



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

Трансляционная Медицина Translational Medicine

Научно-практический рецензируемый медицинский журнал

том 11 № 3 / 2024

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.

ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕДАКТОР

Петриченко А. К.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Беленков Ю. Н. (Москва)	Макаров С. А. (Кемерово)
Вавилова Т. В. (Санкт-Петербург)	Малашичева А. Б. (Санкт-Петербург)
Вебер В. Р. (Великий Новгород)	Меликян М. А. (Москва)
Волкова Н. И. (Ростов-на-Дону)	Моисеева О. М. (Санкт-Петербург)
Галявич А. С. (Казань)	Неймарк М. И. (Барнаул)
Гринева (Санкт-Петербург)	Никитина И. Л. (Санкт-Петербург)
Гринштейн Ю. И. (Красноярск)	Протасов К. В. (Иркутск)
Даренская М. А. (Иркутск)	Рыжкова Д. В. (Санкт-Петербург)
Ефремушкина А. А. (Барнаул)	Рябов В. В. (Томск)
Захарова И. Н. (Москва)	Савченко А. А. (Красноярск)
Зенин С. А. (Новосибирск)	Садыкова Д. И. (Казань)
Королев Д. В. (Санкт-Петербург)	Самородов А. В. (Уфа)
Кашталап В. В. (Кемерово)	Сироткина О. В. (Санкт-Петербург)
Климонтов В. В. (Новосибирск)	Троян В. Н. (Москва)
Костарева А. А. (Санкт-Петербург)	Усов В. Ю. (Томск)
Лебедев Д. С. (Санкт-Петербург)	Чесникова А. И. (Ростов-на-Дону)
Лопатин Ю. М. (Волгоград)	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)
Виллевалде 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. Корректурa — А. В. Медведева

Издательство «ФОНД АЛМАЗОВА»

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

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

Отпечатано в типографии ИП Новиков Денис Борисович
Санкт-Петербург, ул. Манчестерская, 2

Подача рукописей и переписка с авторами, размещение рекламы и подписка —
e-mail: buletен@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. © 2024.

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

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов. Выход в свет 19.08.2024

18+

**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

Anastasia Petrichenko

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. Samochnykh (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.

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

Printed by Typography PE Novikov D.B.

2 Manchesterskaaya street, St. Petersburg

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. © 2024.

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.

Published August 19, 2024

18+

СОДЕРЖАНИЕ

СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

228 Луцик Е. А., Скородумова Е. А., Костенко В. А., Сиверина А. В., Скородумова Е. Г.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ APOE, ACE, NOS3 И ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ У РАННЕ СТЕНТИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С ПОВТОРНЫМ ИНФАРКТМ МИОКАРДА

АНЕСТЕЗИОЛОГИЯ И РЕАНИМАТОЛОГИЯ

240 Чупров М. П., Магилевец А. И., Тунгусова М. А., Карнахин В. А., Артемьев Н. Н., Бофанов Д. А., Базылев В. В.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ДЕТЕЙ, РОДИВШИХСЯ С НИЗКОЙ И НОРМАЛЬНОЙ МАССОЙ ТЕЛА

ОБЗОРЫ

248 Алексеева Н. С., Алексеев В. В., Куцевалова О. Ю.

ПРОКАЛЬЦИТОНИН КАК МАРКЕР ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ОРГАНИЗМА ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЯХ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

253 Левандовский Е. В., Улезко Е. А., Гольцев М. В.

ПОТЕНЦИАЛ ИНТЕГРАЦИИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ДВИ В КОМПЛЕКСНЫЕ МРТ ИССЛЕДОВАНИЯ. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

МЕДИЦИНСКАЯ ХИМИЯ

264 Рябко А. А., Ситков Н. О., Марценюк Е. Н., Зимина Т. М., Гареев К. Г., Шевцов М. А.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КРОССЛИНКЕРОВ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ БИОРАСПОЗНАЮЩИХ ЭЛЕМЕНТОВ В ИМПЕДИМЕТРИЧЕСКИХ БИОСЕНСОРНЫХ СИСТЕМАХ ОБНАРУЖЕНИЯ БЕЛКОВЫХ МАРКЕРОВ ЗАБОЛЕВАНИЙ

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА

284 Громова Е. С., Азаркина К. Е., Костина Д. А., Переплетчикова Д. А., Смирнова Д. С., Малашичева А. Б.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ АКТИВАЦИИ RUNX2 ПРИ ИНДУКЦИИ ОСТЕОГЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

294 Маркина А. Е., Лабзина М. В., Романова Э. В., Емельский Н. А.

ОСНОВНЫЕ АДАПТАЦИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЖЕНСКОГО ОРГАНИЗМА, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ ВНУТРИУТРОБНОЕ РАЗВИТИЕ ПЛОДА

CONTENT

CARDIOVASCULAR DISEASE

- 228** Ekaterina A. Lutsik, Elena A. Skorodumova, Viktor A. Kostenko, Anna V. Siverina, Elizaveta G. Skorodumova
POLYMORPHISM OF APOE, ACE, NOS3 GENES AND FEATURES OF THE CLINICAL COURSE OF THE DISEASE IN PREVIOUSLY STENTED PATIENTS WITH RECURRENT MYOCARDIAL INFARCTION

PAIN, CRITICAL CARE AND ANESTHESIA

- 240** Maksim P. Chuprov, Anton I. Magilevets, Margarita A. Tungusova, Vadim A. Karnakhin, Nikolay N. Artemyev, Dmitry A. Bofanov, Vladlen V. Bazylev
COMPARATIVE EVALUATION OF THE RESULTS OF CARDIOSURGICAL TREATMENT OF INFANTS BORN WITH LOW AND NORMAL BODY WEIGHT

REVIEW

- 248** Natalia S. Alekseeva, Vladimir V. Alekseev, Olga Yu. Kutsevalova
PROCALCITONIN AS A MARKER OF PATHOLOGICAL CONDITIONS OF THE BODY DURING INFECTIOUS COMPLICATIONS (LITERATURE REVIEW)

- 253** Yevgeni V. Levandouski, Elena A. Ulezka, Mikhail V. Goltsev
THE POTENTIAL OF INTEGRATING MOTION SEQUENCES INTO COMPREHENSIVE MRT STUDIES. LITERATURE REVIEW

MEDICINAL CHEMISTRY

- 264** Andrey A. Ryabko, Nikita O. Sitkov, Elizaveta N. Martsenyuk, Tatiana M. Zimina, Kamil G. Gareev, Maxim A. Shevtsov
THE USE OF CROSSLINKERS FOR IMMOBILIZATION OF BIORECOGNITION ELEMENTS IN IMPEDIMETRIC BIOSENSORS FOR PROTEIN BIOMARKERS DETECTION

REGENERATIVE MEDICINE

- 284** Ekaterina S. Gromova, Ksenia E. Azarkina, Daria A. Kostina, Daria A. Perepletchikova, Daria S. Smirnova, Anna B. Malashicheva
INVESTIGATION OF THE DYNAMICS OF RUNX2 ACTIVATION DURING INDUCTION OF OSTEOGENIC DIFFERENTIATION

OBSTETRICS AND GYNECOLOGY

- 294** Alina E. Markina, Margarita V. Labzina, Ella V. Romanova, Nikita A. Yemelskiy
THE MAIN ADAPTIVE MECHANISMS OF THE FEMALE BODY THAT ENSURE THE INTRAUTERINE DEVELOPMENT OF THE FETUS

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ APOE, ACE, NOS3 И ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ У РАНЕЕ СТЕНТИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С ПОВТОРНЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

Луцик Е. А., Скородумова Е. А., Костенко В. А., Сиверина А. В.,
Скородумова Е. Г.

Государственное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский
научно-исследовательский институт скорой помощи имени
И. И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Луцик Екатерина Александровна,
ГБУ «СПб НИИ скорой помощи
им. И. И. Джанелидзе»,
ул. Будапештская, д. 3, лит. А,
Санкт-Петербург, Россия, 192242.
E-mail: Ekaterina.lytsik@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 16.04.2024
и принята к печати 28.07.2024.

Резюме

Цель исследования: с учетом полиморфизма генов APOE, ACE, NOS3 сравнить клиническое течение повторного инфаркта миокарда у лиц с тромбозом/стенозом в ранее установленном стенте и у людей с нарушенной проходимостью коронарной артерии вне его. **Материалы и методы.** Обследовано 212 пациентов, лечившихся по поводу ИМ. Все больные были разделены на две группы: первая (I) — 110 человек с нарушением проходимости ранее установленного стента; вторая (II) — стеноз вне стента — 102 пациента. Выборки были сравнимы по возрасту и полу. Полученные данные статистически обработаны. **Результаты.** У пациентов с нарушением проходимости ранее установленного стента были более распространены коморбидные заболевания. У этих людей отмечалась более низкая фракция выброса левого желудочка, чаще регистрировались хроническая сердечная недостаточность, наджелудочковые и желудочковые нарушения сердечного ритма в госпитальном периоде. Вместе с тем, полиморфизм генов ACE, APOE, NOS3 чаще встречался у пациентов с тромбозом/стенозом стента. **Заключение.** Наличие коморбидных заболеваний увеличивало риск обструкции стента. Более тяжелое течение повторного ИМ у пациентов со стенозом/тромбозом ранее установленного стента увеличивало летальность в 3 раза. Полиморфные варианты генов ACE, APOE, NOS3 можно рассматривать как предикторы развития повторного ИМ на фоне нарушения проходимости ранее установленного стента с более тяжелым госпитальным течением.

Ключевые слова: нарушение проходимости стента, повторный инфаркт миокарда, полиморфизм генов, рестеноз, стентирование, APOE, ACE, NOS3.

Для цитирования: Луцик Е.А., Скородумова Е.А., Костенко В.А. и др. Полиморфизм генов ApoE, ACE, NOS3 и особенности клинического течения заболевания у ранее стентированных пациентов с повторным инфарктом миокарда. Трансляционная медицина. 2024; 11(3): 228-239. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-3-228-239. EDN: MZKVWP

POLYMORPHISM OF APOE, ACE, NOS3 GENES AND FEATURES OF THE CLINICAL COURSE OF THE DISEASE IN PREVIOUSLY STENTED PATIENTS WITH RECURRENT MYOCARDIAL INFARCTION

Ekaterina A. Lutsik, Elena A. Skorodumova, Viktor A. Kostenko,
Anna V. Siverina, Elizaveta G. Skorodumova

Saint Petersburg I. I. Dzhanelidze research institute of emergency
medicine, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Ekaterina A. Lutsik,
Saint Petersburg I. I. Dzhanelidze research
institute of emergency medicine,
Budapestskaya str., 3, lit. A, Saint Petersburg,
Russia, 192242.
E-mail: Ekaterina.lytsik@yandex.ru

Received 16 April 2024; accepted 28 July
2024.

Abstract

Purpose of the study: taking into account the polymorphism of the APOE, ACE, NOS3 genes, to compare the clinical course of recurrent myocardial infarction in individuals with thrombosis/stenosis in a previously established stent and in people with impaired coronary artery patency outside it. **Materials and Methods.** We examined 212 patients treated for MI. All the patients were divided into two groups: (I) — 110 patients with patency disorder of the previously installed stent, (II) — off-stent stenosis — 102 patients. The samples were comparable by age and sex. The obtained data were statistically processed. **Results.** Comorbid diseases were more common in patients with impaired patency of a previously installed stent. These people had a lower left ventricular ejection fraction, chronic heart failure, supraventricular and ventricular arrhythmias in the hospital period were more often recorded. At the same time, polymorphisms of ACE, APOE, and NOS3 genes were more common in patients with stent thrombosis/stenosis. **Conclusion.** Presence of comorbid diseases increased the risk of stent obstruction. A more severe course of recurrent MI in patients with stenosis/thrombosis of a previously placed stent increased mortality 3-fold. Polymorphic variants of ACE, APOE, NOS3 genes can be considered as predictors of recurrent MI development on the background of the previously installed stent patency failure with a more severe hospital course.

Key words: ACE, APOE, gene polymorphism, NOS3, recurrent myocardial infarction, restenosis, stent patency disorder, stenting.

For citation: Lutsik EA, Skorodumova EA, Kostenko VA, et al. Polymorphism of ApoE, ACE, NOS3 genes and features of the clinical course of the disease in previously stented patients with recurrent myocardial infarction. Translational Medicine. 2024; 11(3): 228-239. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-3-228-239. EDN: MZKVWP

Список сокращений: ИМ — инфаркт миокарда, КА — коронарные артерии, ЛПНП — липопротеиды низкой плотности, ОСН — острая сердечная недостаточность, ОХ — общий холестерин, ФВ ЛЖ — фракция выброса левого желудочка, ФК — функциональный класс, ХБП — хроническая болезнь почек, ХСН — хроническая сердечная

недостаточность, NYHA — Нью-Йоркская классификация хронической сердечной недостаточности.

Введение

На сегодняшний день известно, что вероятность развития повторных ишемических событий у больных, перенесших инфаркт миокарда (ИМ),

сохраняется на протяжении длительного времени. По данным Шведского регистра, который включает 108 315 пациентов, риск наступления сердечно-сосудистой смерти в течение первого года после ИМ составляет 18 % [1]. Высокий уровень летальности определяет существующую сегодня необходимость усиления мер вторичной профилактики [2].

Несмотря на то, что внедрение стентов в практику интервенционного лечения ишемической болезни сердца значительно улучшило непосредственную эффективность эндоваскулярного вмешательства, отдаленные результаты (5–10 лет) такого лечения не столь впечатляют [3].

Нарушение проходимости коронарных артерий (КА) после стентирования, по мнению многих исследователей, является ахиллесовой пятой этой методики и основным фактором, ограничивающим ее клиническую эффективность [4, 5]. Проблема стеноза ранее установленного стента связана с необходимостью повторного стентирования [6, 7] и, как следствие, существенно повышает затраты на здравоохранение [8, 9].

В основе персонализированной медицины лежит анализ характеристик, которые можно объективно измерить и которые могут служить индикаторами физиологических и патологических процессов или фармакологических ответов на лечение. Кроме того, имеет место применение персонализированных методов и способов лечения заболеваний и коррекции состояний [10].

В настоящее время охарактеризовано несколько десятков генов, ассоциированных с атеросклерозом, которые также влияют на частоту и тяжесть развития рестеноза или ретромбоза стента. В нашей статье мы рассматриваем гены APOE, ACE, NOS3, полиморфизмы которых отражаются на течении гипертонической болезни, ишемической болезни сердца и, как следствие, на всем сердечно-сосудистом континууме. В обсуждении будет уделено внимание каждому отдельному гену, что позволит более подробно проанализировать его функции и роль в исследуемом контексте.

