналы *PKP2* не изменялись, если не присутствовала мутация *PKP2*, вызывающая гапло-недостаточность [88].

Десмоплакин

Десмоплакин кодируется геном *DSP*. Десмоплакин является критическим компонентом десмосом, и было показано, что мутации в десмоплакине играют роль в развитии дилатационной кардиомиопатии, АКМП и синдрома Карвахалы. Нокдаун десмоплакина в клетках HL-1 приводит к снижению экспрессии *cx43* и $\text{Na}_v1.5$, а также к аномальному распределению *cx43* и $\text{Na}_v1.5$. Количество щелевых контактов между соседними клетками также уменьшается. Также наблюдается снижение I_{Na} и скорости проведения. Это исследование показывает, что нарушение механической связи потенциально влияет на электрическую функцию при АКМП [89].

Таким образом, в области ВД существует сеть белок-белковых взаимодействий или «коннексом», где молекулы, классически определяемые как принадлежащие к одной конкретной структуре (например, десмосома, щелевое соединение, комплекс натриевых каналов), фактически взаимодействуют с другими. Вместе они контролируют возбудимость, электрическую связь и межклеточную ад-

гезию в сердце. Концепция «коннексама» может способствовать нашему пониманию механизмов, ведущих к таким наследственным аритмиям, как ARVC и BrS [70, 71, 90, 91].

Белки MAGUK

Белки MAGUK составляют большое семейство мультидоменных белков. Белки MAGUK выполняют функцию организаторов специализированных микродоменов плазматической мембраны, которые регулируют поверхностную экспрессию нескольких трансмембранных белков в различных типах клеток, включая кардиомиоциты.

Молекулярное разнообразие белков MAGUK было выявлено при изучении синапсов нейронов [92]. К белкам MAGUK относятся PSD-95 [93], SAP90 [94], SAP97 [95], ZO-1 [96] и ZO-2 (Zona Occludens) [97]. Структурно большинство белков MAGUK экспрессируют один домен Src-гомологии 3 (SH3), один домен, подобный гуанилаткиназе (GUK), и один или несколько доменов PSD-95/Dlg/ZO-1 (PDZ). Помимо этих канонических доменов, некоторые MAGUK экспрессируют домены WW (консервативные Т-остатки), домены L27 (Lin2-Lin7) и/или домен CaMKII.

SAP97

SAP97, также известный как синапс-ассоциированный белок 97 или большой гомолог дисков 1 (DLG1), кодируется геном *SAP97*. SAP97 состоит из трех доменов PDZ (класс I), одного домена SH3, одного домена GUK и одного домена L27, расположенного на N-конце. SAP97 преимущественно локализован в ВД или вблизи него, но также наблюдается латерально вдоль ЛМ [38, 76, 98–100]. Было показано, что несколько сердечных ионных каналов взаимодействуют с SAP97, среди них $\text{Na}_v1.5$ [36, 38, 76]. Функциональным следствием этого взаимодействия *in vitro* является увеличение I_{Na} [38, 76]. Никаких изменений в проводимости одиночных каналов или вероятности открытия $\text{Na}_v1.5$ не наблюдалось, но сообщалось об увеличении плотности функциональных каналов [76]. На уровне белка поверхностная экспрессия $\text{Na}_v1.5$ снижена в кардиомиоцитах, с подавленной экспрессией *SAP97* [38]. Таким образом, стимулирующее действие SAP97 на I_{Na} связано не с изменением биофизических свойств $\text{Na}_v1.5$, а с увеличением количества каналов на плазматической мембране. Интересно, что для взаимодействия с синтрофином последние три остатка (SIV) С-конца $\text{Na}_v1.5$ необходимы для взаимодействия с SAP97 [36]. Делеция этих остатков у мышей приводит к неправильной локализации каналов $\text{Na}_v1.5$ в ЛМ. Наконец, миссенс-мутация,

идентифицированная в С-концевом домене $\text{Na}_v1.5$ у пациента с BrS (V2016M), не только снижает экспрессию I_{Na} и мембраны канала, но также снижает взаимодействие между $\text{Na}_v1.5$ и SAP97 [36]. Следовательно, С-концевые остатки SIV составляют PDZ-домен — мотив связывания, который взаимодействует с PDZ-белками в разных местах внутри кардиомиоцита: в ЛМ с синтрофином и в ВД с SAP97, тем самым определяя различные мультибелковые комплексы $\text{Na}_v1.5$.

Белки-партнеры $\text{Na}_v1.5$ в ЛМ

Комплекс дистрофин-синтрофин

Ген *DMD*, кодирующий белок дистрофина, является одним из самых больших генов человека. Дистрофин является цитоплазматическим белком и центральным партнером белкового комплекса, который соединяет цитоскелет мышечных волокон с окружающим внеклеточным матриксом через клеточную мембрану [101]. Пациенты — носители мутаций в гене *DMD* проявляют тяжелые кардиофенотипы, в частности, большинство больных с синдромом Дюшенна и Беккера страдают дилатационной кардиомиопатией [102]. Х-сцепленная форма дилатационной кардиомиопатии также вызывается мутациями в *DMD* [103].

Дистрофин имеет множество доменов белок-белкового взаимодействия, но также может косвенно взаимодействовать с дополнительными белками через адапторные белки синтрофина [104]. Ген *SNTA1* кодирует белок синтрофин $\alpha 1$ (SNTA1), который имеет стержневидную форму и выполняет функцию адаптора. SNTA1 содержит домен PDZ, два домена гомологии плекстрина (PH) и домен уникального синтрофина (SU). Синтрофиновые белки взаимодействуют со специфическим доменом на С-конце дистрофина и через его домен PDZ с С-концевым хвостом различных ионных каналов сердца. $\text{Na}_v1.5$ содержит мотив связывания домена PDZ на своем С-конце, мотив SIV. Этот мотив необходим для непрямого взаимодействия с дистрофином через синтрофиновые белки [37]. Gavillet и соавторы показали, что в дефицитных по дистрофину клетках сердца мышей mdx экспрессия белка $\text{Na}_v1.5$ снижена наряду с I_{Na} [37]. Взаимодействие между $\text{Na}_v1.5$ и дистрофином происходит исключительно на ЛМ, так как и дистрофин, и синтрофин практически отсутствуют в области ВД [38]. Хотя механизм, с помощью которого DGC регулирует экспрессию и локализацию $\text{Na}_v1.5$, до сих пор неизвестен, вероятно, это происходит посредством посттрансляционной регуляции, так как уровни мРНК $\text{Na}_v1.5$ не изменяются в ткани с дефицитом дистрофина [37]. Роль

мотива $\text{SIV Na}_v1.5$ была исследована *in vivo*. Нок-ин мыши, лишенные домена SIV (ΔSIV), обнаруживают сниженную экспрессию $\text{Na}_v1.5$ и уменьшение I_{Na} в ЛМ, тогда как в области ВД различий не наблюдалось [36]. Оптическое картирование ΔSIV сердца показало, что скорость проведения преимущественно уменьшалась в поперечном направлении, что приводило к изменению анизотропии. Шай и коллеги показали, что интернализация каналов ΔSIV не изменяется в клетках HEK293. После обработки протеасомным ингибитором MG132, I_{Na} восстанавливается в клетках ΔSIV , указывая на роль этого мотива в процессе деградации $\text{Na}_v1.5$ [36]. При экспрессии в клетках HEK293 мутация приводила к снижению экспрессии $\text{Na}_v1.5$ на клеточной поверхности и I_{Na} , что указывает на клиническую значимость мотива SIV в развитии заболеваний сердца [36].

Недавно была продемонстрирована роль N-конца $\text{Na}_v1.5$ (132 а.о.) в реципрокной регуляции каналов K_{ir} и $\text{Na}_v1.5$ [76]. N-концевой домен $\text{Na}_v1.5$ содержит остатки, сходные с C-концевой консенсусной последовательностью для связывания с синтрофином, и способен взаимодействовать с $\alpha 1$ -синтрофином. N-концевой домен $\text{Na}_v1.5$ оказывает шапероноподобный эффект, увеличивая натриевый ток и калиевый ток внутреннего выпрямления за счет усиления экспрессии каналов $\text{Na}_v1.5$, $\text{K}_{\text{ir}2.1}$ и $\text{K}_{\text{ir}2.2}$. Следовательно, N-конец $\text{Na}_v1.5$ действует как внутренний PDZ-подобный связывающий домен и играет критическую роль в реципрокных взаимодействиях $\text{Na}_v1.5$ - $\text{K}_{\text{ir}2.x}$ [105]. Различные исследования выявили мутации в *SNTA1* у пациентов с врожденным синдромом удлиненного интервала QT (LQTS) [106, 107]. Было показано, что мутация *SNTA1* p.A390V нарушает ассоциацию нейрональной NOS (nNOS), Ca-АТФазы плазматической мембраны типа 4b, синтрофина и $\text{Na}_v1.5$. Экспрессия мутантного синтрофина в кардиомиоцитах увеличивает поздний I_{Na} , что может объяснить удлинение интервала QT у пациентов с этой мутацией. Предполагаемый механизм состоит в том, что при устранении взаимодействия между синтрофином, nNOS и Ca-АТФазой нитрозилирование $\text{Na}_v1.5$ увеличивается и впоследствии стимулирует поздний I_{Na} [107]. Пациенты, несущие двойную мутацию как в *SCN5A* (R800L), так и в *SNTA1* (A261V), демонстрируют более выраженный клинический фенотип [108]. При совместной экспрессии с nNOS и Ca^{2+} -АТФазы двойной мутант не показывает изменений в амплитуде пикового I_{Na} , а, скорее, усиливает поздний ток, который может быть заблокирован ингибиторами nNOS. Следовательно, мутации в *SCN5A* и *SNTA1* совместно вызывают nNOS-зависимую регуляцию

I_{Na} , потенциально приводящую к увеличению продолжительности ПД и фенотипу LQTS [108].

Кавеолины

Кавеолины 1–3 являются интегральными мембранными белками, которые образуют шпильку внутри мембраны с внутриклеточными C- и N-концевыми доменами. Кавеолины являются основными составляющими кавеол и действуют как каркасные белки, концентрируя сигнальные молекулы и ионные каналы. Кавеолин-3 (CAV3) является основной изоформой кавеолина, экспрессируемой в миокарде. Было показано, что CAV3 ко-иммунопреципитирует с $\text{Na}_v1.5$ из сердечной ткани крысы. Бета-адренергическая стимуляция в сердечных миоцитах увеличивает I_{Na} за счет прямой активации альфа-субъединицы G-белка [109]. Интересно, что авторы предположили, что активация G-белка посредством β -адренергической стимуляции индуцирует открытие кавеол и, следовательно, добавление функциональных натриевых каналов к сарколемме. Хотя на сегодняшний день сайт взаимодействия между CAV3 и $\text{Na}_v1.5$ все еще неизвестен, остаток гистидина в положении 41 G-альфа является критическим для увеличения I_{Na} [110]. Также было показано, что дистрофин является компонентом кавеол [111], что повышает вероятность того, что взаимодействие CAV3 с $\text{Na}_v1.5$ может быть непрямым, вероятно, через белки DGC [37]. Из наблюдения, что канал $\text{Na}_v1.5$ локализуется в кавеолах [112], последующие исследования изучали, могут ли мутации в *CAV3* представлять новые патогенетические механизмы для LQTS и синдрома внезапной детской смерти (SIDS). Четыре мутации в *CAV3* (F97C, S141R, T78M и A85T) были идентифицированы у неродственных пациентов с LQTS. Мутанты CAV3 приводили к увеличению позднего I_{Na} [113]. Совместная экспрессия *SCN5A*, *SNTA1*, *nNOS* и F97C мутированного *CAV3* в клетках HEK приводила к усилению S-нитрозилирования $\text{Na}_v1.5$. Ингибиторы nNOS обращали как вызванное CAV3-F97C увеличение позднего и пикового I_{Na} , так и снижали S-нитрозилирование *SCN5A* [114]. Точно так же при СВДС были идентифицированы три различные мутации в гене *CAV3*, приводящие к увеличению позднего I_{Na} (V14L, T78M и L79R) [115]. Эти исследования предоставляют функциональные доказательства того, что мутации CAV3 могут вызывать усиление функции позднего I_{Na} у субъектов, связанных с LQTS или SIDS.