Цель исследования: с учетом полиморфизма генов APOE, ACE, NOS3 сравнить клиническое течение повторного инфаркта миокарда у лиц с тромбозом/стенозом в ранее установленном стенте и у людей с нарушенной проходимостью коронарной артерии вне его.

Материалы и методы

Обследовано 212 пациентов, лечившихся по поводу повторного ИМ в Санкт-Петербург-

ском НИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе в 2018–2021 гг. Количество лиц, принявших участие в исследовании, определялось по методике К. А. Отдельновой для исследования средней точности с мощностью 80 % и требуемым уровнем значимости $p < 0,05$. Количество пациентов в каждой группе составляло не менее 100 человек [11]. Критериями включения в исследование являлись: возраст более 45 лет, перенесенный ранее ИМ с выполненным стентированием инфаркт-связанной артерии, диагностированный в индексную госпитализацию ИМ (в соответствии со всеми критериями диагностики данного заболевания), а также выполненная коронароангиография с последующим стентированием инфаркт-связанной коронарной артерии (КА) в текущую госпитализацию.

Критериями исключения из исследования являлись: возраст менее 45 лет, невозможность выполнения коронароангиографии в установленные клиническими рекомендациями сроки, выявленная в период госпитализации новая коронавирусная инфекция, диагностированный (ранее или в индексную госпитализацию) порок сердца у пациента (как врожденный, так и приобретенный), онкологическое заболевание в активной стадии, наличие у больного острого воспалительного процесса на момент поступления в стационар, а также отказ пациента от участия в проспективном исследовании и от приема рекомендованных препаратов.

Терапия ИМ проводилась в соответствии с национальными рекомендациями. Пациентам выполнено стентирование инфаркт-зависимой КА в экстренном порядке в обе госпитализации. Использовались преимущественно стенты с лекарственным покрытием (77,2 %) и голометаллические стенты (22,8 %). Выполнялись стандартные электрокардиографические, эхокардиографические, рентгенографические, лабораторные исследования, а также изучался полиморфизм генов — ACE, APOE и NOS3. Выделение генетических вариантов исследуемых генов основывалось на использовании методики полимеразной цепной реакции «SNP-экспресс». Нами использовались реактивы ООО «Литех» (Москва). Геномная дезоксирибонуклеиновая кислота была выделена из лейкоцитов крови при помощи реагента «ДНК-экспресс-кровь».

Все пациенты были разделены на две группы. В первую (I) вошли 110 человек с тромбозом или стенозом в стенте: 88 мужчин (80,0 %) и 22 женщины (20,0 %). Средний возраст этих пациентов составил $64,3 \pm 1,1$ года. Среди них ИМ с подъемом сегмента ST был диагностирован у 65,5 % больных, без подъема сегмента ST — у 34,5 %. Во

второй (II) группе: 102 пациента со стенозом вне ранее установленного стента: 64 (62,7 %) мужчины и 38 (37,3 %) женщин. Средний возраст этих пациентов был $66,4 \pm 1,2$ года. ИМ с подъемом сегмента ST был выявлен у 64,7 % человек, в то время как у 35,3 % диагностировался ИМ без подъема сегмента ST электрокардиограммы.

Для статистической обработки использовалась программа STATISTICA 10. Для оценки характера распределения данных применялся критерий Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса. Количественные данные представлены как $M \pm SD$, где M — среднее арифметическое, SD — стандартное отклонение, \min — минимальное значение показателя.

Таблица 1. Данные анамнеза

Table 1. Anamnesis data

Коморбидные заболевания	Всего 212				Значение p
	Стеноз/тромбоз в стенте n = 110		Стеноз/тромбоз вне стента n = 102		
	человек	%	человек	%	
ХСН по NYHA III–IV ФК	75	68,18	55	53,92	0,034
ГБ	105	95,45	99	97,06	0,541
СД	36	32,73	8	7,84	< 0,05
ОСН по Killip II–III	29	26,36	15	14,70	< 0,05

Примечание: ГБ — гипертоническая болезнь; СД — сахарный диабет 2 типа; ХБП — хроническая болезнь почек; ОСН, Killip II–III — острая сердечная недостаточность II–III класса по классификации Killip; ХСН по NYHA III–IV ФК — хроническая сердечная недостаточность II–III функционального класса по NYHA.

Note: GB is hypertension; DM is type 2 diabetes mellitus; CKD is chronic kidney disease; OSH, Killip II–III is acute heart failure of class II–III according to the Killip classification; CHF according to NYHA III–IV FC is chronic heart failure of II–III functional class according to NYHA.

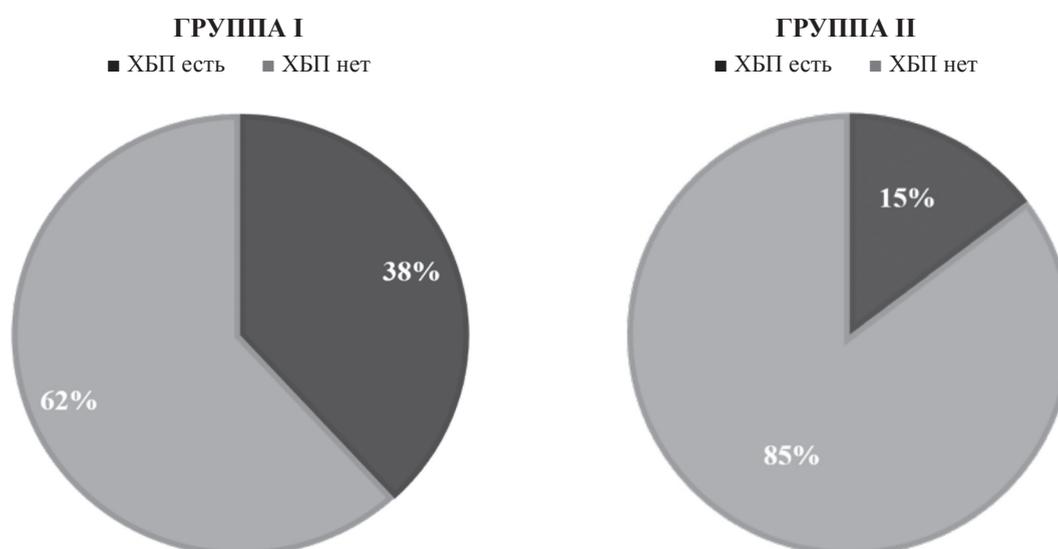


Рис. 1. Хроническая болезнь почек у пациентов с повторным инфарктом миокарда

Примечание: ХБП — хроническая болезнь почек.

Figure 1. Chronic kidney disease in patients with recurrent myocardial infarction

Note: CKD is a chronic kidney disease.

теля, max — максимальное значение показателя, или в виде Me (Q1-Q3), где Me — медиана, Q1 и Q3 — нижний и верхний квартили. Для сравнения категориальных переменных использовался критерий χ^2 (хи-квадрат) с поправкой на непрерывность, когда это было уместно, а также точный критерий Фишера для пропорций. Для сравнения количественных переменных применялись критерий Стьюдента или критерий Краскела-Уоллиса, в зависимости от условий. В онлайн-программе Tests for deviation from Hardy-Weinberg equilibrium and tests for association [12] с помощью Z-теста проверяли распределение частот генотипов исследуемых полиморфизмов на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с использованием χ^2 Пирсона. Критический уровень значимости p считали равным 0,05.

Исследование было проведено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом института. Перед включением в исследование от всех участников получили письменное информированное согласие.

Результаты и обсуждение

В анамнезе исследуемых пациентов регистрировалась хроническая сердечная недостаточность (ХСН) II–III функциональных классов (ФК) по Нью-Йоркской классификации (NYHA) на догоспитальном этапе у большинства больных обеих групп. Однако в группе с нарушением проходимости ранее установленного стента таких пациентов было статистически значимо больше, чем во второй группе: 68,2 % (75 человек) против 53,9 % (55 человек) соответственно ($p = 0,034$), таблица 1.

Гипертоническая болезнь была выявлена практически у всех пациентов в обеих группах: 95,45 % (105 человек) в группе людей со стенозом либо тромбозом ранее установленного стента и 97,06 % (99 человек) в группе с частичной или полной обструкцией КА вне стента, установленного ранее. В то время как сахарный диабет 2 типа в первой выборке встречался в 4 раза чаще по сравнению со второй: 32,73 % (36 человек) у пациентов из первой группы и 7,84 % (8 человек) во второй группе.

Это касалось и хронической болезни почек (ХБП) (данные представлены на рис. 1), которая существенно чаще регистрировалась у пациентов первой группы по сравнению со второй ($p < 0,001$).

В литературе ряд авторов отмечают взаимосвязь поражения КА с ХБП [13, 14]. Нами было показано, что нарушение функции почек чаще встречалось у пациентов с тромбозом или стенозом стента. На основании представленных анамнестических данных можно сделать вывод, что пациенты первой группы имели больше коморбидных заболеваний по сравнению со второй когортой.

Важная роль в прогрессировании атеросклеротического процесса и в развитии нарушения проходимости стента после чрескожного коронарного вмешательства отводится содержанию холестерина и его фракций, таблица 2.

Показатели общего холестерина в обеих выборках существенно не отличались. Однако высокий уровень липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), выступающий маркером прогрессирования атеросклероза, в сочетании с достоверно более низким уровнем липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) на момент повторной интервенции, демонстрировал более активный про-

Таблица 2. Распределение ОХ, ЛПНП и ЛПВП в исследуемых группах

Table 2. Distribution of OH, LDL and HDL in the study groups

Показатель крови	Группы		Значение p
	Группа I $n = 110$	Группа II $n = 102$	
ОХ, ммоль/л	5,38 ± 0,22	5,22 ± 0,20	$p = 0,59$
ЛПНП, ммоль/л	3,62 ± 0,14	2,99 ± 0,17	$p = 0,005$
ЛПВП, ммоль/л	0,95 ± 0,05	1,18 ± 0,06	$p = 0,0036$

Примечание: n — число пациентов; ОХ — общий холестерин; ЛПНП — липопротеиды низкой плотности; ЛПВП — липопротеиды высокой плотности.

Note: n is the number of patients; OH is total cholesterol; LDL is low-density lipoproteins; HDL is high-density lipoproteins.

цесс развития атеросклероза именно у пациентов с тромбозом или стенозом стента. Таким образом, при прогрессировании атеросклероза, в первую очередь, может нарушаться проходимость стента. По мнению ряда авторов, дислипидемия увеличивает частоту возникновения осложнений в виде

Таблица 3. Осложнения инфаркта миокарда в стационаре

Table 3. Complications of myocardial infarction in the hospital

Осложнение течения повторного ИМ	Всего 212				Значение p
	Стеноз/тромбоз в стенте n = 110		Стеноз/тромбоз вне стента n = 102		
	человек	%	человек	%	
ОСН по Killip II–III	29	26,4	15	14,7	0,037
ХСН по NYHA III–IV ФК	96	87,28	70	68,63	0,002
ННСР	76	69,1	17	16,7	0,001
ЖНСР	12	10,9	3	2,9	0,024

Примечание: ОСН, Killip II–III — острая сердечная недостаточность II–III класса по классификации Killip; ХСН по NYHA III–IV ФК — хроническая сердечная недостаточность II–III функционального класса по NYHA; ННСР — наджелудочковые нарушения сердечного ритма; ЖНСР — желудочковые нарушения сердечного ритма.

Note: OSN, Killip II–III — acute heart failure of the II–III classes according to the Killip classification; CHF according to NYHA III–IV FC — chronic heart failure of the II–III functional class according to NYHA; NNSR — supraventricular cardiac arrhythmias; VHSR — ventricular cardiac arrhythmias.

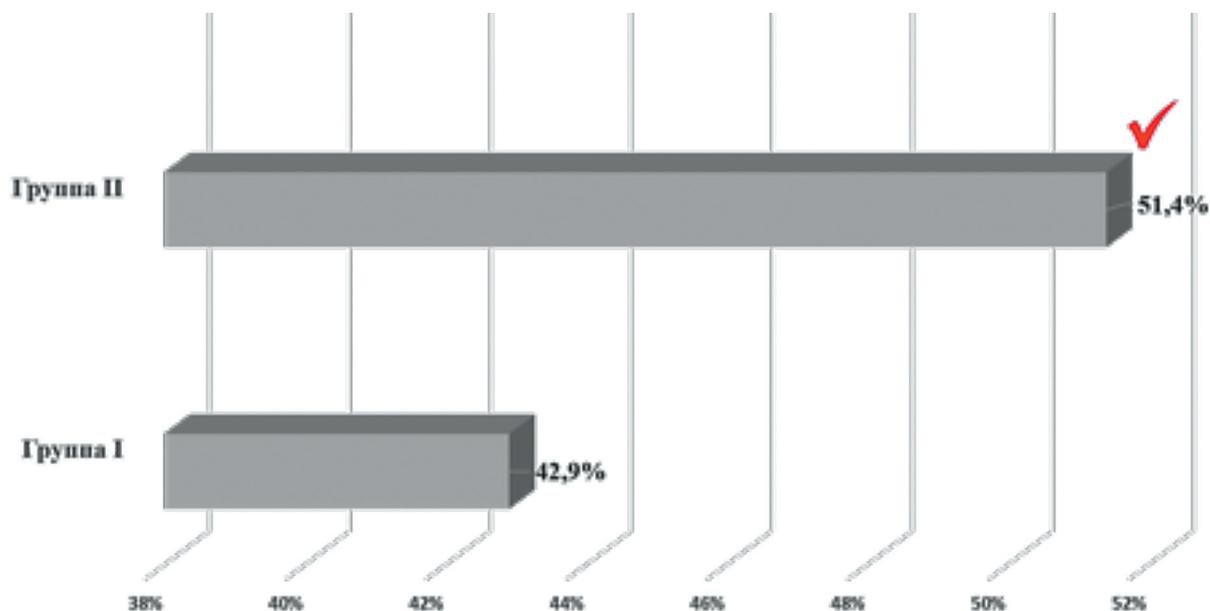


Рис. 2. Фракция выброса левого желудочка у исследуемых пациентов

Note: ✓ p < 0,05.

Примечание: ✓ p < 0,05.

нарушения проходимости ранее установленного стента [15, 16].

Эхокардиографическое исследование (ЭхоКГ) сердца является обязательной диагностической процедурой у пациентов с ишемической болезнью сердца. ЭхоКГ позволяет в кратчайшие сроки оценить не только морфологические особенности, но и систолическую и диастолическую функции левого желудочка. Фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) — это показатель систолической функции ЛЖ, которая чаще изменяется у больных с инфарктом миокарда. В группе со стенозом/тромбозом стента ФВ ЛЖ оказалась существенно ниже по сравнению с больными, у которых ИМ был связан с тромбозом или стенозом вне его, рисунок 2.

Развитие повторного ИМ у пациентов с нарушением проходимости стента приводило к расширению зоны гипо/акинезии и ухудшало систолическую функцию ЛЖ, что в свою очередь влияло на более тяжелое клиническое течение заболевания: чаще развивалась острая сердечная недостаточность (ОСН) Killip II–III и ХСН III–IV ФК класса по NYHA, данные представлены в таблице 3. Средние значения в первой группе больных находились в диапазоне умеренно сниженной ФВ ЛЖ, в то время как во второй группе глобальная сократимость была преимущественно сохранена, рисунок 2, $p < 0,05$.

При оценке клинической картины больных на госпитальном этапе обращает внимание, что

ОСН по классификации Killip II–III класса диагностировалась чаще в первой выборке по сравнению со второй ($p < 0,05$), таблица 3.

К концу госпитализации частота развития ХСН III–IV ФК по NYHA у пациентов I группы была статистически выше — 87,28 %, по сравнению со II группой — 68,63 % ($p < 0,05$).

Наджелудочковые и желудочковые нарушения сердечного ритма существенно чаще регистрировались в I выборке по сравнению со II группой ($p < 0,05$).

Осложненное клиническое течение ИМ у пациентов со стенозом/тромбозом в стенте отражалось и на госпитальной летальности, которая представлена на рисунке 3.

Летальность в стационаре была в 3 раза выше у пациентов с тромбозом/стенозом стента (11,8 %) по сравнению с лицами, у которых летальный исход наступил на фоне обструкции КА вне его (3,9 %), $p < 0,05$. В литературе представлены данные, указывающие на высокую летальность среди пациентов с повторными ИМ [17]. В нашем исследовании выявлено, что это преимущественно касается больных, у которых произошел тромбоз/стеноз в стенте. Следует отметить, что исследование госпитальной летальности с разделением пациентов на тех, кто перенес повторный ИМ в связи с нарушением проходимости ранее установленного стента или вне его, в доступной литературе мы не встречали.

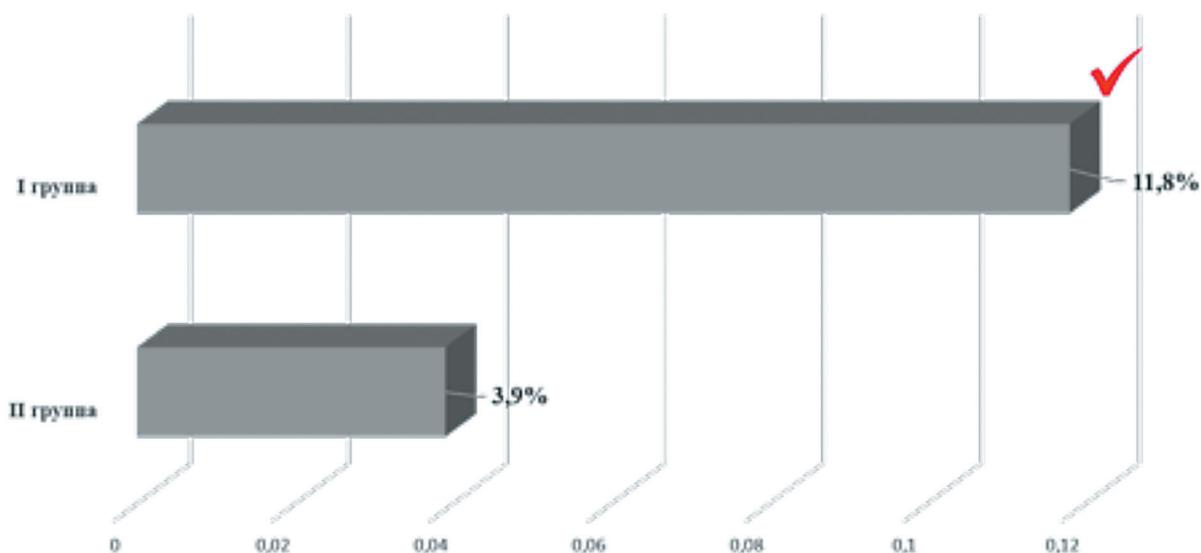


Рис. 3. Госпитальная летальность пациентов в исследуемых группах

Примечание: ✓ $p < 0,05$.

Figure 3. Hospital mortality of patients in the study groups

Note: ✓ $p < 0.05$.

Ген АРОЕ влияет на метаболизм липидов, отвечает за синтез аполипопротеина Е, который в основном синтезируется в печени и входит в состав хиломикрон и ЛПНП. АРОЕ инициирует захват и удаление ЛПНП посредством взаимодействия со специфическим рецептором на поверхности гепатоцитов, а также участвует в процессах иммунорегуляции, нервной регенерации и активации липолитических ферментов. Однонуклеотидная замена полиморфизма Leu28Pro гена АРОЕ приводит к изменению структуры молекулы аполипо-

протеина Е, тем самым нарушая механизм липидного обмена [18].

Распределение полиморфизма Leu28Pro гена АРОЕ в группах представлено в таблице 4. Генотипы LeuPro и ProPro достоверно чаще встречаются у пациентов со стенозом или тромбозом в ранне установленном стенте. Согласно данным литературы [19], носительство полиморфной аллели LeuPro гена АРОЕ потенцирует развитие гиперлипотеинемии и увеличивает риск развития ишемической болезни сердца в 5,3 раза [18, 19]. Таким

Таблица 4. Частота встречаемости аллелей гена АРОЕ (Leu28Pro) в исследуемых группах

Table 4. Frequency of occurrence of АРОЕ (Leu28Pro) gene alleles in the study groups

Группа Генотип/Аллель	Группа I n = 110	Группа II n = 102	ОШ с 95 % ДИ
LeuLeu n, (%)	64 (58,18)	92 (90,2)	0,151 [0,071; 0,322]
LeuPro n, (%)	30 (27,27)	7 (6,86)	5,089 [2,122; 12,206]
ProPro n, (%)	16 (14,55)	3 (2,94)	5,617 [1,585; 19,902]

Примечание: n — количество пациентов в исследуемых группах; ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал.

Note: n is the number of patients in the study groups; OR is the odds ratio; DI is the confidence interval.

Таблица 5. Распределение частоты аллелей и генотипов по полиморфизму rs4646994 гена ACE в исследованных группах

Table 5. Frequency distribution of alleles and genotypes according to the rs4646994 polymorphism of the ACE gene in the studied groups

Группа Генотип/Аллель	Группа I n = 110	Группа II n = 102	ОШ с 95 % ДИ
II n, (%)	6 (5,46)	31 (30,39)	0,132 [0,052; 0,333]
ID n, (%)	48 (43,64)	43 (42,16)	1,062 [0,616; 1,831]
DD n, (%)	56 (50,91)	28 (27,45)	2,741 [1,545; 4,863]

Примечание: n — количество пациентов в исследуемых группах; ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал.

Note: n is the number of patients in the study groups; OR is the odds ratio; DI is the confidence interval.

образом, можно утверждать, что нарушение механизмов липидного обмена может способствовать нарушению проходимости стента у пациентов I группы.

Ренин-ангиотензин-альдостероновая система играет важную роль в регуляции артериального давления. Входящий в нее ангиотензинпревращающий фермент кодируется геном ACE (MIM 106180). Сообщалось, что уровень данного фермента в сыворотке крови определяется полиморфизмом I/D гена ACE в следующем порядке: DD>ID>II. По данным ряда исследований, генотипы DD и ID связаны с увеличением активности ангиотензинпревращающего фермента в плазме на 50 % и 20 % соответственно [21].

В нашем исследовании особенности встречаемости аллелей этого гена у пациентов с нарушением проходимости ранее установленного стента или нарушением проходимости вне его распределены следующим образом, таблица 5.

Из таблицы 5 видно, что генотип DD статистически значимо (ОШ с 95 % ДИ 2,741 [1,545; 4,863]) чаще встречался у пациентов с нарушением проходимости ранее установленного стента, и, следовательно, у них была выше активность ангиотензинпревращающего фермента. Анализ анамнестических данных исследуемых групп не выявил различий в частоте развития гипертонической болезни (I — 95,5 %, II — 97,1 %), однако, пациенты первой группы имели больший стаж течения заболевания, и более часто встречались лица с резистентной АГ.

Еще одним важным звеном патогенеза острого коронарного синдрома, помимо активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, воспаления и дислипидемии, является развитие оксидативного стресса и снижение продукции оксида азота. Однако концентрация оксида азота во многом обусловлена генетическими особенностями. Ген NOS3 отвечает за синтез фермента эндотелиальной NO-синтазы, которая в свою очередь катализирует процесс образования NO. Полиморфизм -786T>C (rs2070744) представляет собой однонуклеотидный полиморфизм, приводящий к замене тимина (T) на цитозин (C) в позиции 786 в промоторной области гена NOS3. Следствием данной замены является подавление транскрипции и значительное снижение экспрессии фермента, что в конечном счете ведет к уменьшению продукции окиси азота. Согласно литературным данным, носители хотя бы одного аллеля NOS3*C (rs2070744) имеют меньшее количество оксида азота в крови по сравнению с носителями дикого аллеля NOS3*T (rs2070744) [21].

В таблице 6 приведены данные генетического обследования наших пациентов.

Вариант генотипа TT чаще встречался у больных второй группы. В свою очередь, варианты TC и CC статистически значимо преобладали у пациентов на фоне обструкции КА в стенте. Таким образом, можно сказать, что, вероятнее всего, сниженный уровень оксида азота влияет в большей степени на дальнейшее прогрессирование атеросклероза с нарушением, в первую очередь, про-

Таблица 6. Частота аллелей и генотипов по полиморфизму C786T (rs2070744) в гене NOS3 в исследованных группах

Table 6. Frequency of alleles and genotypes by polymorphism C786T (rs2070744) in the NOS3 gene in the studied groups

Группа Генотип/Аллель	Группа I n = 110	Группа II n = 102	ОШ с 95 % ДИ
TT n, (%)	20 (18,18)	60 (58,82)	0,156 [0,083; 0,291]
TC n, (%)	54 (49,09)	28 (27,45)	2,548 [1,436; 4,522]
CC n, (%)	36 (32,73)	14 (13,73)	3,058 [1,533; 6,099]

Примечание: n — количество пациентов в исследуемых группах; ОШ — отношение шансов; ДИ — доверительный интервал.

Note: n is the number of patients in the study groups; OR is the odds ratio; DI is the confidence interval.

ходимости ранее установленного стента. По данным литературы, частота развития рецидива ИМ (тромбоза стента) на госпитальном этапе у носителей генотипов ТС и СС была выше [21].

Выводы:

1. Прогрессирование атеросклероза у пациентов после ИМ, особенно на фоне коморбидной патологии: ХБП и сахарного диабета 2 типа, повышало вероятность развития обструкции стента.

2. Более низкая фракция выброса левого желудочка, а также такие осложнения, как ОЧН, ХСН, наджелудочковые и желудочковые нарушения сердечного ритма, в госпитальном периоде чаще развивались у больных со стенозом/тромбозом стента, что соответственно увеличивало госпитальную летальность в 3 раза.

3. Полиморфизм генов ACE, APOE, NOS3 чаще встречался при тромбозе/стенозе стента, что позволяет рассматривать их в качестве генетических маркеров вероятности развития повторного ИМ на фоне обструкции стента с более тяжелым госпитальным периодом.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Samorodckaya IV, Boytsov SA. Subsequent myocardial infarction: risk assessment and prevention. *Russian Journal of Cardiology*. 2017; (6):139–45. In Russian [Самородская И.В., Бойцов С.А. Повторный инфаркт миокарда: оценка, риски, профилактика. *Российский кардиологический журнал*. 2017; (6):139–45]. DOI: 10.15829/1560-4071-2017-6-139-145.

2. Jernberg T, Hasvold P, Henriksson M, et al. Cardiovascular risk in post-myocardial infarction patients: nationwide real world data demonstrate the importance of long-term perspective. *Eur. Heart J*. 2015; 36(19):1163–70. DOI: 10.1093/eurheartj/ehu505.

3. Alimov DA, Zhalalov BZ, Ganiev US. Stent restenosis from the point of view of endothelial dysfunction // *Bulletin of emergency medicine*. 2017. No. 3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/restenoz-stenta-s-tochki-zreniya-endotelialnoy-disfunktsii> (date of access: 01/30/2024). In Russian [Алимов Д.А., Жалалов Б.З., Ганиев У.Ш. Рестеноз стента с точки зрения эндотелиальной дисфункции // *Вестник экстренной медицины*. 2017. № 3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/restenoz-stenta-s-tochki-zreniya-endotelialnoy-disfunktsii> (дата обращения: 30.01.2024)].

4. Alekyan BG. Endovascular surgery of heart and vascular diseases: current status and development

prospects. *Russian Medical Bulletin*. 2004; 4:65–68. In Russian [Алекян Б.Г. Эндоваскулярная хирургия заболеваний сердца и сосудов: современное состояние и перспективы развития. *Российский медицинский вестник*. 2004; 4:65–68].

5. Bockeria LA, Alekyan BG. X-ray endovascular diagnosis and treatment of heart and vascular diseases in the Russian Federation — 2010. *MNTsSSKh them. A. N. Bakuleva RAMS 2011*: 144. In Russian [Бокерия Л.А., Алекян Б.Г. Рентгеноэндоваскулярная диагностика и лечение заболеваний сердца и сосудов в Российской Федерации — 2010 год. *МНЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН 2011*: 144].

6. De Luca G, Dirksen MT, Spaulding C, et al. Drug-eluting vs bare-metal stents in primary angioplasty: a pooled patient-level meta-analysis of randomized trials. *Arch Intern Med*. 2012; 172(8):611–621. DOI: 10.1001/archinternmed.2012.758.

7. Puricel S, Arroyo D, Corpataux N, et al. Comparison of everolimus- and biolimus-eluting coronary stents with everolimus-eluting bioresorbable vascular scaffolds. *J Am CollCardiol*. 2015; 65:791–801. DOI: 10.1016/j.jacc.2014.12.017.