Белок CASK

Белок CASK (CaLcium/кальмодулин-зависимая серин/треонинкиназа) кодируется геном CASK,

также известным как CMG2 (CAMGUK белок 2), и относится к белкам семейств MAGUK. CASK содержит мультидоменные модули, которые опосредуют белок-белковые взаимодействия, важные для установления и поддержания поляризации в нейронах и эпителиальных клетках [116–119]. Было проведено несколько исследований, касающихся экспрессии и роли CASK в миокарде, несмотря на то, что о ее экспрессии сообщалось с 1998 года [120]. Недавнее исследование показало, что CASK ограничивается LM миоцитов, что делает CASK первым MAGUK, исключенным из состава ВД [77]. Интересно, что локализация CASK в ЛМ, как было обнаружено, зависит от присутствия дистрофина, поскольку CASK больше не экспрессируется на мембране в миокарде мышей *mdx* с дефицитом дистрофина. CASK и дистрофин также ко-локализуются и ко-иммунопреципитируются, указывая на то, что CASK может быть новым членом DGC в костамере. В отличие от всех других идентифицированных партнеров канала $\text{Na}_v1.5$, CASK негативно регулирует натриевый ток: в то время как избыточная экспрессия CASK снижает I_{Na} , подавление экспрессии CASK *in vitro* и нокдаун *in vivo* увеличивает I_{Na} [77]. Было показано, что CASK напрямую взаимодействует с $\text{Na}_v1.5$. В то время как CASK не модифицирует экспрессию $\text{Na}_v1.5$, подавление экспрессии CASK увеличивает количество каналов $\text{Na}_v1.5$ на плазматической мембране и, более конкретно, в ЛМ.

Посттрансляционные модификации (ПТМ)

Наряду со вспомогательными/регуляторными белками ПТМ каналов $\text{Na}_v1.5$ имеют решающее значение в регуляции различных аспектов физиологии и патофизиологии каналов $\text{Na}_v1.5$. ПТМ обеспечивают взаимосвязь активированных внутриклеточных сигнальных путей и сердечной возбудимости [121].

Гликозилирование $\text{Na}_v1.5$

Известно, что многие ионные каналы содержат фрагменты гликанов, которые обращены к внеклеточной стороне мембраны и закрепляются на таких остатках, как серин, треонин (О-связанное гликозилирование) или аспарагин (N-связанное гликозилирование) [122]. Эти гликаны обычно заканчиваются сиаловыми кислотами, которые, как предполагается, модулируют функцию потенциал-зависимых ионных каналов посредством того, что несут отрицательные заряды [123]. Гликозилирование белка Na^+ -канала сердца крысы было впервые продемонстрировано Коэном и Левиттом с использованием ферментов дегликозидазы [124].

Было показано, что крысиный $\text{Na}_v1.5$ имеет всего около 13 кДа углеводов, что меньше, чем у других изоформ нейронов с 50–60 кДа. Также было продемонстрировано, что паттерн гликозилирования $\text{Na}_v1.5$ в тканях предсердий мышей отличается от тканей желудочков [125].

Группа Беннета внесла существенный вклад в понимание роли сialiрования в регуляции функции потенциал-зависимых натриевых каналов. Они впервые продемонстрировали, что $\text{Na}_v1.5$ менее гликозилирован, чем изоформа канала $\text{Na}_v1.4$ скелетных мышц, в клеточной линии CHO, и что при временной трансфекции сам по себе он не показывает никаких изменений в потенциал-зависимости активации и инактивации при сialiровании [126]. Эти эффекты сиаловых кислот были приписаны внешнему отрицательному поверхностному потенциалу, который предположительно вызывает открытие каналов после деполяризации [126, 127].

Фосфорилирование $\text{Na}_v1.5$

Фосфорилирование, безусловно, является наиболее хорошо изученной ПТМ каналов $\text{Na}_v1.5$ в сердце, с участием различных протеинкиназ, которые, как известно, влияют на различные аспекты функционирования каналов. К этим ферментам относятся протеинкиназы А (РКА) и С (РКС), Ca^{2+} /кальмодулин-зависимая протеинкиназа II (CaMKII), фосфатидилинозитол-3-киназа (PI3K), сывороточные и глюкокортикоид-индуцируемые киназы (SGK), Gyn и аденозинмонофосфат-активируемая протеинкиназа (AMPK).

РКА-зависимое фосфорилирование

Хотя хорошо известно, что цАМФ-зависимый сигнальный путь протеинкиназы (РКА) регулирует каналы $\text{Na}_v1.5$, сообщалось о различных эффектах в различных препаратах клеток сердца, и значение этой регуляции в физиологии и/или патофизиологии не изучено. Активация β -адренергических рецепторов модулирует I_{Na} сердца через прямые и непрямые сигнальные пути с участием G-белков [128, 129]. Было показано, что непрямой РКА-зависимый путь фосфорилирования, представляющий особый интерес, вызывает либо увеличение [56, 128, 130–135], либо снижение [136] плотности I_{Na} . Интересно, однако, что исследование с использованием технологии cell-attached macropatch в кардиомиоцитах собак, кроликов и морских свинок показало сдвиги в зависимости инактивации и активации от напряжения в сторону гиперполяризованных потенциалов, тогда как ни максимальная проводимость, ни одноканальная

проводимость не изменились [137]. Авторы предположили, что многие из, казалось бы, несопоставимых результатов, о которых сообщалось ранее, можно отнести к этим наблюдаемым сдвигам, подразумевая удерживающий и тестовый потенциалы, которые использовались в различных экспериментах, как причину расхождений. Соответственно, наиболее воспроизводимым результатом различных исследований, проведенных на кардиомиоцитах, был отрицательный сдвиг кривой инактивации при активации РКА [129, 131, 137–140].

CaMKII-зависимое фосфорилирование

Подобно регуляции с помощью РКА, обсуждались эффекты Ca^{2+} /кальмодулин-зависимой протеинкиназы II (CaMKII) на токи Na^+ в сердце. Ранее было высказано предположение, что Ca^{2+} /кальмодулин-зависимые протеинкиназы (CaMK) регулируют инактивацию канала $\text{Na}_v1.5$, хотя окончательные выводы сделать нельзя из-за различных эффектов, наблюдаемых в ответ на два различных ингибитора CaMK, KN93 и AIP [141]. Основополагающая работа группы Майера впоследствии продемонстрировала ключевую роль CaMKII δ c, преобладающей сердечной цитозольной изоформы CaMKII, в регуляции инактивации каналов $\text{Na}_v1.5$ как остро в здоровых желудочковых миоцитах кролика, так и хронически в поврежденных желудочковых миоцитах, которые были выделены у мышей (CaMKII δ c-Tg) со сверхэкспрессией CaMKII δ c [142]. Как острая, так и хроническая сверхэкспрессия CaMKII δ c сдвигает стационарную инактивацию Na_v -каналов к более отрицательным потенциалам, усиливает промежуточную инактивацию и замедляет восстановление из инактивированного состояния Ca^{2+} -зависимым и предположительно взаимосвязанным образом. Острая сверхэкспрессия CaMKII δ c также заметно замедляет быструю инактивацию I_{Na} и увеличивает плотность I_{NaL} . Соответственно, несколько других исследований на клетках, выделенных из нормальных [143–146] или пораженных [147] желудочков, показали, что передача сигналов Ca^{2+} -кальмодулина и/или CaMKII замедляет инактивацию тока Na^+ и/или увеличивает I_{NaL} . С помощью компьютерного моделирования было показано, что такие изменения в функции Na^+ каналов в условиях повышенной активности CaMKII могут участвовать в удлинении потенциала действия при низкой частоте сердечных сокращений и замедлении сердечной проводимости при более коротких диастолических интервалах, таким образом способствуя аритмогенезу [148, 149]. Однако важно признать, что другие исследования показа-

ли различные эффекты CaMKII на Na^+ токи [141, 150] и что необходимо соблюдать осторожность, особенно при интерпретации результатов, полученных с различными изоформами CaMKII, экспериментальными планами и/или типами клеток.

PKC-зависимое фосфорилирование

Исследования кардиомиоцитов желудочков показали, что активация протеинкиназы C (PKC) снижает пиковый I_{Na} и сдвигает стационарную инактивацию в сторону гиперполяризации, и что наблюдаемое снижение тока может быть связано исключительно со снижением вероятности открытого состояния канала [151, 152]. Последующий анализ на моделях гетерологической системы экспрессии показал, что влияние на плотность тока: 1) может быть в значительной степени связано с активацией обычных, Ca^{2+} -чувствительных изоформ PKC [153, 154]; 2) зависит, как и сдвиг зависимости инактивации от напряжения, от фосфорилирования ранее известного [155] и высококонсервативного серина-1503 в внутриклеточном линкере канала [153, 156, 157]; 3) требует повышенного содержания активных форм кислорода (АФК) [153]; и 4) вопреки первоначальным сообщениям [151], связано с уменьшением транспорта каналов на клеточную поверхность [153, 154]. Хотя в этих предыдущих сообщениях не наблюдалось никакого влияния на кинетику инактивации каналов [151, 157], другие исследования показали, что активация PKC либо непосредственно, либо в ответ на применение повышенной внутриклеточной концентрации Ca^{2+} или перекиси водорода (H_2O_2) замедляет инактивацию каналов и/или увеличивает I_{NaL} в желудочковых миоцитах [145, 158, 159]. Вместе с результатами CaMKII эти данные свидетельствуют о том, что ингибирование путей CaMKII и/или PKC может быть терапевтической целью для уменьшения дисфункции миокарда и сердечных аритмий, вызванных перегрузкой Ca^{2+} и/или усилением I_{NaL} .

PI3K- и SGK-зависимое фосфорилирование

Было показано, что удлинение продолжительности потенциала действия и интервала QT в контексте лекарственно-индуцированного синдрома удлиненного интервала QT [160] и диабета [161] опосредовано, по крайней мере частично, ингибированием фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) и последующим увеличением I_{NaL} . Соответственно, мышечные сердца, лишенные каталитической субъединицы PI3K p110 α , демонстрируют пролонгированный потенциал действия и интервал QT, которые, по крайней мере, частично являются результатом увеличения I_{NaL} [160]. Далее авторы

продемонстрировали, что PI3K-зависимое увеличение I_{NaL} в диабетическом сердце опосредовано ингибированием протеин-киназы B (PKB/Akt), нижестоящего эффектора PI3K, и что ингибирование PKB/Akt само по себе также может повышать I_{NaL} в недиабетических кардиомиоцитах [161]. Вместе эти данные свидетельствуют о том, что ингибирование субъединицы PI3K p110 α и нижестоящих участников каскада PKB/Akt опосредует общий механизм, который увеличивает плотность I_{NaL} и, как следствие, повышает риск развития жизнеугрожающих аритмий.

Сывороточные и глюкокортикоид-индуцируемые киназы (SGK) являются членами семейства серин/треониновых протеинкиназ, активность которых строго регулируется как на уровне транскрипции несколькими различными сигнальными путями, включая пути инсулина или IGF1, так и посттрансляционно (фосфорилирование/дефосфорилирование), например, с помощью рецептор-активируемой PI3K [162]. Первоначальные исследования на модели ооцитов *Xenopus* показали, что SGK1 и SGK3, две сердечные изоформы SGK, увеличивают плотность N_{a+} тока, и что SGK3 дополнительно сдвигает зависимость инактивации и активации от напряжения в сторону положительных и отрицательных потенциалов, соответственно [64]. Противоположные сдвиги в свойствах активации и инактивации были вызваны индивидуальными мутациями консенсусных серинов SGK-484 или -664, предполагая прямое участие фосфорилирования по этим двум серинам.

Фун-зависимое фосфорилирование

$Na_v1.5$ также является мишенью тирозинкиназы семейства Src Fyn [163]. Действие Fyn на $Na_v1.5$ на модели гетерологической системы экспрессии проявляется в виде сдвига кривой инактивации в сторону деполяризации, увеличения скорости восстановления после инактивации и замедления развития промежуточной инактивации. Биохимические и функциональные данные *in vitro* свидетельствуют о том, что этот эффект зависит от фосфорилирования тирозина Y1495, расположенного на семь аминокислот ниже IFM-инактивирующего «шарика» во внутриклеточном линкере III–IV каналов, и что сердечные $Na_v1.5$ каналы действительно фосфорилированы по тирозину. Соответственно, в другом исследовании сообщалось, что протеин-тирозинфосфатаза, PTPN1, которая взаимодействует с C-концевым доменом PDZ $Na_v1.5$, обратно сдвигает зависимость инактивации от напряжения в сторону гиперполяризованных потенциалов [164].

АМРК-зависимое фосфорилирование

Сердечные каналы $Na_v1.5$ также могут быть субстратами для аденозинмонофосфат-активируемой протеинкиназы (АМРК). АМРК — это ключевая часть регуляторного механизма, который, как предполагается, отвечает за аритмогенную активность, наблюдаемую у пациентов с синдромом Вольфа-Паркинсона-Уайта, ассоциированным с мутациями АМРК и повышенной активностью АМРК [165]. В этом исследовании авторы показали на линии клеток млекопитающих, что конститутивно активный мутант АМРК замедляет инактивацию канала $Na_v1.5$ с появлением постоянного тока Na^+ и сдвигает зависимость активации канала $Na_v1.5$ от напряжения в сторону гиперполяризованных потенциалов. Эти результаты были подтверждены в культуре миоцитов желудочка крыс, инфицированных аденовирусом, которые продемонстрировали пролонгированную продолжительность потенциала действия и раннюю постдеполяризацию. Локализация задействованных сайтов фосфорилирования не исследовалась.

Метилирование аргинина и N-концевое ацетилирование $Na_v1.5$

Четыре недавних исследования группы Рамона Бругады показали роль метилирования аргинина и ацетилирования аланина в модуляции сердечных каналов $Na_v1.5$. Первый протеомный анализ стабильной клеточной линии, экспрессирующей $Na_v1.5$, предоставил первые доказательства того, что аргинины R513, R526 и R680, расположенные в первой внутриклеточной линкерной петле $Na_v1.5$, модифицируются путем метилирования [166]. Было обнаружено, что каждый из трех аргининов монометилирован; R526 и R680 также были обнаружены в диметилированном состоянии. Функциональная значимость этих результатов была подчеркнута тем фактом, что R526H и R680H представляют собой мутации, которые вызывают синдром Бругада и удлиненного интервала QT 3 типа соответственно. Второе исследование дополнительно продемонстрировало, что протеин-аргинин-метилтрансферазы (PRMT)-3 и -5 метилируют $Na_v1.5$ *in vitro*, взаимодействуют с $Na_v1.5$ в клетках HEK293 и увеличивают экспрессию $Na_v1.5$ на поверхности клеток и плотность I_{Na} [167]. Наконец, эти результаты недавно были подтверждены масс-спектрометрической идентификацией моно- и диметилирования R526 из нативных каналов $Na_v1.5$, которые были очищены из желудочков человека с терминальной стадией сердечной недостаточности [168]. В этих нативных образцах метилированные R513 и R680 не обнаружены.

Еще более интригующим является существование N-конца, лишённого иницирующего метионина и ацетилированного по полученному исходному остатку аланина (AcA2) в белке $\text{Na}_v1.5$ человека, выделенном из образца с сердечной недостаточностью [168]. Особый интерес представляет реципрокная регуляция фосфорилирования (снижение фосфорилирования) и метилирования (повышение метилирования, в том числе по R513) в соседних сайтах, что, как недавно предполагалось, лежит в основе изменений функции нейрональных каналов $\text{Na}_v1.2$ в ответ на острые приступы [169]. В этом отношении можно предположить, что метилирование аргинина может играть роль в регуляции фосфорилирования ключевых остатков серина или наоборот, особенно во внутриклеточном линкере I–II каналов $\text{Na}_v1.5$, который содержит сайты как для метилирования, так и для фосфорилирования. Это антагонистическое взаимодействие было недавно продемонстрировано для $\text{Na}_v1.5$: метилирование R513 *in vitro* снижает фосфорилирование S516, и, наоборот, фосфорилирование S516 блокирует метилирование R513 [170]. Авторы этого недавнего исследования также предположили, что мутация G514C в $\text{Na}_v1.5$, связанная с нарушением сердечной проводимости, может действовать, уравнивая это равновесие метилирования/фосфорилирования.

Окислительно-восстановительная регуляция $\text{Na}_v1.5$

Чувствительность каналов $\text{Na}_v1.5$ к восстановлению/окислению (редокс) включает несколько различных механизмов: регуляция промотора *SCN5A* [42, 43], регуляция каналов редокс-активируемыми белками/путями (в частности, киназами) и прямая химическая модификация субъединиц каналов активными формами кислорода (АФК). Здесь мы сосредоточимся только на этих двух последних механизмах, связанных с ПТМ $\text{Na}_v1.5$. АФК состоят из супероксида ($\text{O}_2 \cdot^-$), перекиси водорода (H_2O_2), гидроксильных радикалов ($\cdot\text{OH}$) и пероксинитрита (ONOO^-). Они генерируются несколькими метаболическими путями, которые включают несвязанные синтазы оксида азота (NOS), НАД(Ф)Н-оксидазы, ксантиноксидазы и митохондриальную цепь переноса электронов (ЭТЦ), которая является основным источником АФК в сердце.

Повышенный внутриклеточный НАДН, будь то в условиях мутаций *GPD1L*, связанных с *BrS* или *СВСД*, или в контексте неишемической кардиомиопатии, снижает I_{Na} в сердце. Помимо потенциально РКС-зависимого фосфорилирования $\text{Na}_v1.5$ [171], наблюдается повышенная продукция супероксида

[172, 173] за счет активности III митохондриального ЭТЦ [174]. Однако H_2O_2 -зависимое увеличение позднего I_{Na} отсутствует в *CaMKII δ* -дефицитных миоцитах [175], что свидетельствует о том, что доминирующий механизм, участвующий в этой регуляции, не опосредуется прямым окислением тиола $\text{Na}_v1.5$, а, скорее, зависит от непрямого окисления и последующей активации *CaMKII δ* и, возможно, фосфорилирования $\text{Na}_v1.5$.

Третьим источником АФК, имеющим отношение к регуляции каналов $\text{Na}_v1.5$, является оксид азота ($\cdot\text{NO}$), который в сердечно-сосудистой системе в основном синтезируется эндотелиальной NOS (eNOS) в эндотелии коронарных артерий. $\cdot\text{NO}$ также продуцируется в кардиомиоцитах конститутивной нервной NOS (nNOS). Предполагается, что NO действует на белки, в том числе $\text{Na}_v1.5$, по крайней мере двумя различными путями: через прямое S-нитрозилирование сульфгидрильных групп специфических остатков цистеина и через непрямую активацию гуанилатциклазы (GC)/цГМФ. Увеличение загрузки Ca^{2+} , индуцированное иономицином, увеличивает I_{NaL} в желудочковых миоцитах взрослых крыс, и этот эффект, блокируемый ингибиторами NOS, но не ингибиторами пути GC/cGMP, может зависеть от прямой химической модификации каналов Na_v [176]. Напротив, другое исследование продемонстрировало, что $\cdot\text{NO}$ снижает I_{Na} в миоцитах желудочков морских свинок и мышей и что этот эффект опосредован как GC/cGMP/протеинкиназой G (PKG), так и аденилатциклазного пути (AC)/cAMP/РКА [177]. Важно отметить, что при изучении воздействия монооксида углерода (CO) как на нативные, так и на гетерологически экспрессируемые каналы $\text{Na}_v1.5$, два дополнительных исследования согласовали эти исследования между собой, показав, что CO в основном за счет образования $\cdot\text{NO}$ и изменения окислительно-восстановительного статуса каналов способен как увеличивать I_{NaL} , так и уменьшать I_{Na} [178, 179].

Заболевания, связанные с *SCN5A*, и возможные терапевтические стратегии

Активность $\text{Na}_v1.5$ тесно связана с патогенезом различных сердечно-сосудистых заболеваний, таких как аритмия, ишемическая кардиомиопатия, сердечная недостаточность и внезапная сердечная смерть. Большинство случаев сердечной аритмии и внезапной сердечной смерти вызваны генетическими вариантами в гене *SCN5A*, которые изменяют экспрессию и активность $\text{Na}_v1.5$. Мутации, усиливающие активность *SCN5A*, которые приводят к увеличению I_{NaL} , могут привести к синдрому удлиненного интервала QT 3 (LQT3).

Мутации, ассоциированные с уменьшением активности $\text{Na}_v1.5$, которые приводят к снижению I_{Na} , могут вызывать синдром Бругада (BrS), синдром слабости синусового узла, фибрилляцию предсердий и другие заболевания [180]. На сегодняшний день в базе данных ClinVar имеются данные более чем о 1 600 миссенс-вариантах в *SCN5A*, ассоциированных с различными аритмогенными синдромами. Предыдущие исследования показали, что экспрессия $\text{Na}_v1.5$ подавлена на фоне сердечной недостаточности [62]. Повышенная экспрессия Nedd4-2, совместная локализация Nedd4-2 с $\text{Na}_v1.5$ и повышенные диастолические концентрации кальция наблюдались в модели сердечной недостаточности у крыс. Это позволяет предположить, что Nedd4-2-опосредованное убиквитинирование играет важную роль в подавлении $\text{Na}_v1.5$ при сердечной недостаточности [62]. В настоящее время признано, что варианты *SCN5A* участвуют в патогенезе сердечной недостаточности. A1180V, вариант *SCN5A*, снижал I_{Na} и умеренно повышал $I_{\text{Na-L}}$. Носители A1180V без сердечной дисфункции первоначально обнаруживают ухудшение сердечных функций, которые прогрессируют до сердечной недостаточности или атриовентрикулярной блокады во время последующих наблюдений [181]. Хотя некоторые исследования выявили корреляцию между $\text{Na}_v1.5$ и сердечной недостаточностью, конкретные механизмы еще не известны.