8. Armstrong EJ, Brodmann M, Deaton DH, et al. Dissections after infrainguinal percutaneous transluminal angioplasty: a systematic review and current state of clinical evidence. *J Endovasc Ther*. 2019 Aug;26(4):479–489. DOI: 10.1177/1526602819855396.

9. Baquet M, Nef H, Gori T, et al. Restenosis patterns after bioresorbable vascular scaffold implantation: Angiographic substudy of the GHOST-EU registry. *Cathet Cardiovasc Interv*. 2018; 92(2):276–282. DOI: 10.1002/ccd.27350.

10. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated April 24, 2018 N 186 “On approval of the Concept of predictive, preventive and personalized medicine” URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71847662/#:~:text=%20personalized%20medicine%20understands%20medicine%2C,treatment%20diseases%20and%20correction%20conditions>. In Russian [Приказ Министерства здравоохранения РФ от 24 апреля 2018 г. № 186 «Об утверждении Концепции предиктивной, превентивной и персонализированной медицины» URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71847662/#:~:text=Под%20персонализированной%20медициной%20понимают%20медицину%2C,лечения%20заболеваний%20и%20коррекции%20состояний>]

11. Otdel'nova KA. Determination of the required number of observations in social and hygienic research. *Sbornik trudov 2-go MMI 1980*; 150(6): 18–22. [Отдельнова К.А. Определение необходимого числа наблюдений в социально-гигиенических исследованиях. *Сборник трудов 2-го МИИ 1980*; 150(6): 18–22].

12. Унгурияну Т.Н., Гржибовский А.М. Сравнение трех и более независимых групп с использованием не-

параметрического критерия Краскела-Уоллиса в программе Stata // Экология человека. 2014. № 6. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sravnienie-treh-i-bolee-nezavisimyh-grupp-s-ispolzovaniem-neparametricheskogo-kriteriya-kraskela-uollisa-v-programme-stata>.

13. Siverina AV, Skorodumova EA, Kostenko VA, et al. The influence of polymorphism of the APOE and SLC01B1 genes on the course of myocardial infarction associated with acute kidney injury in the hospital and in the long-term period. *Nephrology*. 2018; 22(6): 56–63. In Russian [Сиверина А.В., Скородумова Е.А., Костенко В.А. и др. Влияние полиморфизма генов АПОЕ и SLC01B1 на течение инфаркта миокарда, ассоциированного с острым повреждением почек, в стационаре и отдаленном периоде. *Нефрология*. 2018; 22(6): 56–63]. DOI: 10.24884/1561-6274-2018-22-6-56-63.

14. Siverina AV, Skorodumova EA, Kostenko VA, et al. Relationship of the clinical picture of myocardial infarction associated with cardiorenal syndrome with polymorphism of the NOS3 gene and systemic inflammatory response // Bulletin of the North-Western State Medical University them. I. I. Mechnikov. 2018. Т. 10. No. 4. P. 15–22. In Russian [Сиверина А.В., Скородумова Е.А., Костенко В.А. и др. Связь клинической картины инфаркта миокарда, ассоциированного с кардиоренальным синдромом, с полиморфизмом гена NOS3 и системной воспалительной реакцией // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова. 2018. Т. 10. № 4. С. 15–22]. DOI: 10.17816/mechnikov201810415-22.

15. Shulaev AV, Muradimova ZR, Marapov DI, et al. Outcomes of recurrent myocardial infarction. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine Journal*. 2016; 2–4 (96):142–144. In Russian [Шулаев А.В., Мурадимова З.Р., Марапов Д.И. и др. Исходы повторного инфаркта миокарда. *Практическая медицина*. 2016; 2–4 (96):142–144].

16. World health organization programme «Acute myocardial infarction register» as audit health assessment. *Vestnik NGUEU = Bulletin of NSUEM/* 2015;(4): 200–222. In Russian [Гафаров В.В., Гафарова А.В. Программа Всемирной организации здравоохранения «Регистр острого инфаркта миокарда» как аудит оценки здоровья населения. *Вестник НГУЭУ*. 2015; (4):200–222].

17. Komkov AA, Mazaev VP, Ryazanova SV, et al. Restenosis in the long term after stenting of the coronary arteries as a reflection of neoatherosclerosis and blood lipids. *Modern problems of science and education*. 2018. No. 6. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28389> (access date: 05/17/2023). In Russian [Комков А.А., Мазаев В.П., Рязанова С.В. и др. Рестенозы на отдаленных сроках после стентирования коронарных артерий как отражение неоатеросклероза и липиды крови. *Современные проблемы науки и образования*. 2018. № 6]. DOI: 10.17513/spno.28389.

18. Utennan G, Steinmetz A, Weber W. Genetic control of human apolipoprotein E polymorphism: comparison of one- and two- dimensional techniques of isoprotein, analysis. *Hum Genet* 1982; (60): 344–351. DOI: 10.1007/BF00569216.

19. Blobel B. Translational medicine meets new technologies for enabling personalized care. *Stud Health Technol Inform* 2013; 189: 8–23.

20. Ziegelstein RC. Personomics: The missing link in the evolution from precision medicine to personalized medicine. *J Pers Med*. 2017; 7 (4): 11. DOI: 10.3390/jpm7040011.

21. Agerholm-Larsen B, Tybjaerg-Hansen A, Schnohr P, Nordestgaard BG. ACE gene polymorphism explains 30–40 % of variability in serum ACE activity in both women and men in the population at large: the Copenhagen City Heart Study. *Atherosclerosis*. 1999; 147:425–427. DOI: 10.1016/s0021-9150(99)00195-1.

22. Bezmenova IN, Averyanova IV. Variants of polymorphism of the NOS3 gene and the main characteristics of heart rate variability in northern residents. *Scientific results of biomedical research*. 2023; 9(4):486–499. In Russian [Безменова И.Н., Аверьянова И.В. Варианты полиморфизма гена NOS3 и основные характеристики вариабельности сердечного ритма у жителей-северян. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2023; 9(4):486–499]. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-4-0-5.

Информация об авторах:

Луцик Екатерина Александровна, врач-кардиолог кардиохирургического отделения ГБУ «СПбНИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе»;

Скородумова Елена Андреевна, д.м.н., ведущий научный сотрудник отдела неотложной кардиологии и ревматологии ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе»;

Костенко Виктор Авенирович, д.м.н., руководитель отдела неотложной кардиологии и ревматологии ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе»;

Сиверина Анна Викторовна, к.м.н., научный сотрудник отдела неотложной кардиологии и ревматологии ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе»;

Скородумова Елизавета Геннадьевна, к.м.н., старший научный сотрудник отдела неотложной кардиологии и ревматологии ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе».

Authors information:

Ekaterina A. Lutsik, cardiologist of the cardiac surgery department of the Saint Petersburg I. I. Dzhanelidze research institute of emergency medicine;

Elena A. Skorodumova, MD, PhD, Sciences, Leading Researcher of the Department of Emergency Cardiology

and Rheumatology of the Saint Petersburg I. I. Dzhanelidze research institute of emergency medicine;

Viktor A. Kostenko, MD, PhD, Head of the Department of Emergency Cardiology and Rheumatology, Saint Petersburg I. I. Dzhanelidze research institute of emergency medicine;

Anna V. Siverina, MD, PhD, Researcher, Department of Emergency Cardiology and Rheumatology, Saint Petersburg I. I. Dzhanelidze research institute of emergency medicine;

Elizaveta G. Skorodumova, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Emergency Cardiology and Rheumatology, Saint Petersburg I. I. Dzhanelidze research institute of emergency medicine.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ДЕТЕЙ, РОДИВШИХСЯ С НИЗКОЙ И НОРМАЛЬНОЙ МАССОЙ ТЕЛА

Чупров М. П., Магилевец А. И., Тунгусова М. А., Карнахин В. А.,
Артемьев Н. Н., Бофанов Д. А., Базылев В. В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, Пенза, Россия

Контактная информация:

Чупров Максим Петрович,
ФГБУ «Федеральный центр сердечно-
сосудистой хирургии» Минздрава России,
ул. Стасова, д. 6, Пенза, Россия, 440071.
E-mail: maks13chup@bk.ru

Статья поступила в редакцию 10.03.2024
и принята к печати 30.06.2024.

Резюме

Несмотря на успехи в хирургической технике, анестезиологии и интенсивной терапии, низкая масса тела при рождении остается фактором риска неблагоприятного исхода у детей после кардиохирургического лечения. **Целью исследования** является сравнительная оценка периоперационных показателей, послеоперационных осложнений и исходов у детей с низкой и нормальной массой тела при рождении после кардиохирургических вмешательств. **Материалы и методы.** Проведено ретроспективное одноцентровое исследование течения периоперационного периода у детей после вмешательств на открытом сердце и сосудах. В исследование были отобраны 103 пациента. Они были разделены на две группы: группа 1 — дети с массой тела на момент операции менее 2,5 кг и группа 2 — дети с массой тела от 2,5 до 3,5 кг. Оценивались дооперационные клинично-демографические данные, интраоперационные показатели, послеоперационные осложнения и исходы. **Результаты.** Сравнительный анализ периоперационных показателей, послеоперационных осложнений и летальности не показал статистически значимых различий между двумя группами. Регрессионный анализ не показал статистически значимого влияния НМТ на летальность. Выявлен значительный риск смертельного исхода при проведении повторного незапланированного хирургического вмешательства и продолжительности нахождения ребенка в ОРИТ. **Заключение.** НМТ при рождении у детей с ВПС не приводила к увеличению частоты послеоперационных осложнений и летальности.

Ключевые слова: врожденные пороки сердца, детская кардиохирургия, недоношенность, низкая масса тела.

Для цитирования: Чупров М.П., Магилевец А.И., Тунгусова М.А. и др. Сравнительная оценка результатов кардиохирургического лечения детей, родившихся с низкой и нормальной массой тела. Трансляционная медицина. 2024; 11(3): 240-247. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-3-240-247. EDN: JDTVVS

COMPARATIVE EVALUATION OF THE RESULTS OF CARDIOSURGICAL TREATMENT OF INFANTS BORN WITH LOW AND NORMAL BODY WEIGHT

Maksim P. Chuprov, Anton I. Magilevets, Margarita A. Tungusova, Vadim A. Karnakhin, Nikolay N. Artemyev, Dmitry A. Bofanov, Vladlen V. Bazylev

Federal Center for cardiovascular surgery, Penza, Russia

Corresponding author:

Maksim P. Chuprov,
Federal Center for cardiovascular surgery,
Stasova str., 6, Penza, Russia, 440071.
E-mail: maks13chup@bk.ru

Received 10 March 2024; accepted 30 June 2024.

Abstract

Despite advances in surgical technique, anesthesiology and intensive care, low birth weight remains to be a risk factor for adverse outcome in children after cardiac surgery. **The aim** of the study is to compare perioperative parameters, postoperative complications and outcomes in low and normal birth weight infants undergoing cardiac surgery. **Materials and methods.** A retrospective single-center study of the course of the perioperative period in children after operations on the open heart and vessels. 103 patients were selected for the study. The patients were divided into two groups: group 1 — infant with a body weight at the time of surgery less than 2.5 kg. and group 2 — infant with body weight from 2.5 to 3.5 kg. Preoperative clinical and demographic data, intraoperative parameters, postoperative complications and outcomes were assessed. **Results.** Comparative analysis of perioperative parameters, postoperative complications and mortality did not show statistically significant differences between the two groups. Regressing analysis did not show a statistically significant effect of LBW on mortality. A significant risk of death was revealed during repeated unplanned surgical intervention and the duration of the child stay in the ICU. **Conclusion.** LBW at birth in children with CHD did not lead to an increase in the incidence of postoperative complications and mortality.

Key words: congenital heart defects, low body weight, pediatric cardiac surgery, prematurity.

For citation: Chuprov MP, Magilevets AI, Tungusova MA, et al. Comparative evaluation of the results of cardiosurgical treatment of infants born with low and normal body weight. Translational Medicine. 2024; 11(3): 240-247. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-3-240-247. EDN: JDTVVS

Список сокращений: ВПС — врожденный порок сердца, ИВЛ — искусственная вентиляция легких, ИК — искусственное кровообращение, ИМ — ишемия миокарда, НМТ — низкая масса тела, НЭК — некротический энтероколит, ОАП — открытый артериальный проток, ОРИТ — отделение реанимации и интенсивной терапии, ЭКМО — экстракорпоральная мембранная оксигенация.

Введение

По различным оценкам, частота ВПС достигает 8–11 случаев на 1000 новорожденных [1–3]. Массу тела менее 2500 г при рождении определяют, как

низкую массу тела (НМТ) [1, 4–6]. НМТ является фактором риска повышенной смертности у детей, перенесших хирургическую коррекцию ВПС [4, 5, 7]. Несмотря на достигнутые в последние десятилетия успехи в области неонатальной кардиохирургии, проблемы лечения новорожденных детей с низкой массой тела и ВПС остаются актуальными. В отечественной литературе найдены единичные статьи по данной тематике [8].

Целью исследования является сравнительная оценка периоперационных показателей, послеоперационных осложнений и исходов у детей с низ-

кой и нормальной массой тела при рождении после кардиохирургических вмешательств.

Материалы и методы

Проведено ретроспективное одноцентровое исследование течения периоперационного периода у детей после вмешательств на открытом сердце и сосудах, выполненных на базе ФГБУ «ФЦС-СХ» Минздрава России (г. Пенза) в период с января 2019 г. по август 2021 г. Критерием включения в исследование был возраст не старше 60 дней, масса тела не более 2,5 кг и потребность в первичном хирургическом вмешательстве; вторую группу составили дети с массой тела от 2,5 до 3,5 кг. Критерием исключения было выполнение изолированного эндоваскулярного вмешательства, а также закрытие открытого артериального протока. По критериям исключения в исследование не попали 7 пациентов: пятерым выполнено закрытие ОАП, двоим — баллонная вальвулопластика. В исследование были отобраны 110 детей, которые соответствовали критериям включения. Они были разделены на две группы. В первую группу вошли 30 пациентов (29,1 %) с массой тела менее 2,5 кг;

во вторую — 73 пациента (70,9 %) с массой тела от 2,5 до 3,5 кг.

Регистрировались возраст и масса тела на момент операции, пол, гестационный возраст, а также наличие физиологии единого желудочка, потребность перед операцией в ИВЛ и вазопростане. Если рождение ребенка происходило на 36 неделе и ранее, то он считался недоношенным. По шкале RACHS-1 оценивался риск смерти при проведении коррекции ВПС.