Принимая во внимание важную роль $\text{Na}_v1.5$ при этих заболеваниях, были разработаны новые терапевтические стратегии, направленные на биосинтез, транспорт и амплитуду натриевого тока $\text{Na}_v1.5$.

Терапия, направленная на биосинтез $\text{Na}_v1.5$

В нескольких исследованиях было высказано предположение, что содействие процессу трансляции может позволить рибосомам игнорировать стоп-кодон для производства полноразмерных белков и в определенной степени уменьшить вредные результаты, вызванные нонсенс-мутациями. Фармакологические стратегии для усиления трансляции включают аминокгликозиды, малые интерферирующие РНК (siRNA), которые нацелены на эукариотические факторы высвобождения (eRF), и супрессорные tРНК, которые распознают стоп-кодона [182]. Эта идея была проверена на нонсенс-мутации *SCN5A*-W822X с использованием аминокгликозидов и siRNA против eRF3a и оказалась эффективной, что может быть новой стратегией лечения носителей нонсенс-мутации *SCN5A* [183]. Однако ее применение в клинической практике в значительной степени ограничено из-за соображений безопасности, таких как внесение

изменений в последовательность восстановленных полноразмерных белков.

Другим перспективным направлением является компенсация снижения I_{Na} за счет активации сигнального пути Wnt путем ингибирования GSK3-beta киназы. Ранее на модели рыбок *D. rerio* с АКМП наблюдалось уменьшение I_{Na} вследствие мутации в гене плакоглобина [184]. Амплитуда тока восстанавливалась до значений дикого типа после обработки ингибитором GSK3-beta киназы. Тот же эффект был обнаружен на модели кардиомиоцитов, полученных из иПСК пациента с АКМП, ассоциированной с генетическими вариантами в гене *PKP2* [185].

Терапия, направленная на транспорт $\text{Na}_v1.5$

H558R, распространенный полиморфизм *SCN5A*, восстанавливает дефектный транспорт связанных с BrS мутаций R282H, S216L, K317N и D1690N в гене *SCN5A*, способствуя правильной укладке белка [186–188]. Механизмы, с помощью которых H558R восстанавливает мутации *SCN5A*, противоречивы. Снижение метилирования промотора *SCN5A* с помощью H558R является одним из задействованных механизмов [189]. В исследовании *in vitro* было показано, что небольших пептидов, которые охватывают полиморфизм H558R, достаточно для восстановления дефекта переноса связанных с BrS мутаций *SCN5A*-R282H, что указывает на возможность использования пептидов, содержащих R558, в качестве новой стратегии терапии в случае определенных BrS-ассоциированных генетических вариантов [187]. Тем не менее, компенсаторные эффекты полиморфизма *in vivo* еще предстоит изучить.

Терапия, направленная на $I_{\text{Na-L}}$ $\text{Na}_v1.5$

Ранолазин, элеклазин, амиодарон, мексилетин, флекаинид и хинидин, нацеленные на $I_{\text{Na-L}}$, широко изучались для лечения пациентов с LQT3 [69]. Ранолазин, одобренный для лечения стенокардии, предпочтительно снижает $I_{\text{Na-L}}$. На сегодняшний день ранолазин исследовался в отношении мутаций *SCN5A*, таких как IKPQ, Y1767C, R1623Q и D1790G [190–193]. Мексилетин, пероральный антиаритмический препарат класса Ib, воздействует на $\text{Na}_v1.5$ и преимущественно ингибирует $I_{\text{Na-L}}$. Сообщалось, что мексилетин может эффективно укорачивать интервал QT у части пациентов с LQT3, в то время как другие пациенты нечувствительны к препарату [194]. Предполагается, что конформация менее активированного домена, чувствительного к напряжению III (III-VSD) $\text{Na}_v1.5$, является причиной нечувствительности к мексилетину у этих пациентов [195]. Комбинация мексилетина с препаратом,

который может способствовать активации III-VSD, может быть новой терапевтической стратегией для этих нечувствительных к мексилетину пациентов.

Заключение

Потенциал-зависимые натриевые каналы сердца — это сложные трансмембранные белки, регуляция активности которых осуществляется на всех возможных уровнях от экспрессии *SCN5A* до контроля убиквитин-зависимой деградации. Жизненный цикл $Na_v1.5$ начинается с транскрипции и трансляции гена *SCN5A*. Затем $Na_v1.5$ перемещается из ЭПР в аппарат Гольджи, а затем в сарколемму с помощью цитоскелета. Наконец, $Na_v1.5$ интернализуется и деградирует. В последние десятилетия были достигнуты большие успехи в понимании регуляции $Na_v1.5$ от биосинтеза и транспортировки до деградации. Полученные знания помогают понять патогенез заболеваний, связанных с *SCN5A*, и ведение этих пациентов. Важной перспективой будущих исследований будет определение сложной взаимосвязи между организацией микродоменов, белками-партнерами и процессами транспорта $Na_v1.5$ в различные мембранные микродомены, как в физиологических условиях, так и во время патофизиологического ремоделирования, связанного с изменениями локализации каналов и изменениями ультраструктуры миокарда.

Колоссальное разнообразие посттрансляционных модификаций α - $Na_v1.5$ предоставляет огромные возможности для разработки будущих терапевтических подходов. Предполагается, что некоторые из этих ПТМ играют важную роль в регуляции экспрессии и функции α - $Na_v1.5$. Учитывая важную роль $Na_v1.5$ в развитии наследственных аритмогенных синдромов, были разработаны новые терапевтические стратегии, направленные на биосинтез, транспорт и амплитуду натриевого тока $Na_v1.5$. Таким образом, изучение механизмов регуляции функционирования α - $Na_v1.5$ в будущем сыграет важную роль не только в понимании биологии и патофизиологии $Na_v1.5$, но и в поиске новых перспективных методов терапии.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Благодарности / Acknowledgments

Работа поддержана грантом РФФИ №20-34-90142 «Связь наследственных нарушений сердечного ритма с процессами инактивации потенциал-зависимого натриевого канала $Nav1.5$ ». / The

work was supported by RFBR grant No. 20-34-90142 «The relationship of hereditary heart rhythm disorders with the processes of inactivation of the potential-dependent sodium channel $Nav1.5$ ».

Список литературы / References

1. Jiang D, Shi H, Tonggu L, et al. Structure of the Cardiac Sodium Channel. *Cell*. 2020; 180(1):122–134.e110. DOI:10.1016/j.cell.2019.11.041.
2. Han D, Tan H, Sun C, et al. Dysfunctional $Nav1.5$ channels due to *SCN5A* mutations. *Exp Biol Med* (Maywood). 2018; 243(10):852–863. DOI:10.1177/1535370218777972.
3. Clatot J, Hoshi M, Wan X, et al. Voltage-gated sodium channels assemble and gate as dimers. *Nat Commun*. 2017; 8(1):2077. DOI:10.1038/s41467-017-02262-0.
4. Salvage SC, Huang CL, Jackson AP. Cell-Adhesion Properties of β -Subunits in the Regulation of Cardiomyocyte Sodium Channels. *Biomolecules*. 2020; 10(7). DOI:10.3390/biom10070989.
5. Clark KA, McElhinny AS, Beckerle MC, et al. Striated muscle cytoarchitecture: an intricate web of form and function. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2002; 18:637–706. DOI:10.1146/annurev.cellbio.18.012502.105840.
6. Yeager M. Structure of cardiac gap junction intercellular channels. *J Struct Biol*. 1998; 121(2):231–245. DOI:10.1006/jsbi.1998.3972.
7. Kumar NM, Gilula NB. The gap junction communication channel. *Cell*. 1996; 84(3):381–388. DOI:10.1016/s0092-8674(00)81282-9.
8. Loewenstein WR. Junctional intercellular communication: the cell-to-cell membrane channel. *Physiol Rev*. 1981; 61(4):829–913. DOI:10.1152/physrev.1981.61.4.829.
9. Borrmann CM, Grund C, Kuhn C, et al. The area composita of adhering junctions connecting heart muscle cells of vertebrates. II. Colocalizations of desmosomal and fascia adherens molecules in the intercalated disk. *Eur J Cell Biol*. 2006; 85(6):469–485. DOI:10.1016/j.ejcb.2006.02.009.
10. Franke WW, Borrmann CM, Grund C, et al. The area composita of adhering junctions connecting heart muscle cells of vertebrates. I. Molecular definition in intercalated disks of cardiomyocytes by immunoelectron microscopy of desmosomal proteins. *Eur J Cell Biol*. 2006; 85(2):69–82. DOI:10.1016/j.ejcb.2005.11.003.
11. Saffitz JE, Macrae CA. Mutations in desmosomal protein genes and the pathogenesis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Heart Rhythm*. 2010; 7(1):30–32. DOI:10.1016/j.hrthm.2009.10.028.
12. Saffitz JE. Dependence of electrical coupling on mechanical coupling in cardiac myocytes: insights gained from cardiomyopathies caused by defects in cell-cell connections. *Ann N Y Acad Sci*. 2005; 1047:336–344. DOI:10.1196/annals.1341.030.