Анестезиологическое обеспечение оперативных вмешательств, искусственного кровообращения (ИК) и защита миокарда проводились в соответствии с внутренними протоколами ФГБУ «ФЦССХ» Минздрава России (г. Пенза). Оценивалось количество операций с искусственным кровообращением (ИК) и без него, длительность ИК и ишемии миокарда (ИМ). Сложность хирургической коррекции определяли по шкале Аристотеля. Фиксировались пациенты, которые поступали в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) с разведенной грудиной, а также количество незапланированных повторных хирургических вмешательств. Повторным вмешательством

Таблица 1. Общая характеристика больных по группам

Table 1. General characteristics of patients by group

Показатель	1 группа (< 2,5 кг), n = 30			2 группа (> 2,5 кг), n = 73			p
	n (%)	M ± SD	95 %ДИ	n (%)	M ± SD	95 %ДВ	
Возраст (дни)		10,2 ± 5,2			13,9 ± 6,8		0,61
Масса тела (кг)		1,95 ± 0,35			3,2 ± 0,5		0,04
ГВ (недели)		35,2 ± 2,5			38,1 ± 1,7		0,32
Недоношенность	19 (63 %)		[0,45–0,78]	7 (9,5 %)		[0,04–0,18]	0,001
Пол, женский	15 (50 %)		[0,33–0,66]	34 (46 %)		[0,35–0,57]	0,14
ЕЖС	7 (23 %)		[0,11–0,40]	16 (22 %)		[0,13–0,32]	0,53
Генетика/НКП	9 (30 %)		[0,16–0,47]	22 (30 %)		[0,20–0,41]	0,51
RACHS-1 (1–3)	22 (73 %)		[0,55–0,85]	48 (65 %)		[0,54–0,75]	0,36
RACHS-1 (4–6)	8 (27 %)		[0,14–0,44]	25 (35 %)		[0,24–0,45]	0,45
ИВЛ до операции	5 (16 %)		[0,07–0,33]	11 (15 %)		[0,08–0,25]	0,12
ПГД	18 (60 %)		[0,42–0,75]	39 (53 %)		[0,42–0,64]	0,21

Примечание: ГВ — гестационный возраст; ЕЖС — единый желудочек сердца; НКД — врожденная некардиальная патология; ПГД — потребность в простагландинах (вазопростан) до операции; RACHS-1 — шкала категории хирургического риска (Risk adjustment for congenital heart surgery).

считалась коррекция резидуальных дефектов. Имплантация кардиостимулятора, пликация диафрагмы не считались повторными операциями.

В послеоперационном периоде оценивали длительность респираторной поддержки, продолжительность использования катехоламинов, время пребывания в ОРИТ и летальность. В качестве осложнений раннего послеоперационного периода регистрировали наличие синдрома малого сердечного выброса; высокой легочной гипертензии, требующей терапии легочными дилататорами; нарушения ритма и проводимости сердца, необходимость в имплантации кардиостимулятора и проведении экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО). Оценивались пациенты с внутрижелудочковыми кровоизлияниями; острым повреждением почек, требующим проведения перитонеального диализа; некротическим энтероколитом со 2 стадией и более по Беллу. Также отмечались лица с парезом диафрагмы, хилотораксом, венозным тромбозом. Наличие у пациента показаний для назначения антибактериальной терапии (пневмония, инфекция в области хирургического вмешательства, НЭЖ, сепсис, инфекция мочевых путей) расценивалось как инфекционные осложнения.

Статистический анализ

Выполнена проверка всех количественных переменных на тип распределения с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Результаты представлены как средние величины и стандартное отклонение ($M \pm SD$), численность группы (n), доля от группы (%). Критический уровень значимости принят за $p = 0,05$. Полученные данные

с асимметричным распределением сравнивались с помощью межгруппового непараметрического критерия Манна-Уитни. При правильном распределении данных различия между группами оценивались при помощи метода Стьюдента. Качественные данные сравнивались с помощью межгруппового критерия «хи-квадрат Пирсона».

Риски оценивались с использованием множественного логистического регрессионного анализа. Последний был использован с целью подбора множества независимых предикторов, включенных в статистическую модель, оказывающих влияние на зависимую переменную (летальность). Результаты представлены как отношение шансов (ОШ), доверительный интервал (ДИ) 95 %, достигнутый уровень значимости (p). Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с помощью программы IBM® SPSS® Statistics Version 27 (21.0.0.0).

Результаты

При сравнительном анализе двух групп (табл. 1) средние значения массы тела в группе детей 2,5 кг и менее составили $1,95 \pm 0,35$ кг; в группе детей с массой тела 2,5 кг и более — $3,2 \pm 0,5$ кг ($p = 0,04$). Гестационный возраст в группе 1 — $35,2 \pm 2,5$ недели; в группе 2 — $38,1 \pm 1,7$ недели ($p = 0,31$). В группе 2,5 кг и менее было значимо больше недоношенных детей — 19 (63 %), чем в группе контроля — 7 (9,5 %) ($p = 0,001$).

Сравнительный анализ больных двух групп не выявил статистически значимой разницы по следующим показателям: возраст на момент операции, пол, количество пациентов с единым

Таблица 2. Периоперационные показатели

Table 2. Perioperative indicators

Показатель	1 группа (< 2,5 кг), n = 30			2 группа (> 2,5 кг), n = 73			p
	n (%)	M ± SD	95 %ДИ	n (%)	M ± SD	95 %ДИ	
Aristotel		11,4 ± 3,8			11,5 ± 3,3		0,9
Операции с ИК	11 (37 %)		[0,21–0,54]	46 (63 %)		[0,51–0,73]	0,015
Время, ИК (мин.)		121,5 ± 31,1			109 ± 45,3		0,82
Время, ИМ (мин.)		60 ± 24,4			57 ± 20,1		0,9
Грудина не сведена	10 (33 %)		[0,19–0,51]	18 (24 %)		[0,16–0,35]	0,36
Реоперация	5 (16,6 %)		[0,07–0,33]	8 (10 %)		[0,05–0,20]	0,42

Примечание: ИК — искусственное кровообращение; ИМ — ишемия миокарда.

желудочком сердца, потребности в ИВЛ и вазопростане до операции. По шкале RACHS-1 (4–6) количество операций с высокими степенями риска было больше в группе контроля — 25 (35 %), чем в группе 2,5 кг и менее — 8 (27 %), но без статистической значимости ($p = 0,45$).

Сравнительный анализ показателей периоперационного периода (табл. 2) не выявил достоверно значимых отличий между группами по шкале Aristotel, времени ИК и ИМ. Количество пациентов с разведенной грудиной ($p = 0,36$) и повторно оперированных ($p = 0,42$) было больше в первой группе, чем в группе контроля, но без достоверной значимости.

Сравнительный анализ исследуемых показателей послеоперационного периода (табл. 3) показал отсутствие достоверной разницы между группами.

Общая госпитальная летальность составила 14 (13,5 %). Летальность в группе 2,5 кг и менее составила 17 %, в группе контроля — 12 %. В группе 2,5 кг и менее умерло 5 пациентов. Все дети имели физиологию единого желудочка, которым выполнялись этапные операции: 3 — наложение системно-легочного анастомоза, 2 — гибридная операция при синдроме гипоплазии левых отделов сердца (билатеральное суживание ветвей легочной артерии и стентирование ОАП). Четыре (80 %) пациента были оперированы повторно. Причиной смертельного исхода в 4 случаях была прогрессирующая сердечно-сосудистая недостаточность на фоне несбалансированного кровотока, в 1 случае — НЭК, полиорганная недостаточность.

Таблица 3. Показатели послеоперационного периода

Table 3. Indicators of the postoperative period

Показатель	1 группа (< 2,5 кг), n = 30			2 группа (> 2,5 кг), n = 73			p
	n (%)	M ± m	95 %ДИ	n (%)	M ± m	95 %ДИ	
Длительность ИВЛ (ч)		173,8 ± 50,2			147,1 ± 61		0,7
ВЛГ	5 (16 %)		[0,07–0,33]	14 (19 %)		[0,11–0,29]	0,76
СНСВ	11 (37 %)		[0,21–0,54]	27 (37 %)		[0,26–0,48]	0,97
ИП (ч)		81,7 ± 21			99,3 ± 26,2		0,6
Аритмия	2 (6 %)		[0,01–0,21]	4 (5 %)		[0,02–0,13]	0,81
АВ-блокада	1 (3 %)		[0,01–0,16]	4 (5 %)		[0,02–0,13]	0,64
Имплантация ЭКС	1 (3 %)		[0,01–0,16]	2 (2,7 %)		[0,01–0,09]	0,87
ЭКМО	0 (0 %)		[0,00–0,00]	4 (5 %)		[0,02–0,13]	0,19
ВЖК	5 (16 %)		[0,07–0,33]	9 (12 %)		[0,06–0,21]	0,56
ОПП/ПД	3 (10 %)		[0,03–0,25]	8 (11 %)		[0,05–0,20]	0,88
НЭК > 2 ст.	1 (3 %)		[0,01–0,16]	4 (5 %)		[0,02–0,13]	0,64
Инф. осложнения	9 (30 %)		[0,16–0,47]	25 (34 %)		[0,24–0,45]	0,67
Парез диафрагмы	3 (10 %)		[0,03–0,25]	7 (9 %)		[0,04–0,18]	0,95
Хилоторакс	3 (10 %)		[0,03–0,25]	9 (12 %)		[0,06–0,21]	0,73
Венозный тромбоз	2 (6 %)		[0,01–0,21]	10 (13 %)		[0,07–0,23]	0,31
Время в ОРИТ (сут.)		10 ± 3,7			10,2 ± 2,9		0,9
Летальность	5 (17 %)		[0,07–0,33]	9 (12 %)		[0,06–0,22]	0,56

Примечание: ИВЛ — искусственная вентиляция легких; ВЛГ — высокая легочная гипертензия; СНСВ — синдром низкого сердечного выброса; ИП — длительность инотропной поддержки; ЭКС — электрокардиостимулятор; ЭКМО — экстракорпоральная мембранная оксигенация; ВЖК — внутрижелудочковое кровоизлияние; ОПП/ПД — острое почечное повреждение/перитонеальный диализ; НЭК — некротический энтероколит.

В группе контроля умерло 9 пациентов. Шесть детей имели одножелудочковую циркуляцию: 3 — наложение системно-легочного анастомоза, 1 — операция Норвуда, 2 — гибридная операция. Три пациента имели двухжелудочковую физиологию кровообращения. Выполнена радикальная коррекция общего артериального ствола, транспозиции магистральных сосудов, пластика аортального клапана при критическом стенозе аортального клапана. Четырем (44 %) пациентам из группы контроля потребовалась повторная операция. Причиной смертельного исхода в 7 случаях была прогрессирующая сердечно-сосудистая недостаточность, 1 — внутривенное кровоизлияние 4 степени, 1 — НЭК, полиорганная недостаточность.

В группе контроля 4 (5 %) пациентам потребовалось проведение вспомогательного кровообращения (ЭКМО); в группе детей с низкой массой тела потребности в ЭКМО не было.

При проведении множественного логистического регрессионного анализа не выявлено взаимосвязи между низкой массой тела (ОШ 1,52; 95 % ДИ 0,267–8,75; $p = 0,63$), недоношенностью (ОШ 1,62; 95 % ДИ 0,15–17,16; $p = 0,68$) и летальностью. Однако выявлен значительный риск смертельного исхода при проведении повторного незапланированного хирургического вмешательства (ОШ 53,3; 95 % ДИ 7,24–393,6; $p = 0,001$) и продолжительности нахождения ребенка в ОРИТ (ОШ 1,44; 95 % ДИ 1,08–1,92; $p = 0,011$).

Обсуждение

НМТ при рождении имеют от 8 % до 23 % детей с врожденными пороками сердца, что является общепризнанным фактором риска смертности в неонатальной кардиохирургии [2, 4–6]. Критический уровень массы тела ребенка менее 2,5 кг, как кандидата для кардиохирургической коррекции, все больше вызывает сомнения. Приводится ряд работ, где результаты лечения детей после кардиохирургического вмешательства с массой тела более 2 кг и стандартной массой при рождении имеют сопоставимые данные по летальности и количеству послеоперационных осложнений [5, 7, 11]. Это подтверждается и данными нашего исследования. Периоперационные показатели, послеоперационные осложнения и летальность не имели статистически значимых различий между двумя группами.

Согласно литературным данным, раннее вмешательство у детей с НМТ связано с лучшими результатами и выживаемостью, чем в группах с отсроченным вмешательством [9, 10]. Результаты нашей работы показывают, что в группе детей

с НМТ чаще выполнялись паллиативные процедуры и было достоверно меньше вмешательств с использованием искусственного кровообращения ($p = 0,015$). В работе М. Kim и соавторов также сообщается, что все меньше новорожденных с НМТ оперируются с использованием искусственного кровообращения. Происходит постепенный переход к катетерным или гибридным вмешательствам у детей с НМТ, с целью избежать ненужного хирургического риска [5].

В исследовании С. Lu и коллег показано влияние НМТ, гестационного возраста и различных категорий хирургического риска на увеличение пребывания в ОРИТ [6]. В нашем исследовании не было достоверных различий между группами по срокам нахождения в ОРИТ. Проведенный регрессионный анализ показал, что увеличение пребывания в ОРИТ на 1 день увеличивал риск летального исхода на 44 % ($p = 0,011$).

Известно, что неудовлетворительные результаты лечения могут быть связаны с различными хирургическими и техническими аспектами. Так, в работе М. Mazwi и соавторов показано, что дети, которым потребовалось повторное незапланированное кардиохирургическое вмешательство, имели летальность в 8 раз выше, чем пациенты, которые в этом не нуждались [12]. В настоящей работе установлено, что повторных незапланированных вмешательств в группе детей массой 2,5 кг и менее было больше, чем в группе контроля, однако без достоверных статистических различий ($p = 0,42$). Регрессионный анализ показал значительный риск летального исхода, если ребенок нуждался в повторной незапланированной операции ($p = 0,001$).

По данным различных авторов, госпитальная летальность у детей с НМТ после кардиохирургических вмешательств составляет от 11 % до 24 % [4–7]. Согласно результатам выполненного исследования, в группе детей с массой тела менее 2,5 кг летальность составила 17 %. НМТ является фактором риска смертности после операции Норвуда и различных паллиативных процедур у детей с единственным желудочком [13, 14]. В нашей работе из всех умерших в обеих группах 78 % составили пациенты с одножелудочковой циркуляцией.