13. Pardo JV, Siliciano JD, Craig SW. A vinculin-containing cortical lattice in skeletal muscle: transverse lattice elements ("costameres") mark sites of attachment between myofibrils and sarcolemma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1983; 80(4):1008–1012. DOI:10.1073/pnas.80.4.1008.
14. Pardo JV, Siliciano JD, Craig SW. Vinculin is a component of an extensive network of myofibril-sarcolemma attachment regions in cardiac muscle fibers. *J Cell Biol*. 1983; 97(4):1081–1088. DOI:10.1083/jcb.97.4.1081.
15. Danowski BA, Imanaka-Yoshida K, Sanger JM, et al. Costameres are sites of force transmission to the substratum in adult rat cardiomyocytes. *J Cell Biol*. 1992; 118(6):1411–1420. DOI:10.1083/jcb.118.6.1411.
16. Mansour H, de Tombe PP, Samarel AM, et al. Restoration of resting sarcomere length after uniaxial static strain is regulated by protein kinase Cepsilon and focal adhesion kinase. *Circ Res*. 2004; 94(5):642–649. DOI:10.1161/01.Res.0000121101.32286.C8.
17. McCain ML, Parker KK. Mechanotransduction: the role of mechanical stress, myocyte shape, and cytoskeletal architecture on cardiac function. *Pflugers Arch*. 2011; 462(1):89–104. DOI:10.1007/s00424-011-0951-4.
18. Samarel AM. Costameres, focal adhesions, and cardiomyocyte mechanotransduction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005; 289(6):H2291–2301. DOI:10.1152/ajpheart.00749.2005.
19. Sharp WW, Simpson DG, Borg TK, et al. Mechanical forces regulate focal adhesion and costamere assembly in cardiac myocytes. *Am J Physiol*. 1997; 273(2 Pt 2):H546–556. DOI:10.1152/ajpheart.1997.273.2.H546.
20. Bershadsky AD, Balaban NQ, Geiger B. Adhesion-dependent cell mechanosensitivity. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2003; 19:677–695. DOI:10.1146/annurev.cellbio.19.111301.153011.
21. Miranti CK, Brugge JS. Sensing the environment: a historical perspective on integrin signal transduction. *Nat Cell Biol*. 2002; 4(4):E83–90. DOI:10.1038/ncb0402-e83.
22. Ross RS. Molecular and mechanical synergy: cross-talk between integrins and growth factor receptors. *Cardiovasc Res*. 2004; 63(3):381–390. DOI:10.1016/j.cardiores.2004.04.027.
23. Boycott HE, Barbier CS, Eichel CA, et al. Shear stress triggers insertion of voltage-gated potassium channels from intracellular compartments in atrial myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013; 110(41):E3955–3964. DOI:10.1073/pnas.1309896110.
24. Shai SY, Harpf AE, Ross RS. Integrins and the myocardium. *Genet Eng (N Y)*. 2002; 24:87–105. DOI:10.1007/978-1-4615-0721-5_5.
25. Zemljic-Harpf AE, Ponrartana S, Avalos RT, et al. Heterozygous inactivation of the vinculin gene predisposes to stress-induced cardiomyopathy. *Am J Pathol*. 2004; 165(3):1033–1044. DOI:10.1016/s0002-9440(10)63364-0.
26. Allamand V, Campbell KP. Animal models for muscular dystrophy: valuable tools for the development of therapies. *Hum Mol Genet*. 2000; 9(16):2459–2467. DOI:10.1093/hmg/9.16.2459.
27. Durbeej M, Campbell KP. Muscular dystrophies involving the dystrophin-glycoprotein complex: an overview of current mouse models. *Curr Opin Genet Dev*. 2002; 12(3):349–361. DOI:10.1016/s0959-437x(02)00309-x.
28. Cohn RD, Campbell KP. Molecular basis of muscular dystrophies. *Muscle Nerve*. 2000; 23(10):1456–1471. DOI:10.1002/1097-4598(200010)23:10<1456::aid-mus2>3.0.co;2-t.
29. Lapidos KA, Kakkar R, McNally EM. The dystrophin glycoprotein complex: signaling strength and integrity for the sarcolemma. *Circ Res*. 2004; 94(8):1023–1031. DOI:10.1161/01.Res.0000126574.61061.25.
30. Brenman JE, Chao DS, Xia H, et al. Nitric oxide synthase complexed with dystrophin and absent from skeletal muscle sarcolemma in Duchenne muscular dystrophy. *Cell*. 1995; 82(5):743–752. DOI:10.1016/0092-8674(95)90471-9.
31. Grady RM, Grange RW, Lau KS, et al. Role for alpha-dystrobrevin in the pathogenesis of dystrophin-dependent muscular dystrophies. *Nat Cell Biol*. 1999; 1(4):215–220. DOI:10.1038/12034.
32. Orchard C, Brette F. t-Tubules and sarcoplasmic reticulum function in cardiac ventricular myocytes. *Cardiovasc Res*. 2008; 77(2):237–244. DOI:10.1093/cvr/cvm002.
33. Tohse N, Seki S, Kobayashi T, et al. Development of excitation-contraction coupling in cardiomyocytes. *Jpn J Physiol*. 2004; 54(1):1–6. DOI:10.2170/jjphysiol.54.1.
34. Lin X, Liu N, Lu J, et al. Subcellular heterogeneity of sodium current properties in adult cardiac ventricular myocytes. *Heart Rhythm*. 2011; 8(12):1923–1930. DOI:10.1016/j.hrthm.2011.07.016.
35. Verkerk AO, van Ginneken AC, van Veen TA, et al. Effects of heart failure on brain-type Na⁺ channels in rabbit ventricular myocytes. *Europace*. 2007; 9(8):571–577. DOI:10.1093/europace/eum121.
36. Shy D, Gillet L, Ogrodnik J, et al. PDZ domain-binding motif regulates cardiomyocyte compartment-specific Nav1.5 channel expression and function. *Circulation*. 2014; 130(2):147–160. DOI:10.1161/circulationaha.113.007852.
37. Gavillet B, Rougier JS, Domenighetti AA, et al. Cardiac sodium channel Nav1.5 is regulated by a multiprotein complex composed of syntrophins and dystrophin. *Circ Res*. 2006; 99(4):407–414. DOI:10.1161/01.RES.0000237466.13252.5e.
38. Petitprez S, Zmoos AF, Ogrodnik J, et al. SAP97 and dystrophin macromolecular complexes determine two pools of cardiac sodium channels Nav1.5 in cardiomyocytes. *Circ Res*. 2011; 108(3):294–304. DOI:10.1161/circresaha.110.228312.

39. Dong C, Wang Y, Ma A, et al. Life Cycle of the Cardiac Voltage-Gated Sodium Channel Na(V)1.5. *Front Physiol.* 2020; 11:609733. DOI:10.3389/fphys.2020.609733.
40. Wang Q, Li Z, Shen J, et al. Genomic organization of the human SCN5A gene encoding the cardiac sodium channel. *Genomics.* 1996; 34(1):9–16. DOI:10.1006/geno.1996.0236.
41. Steimle JD, Moskowitz IP. TBX5: A Key Regulator of Heart Development. *Curr Top Dev Biol.* 2017; 122:195–221. DOI:10.1016/bs.ctdb.2016.08.008.
42. Shang LL, Sanyal S, Pfahnl AE, et al. NF-kappaB-dependent transcriptional regulation of the cardiac scn5a sodium channel by angiotensin II. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2008; 294(1):C372–379. DOI:10.1152/ajpcell.00186.2007.
43. Mao W, You T, Ye B, et al. Reactive oxygen species suppress cardiac Nav1.5 expression through Foxo1. *PLoS One.* 2012; 7(2):e32738. DOI:10.1371/journal.pone.0032738.
44. Atack TC, Stroud DM, Watanabe H, et al. Informatic and functional approaches to identifying a regulatory region for the cardiac sodium channel. *Circ Res.* 2011; 109(1):38–46. DOI:10.1161/circresaha.110.235630.
45. Zhao Y, Huang Y, Li W, et al. Post-transcriptional regulation of cardiac sodium channel gene SCN5A expression and function by miR-192-5p. *Biochim Biophys Acta.* 2015; 1852(10 Pt A):2024–2034. DOI:10.1016/j.bbdis.2015.07.016.
46. Schroeter A, Walzik S, Blechschmidt S, et al. Structure and function of splice variants of the cardiac voltage-gated sodium channel Na(v)1.5. *J Mol Cell Cardiol.* 2010; 49(1):16–24. DOI:10.1016/j.yjmcc.2010.04.004.
47. Guan Y, Gao X, Tang Q, et al. Nucleoporin 107 facilitates the nuclear export of Scn5a mRNA to regulate cardiac bioelectricity. *J Cell Mol Med.* 2019; 23(2):1448–1457. DOI:10.1111/jcmm.14051.
48. Steggerda SM, Paschal BM. Identification of a conserved loop in Mog1 that releases GTP from Ran. *Traffic.* 2001; 2(11):804–811. DOI:10.1034/j.1600-0854.2001.21109.x.
49. Yu G, Liu Y, Qin J, et al. Mechanistic insights into the interaction of the MOG1 protein with the cardiac sodium channel Na(v)1.5 clarify the molecular basis of Brugada syndrome. *J Biol Chem.* 2018; 293(47):18207–18217. DOI:10.1074/jbc.RA118.003997.
50. Mikosch M, Homann U. How do ER export motifs work on ion channel trafficking? *Curr Opin Plant Biol.* 2009; 12(6):685–689. DOI:10.1016/j.pbi.2009.09.020.
51. Benyair R, Ron E, Lederkremer GZ. Protein quality control, retention, and degradation at the endoplasmic reticulum. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2011; 292:197–280. DOI:10.1016/b978-0-12-386033-0.00005-0.
52. Kurokawa K, Nakano A. The ER exit sites are specialized ER zones for the transport of cargo proteins from the ER to the Golgi apparatus. *J Biochem.* 2019; 165(2):109–114. DOI:10.1093/jb/mvy080.
53. Chakrabarti S, Wu X, Yang Z, et al. MOG1 rescues defective trafficking of Na(v)1.5 mutations in Brugada syndrome and sick sinus syndrome. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2013; 6(2):392–401. DOI:10.1161/circep.111.000206.
54. Wang Z, Yu G, Liu Y, et al. Small GTPases SAR1A and SAR1B regulate the trafficking of the cardiac sodium channel Na(v)1.5. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2018; 1864(11):3672–3684. DOI:10.1016/j.bbdis.2018.09.003.
55. Rook MB, Evers MM, Vos MA, et al. Biology of cardiac sodium channel Nav1.5 expression. *Cardiovasc Res.* 2012; 93(1):12–23. DOI:10.1093/cvr/cvr252.
56. Zhou J, Shin HG, Yi J, et al. Phosphorylation and putative ER retention signals are required for protein kinase A-mediated potentiation of cardiac sodium current. *Circ Res.* 2002; 91(6):540–546. DOI:10.1161/01.res.0000033598.00903.27.
57. Li G, Marlin MC. Rab family of GTPases. *Methods Mol Biol.* 2015; 1298:1–15. DOI:10.1007/978-1-4939-2569-8_1.
58. Li X, Ortega B, Kim B, et al. A Common Signal Patch Drives AP-1 Protein-dependent Golgi Export of Inwardly Rectifying Potassium Channels. *J Biol Chem.* 2016; 291(29):14963–14972. DOI:10.1074/jbc.M116.729822.
59. Gao C, Cai Y, Wang Y, et al. Retention mechanisms for ER and Golgi membrane proteins. *Trends Plant Sci.* 2014; 19(8):508–515. DOI:10.1016/j.tplants.2014.04.004.
60. Lamothe SM, Zhang S. Chapter Five — Ubiquitination of Ion Channels and Transporters. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2016; 141:161–223. DOI:10.1016/bs.pmbts.2016.02.005.
61. van Bemmelen MX, Rougier JS, Gavillet B, et al. Cardiac voltage-gated sodium channel Nav1.5 is regulated by Nedd4-2 mediated ubiquitination. *Circ Res.* 2004; 95(3):284–291. DOI:10.1161/01.Res.0000136816.05109.89.
62. Luo L, Ning F, Du Y, et al. Calcium-dependent Nedd4-2 upregulation mediates degradation of the cardiac sodium channel Nav1.5: implications for heart failure. *Acta Physiol (Oxf).* 2017; 221(1):44–58. DOI:10.1111/apha.12872.
63. Huang Y, Wang Z, Liu Y, et al. α B-Crystallin Interacts with Nav1.5 and Regulates Ubiquitination and Internalization of Cell Surface Nav1.5. *J Biol Chem.* 2016; 291(21):11030–11041. DOI:10.1074/jbc.M115.695080.
64. Boehmer C, Wilhelm V, Palmada M, et al. Serum and glucocorticoid inducible kinases in the regulation of the cardiac sodium channel SCN5A. *Cardiovasc Res.* 2003; 57(4):1079–1084. DOI:10.1016/s0008-6363(02)00837-4.
65. Tang B, Hu Y, Wang Z, et al. UBC9 regulates cardiac sodium channel Na(v)1.5 ubiquitination, degradation and sodium current density. *J Mol Cell Cardiol.* 2019; 129:79–91. DOI:10.1016/j.yjmcc.2019.02.007.
66. Liu X, Chen Z, Han Z, et al. AMPK-mediated degradation of Nav1.5 through autophagy. *Faseb j.* 2019; 33(4):5366–5376. DOI:10.1096/fj.201801583RR.