Все больше авторов склоняются к тактике ранней персонифицированной коррекции ВПС у детей с НМТ, демонстрируя обнадеживающие результаты [5, 7]. В выполненной нами работе представлены совпадающие с мировыми трендами результаты, однако ретроспективность исследования и небольшая выборка не позволяют делать однозначные выводы. Вероятно, в последующих исследованиях по данной тематике перспективным

будет изучение результатов кардиохирургического лечения детей с массой тела менее 2 кг.

Заключение

НМТ при рождении, а также недоношенность не оказали влияния на развитие послеоперационных осложнений и исходы. Высококвалифицированный междисциплинарный подход и современные стратегии лечения детей с НМТ и ВПС позволяют достигать результатов лечения, сопоставимых с теми, которые демонстрируют дети, имеющие стандартную массу тела.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Krishnamurthy G, Ratner V, Bacha E. Neonatal cardiac care, a perspective. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu.* 2013;16(1):21–31. DOI: 10.1053/j.pcsu.2013.01.007.
2. Reddy VM. Low birth weight and very low birth weight neonates with congenital heart disease: timing of surgery, reasons for delaying or not delaying surgery. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu.* 2013;16(1):13–20. DOI: 10.1053/j.pcsu.2013.01.004.
3. Wei D, Azen C, Bhombal S, et al. Congenital heart disease in low-birth-weight infants: effects of small for gestational age (SGA) status and maturity on postoperative outcomes. *Pediatric cardiology.* 2015;36(1):1–7. DOI: 10.1007/s00246-014-0954-y.
4. Alsoufi B, Manlhiot C, Mahle WT, et al. Low-weight infants are at increased mortality risk after palliative or corrective cardiac surgery. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery.* 2014;148(6):2508–2514. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2014.07.047.
5. Kim M, Okunowo O, Ades AM, et al. Single-center comparison of outcomes following cardiac surgery in low birth weight and standard birth weight neonates. *The Journal of Pediatrics.* 2021;238:161–167. DOI: 10.1016/j.jpeds.2021.06.059.
6. Lu C, Yu L, Wei J, et al. Predictors of postoperative outcomes in infants with low birth weight undergoing congenital heart surgery: a retrospective observational study. *Ther Clin Risk Manag.* 2019;15:851–860. DOI: 10.2147/TCRM.S206147.
7. Ades AM, Dominguez TE, Nicolson SC, et al. Morbidity and mortality after surgery for congenital cardiac disease in the infant born with low weight. *Cardiology in the Young.* 2010;20(1):8–17. DOI: 10.1017/S1047951109991909.
8. Tumanyan MR, Svobodov AA, Levchenko EG, et al. Low-weight children with congenital heart defects: the

treatment experience in Bakoulev Center and analysis of international literature. *The Bulletin of Bakoulev Center. Cardiovascular Diseases.* 2021;22(2):221–230. In Russian [Туманян М.Р., Свободов А.А., Левченко Е.Г. и др. Маловесные дети с врожденными пороками сердца: опыт лечения Центра им. А. Н. Бакулева и анализ мировой литературы. Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. 2021;22(2):221–230]. DOI: 10.24022/1810-0694-2021-22-2-221-230.

9. Chang AC, Hanley FL, Lock JE, et al. Management and outcome of low birth weight neonates with congenital heart disease. *J Pediatr.* 1994;124(3):461–466. DOI: 10.1016/s0022-3476(94)70376-0.

10. Hickey EJ, Nosikova Y, Zhang H, et al. Very low-birth-weight infants with congenital cardiac lesions: is there merit in delaying intervention to permit growth and maturation? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2012;143(1):126–136. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2011.09.008.

11. Anderson BR, Blancha Eckels V L, Crook S, et al. The Risks of Being Tiny: The Added Risk of Low Weight for Neonates Undergoing Congenital Heart Surgery. *Pediatr Cardiol.* 2020;41(8):1623–1631. DOI: 10.1007/s00246-020-02420-0.

12. Mazwi ML, Brown DW, Marshall AC, et al. Unplanned reinterventions are associated with postoperative mortality in neonates with critical congenital heart disease. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2013;145(3):671–677. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2012.03.078.

13. Gelehrter S, Fifer CG, Armstrong A, et al. Outcomes of hypoplastic left heart syndrome in low-birth-weight patients. *Pediatr Cardiol.* 2011;32(8):1175–1181. DOI: 10.1007/s00246-011-0053-2.

14. Myers JW, Ghanayem NS, Cao Y, et al. Outcomes of systemic to pulmonary artery shunts in patients weighing less than 3 kg: analysis of shunt type, size, and surgical approach. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2014;147(2):672–677. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2013.09.055.

Информация об авторах:

Чупров Максим Петрович, к.м.н., врач — анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и интенсивной терапии ФГБУ «ФЦССХ» Минздрава России (г. Пенза);

Магилевец Антон Игоревич, заведующий отделением анестезиологии и интенсивной терапии ФГБУ «ФЦССХ» Минздрава России (г. Пенза);

Тунгусова Маргарита Андреевна, врач — детский кардиолог ФГБУ «ФЦССХ» Минздрава России (г. Пенза);

Карнахин Вадим Александрович, к.м.н., врач — сердечно-сосудистый хирург кардиохирургического отделения № 2 ФГБУ «ФЦССХ» Минздрава России (г. Пенза);

Артемьев Николай Николаевич, врач — анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и интен-

сивной терапии ФГБУ «ФЦССХ» Минздрава России (г. Пенза);

Бофанов Дмитрий Алексеевич, к.м.н., врач — сердечно-сосудистый хирург кардиохирургического отделения № 2 ФГБУ «ФЦССХ» Минздрава России (г. Пенза);

Базылев Владлен Владленович, д.м.н., профессор, главный врач ФГБУ «ФЦССХ» Минздрава России (г. Пенза).

Authors information:

Maksim P. Chuprov, PhD Med, anesthesiologist-resuscitator at Dept. of Anesthesiology and Intensive care, Federal Center for cardiovascular surgery (Penza);

Anton I. Magilevets, head of Dept of Anesthesiology and Intensive Care, Federal Center for cardiovascular surgery (Penza);

Margarita A. Tungusova, pediatric cardiologist, Federal Center for cardiovascular surgery (Penza);

Vadim A. Karnakhin, PhD Med, Cardiovascular Surgeon, Cardiac Surgery Dept N. 2, Federal Center for cardiovascular surgery (Penza);

Nikolay N. Artemyev, anesthesiologist-resuscitator at Dept. of Anesthesiology and Intensive care, Federal Center for cardiovascular surgery (Penza);

Dmitry A. Bofanov, PhD Med, Cardiovascular Surgeon, Cardiac Surgery Dept N. 2, Federal Center for cardiovascular surgery (Penza);

Vladlen V. Bazylev, DM Sci (habil.), professor, chief physician, Federal Center for cardiovascular surgery (Penza).

ПРОКАЛЬЦИТОНИН КАК МАРКЕР ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ОРГАНИЗМА ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЯХ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Алексеева Н. С.¹, Алексеев В. В.¹, Куцевалова О. Ю.²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, Россия

Контактная информация:

Алексеева Наталья Сергеевна,
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России,
пер. Нахичеванский, д. 29, Ростов-на-Дону, Россия, 344022.
E-mail: alekseeva_ns@rostgmu.ru

Статья поступила в редакцию 24.06.2024
и принята к печати: 09.07.2024.

Резюме

Одной из проблем практического здравоохранения являются инфекционные осложнения и как наиболее серьезная угроза для здоровья человечества по всему земному шару — устойчивость к антибиотикам. Несмотря на современный арсенал методов диагностики и лечения, летальность при инфекционных осложнениях остается высокой. В связи с этим, в настоящее время ведется активный поиск достоверных биологических маркеров для своевременной диагностики инфекционных осложнений. Особый интерес представляют текущее состояние и последние достижения в диагностике с помощью прокальцитонина, как для дифференциации патогенеза инфекционного и неинфекционного процессов, так и для оптимизации применения антибиотиков.

В обзоре представлены современные данные о прокальцитонине как специфическом биомаркере бактериальной инфекции. Показаны различные возможные применения прокальцитонина в клинической практике.

Ключевые слова: биологический маркер (биомаркер), микробиологическая диагностика, прокальцитонин, сепсис.

Для цитирования: Алексеева Н.С., Алексеев В.В., Куцевалова О.Ю. Прокальцитонин как маркер патологических состояний организма при инфекционных осложнениях (обзор литературы). Трансляционная медицина. 2024; 11(3): 248-252. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-3-248-252. EDN: IZGNOY

PROCALCITONIN AS A MARKER OF PATHOLOGICAL CONDITIONS OF THE BODY DURING INFECTIOUS COMPLICATIONS (LITERATURE REVIEW)

Natalia S. Alekseeva¹, Vladimir V. Alekseev¹, Olga Yu. Kutsevalova²

¹ Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

² National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Corresponding author:

Natalya S. Alekseeva,
Rostov State Medical University,
Nakhichevansky Lane, 29, Rostov-on-Don,
Russia, 344022.
E-mail: alekseeva_ns@rostgmu.ru

Received 24 June 2024; accepted 09 July 2024.

Abstract

One of the problems of practical healthcare is infectious complications and, as the most serious threat to human health around the globe, antibiotic resistance. Despite the modern arsenal of diagnostic and treatment methods, mortality from infectious complications remains high. In this regard, an active search is currently underway for reliable biological markers for the timely diagnosis of infectious complications. Of particular interest is the current status and recent advances in diagnostics using procalcitonin, both for differentiating the pathogenesis of infectious and non-infectious processes, as well as for optimizing the use of antibiotics.

The review presents current data on procalcitonin as a specific biomarker of bacterial infection. Various possible uses of procalcitonin in clinical practice are shown.

Key words: biological marker (biomarker), microbiological diagnostics, procalcitonin, sepsis.

For citation: Alekseeva NS, Alekseev VV, Kutsevalova OYu. Procalcitonin as a marker of pathological conditions of the body during infectious complications (literature review). Translational Medicine. 2024; 11(3): 248-252. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-3-248-252. EDN: IZGNOY

Список сокращений: ПКТ — прокальцитонин, ПОИО — послеоперационные инфекционные осложнения, ССВР — синдром системной воспалительной реакции, СРБ — С-реактивный белок.

Целью обзора является обобщение текущего состояния и последних достижений в диагностических методах дифференциации патологических состояний при инфекционных осложнениях с помощью прокальцитонина (ПКТ) как специфического биологического маркера бактериальной инфекции.

Одной из проблем практического здравоохранения являются инфекционные осложнения и как наиболее серьезная угроза для здоровья человечества по всему земному шару — устойчивость к антибиотикам. Высокий уровень резистентности

к антибиотикам закономерно влияет как на эффективность антимикробной терапии, так и на тактику и стратегию их применения у взрослых и детей [1].

Несмотря на современный арсенал методов диагностики и лечения, летальность при инфекционных осложнениях остается высокой. Современные требования к лабораторной диагностике осложненного течения заболеваний предполагают применение дополнительных молекулярных и серологических методов для получения своевременного и точного результата. Одним из путей решения проблемы является применение биологических маркеров [2].

Число идентифицируемых биомаркеров по-прежнему увеличивается, хотя и более медленными темпами, чем в прошлом. Большинство из них недостаточно изучены [2].

Биомаркеры позволяют дать быструю характеристику, по которой можно идентифицировать патофизиологический процесс, и являются многообещающими инструментами, помогающими врачам выявлять пациентов с риском тяжелого течения заболевания [3]. Также биомаркеры могут иметь важное диагностическое значение для отличия неинфекционных состояний от инфекционного процесса и прогностическое значение (назначение профилей риска и прогнозирование исхода). В будущем могут иметь тераностическое значение (помощь в выборе и мониторинге терапии). Благодаря развитию системной биологии возможно появятся новые биомаркеры, которые станут ключом к персонализированному таргетному лечению сепсиса [4].

На сегодняшний день одним из наиболее специфичных и чувствительных маркеров бактериальной инфекции является прокальцитониновый тест. Это один из основных маркеров синдрома системной воспалительной реакции (ССВР), вызванного бактериями. ПКТ является предшественником гормона кальцитонина, который отвечает за метаболизм кальция и фосфора и поддерживает их постоянный уровень в крови, вырабатывается в щитовидной железе. В норме его содержание в крови минимально.

ПКТ был открыт в 1984 году, и за 30 лет использования его как маркера при ССВР накопился большой опыт как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов. Повышение концентрации ПКТ (как правило, более 10 нг/мл) происходит только при генерализации бактериальной инфекции и сепсисе и отражает ее степень, в то время как при вирусных и грибковых инфекциях уровень ПКТ не повышается [5]. Это может быть использовано для дифференциации патогенеза инфекционного процесса [6]. Практическую ценность имеет не только сам факт повышения уровня ПКТ, но и степень его повышения, прогрессирующий рост или длительно (более 3–5 суток) сохраняющийся высокий уровень. Оценка данных показателей в динамике в комплексе с изменениями других клинико-лабораторных показателей позволяет своевременно диагностировать и прогнозировать исход заболевания [7].

В современной клинической практике ПКТ превратился в новый многообещающий биомаркер для раннего выявления системных бактериальных инфекций [8].

ПКТ в 2021 году включен в международные рекомендации по ведению сепсиса и септического шока, следовательно, его можно использовать для точной диагностики бактериального сепсиса

и дифференциации его от других состояний, что особенно важно [9].

Послеоперационные инфекционные осложнения (ПОИО) вызывают серьезную озабоченность. Ранняя и точная диагностика инфекционных осложнений имеет решающее значение для своевременного лечения и улучшения результатов. ПКТ является одним из лучших маркеров для прогнозирования инфекционных осложнений после операций на поджелудочной железе [10, 11]. Уровни ПКТ и С-реактивного белка (СРБ) считаются полезными для раннего выявления инфекционных осложнений после лапароскопической резекции в лечении колоректального рака, а также являются хорошим инструментом для определения продолжительности антибиотикотерапии у пациентов с тяжелым острым панкреатитом. В то же время ПКТ может быть более полезным маркером, чем СРБ, для мониторинга послеоперационного течения и диагностики тяжелых бактериальных инфекций у пациентов, перенесших операцию на желудочно-кишечном тракте [12, 13].

ПКТ, как наиболее специфичный предиктор, в сочетании с эндотоксином могут быть потенциальными индикаторами, в том числе ранней диагностики и оценки прогноза у взрослых и детей с тяжелой пневмонией, осложненной сепсисом [14, 15].

Многообещающие результаты получены при изучении уровня ПКТ в плевральной жидкости для предсказания инфекционных осложнений в грудной клетке у пациентов, перенесших лобэктомия. По сравнению с концентрациями ПКТ в сыворотке, концентрации в плевральной жидкости были более чувствительными и позволяли прогнозировать инфекционные осложнения органов грудной клетки раньше у пациентов, перенесших лобэктомия [16].

ПКТ является хорошо известным прогностическим маркером после плановой кардиохирургической операции. Однако влияние повышенного уровня ПКТ на пациентов с изначально безрецидивным послеоперационным течением до сих пор остается неясным [17].

ПКТ на ранней стадии предоставляет клиницистам жизненно важную информацию и позволяет им улучшить лечение бактериальных/грибковых инфекций у пациентов с ослабленным иммунитетом, перенесших трансплантацию.

ПКТ — это высокоспецифичный анализ, который демонстрирует значительную диагностическую ценность при дифференциации бактериальных осложнений с эпизодами отторжения, что улучшает результаты выживаемости и качества жизни в послеоперационном периоде пациентов с трансплантатами сердца, легких и печени [18].

Ранняя диагностика материнского и неонатального сепсиса, как наиболее опасного патологического процесса, до сих пор считается сложной задачей как для клиницистов, так и для лабораторий из-за неспецифичности клинических проявлений и имеет важное значение [19]. Комбинация ПКТ и СРБ повышает точность диагностики неонатального сепсиса по сравнению с другими изученными маркерами [13]. ПКТ может быть полезен при прекращении приема антибиотиков, но его не следует использовать отдельно в качестве диагностического маркера неонатального сепсиса [20].

Основным применением ПКТ при COVID-19 является его способность, связанная с отрицательной прогностической ценностью > 90 %, исключать сопутствующую бактериальную инфекцию [21, 22]. В то же время повышенные концентрации ПКТ у пациентов с COVID-19 могут быть связаны с дыхательной недостаточностью, требующей длительной инвазивной искусственной вентиляции легких, и смертностью в стационаре. Эта ассоциация может быть независимой от бактериальной коинфекции [23].

Особый интерес представляет возможность использования теста на ПКТ для оптимизации лечения антибактериальными препаратами как для определения продолжительности, так и сокращения сроков их применения [24]. На основе ПКТ созданы алгоритмы введения антибиотиков для снижения антимикробной нагрузки. Период полувыведения ПКТ 24 часа позволяет своевременно проводить мониторинг и оценивать адекватность лечения антибактериальными препаратами. Сокращение продолжительности антибиотикотерапии имеет решающее значение для сведения к минимуму развития устойчивости к противомикробным препаратам, побочных эффектов и расходов на здравоохранение [25].

Таким образом, прокальцитонин хоть и не является идеальным маркером для диагностики сепсиса, но позволяет дифференцировать воспалительные явления, такие как отторжение или вирусные инфекции, невирусные инфекции, включая бактериальные, грибковые и протозойные инфекции. При этом результат исследования на ПКТ, как и других клинико-лабораторных параметров, нужно интерпретировать в строгом соответствии с клиникой заболевания. Поскольку сепсис — это патофизиологический процесс, а не специфический синдром, он слишком сложен, чтобы его можно было описать одним показателем. Тем не менее, ПКТ является одним из наиболее многообещающих параметров и полезным биомаркером для ранней диагностики тяжелой бактериальной

инфекции у пациентов в критическом состоянии. Особенно в сочетании с тщательной оценкой пациентов, новыми клиническими алгоритмами и с другими показателями [26, 27].

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Kutsevalova OYu, Pokudina IO, Rozenko DA, et al. Modern problems of antibiotic resistance of gram-negative pathogens of nosocomial infections in the Rostov region. *Medical Bulletin of the South of Russia*. 2019;10(3):91–96. In Russian [Куцевалова О.Ю., Покудина И.О., Розенко Д.А. и др. Современные проблемы антибиотикорезистентности грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в Ростовской области. *Медицинский вестник Юга России*. 2019;10(3):91–96]. DOI: 10.21886/2219-8075-2019-10-3-91-96.
2. Pierrakos C, Velissaris D, Bisdorff M, et al. Biomarkers of sepsis: time for a reappraisal. *Crit Care*. 2020 Jun 5;24(1):287. DOI: 10.1186/s13054-020-02993-5.
3. Guskova NK, Morozova AA, Rozenko DA, et al. Presepsin as a marker of sepsis in cancer patients after surgical interventions. *South Russian Journal of Oncology*. 2022;3(2):6–13. In Russian [Гуськова Н.К., Морозова А.А., Розенко Д.А. и др. Пресепсин как маркер сепсиса у онкологических больных после хирургических вмешательств. *Южно-Российский онкологический журнал*. 2022;3(2):6–13]. DOI:10.37748/2686-9039-2022-3-2-1.
4. Kaal A, Snel L, Dane M, et al. Diagnostic yield of bacteriological tests and predictors of severe outcome in adult patients with COVID-19 presenting to the emergency department. *Emerg Med J*. 2021;38(9): 685–691. DOI: 10.1136/emered-2020-211027.
5. Kutsevalova OYu, Lysenko IB, Kozel YuYu, et al. An integrated approach to the diagnosis of bacterial and fungal bloodstream infections in oncology patients. *South Russian Journal of Oncology*. 2020;1(4):15–21. In Russian [Куцевалова О.Ю., Лысенко И.Б., Козель Ю.Ю. Комплексный подход к диагностике бактериальных и грибковых инфекций кровотока у пациентов онкологического профиля. *Южно-Российский онкологический журнал*. 2020;1(4):15–21]. DOI:10.37748/2687-0533-2020-1-4-2.
6. Mobed A, Darvishi M, Tahavvori A, et al. Nanobiosensors for procalcitonin (PCT) analysis. *J Clin Lab Anal*. 2024;38(3): e25006. DOI: 10.1002/jcla.25006.
7. Van Engelen TSR, Wiersinga WJ, Scicluna BP, et al. Biomarkers in Sepsis. *Crit Care Clin*. 2018; 34(1):139–152. DOI: 10.1016/j.ccc.2017.08.010.
8. Lu CY, Kao CL, Hung KC, et al. Diagnostic efficacy of serum presepsin for postoperative infectious

complications: a meta-analysis. *Front Immunol.* 2023;12:14:1320683. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1320683.

9. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med.* 2021;47(11):1181–1247. DOI: 10.1007/s00134-021-06506-y.

10. Wang Q, Liu H, Zou L, et al. Early predictors of bacterial pneumonia infection in children with congenital heart disease after cardiopulmonary bypass: a single-centre retrospective study. *BMJ Open.* 2024;14(3): e076483. DOI: 10.1136/bmjopen-2023-076483.

11. Tatsuoka T, Okuyama T, Takeshita E, et al. Early detection of infectious complications using C-reactive protein and the procalcitonin levels after laparoscopic colorectal resection: a prospective cohort study. *Surg Today.* 2021;51(3):397–403. DOI:10.1007/s00595-020-02111-6.

12. Vasavada B, Patel H. Postoperative serum procalcitonin versus C-reactive protein as a marker of postoperative infectious complications in pancreatic surgery: a meta-analysis. *ANZ J Surg.* 2021;91(5):E260–E270. DOI: 10.1111/ans.16639.

13. Rashwan NI, Hassan MH, Mohey El-Deen ZM, et al. Validity of biomarkers in screening for neonatal sepsis - A single center -hospital based study. *Pediatr Neonatol.* 2019;60(2):149–155. DOI: 10.1016/j.pedneo.2018.05.001.

14. Saura O, Luyt CE. Procalcitonin as a biomarker to guide treatments for patients with lower respiratory tract infections. *Expert Review of Respiratory Medicine.* 2023;17(8):651–661. DOI:10.1080/17476348.2023.2251394.

15. Lu Y, Song L. Clinical Significance of Procalcitonin, Lactic Acid, and Endotoxin Testing for Children With Severe Pneumonia and Sepsis. *Altern Ther Health Med.* 2023;29(3):218–223.

16. Kouritas V, Zissis C, Bellenis I. Procalcitonin Measurement in Pleural Fluid to Predict Infectious Complications of the Chest Post Lung Resection. *J Invest Surg.* 2021;34(12):1317–1321. DOI: 10.1080/08941939.2020.1801912.

17. Florin TA, Ambroggio L, Brokamp C, et al. Biomarkers and Disease Severity in Children With Community-Acquired Pneumonia. *Pediatrics.* 2020;145(6):e20193728. DOI:10.1542/peds.2019-3728.

18. Roth L, Eshmunov D, Russo L, et al. Serum procalcitonin improves diagnosis of infectious complications after CRS/HIPEC. *World J Surg Oncol.* 2023;12;21(1):5. DOI: 10.1186/s12957-022-02884-9.

19. Dockree S, Brook J, James T, et al. A pregnancy-specific reference interval for procalcitonin. *Clin Chim Acta.* 2021;513:13–16. DOI: 10.1016/j.cca.2020.12.007.

20. Beaumont R, Tang K, Gwee A. The Sensitivity and Specificity of Procalcitonin in Diagnosing Bacterial Sepsis in Neonates. *Hosp Pediatr.* 2024;14(3):199–208. DOI: 10.1542/hpeds.2023-007318.

21. Dolci A, Robbiano C, Aloisio E, et al. Searching for a role of procalcitonin determination in COVID-19: a study on a selected cohort of hospitalized patients. *Clin Chem Lab Med.* 2020;59(2):433–440. DOI: 10.1515/cclm-2020-1361.

22. Heer RS, Mandal AK, Kho J, et al. Elevated procalcitonin concentrations in severe COVID-19 may not reflect bacterial co-infection. *Annals of Clinical Biochemistry.* 2021;58(5):520–527. DOI: 10.1177/00045632211022380.

23. Martin-Loeches I, Torres A, Nagavci B, et al. ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of severe community-acquired pneumonia. *Eur Respir J.* 2023;61(4):2200735. DOI: 10.1183/13993003.00735-2022.

24. Sepsis (in adults). Clinical recommendations. 2022. (In Russ.) [Сепсис (у взрослых). Клинические рекомендации. 2022] URL: <https://www.antibiotic.ru/files/306/kr-sepsis-vzroslye.pdf>

25. Farias JS, Villarreal EG, Dhargalkar J, et al. C-reactive protein and procalcitonin after congenital heart surgery utilizing cardiopulmonary bypass: When should we be worried? *J Card Surg.* 2021;36(11):4301–4307. DOI: 10.1111/jocs.15952.

26. Schuetz P. How to best use procalcitonin to diagnose infections and manage antibiotic treatment. *Clin Chem Lab Med.* 2022;61(5):822–828. DOI: 10.1515/cclm-2022-1072.

27. Ivaska L, Herberg J, Sadarangani M. Distinguishing community-acquired bacterial and viral meningitis: Microbes and biomarkers. *J Infect.* 2024;88(3):106111. DOI: 10.1016/j.jinf.2024.01.010.

Информация об авторах:

Алексеева Наталья Сергеевна, к.м.н., доцент кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России

Алексеев Владимир Вячеславович, д.м.н., заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России

Кутевалова Ольга Юрьевна, к.б.н., ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России

Authors information:

Alekseeva Natalya Sergeevna, Ph.D. med. Sciences, Associate Professor of the Department of Normal Physiology, Rostov State Medical University

Alekseev Vladimir Vyacheslavovich, Dr. med. Sciences, Head, Department of Histology, Cytology and Embryology, Rostov State Medical University

Kutsevalova Olga Yurievna, Ph.D. biol. Sciences, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

ПОТЕНЦИАЛ ИНТЕГРАЦИИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ДВИ В КОМПЛЕКСНЫЕ МРТ ИССЛЕДОВАНИЯ. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Левандовский Е. В.¹, Улезко Е. А.¹, Гольцев М. В.²

¹ Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Республика Беларусь

² Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Республика Беларусь

Контактная информация:

Левандовский Евгений Валерьевич,
ГУ РНПЦ «Мать и дитя»,
ул. Орловская, д. 66, Минск, Республика
Беларусь, 220053.
E-mail: lewandowski10mg@gmail.com

Статья поступила в редакцию 22.04.2024
и принята к печати 17.06.2024.

Резюме

В клинической практике активно применяется метод диффузионно-взвешенной МРТ, с помощью которой можно получить диффузионно-взвешенные изображения (ДВИ), представляющие собой методы визуализации броуновского движения молекул воды в биологических тканях. Согласно общеизвестным оценкам, организм человека примерно на 60–85 % состоит из воды, а в цитоплазме клетки, являющейся структурной и функциональной единицей живой биоткани, содержится 75–85 % воды, которая является растворителем для органических и неорганических веществ и участвует в метаболизме и терморегуляции. Диффузионно-взвешенные изображения позволяют качественно и количественно оценить информацию об особенностях движения протонов водорода в зоне интереса. Целью данного литературного обзора стояло более углубленное изучение не только спектра клинического применения последовательности ДВИ, но также ее физических основ для оптимизации протоколов сканирования путем корректирования настроек аппаратуры для получения более информативных результатов.

Ключевые слова: ДВИ, МРТ, физические аспекты.

Для цитирования: Левандовский Е.В., Улезко Е.А., Гольцев М.В. Потенциал интеграции последовательности ДВИ в комплексные МРТ исследования. Литературный обзор. Трансляционная медицина. 2024; 11(3): 253-263. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-3-253-263. EDN: INLNYN

THE POTENTIAL OF INTEGRATING MOTION SEQUENCES INTO COMPREHENSIVE MRT STUDIES. LITERATURE REVIEW

Yevgeni V. Levandouski¹, Elena A. Ulezka¹, Mikhail V. Goltsev²

¹ Republican scientific and practical center “Mother and child”, Minsk, Belarus

² Belarusian state medical university, Minsk, Belarus

Corresponding author:

Yevgeni V. Levandouski,
Republican scientific and practical center
“Mother and child”,
Orlovskaya str., 66, Minsk, Belarus, 220053.
E-mail: lewandowski10mg@gmail.com

Received 22 April 2024; accepted 17 June 2024.