67. Chadda KR, Jeevaratnam K, Lei M, et al. Sodium channel biophysics, late sodium current and genetic arrhythmic syndromes. *Pflugers Arch.* 2017; 469(5–6):629–641. DOI:10.1007/s00424-017-1959-1.
68. Detta N, Frisso G, Salvatore F. The multifaceted aspects of the complex cardiac Nav1.5 protein in membrane function and pathophysiology. *Biochim Biophys Acta.* 2015; 1854(10 Pt A):1502–1509. DOI:10.1016/j.bbapap.2015.07.009.
69. Makielski JC. Late sodium current: A mechanism for angina, heart failure, and arrhythmia. *Trends Cardiovasc Med.* 2016; 26(2):115–122. DOI:10.1016/j.tcm.2015.05.006.
70. Agullo-Pascual E, Cerrone M, Delmar M. Arrhythmogenic cardiomyopathy and Brugada syndrome: diseases of the connexome. *FEBS Lett.* 2014; 588(8):1322–1330. DOI:10.1016/j.febslet.2014.02.008.
71. Agullo-Pascual E, Lin X, Leo-Macias A, et al. Super-resolution imaging reveals that loss of the C-terminus of connexin43 limits microtubule plus-end capture and Nav1.5 localization at the intercalated disc. *Cardiovasc Res.* 2014; 104(2):371–381. DOI:10.1093/cvr/cvu195.
72. Sato PY, Coombs W, Lin X, et al. Interactions between ankyrin-G, Plakophilin-2, and Connexin43 at the cardiac intercalated disc. *Circ Res.* 2011; 109(2):193–201. DOI:10.1161/circresaha.111.247023.
73. Sato PY, Musa H, Coombs W, et al. Loss of plakophilin-2 expression leads to decreased sodium current and slower conduction velocity in cultured cardiac myocytes. *Circ Res.* 2009; 105(6):523–526. DOI:10.1161/circresaha.109.201418.
74. Makara MA, Curran J, Little SC, et al. Ankyrin-G coordinates intercalated disc signaling platform to regulate cardiac excitability *in vivo*. *Circ Res.* 2014; 115(11):929–938. DOI:10.1161/circresaha.115.305154.
75. Mohler PJ, Schott JJ, Gramolini AO, et al. Ankyrin-B mutation causes type 4 long-QT cardiac arrhythmia and sudden cardiac death. *Nature.* 2003; 421(6923):634–639. DOI:10.1038/nature01335.
76. Milstein ML, Musa H, Balbuena DP, et al. Dynamic reciprocity of sodium and potassium channel expression in a macromolecular complex controls cardiac excitability and arrhythmia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012; 109(31):E2134–2143. DOI:10.1073/pnas.1109370109.
77. Eichel CA, Beuriot A, Chevalier MY, et al. Lateral Membrane-Specific MAGUK CASK Down-Regulates Nav1.5 Channel in Cardiac Myocytes. *Circ Res.* 2016; 119(4):544–556. DOI:10.1161/circresaha.116.309254.
78. Hashemi SM, Hund TJ, Mohler PJ. Cardiac ankyrins in health and disease. *J Mol Cell Cardiol.* 2009; 47(2):203–209. DOI:10.1016/j.yjmcc.2009.04.010.
79. Mohler PJ, Rivolta I, Napolitano C, et al. Nav1.5 E1053K mutation causing Brugada syndrome blocks binding to ankyrin-G and expression of Nav1.5 on the surface of cardiomyocytes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101(50):17533–17538. DOI:10.1073/pnas.0403711101.
80. Lübckemeier I, Requardt RP, Lin X, et al. Deletion of the last five C-terminal amino acid residues of connexin43 leads to lethal ventricular arrhythmias in mice without affecting coupling via gap junction channels. *Basic Res Cardiol.* 2013; 108(3):348. DOI:10.1007/s00395-013-0348-y.
81. Casini S, Tan HL, Demirayak I, et al. Tubulin polymerization modifies cardiac sodium channel expression and gating. *Cardiovasc Res.* 2010; 85(4):691–700. DOI:10.1093/cvr/cvp352.
82. Shaw RM, Fay AJ, Puthenveedu MA, et al. Microtubule plus-end-tracking proteins target gap junctions directly from the cell interior to adherens junctions. *Cell.* 2007; 128(3):547–560. DOI:10.1016/j.cell.2006.12.037.
83. Cerrone M, Noorman M, Lin X, et al. Sodium current deficit and arrhythmogenesis in a murine model of plakophilin-2 haploinsufficiency. *Cardiovasc Res.* 2012; 95(4):460–468. DOI:10.1093/cvr/cvs218.
84. Cerrone M, Lin X, Zhang M, et al. Missense mutations in plakophilin-2 cause sodium current deficit and associate with a Brugada syndrome phenotype. *Circulation.* 2014; 129(10):1092–1103. DOI:10.1161/circulationaha.113.003077.
85. Te Riele AS, Agullo-Pascual E, James CA, et al. Multilevel analyses of SCN5A mutations in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy suggest non-canonical mechanisms for disease pathogenesis. *Cardiovasc Res.* 2017; 113(1):102–111. DOI:10.1093/cvr/cvw234.
86. Rizzo S, Lodder EM, Verkerk AO, et al. Intercalated disc abnormalities, reduced Na(+) current density, and conduction slowing in desmoglein-2 mutant mice prior to cardiomyopathic changes. *Cardiovasc Res.* 2012; 95(4):409–418. DOI:10.1093/cvr/cvs219.
87. Pilichou K, Nava A, Basso C, et al. Mutations in desmoglein-2 gene are associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circulation.* 2006; 113(9):1171–1179. DOI:10.1161/circulationaha.105.583674.
88. Noorman M, van der Heyden MA, van Veen TA, et al. Cardiac cell-cell junctions in health and disease: Electrical versus mechanical coupling. *J Mol Cell Cardiol.* 2009; 47(1):23–31. DOI:10.1016/j.yjmcc.2009.03.016.
89. Zhang Q, Deng C, Rao F, et al. Silencing of desmoplakin decreases connexin43/Nav1.5 expression and sodium current in HL-1 cardiomyocytes. *Mol Med Rep.* 2013; 8(3):780–786. DOI:10.3892/mmr.2013.1594.
90. Leo-Macias A, Agullo-Pascual E, Delmar M. The cardiac connexome: Non-canonical functions of connexin43 and their role in cardiac arrhythmias. *Semin Cell Dev Biol.* 2016; 50:13–21. DOI:10.1016/j.semdb.2015.12.002.
91. Balse E, Eichel C. The Cardiac Sodium Channel and Its Protein Partners. *Handb Exp Pharmacol.* 2018; 246:73–99. DOI:10.1007/164_2017_45.

92. Kim E, Niethammer M, Rothschild A, et al. Clustering of Shaker-type K⁺ channels by interaction with a family of membrane-associated guanylate kinases. *Nature*. 1995; 378(6552):85–88. DOI:10.1038/378085a0.
93. Cho KO, Hunt CA, Kennedy MB. The rat brain postsynaptic density fraction contains a homolog of the *Drosophila* discs-large tumor suppressor protein. *Neuron*. 1992; 9(5):929–942. DOI:10.1016/0896-6273(92)90245-9.
94. Kistner U, Wenzel BM, Veh RW, et al. SAP90, a rat presynaptic protein related to the product of the *Drosophila* tumor suppressor gene *dlg-A*. *J Biol Chem*. 1993; 268(7):4580–4583.
95. Müller BM, Kistner U, Veh RW, et al. Molecular characterization and spatial distribution of SAP97, a novel presynaptic protein homologous to SAP90 and the *Drosophila* discs-large tumor suppressor protein. *J Neurosci*. 1995; 15(3 Pt 2):2354–2366. DOI:10.1523/jneurosci.15-03-02354.1995.
96. Itoh M, Morita K, Tsukita S. Characterization of ZO-2 as a MAGUK family member associated with tight as well as adherens junctions with a binding affinity to occludin and alpha catenin. *J Biol Chem*. 1999; 274(9):5981–5986. DOI:10.1074/jbc.274.9.5981.
97. Itoh M, Nagafuchi A, Yonemura S, et al. The 220-kD protein colocalizing with cadherins in non-epithelial cells is identical to ZO-1, a tight junction-associated protein in epithelial cells: cDNA cloning and immunoelectron microscopy. *J Cell Biol*. 1993; 121(3):491–502. DOI:10.1083/jcb.121.3.491.
98. El-Haou S, Balse E, Neyroud N, et al. Kv4 potassium channels form a tripartite complex with the anchoring protein SAP97 and CaMKII in cardiac myocytes. *Circ Res*. 2009; 104(6):758–769. DOI:10.1161/circresaha.108.191007.
99. Godreau D, Vranckx R, Maguy A, et al. Different isoforms of synapse-associated protein, SAP97, are expressed in the heart and have distinct effects on the voltage-gated K⁺ channel Kv1.5. *J Biol Chem*. 2003; 278(47):47046–47052. DOI:10.1074/jbc.M308463200.
100. Peters CJ, Chow SS, Angoli D, et al. In situ co-distribution and functional interactions of SAP97 with sinoatrial isoforms of HCN channels. *J Mol Cell Cardiol*. 2009; 46(5):636–643. DOI:10.1016/j.yjmcc.2009.01.010.
101. Hoffman EP, Brown RH, Jr., Kunkel LM. Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *Cell*. 1987; 51(6):919–928. DOI:10.1016/0092-8674(87)90579-4.
102. Finsterer J, Stöllberger C. The heart in human dystrophinopathies. *Cardiology*. 2003; 99(1):1–19. DOI:10.1159/000068446.
103. Towbin JA, Hejtmancik JF, Brink P, et al. X-linked dilated cardiomyopathy. Molecular genetic evidence of linkage to the Duchenne muscular dystrophy (dystrophin) gene at the Xp21 locus. *Circulation*. 1993; 87(6):1854–1865. DOI:10.1161/01.cir.87.6.1854.
104. Albrecht DE, Froehner SC. Syntrophins and dystrobrevins: defining the dystrophin scaffold at synapses. *Neurosignals*. 2002; 11(3):123–129. DOI:10.1159/000065053.
105. Matamoros M, Pérez-Hernández M, Guerrero-Serna G, et al. Nav1.5 N-terminal domain binding to α 1-syntrophin increases membrane density of human Kir2.1, Kir2.2 and Nav1.5 channels. *Cardiovasc Res*. 2016; 110(2):279–290. DOI:10.1093/cvr/cvw009.
106. Wu G, Ai T, Kim JJ, et al. alpha-1-syntrophin mutation and the long-QT syndrome: a disease of sodium channel disruption. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2008; 1(3):193–201. DOI:10.1161/circep.108.769224.
107. Ueda K, Valdivia C, Medeiros-Domingo A, et al. Syntrophin mutation associated with long QT syndrome through activation of the nNOS-SCN5A macromolecular complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105(27):9355–9360. DOI:10.1073/pnas.0801294105.
108. Hu RM, Tan BH, Orland KM, et al. Digenic inheritance novel mutations in SCN5a and SNTA1 increase late I(Na) contributing to LQT syndrome. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013; 304(7):H994–h1001. DOI:10.1152/ajpheart.00705.2012.
109. Yarbrough TL, Lu T, Lee HC, et al. Localization of cardiac sodium channels in caveolin-rich membrane domains: regulation of sodium current amplitude. *Circ Res*. 2002; 90(4):443–449. DOI:10.1161/hh0402.105177.
110. Palygin OA, Pettus JM, Shibata EF. Regulation of caveolar cardiac sodium current by a single Gsalpha histidine residue. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008; 294(4):H1693–1699. DOI:10.1152/ajpheart.01337.2007.
111. Doyle DD, Goings G, Upshaw-Earley J, et al. Dystrophin associates with caveolae of rat cardiac myocytes: relationship to dystroglycan. *Circ Res*. 2000; 87(6):480–488. DOI:10.1161/01.res.87.6.480.
112. Shibata EF, Brown TL, Washburn ZW, et al. Autonomic regulation of voltage-gated cardiac ion channels. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2006; 17 Suppl 1:S34–s42. DOI:10.1111/j.1540-8167.2006.00387.x.
113. Vatta M, Ackerman MJ, Ye B, et al. Mutant caveolin-3 induces persistent late sodium current and is associated with long-QT syndrome. *Circulation*. 2006; 114(20):2104–2112. DOI:10.1161/circulationaha.106.635268.
114. Cheng J, Valdivia CR, Vaidyanathan R, et al. Caveolin-3 suppresses late sodium current by inhibiting nNOS-dependent S-nitrosylation of SCN5A. *J Mol Cell Cardiol*. 2013; 61:102–110. DOI:10.1016/j.yjmcc.2013.03.013.
115. Cronk LB, Ye B, Kaku T, et al. Novel mechanism for sudden infant death syndrome: persistent late sodium current secondary to mutations in caveolin-3. *Heart Rhythm*. 2007; 4(2):161–166. DOI:10.1016/j.hrthm.2006.11.030.
116. Atasoy D, Schoch S, Ho A, et al. Deletion of CASK in mice is lethal and impairs synaptic function. *Proc Natl*

- Acad Sci U S A. 2007; 104(7):2525–2530. DOI:10.1073/pnas.0611003104.
117. Hsueh YP. Calcium/calmodulin-dependent serine protein kinase and mental retardation. *Ann Neurol*. 2009; 66(4):438–443. DOI:10.1002/ana.21755.
 118. Hsueh YP, Wang TF, Yang FC, et al. Nuclear translocation and transcription regulation by the membrane-associated guanylate kinase CASK/LIN-2. *Nature*. 2000; 404(6775):298–302. DOI:10.1038/35005118.
 119. Leonoudakis D, Mailliard W, Wingerd K, et al. Inward rectifier potassium channel Kir2.2 is associated with synapse-associated protein SAP97. *J Cell Sci*. 2001; 114(Pt 5):987–998. DOI:10.1242/jcs.114.5.987.
 120. Cohen AR, Woods DF, Marfatia SM, et al. Human CASK/LIN-2 binds syndecan-2 and protein 4.1 and localizes to the basolateral membrane of epithelial cells. *J Cell Biol*. 1998; 142(1):129–138. DOI:10.1083/jcb.142.1.129.
 121. Herren AW, Bers DM, Grandi E. Post-translational modifications of the cardiac Na channel: contribution of CaMKII-dependent phosphorylation to acquired arrhythmias. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013; 305(4):H431–445. DOI:10.1152/ajpheart.00306.2013.
 122. Lazniewska J, Weiss N. The “sweet” side of ion channels. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*. 2014; 167:67–114. DOI:10.1007/112_2014_20.
 123. Ednie AR, Bennett ES. Modulation of voltage-gated ion channels by sialylation. *Compr Physiol*. 2012; 2(2):1269–1301. DOI:10.1002/cphy.c110044.
 124. Cohen SA, Levitt LK. Partial characterization of the rH1 sodium channel protein from rat heart using subtype-specific antibodies. *Circ Res*. 1993; 73(4):735–742. DOI:10.1161/01.res.73.4.735.
 125. Arakel EC, Brandenburg S, Uchida K, et al. Tuning the electrical properties of the heart by differential trafficking of KATP ion channel complexes. *J Cell Sci*. 2014; 127(Pt 9):2106–2119. DOI:10.1242/jcs.141440.
 126. Bennett ES. Isoform-specific effects of sialic acid on voltage-dependent Na⁺ channel gating: functional sialic acids are localized to the S5-S6 loop of domain I. *J Physiol*. 2002; 538(Pt 3):675–690. DOI:10.1113/jphysiol.2001.013285.
 127. Johnson D, Montpetit ML, Stocker PJ, et al. The sialic acid component of the beta1 subunit modulates voltage-gated sodium channel function. *J Biol Chem*. 2004; 279(43):44303–44310. DOI:10.1074/jbc.M408900200.
 128. Matsuda JJ, Lee H, Shibata EF. Enhancement of rabbit cardiac sodium channels by beta-adrenergic stimulation. *Circ Res*. 1992; 70(1):199–207. DOI:10.1161/01.res.70.1.199.
 129. Schubert B, VanDongen AM, Kirsch GE, et al. Beta-adrenergic inhibition of cardiac sodium channels by dual G-protein pathways. *Science*. 1989; 245(4917):516–519. DOI:10.1126/science.2547248.
 130. Aiba T, Farinelli F, Kostecki G, et al. A mutation causing Brugada syndrome identifies a mechanism for altered autonomic and oxidant regulation of cardiac sodium currents. *Circ Cardiovasc Genet*. 2014; 7(3):249–256. DOI:10.1161/circgenetics.113.000480.
 131. Baba S, Dun W, Boyden PA. Can PKA activators rescue Na⁺ channel function in epicardial border zone cells that survive in the infarcted canine heart? *Cardiovasc Res*. 2004; 64(2):260–267. DOI:10.1016/j.cardiores.2004.06.021.
 132. Frohnwieser B, Chen LQ, Schreibmayer W, et al. Modulation of the human cardiac sodium channel alpha-subunit by cAMP-dependent protein kinase and the responsible sequence domain. *J Physiol*. 1997; 498 (2):309–318. DOI:10.1113/jphysiol.1997.sp021859.
 133. Hallaq H, Yang Z, Viswanathan PC, et al. Quantitation of protein kinase A-mediated trafficking of cardiac sodium channels in living cells. *Cardiovasc Res*. 2006; 72(2):250–261. DOI:10.1016/j.cardiores.2006.08.007.
 134. Schreibmayer W, Frohnwieser B, Dascal N, et al. Beta-adrenergic modulation of currents produced by rat cardiac Na⁺ channels expressed in *Xenopus laevis* oocytes. *Recept Channels*. 1994; 2(4):339–350.
 135. Zhou J, Yi J, Hu N, et al. Activation of protein kinase A modulates trafficking of the human cardiac sodium channel in *Xenopus* oocytes. *Circ Res*. 2000; 87(1):33–38. DOI:10.1161/01.res.87.1.33.
 136. Sunami A, Fan Z, Nakamura F, et al. The catalytic subunit of cyclic AMP-dependent protein kinase directly inhibits sodium channel activities in guinea-pig ventricular myocytes. *Pflugers Arch*. 1991; 419(3–4):415–417. DOI:10.1007/bf00371125.
 137. Ono K, Fozzard HA, Hanck DA. Mechanism of cAMP-dependent modulation of cardiac sodium channel current kinetics. *Circ Res*. 1993; 72(4):807–815. DOI:10.1161/01.res.72.4.807.
 138. Gintant GA, Liu DW. Beta-adrenergic modulation of fast inward sodium current in canine myocardium. Syncytial preparations versus isolated myocytes. *Circ Res*. 1992; 70(4):844–850. DOI:10.1161/01.res.70.4.844.
 139. Kirstein M, Eickhorn R, Langenfeld H, et al. Influence of beta-adrenergic stimulation on the fast sodium current in the intact rat papillary muscle. *Basic Res Cardiol*. 1991; 86(5):441–448. DOI:10.1007/bf02190712.
 140. Ono K, Kiyosue T, Arita M. Isoproterenol, DBcAMP, and forskolin inhibit cardiac sodium current. *Am J Physiol*. 1989; 256(6 Pt 1):C1131–1137. DOI:10.1152/ajpcell.1989.256.6.C1131.
 141. Deschênes I, Neyroud N, DiSilvestre D, et al. Isoform-specific modulation of voltage-gated Na⁽⁺⁾ channels by calmodulin. *Circ Res*. 2002; 90(4):E49–57. DOI:10.1161/01.res.0000012502.92751.e6.
 142. Wagner S, Dybkova N, Rasenack EC, et al. Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II regulates cardiac Na⁺ channels. *J Clin Invest*. 2006; 116(12):3127–3138. DOI:10.1172/jci26620.

143. Dybkova N, Wagner S, Backs J, et al. Tubulin polymerization disrupts cardiac β -adrenergic regulation of late I_{Na} . *Cardiovasc Res*. 2014; 103(1):168–177. DOI:10.1093/cvr/cvu120.
144. Horvath B, Banyasz T, Jian Z, et al. Dynamics of the late Na^{+} current during cardiac action potential and its contribution to afterdepolarizations. *J Mol Cell Cardiol*. 2013; 64:59–68. DOI:10.1016/j.yjmcc.2013.08.010.
145. Ma J, Luo A, Wu L, et al. Calmodulin kinase II and protein kinase C mediate the effect of increased intracellular calcium to augment late sodium current in rabbit ventricular myocytes. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2012; 302(8):C1141–1151. DOI:10.1152/ajpcell.00374.2011.
146. Maltsev VA, Reznikov V, Undrovinas NA, et al. Modulation of late sodium current by Ca^{2+} , calmodulin, and CaMKII in normal and failing dog cardiomyocytes: similarities and differences. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008; 294(4):H1597–1608. DOI:10.1152/ajpheart.00484.2007.
147. Toischer K, Hartmann N, Wagner S, et al. Role of late sodium current as a potential arrhythmogenic mechanism in the progression of pressure-induced heart disease. *J Mol Cell Cardiol*. 2013; 61:111–122. DOI:10.1016/j.yjmcc.2013.03.021.
148. Christensen MD, Dun W, Boyden PA, et al. Oxidized calmodulin kinase II regulates conduction following myocardial infarction: a computational analysis. *PLoS Comput Biol*. 2009; 5(12):e1000583. DOI:10.1371/journal.pcbi.1000583.
149. Grandi E, Puglisi JL, Wagner S, et al. Simulation of Ca-calmodulin-dependent protein kinase II on rabbit ventricular myocyte ion currents and action potentials. *Biophys J*. 2007; 93(11):3835–3847. DOI:10.1529/biophysj.107.114868.
150. Aiba T, Hesketh GG, Liu T, et al. Na^{+} channel regulation by Ca^{2+} /calmodulin and Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II in guinea-pig ventricular myocytes. *Cardiovasc Res*. 2010; 85(3):454–463. DOI:10.1093/cvr/cvp324.
151. Qu Y, Rogers J, Tanada T, et al. Modulation of cardiac Na^{+} channels expressed in a mammalian cell line and in ventricular myocytes by protein kinase C. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994; 91(8):3289–3293. DOI:10.1073/pnas.91.8.3289.
152. Weigt HU, Kwok WM, Rehmert GC, et al. Modulation of cardiac sodium current by $\alpha 1$ -stimulation and volatile anesthetics. *Anesthesiology*. 1997; 87(6):1507–1516. DOI:10.1097/00000542-199712000-00030.
153. Hallaq H, Wang DW, Kunic JD, et al. Activation of protein kinase C alters the intracellular distribution and mobility of cardiac Na^{+} channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012; 302(3):H782–789. DOI:10.1152/ajpheart.00817.2010.
154. Shin HG, Murray KT. Conventional protein kinase C isoforms and cross-activation of protein kinase A regulate cardiac Na^{+} current. *FEBS Lett*. 2001; 495(3):154–158. DOI:10.1016/S0014-5793(01)02380-8.
155. West JW, Numann R, Murphy BJ, et al. A phosphorylation site in the Na^{+} channel required for modulation by protein kinase C. *Science*. 1991; 254(5033):866–868. DOI:10.1126/science.1658937.
156. Murray KT, Hu NN, Daw JR, et al. Functional effects of protein kinase C activation on the human cardiac Na^{+} channel. *Circ Res*. 1997; 80(3):370–376. DOI:10.1161/01.res.80.3.370.
157. Qu Y, Rogers JC, Tanada TN, et al. Phosphorylation of S1505 in the cardiac Na^{+} channel inactivation gate is required for modulation by protein kinase C. *J Gen Physiol*. 1996; 108(5):375–379. DOI:10.1085/jgp.108.5.375.
158. Ward CA, Giles WR. Ionic mechanism of the effects of hydrogen peroxide in rat ventricular myocytes. *J Physiol*. 1997; 500(3):631–642. DOI:10.1113/jphysiol.1997.sp022048.
159. Watson CL, Gold MR. Modulation of Na^{+} current inactivation by stimulation of protein kinase C in cardiac cells. *Circ Res*. 1997; 81(3):380–386. DOI:10.1161/01.res.81.3.380.
160. Lu Z, Wu CY, Jiang YP, et al. Suppression of phosphoinositide 3-kinase signaling and alteration of multiple ion currents in drug-induced long QT syndrome. *Sci Transl Med*. 2012; 4(131):131ra150. DOI:10.1126/scitranslmed.3003623.
161. Lu Z, Jiang YP, Wu CY, et al. Increased persistent sodium current due to decreased PI3K signaling contributes to QT prolongation in the diabetic heart. *Diabetes*. 2013; 62(12):4257–4265. DOI:10.2337/db13-0420.
162. Park J, Leong ML, Buse P, et al. Serum and glucocorticoid-inducible kinase (SGK) is a target of the PI 3-kinase-stimulated signaling pathway. *Embo j*. 1999; 18(11):3024–3033. DOI:10.1093/emboj/18.11.3024.
163. Ahern CA, Zhang JF, Wookalis MJ, et al. Modulation of the cardiac sodium channel $NaV1.5$ by Fyn, a Src family tyrosine kinase. *Circ Res*. 2005; 96(9):991–998. DOI:10.1161/01.RES.0000166324.00524.dd.
164. Jespersen T, Gavillet B, van Bemmelen MX, et al. Cardiac sodium channel $Na(v)1.5$ interacts with and is regulated by the protein tyrosine phosphatase PTPH1. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006; 348(4):1455–1462. DOI:10.1016/j.bbrc.2006.08.014.
165. Light PE, Wallace CH, Dyck JR. Constitutively active adenosine monophosphate-activated protein kinase regulates voltage-gated sodium channels in ventricular myocytes. *Circulation*. 2003; 107(15):1962–1965. DOI:10.1161/01.Cir.0000069269.60167.02.
166. Beltran-Alvarez P, Pagans S, Brugada R. The cardiac sodium channel is post-translationally modified by arginine methylation. *J Proteome Res*. 2011; 10(8):3712–3719. DOI:10.1021/pr200339n.
167. Beltran-Alvarez P, Espejo A, Schmauder R, et al. Protein arginine methyl transferases-3 and -5 increase

- cell surface expression of cardiac sodium channel. *FEBS Lett.* 2013; 587(19):3159–3165. DOI:10.1016/j.febslet.2013.07.043.
168. Beltran-Alvarez P, Tarradas A, Chiva C, et al. Identification of N-terminal protein acetylation and arginine methylation of the voltage-gated sodium channel in end-stage heart failure human heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2014; 76:126–129. DOI:10.1016/j.yjmcc.2014.08.014.
169. Baek JH, Rubinstein M, Scheuer T, et al. Reciprocal changes in phosphorylation and methylation of mammalian brain sodium channels in response to seizures. *J Biol Chem.* 2014; 289(22):15363–15373. DOI:10.1074/jbc.M114.562785.
170. Beltran-Alvarez P, Feixas F, Osuna S, et al. Interplay between R513 methylation and S516 phosphorylation of the cardiac voltage-gated sodium channel. *Amino Acids.* 2015; 47(2):429–434. DOI:10.1007/s00726-014-1890-0.
171. Valdivia CR, Ueda K, Ackerman MJ, et al. GPD1L links redox state to cardiac excitability by PKC-dependent phosphorylation of the sodium channel SCN5A. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2009; 297(4):H1446–1452. DOI:10.1152/ajpheart.00513.2009.
172. Liu M, Gu L, Sulkin MS, et al. Mitochondrial dysfunction causing cardiac sodium channel downregulation in cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol.* 2013; 54:25–34. DOI:10.1016/j.yjmcc.2012.10.011.
173. Liu M, Sanyal S, Gao G, et al. Cardiac Na⁺ current regulation by pyridine nucleotides. *Circ Res.* 2009; 105(8):737–745. DOI:10.1161/circresaha.109.197277.
174. Liu M, Liu H, Dudley SC, Jr. Reactive oxygen species originating from mitochondria regulate the cardiac sodium channel. *Circ Res.* 2010; 107(8):967–974. DOI:10.1161/circresaha.110.220673.
175. Wagner S, Ruff HM, Weber SL, et al. Reactive oxygen species-activated Ca/calmodulin kinase II δ is required for late I(Na) augmentation leading to cellular Na and Ca overload. *Circ Res.* 2011; 108(5):555–565. DOI:10.1161/circresaha.110.221911.
176. Ahern GP, Hsu SF, Klyachko VA, et al. Induction of persistent sodium current by exogenous and endogenous nitric oxide. *J Biol Chem.* 2000; 275(37):28810–28815. DOI:10.1074/jbc.M003090200.
177. Ahmmed GU, Xu Y, Hong Dong P, et al. Nitric oxide modulates cardiac Na⁺ channel via protein kinase A and protein kinase G. *Circ Res.* 2001; 89(11):1005–1013. DOI:10.1161/hh2301.100801.
178. Dallas ML, Yang Z, Boyle JP, et al. Carbon monoxide induces cardiac arrhythmia via induction of the late Na⁺ current. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012; 186(7):648–656. DOI:10.1164/rccm.201204-0688OC.
179. Elies J, Dallas ML, Boyle JP, et al. Inhibition of the cardiac Na⁺ channel Nav1.5 by carbon monoxide. *J Biol Chem.* 2014; 289(23):16421–16429. DOI:10.1074/jbc.M114.569996.
180. Li W, Yin L, Shen C, et al. SCN5A Variants: Association With Cardiac Disorders. *Front Physiol.* 2018; 9:1372. DOI:10.3389/fphys.2018.01372.
181. Ge J, Sun A, Paajanen V, et al. Molecular and clinical characterization of a novel SCN5A mutation associated with atrioventricular block and dilated cardiomyopathy. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2008; 1(2):83–92. DOI:10.1161/circep.107.750752.
182. Carnes J, Jacobson M, Leinwand L, et al. Stop codon suppression via inhibition of eRF1 expression. *Rna.* 2003; 9(6):648–653. DOI:10.1261/rna.5280103.
183. Teng S, Gao L, Paajanen V, et al. Readthrough of nonsense mutation W822X in the SCN5A gene can effectively restore expression of cardiac Na⁺ channels. *Cardiovasc Res.* 2009; 83(3):473–480. DOI:10.1093/cvr/cvp116.
184. Asimaki A, Kléber AG, MacRae CA, et al. Arrhythmogenic Cardiomyopathy — New Insights into Disease Mechanisms and Drug Discovery. *Prog Pediatr Cardiol.* 2014; 37(1–2):3–7. DOI:10.1016/j.pppedcard.2014.10.001.
185. Khudiakov A, Zaytseva A, Perepelina K, et al. Sodium current abnormalities and deregulation of Wnt/ β -catenin signaling in iPSC-derived cardiomyocytes generated from patient with arrhythmogenic cardiomyopathy harboring compound genetic variants in plakophilin 2 gene. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2020; 1866(11):165915. DOI:10.1016/j.bbdis.2020.165915.
186. Marangoni S, Di Resta C, Rocchetti M, et al. A Brugada syndrome mutation (p.S216L) and its modulation by p.H558R polymorphism: standard and dynamic characterization. *Cardiovasc Res.* 2011; 91(4):606–616. DOI:10.1093/cvr/cvr142.
187. Shinlapawittayatorn K, Dudash LA, Du XX, et al. A novel strategy using cardiac sodium channel polymorphic fragments to rescue trafficking-deficient SCN5A mutations. *Circ Cardiovasc Genet.* 2011; 4(5):500–509. DOI:10.1161/circgenetics.111.960633.
188. Núñez L, Barana A, Amorós I, et al. p.D1690N Nav1.5 rescues p.G1748D mutation gating defects in a compound heterozygous Brugada syndrome patient. *Heart Rhythm.* 2013; 10(2):264–272. DOI:10.1016/j.hrthm.2012.10.025.
189. Matsumura H, Nakano Y, Ochi H, et al. H558R, a common SCN5A polymorphism, modifies the clinical phenotype of Brugada syndrome by modulating DNA methylation of SCN5A promoters. *J Biomed Sci.* 2017; 24(1):91. DOI:10.1186/s12929-017-0397-x.
190. Moss AJ, Zareba W, Schwarz KQ, et al. Ranolazine shortens repolarization in patients with sustained inward sodium current due to type-3 long-QT syndrome. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2008; 19(12):1289–1293. DOI:10.1111/j.1540-8167.2008.01246.x.
191. Huang H, Priori SG, Napolitano C, et al. Y1767C, a novel SCN5A mutation, induces a persistent Na⁺ current

and potentiates ranolazine inhibition of Nav1.5 channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011; 300(1):H288–299. DOI:10.1152/ajpheart.00539.2010.

192. Rajamani S, El-Bizri N, Shryock JC, et al. Use-dependent block of cardiac late Na(+) current by ranolazine. *Heart Rhythm.* 2009; 6(11):1625–1631. DOI:10.1016/j.hrthm.2009.07.042.

193. Chorin E, Hu D, Antzelevitch C, et al. Ranolazine for Congenital Long-QT Syndrome Type III: Experimental and Long-Term Clinical Data. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2016; 9(10). DOI:10.1161/circep.116.004370.

194. Mazzanti A, Maragna R, Faragli A, et al. Gene-Specific Therapy With Mexiletine Reduces Arrhythmic Events in Patients With Long QT Syndrome Type 3. *J Am Coll Cardiol.* 2016; 67(9):1053–1058. DOI:10.1016/j.jacc.2015.12.033.

195. Zhu W, Mazzanti A, Voelker TL, et al. Predicting Patient Response to the Antiarrhythmic Mexiletine Based on Genetic Variation. *Circ Res.* 2019; 124(4):539–552. DOI:10.1161/circresaha.118.314050.

Информация об авторах:

Зайцева Анастасия Константиновна, аспирант, ИЭФБ РАН им. И. М. Сеченова; младший научный сотрудник, НИЛ молекулярного и клеточного моделирования и генной терапии, НИЦ неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний, НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Костарева Анна Александровна, д.м.н., директор Института молекулярной биологии и генетики, заведующий НИЛ молекулярного и клеточного моделирования и генной терапии, НИЦ неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний, НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Anastasia K. Zaytseva, postgraduate student, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences; junior researcher, Research Laboratory of Molecular and Cellular Modeling and Gene Therapy, Research Centre of Unknown, Rare and Genetically Determined Diseases, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Anna A. Kostareva, D.M.Sc., Ph.D., Head of Research Laboratory of Molecular and Cellular Modeling and Gene Therapy, Research Centre of Unknown, Rare and Genetically Determined Diseases, World-Class Research Centre for personalized medicine; head of Institute of Molecular Biology and Genetics, Almazov National Medical Research Centre.