Abstract

The diffusion-weighted MRI method has been actively used in clinical practice to obtain diffusion-weighted images (DWI), which are methods of visualizing the Brownian motion of water molecules in biological tissues. According to well-known estimates, the human body consists of about 60–85 % water, and the cytoplasm of the cell, which is a structural and functional unit of living tissues, contains 75–85 % water, which is a solvent for organic and inorganic substances, and is involved in metabolism and thermoregulation. Diffusion-weighted imaging allows qualitative and quantitative assessment of information about hydrogen proton motion patterns in the zone of interest. The aim of this literature review was to further explore not only the spectrum of clinical applications of DWI sequence, but also its physical basis for the possibility of optimizing scanning protocols by adjusting instrument settings to obtain more informative results.

Key words: DWI, MRI, physics.

For citation: Levandouski YV, Ulezka EA, Goltsev MV. The potential of integrating motion sequences into comprehensive MRT studies. Literature review. Translational Medicine. 2024; 11(3): 253-263. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-3-253-263. EDN: INLNYN

Список сокращений: ДВИ — диффузионно-взвешенные изображения, ИКД — измеряемый коэффициент диффузии, КТ — компьютерная томография, МРТ — магнитно-резонансная томография.

Введение

Методы визуализации на основе ядерно-физических методов исследования, применяемые в современной медицинской практике, дают широкие возможности для своевременной диагностики заболеваний, а новейшее программное обеспечение для анализа биологических изображений (Biological Image Analysis, BIA) имеет множество применений в количественных измерениях, особенно нацеленных на понимание различных осо-

бенностей клеточной биологии, молекулярной биологии и нейробиологии.

Вместе с тем, ряд патологических изменений, как метаболических, так и функциональных, не всегда определяются при помощи рентгеновской компьютерной (КТ) и магнитно-резонансной (МРТ) томографии, а также при использовании других современных методов визуализации: позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ), однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ), в том числе с помощью мультисканеров ОФЭКТ/КТ и ПЭТ/КТ [1].

В последние годы в клинической практике начинает активно применяться метод диффузионно-взвешенной МРТ, с помощью которой можно получить диффузионно-взвешенные изображения

(ДВИ), представляющие собой методы визуализации броуновского движения молекул воды в биологических тканях [2, 3].

Диффузия — это перемещение молекул одного вещества в промежутках между молекулами другого вещества. В идеальной однородной среде диффузия носит случайный и изотропный характер, то есть с одинаковой вероятностью молекулы перемещаются во всех направлениях. Данный феномен и получил название «броуновское движение».

Диффузия молекул воды в биологической ткани, в отличие от свободной диффузии молекул воды в лабораторных условиях, всегда ограничена клеточными мембранами и представляет собой комбинацию диффузии внутриклеточной жидкости, а также диффузии внеклеточной жидкости, и, наконец, диффузии между внутри- и внеклеточными пространствами, а вклад пространства зависит от вида ткани и патологии [4].

Согласно общеизвестным оценкам, организм человека примерно на 60–85 % состоит из воды, а в цитоплазме клетки, являющейся структурной и функциональной единицей живой биоткани, воды содержится 75–85 %. Вода является растворителем для органических и неорганических веществ и участвует в метаболизме и терморегуляции. Совокупность важнейших процессов в клетке, таких как обмен веществ, поддержание постоянного ионного состава, возбуждение, связана с процессами диффузии и переносом веществ через клеточную мембрану.

В сложной среде человеческого организма вода распределена либо в клетках, либо в межклеточном пространстве. Во внеклеточном пространстве диффузию молекул воды можно считать относительно свободной, в то время как внутриклеточная диффузия этих же молекул относительно ограничена. Гистология органов человеческого организма достаточно хорошо изучена и имеет определенную клеточную архитектуру, что подразумевает определенное соотношение внутриклеточных и внеклеточных физических пространств для диффузии молекул, и, как следствие, имеет характерные диффузионные свойства.

Соотношения гистологического строения биоткани и скорости диффузии достаточно сложны, но определено, что плотность расположения клеток и уменьшение объема внеклеточного пространства ведут к уменьшению скорости диффузии.

Диффузионно-взвешенные изображения позволяют качественно и количественно оценить информацию об особенностях движения протонов водорода в зоне интереса (ROI — англ. region of interest). Таким образом, применение методики ДВИ позволяет расширить традиционные взгляды

на анатомический аспект сущности МРТ и оценить функциональную составляющую области интереса того или иного органа или системы.

Историческая справка

Целью любых методов медицинской визуализации является получение изображений с максимальным контрастным и пространственным разрешением. Изначально вся медицинская визуализация основывалась на плотностных характеристиках ткани, благодаря которым определялась их экзогенность в случаях ультразвуковой диагностики или денсивность — в случаях КТ. В 1970-х годах, благодаря работам P. Lauterbur, P. Mansfield и R. Ernst, получена новая методика визуализации — МРТ [5]. МРТ обеспечила превосходное пространственное разрешение не только за счет протонной плотности тканей, но и за счет их релаксационных свойств. Именно релаксационные свойства протонов водорода обеспечивают достаточное контрастное разрешение тканей человеческого организма. После определенных успехов в разработке первоначальных T1-взвешенных и T2-взвешенных изображений (ВИ), исследователи сконцентрировались на создании других методов получения информации о состоянии тканей, путем использования иных свойств протонов водорода.

Диффузионно-взвешенная визуализация (DWI — англ. diffusion weighted imaging) изобретена E. Stejskal и J. Tanner и модернизирована D. Le Bihan [6]. В 1984 году, еще до эпохи использования контрастных препаратов при проведении МРТ, D. Le Bihan пытался дифференцировать опухоли и ангиомы печени. Он предположил, что скорость диффузии молекул в солидных образованиях будет ниже, чем в жидкостных, из-за большего скопления клеточного материала и ограничения диффузии молекул структурными компонентами клеток. Опираясь на пилотные разработки E. Stejskal и J. Tanner 1960-х годов, он выдвинул гипотезу, что скорость диффузии протонов водорода может быть определена с помощью специфических градиентных импульсных последовательностей. Интеграция градиентных последовательностей с анализом диффузии в систему кодирования протоколов МРТ являлась достаточно сложной задачей. Первые разработки продемонстрировали весьма неутешительный результат: скорость сканирования на томографах 0,5Т была крайне низкой, а множественные артефакты от дыхания при исследовании печени и вовсе вуалировали практически всю зону сканирования [6].

Только появление эхо-планарной визуализации (EPI — англ. echo-planar imaging) в начале

1990-х позволило воплотить идеи использования ДВИ-последовательности в жизнь [6, 7]. Применение градиентных импульсов позволяет маркировать каждую молекулу воды в системе и ее положение по отношению к используемому градиенту. Диффузионные последовательности, основанные на EPI, были достаточно быстрыми для своего времени и определяли относительную скорость диффузии протонов водорода в исследуемых тканях. Ранние работы М. Moseley и S. Warach доказали, что ДВИ-последовательность является краеугольным камнем в ранней диагностике ишемического процесса в головном мозге [8, 9]. Существенную роль в получении ДВИ играет принцип диффузионной контрастности, в основе которого лежит снижение МР-сигнала диффузии протонов водорода вдоль градиента поля.

При использовании последовательности DWI градиенты определения изменений диффузии применяются ко всем из 180° -фокусных импульсов. Параметр «значение b » определяет как начальную точку фокуса молекул, так и конечную, и выражается в $\text{с}/\text{мм}^2$. Он пропорционален квадрату амплитуды и длительности применяемого градиента. Качественная оценка диффузии производится по моделированным картам измеряемого коэффициента диффузии (ИКД), измеряемого в $\text{мм}^2/\text{с}$. Ткани с признаками ограничения диффузии имеют гиперинтенсивный сигнал на исходном изображении, полученном с применением градиентов любой направленности, и гипоинтенсивный сигнал на карте ИКД. Сигнал от ДВИ зависит одновременно от скорости релаксации T2 и от скорости диффузии в тканях.

М. Moseley отмечал, что контрастность белого вещества головного мозга на ДВИ изменяется в зависимости от пространственного направления градиентов диффузионного кодирования [8]. Р. Douek и соавторы предположили, что это связано с тем, что диффузия воды в волокнах белого вещества происходит быстрее вдоль направления аксонов и медленнее в перпендикулярном к ним направлении — это явление известно как анизотропия [10]. Р. J. Basser с соавторами предложили использовать алгоритм трехмерной реконструкции пучков нервных волокон, что дало рождение новой последовательности, известной как диффузионно-тензорные изображения (ДТИ) [11]. Первые клинические испытания последовательности ДТИ были применимы лишь для центральной нервной системы, однако быстрый прогресс в области МРТ сделал возможным ее применение для оценки периферической нервной системы [12].

Физические основы и математическое описание последовательности ДВИ

Исходя из того, что в основе получения ДВИ лежит T2-взвешенная импульсная последовательность в режиме спинового эха с регистрацией эхо-сигнала, как правило, с помощью технологий EPI (Echo Planar Imaging), для формирования ДВИ в импульсную последовательность включаются дополнительные диффузионные градиентные импульсы, которые подаются вдоль определенных направлений (x , y , z или промежуточные). Регистрируемый сигнал зависит от степени подвижности молекул воды в исследуемых объектах и параметров градиентных импульсов. Максимальная интенсивность сигнала на ДВИ будет наблюдаться для молекул с низкой подвижностью, то есть низким коэффициентом диффузии [13].

Вместе с тем, несмотря на достаточное количество публикаций и расширяющееся применение ДВИ МРТ, пока нет единого стандарта сканирования в режиме ДВИ. У разных производителей оборудования измеряемый коэффициент диффузии (ИКД — англ. Apparent Diffusion Coefficient) как количественная характеристика и интенсивность сигнала на ДВИ (качественная характеристика) могут существенно различаться [14, 15].

В ряде работ представлены математические модели, описывающие зависимость ИКД от величины отношения сигнал/шум и других технических характеристик МР-томографа, показано, что используемый для диагностики показатель ИКД имеет разные значения в зависимости от параметров сканирования [16].

Одним из вариантов математического описания физических принципов, лежащих в основе ДВИ, может быть использование следующих уравнений. Первыми уравнениями являются законы Фика, которые описывают диффузию и могут применяться для нахождения коэффициента диффузии D .

Первый закон Фика отображен в формуле 1:

$$N(x, t) = -D \frac{dc}{dx}, \quad (1)$$

где x — линейное перемещение, t — время, N — количество частиц, проходящих мимо координаты x в момент времени t , D — коэффициент диффузии (экспериментальная константа, зависящая от среды, свойств вещества в среде, давления и температуры), $c(x, t)$ — концентрация частиц в положении x на момент времени t в локальном объеме. Эта формула элементарно демонстрирует, что поток диффузии пропорционален градиенту концентрации.

Из этого уравнения следует второй закон Фика, который отображен в формуле 2:

$$\frac{dc}{dt} = D \frac{d^2c}{dx^2}, \quad (2)$$

Это уравнение демонстрирует, как изменяется локальная концентрация диффундирующих частиц с течением времени.

Существуют различные методы оценки коэффициента диффузии D , но особый интерес представляет формула Стокса-Эйнштейна, применимая для потоков с малыми значениями числа Рейнольдса, которые характерны для биологических систем. Уравнение Стокса-Эйнштейна отображено в формуле 3:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r}, \quad (3)$$

где D — коэффициент диффузии, k_B — постоянная Больцмана (определяющая связь между температурой и энергией), T — абсолютная температура, η — подвижность частиц, r — радиус частиц.

Формула Эйнштейна-Смолуховского (независимо открытая А. Эйнштейном в 1905 г. и М. Смолуховским в 1906 г. в ходе работ по изучению броуновского движения) может быть использована, чтобы вывести зависимость между средним квадратичным смещением диффундирующих частиц и коэффициентом диффузии, однако использование коэффициента диффузии, полученного путем подстановки среднего квадратичного смещения в законы Фика, для моделирования ДВИ не подходит [17].

В 1991 году Р. Callaghan смоделировал МР-сигнал от молекул, ограниченных в 1-, 2- и 3-мерных твердых сферах с помощью функции распространения (пропагатора), полученной из формулы диффузии. Пропагатор представляет собой решение уравнения диффузии с заданными граничными условиями в случае, когда неоднородным членом является дельта-функция Дирака (обобщенная функция, позволяющая записать точечное воздействие, а также пространственную плотность физических величин). Она является функцией времени диффузии и пространственного положения в моменты времени $t = 0$ и t и представлена в формуле 4:

$$P_s(r | r', t), \quad (4)$$

где P_s — условная вероятность, r и r' — положения в моменты времени $t = 0$ и t соответственно.

Пропагатор — это условная вероятность, что молекула, существующая в точке r в момент $t = 0$, существует и в точке r' в момент t . Другими слова-

ми, пропагатор демонстрирует, как изменяет свое пространственное расположение элементарная частица через время диффузии t .

Таким образом, Р. Callaghan смоделировал МР-сигнал $S(q, t)$, используя импульсно-градиентное спин-эхо (PGSE — англ. pulsed gradient spin-echo) с длительностью градиента $\delta \rightarrow 0$ и временем диффузии t , формулой 5:

$$S(q, t) = \iint \rho(r, 0) P_s(r | r', t) \exp[i2\pi q(r' - r)] dr dr', \quad (5)$$

где q — q -вектор, равный $(2\pi)^{-1} \gamma g \delta$, γ — гиромагнитное отношение, g — вектор диффузионного градиента, d — длительность диффузионного градиента, t — момент времени, $\rho(r, 0)$ — распределение при $t = 0$, P_s — условная вероятность, $i2\pi q(r' - r)$ — остаточный фазовый сдвиг, экспонента — разность фаз, обусловленная диффузионным градиентом в момент времени $t = 0$ и t , задаваемым q -вектором.

Таким образом, этот интеграл демонстрирует ожидаемое значение намагниченности с разбросом фаз, определенных условной вероятностью, которая представляет собой чистый МР-сигнал.

Ожидаемое значение среднего квадрата смещения может быть рассчитано с помощью формулы 6:

$$\langle (r' - r)^2 \rangle = \iint \rho(r, 0) P_s(r | r', t) (r' - r)^2 dr dr', \quad (6)$$

Самый важный момент применения последовательности ДВИ — это анализ и интерпретация результатов, которые уникально зависят от того, какие параметры заданы в настройках последовательности. Степень взвешенности по скорости диффузии задается значением параметра протокола импульсной последовательности — b .

При постоянном значении коэффициента диффузии МР-сигнал уменьшается, в то время как значение b увеличивается. С другой стороны, МР-сигнал, рассчитанный по методу Р. Callaghan, при определенных условиях (после однократного уменьшения) имеет тенденцию к увеличению при более высоких значениях b [18]. А. Bar-Shir получил аналогичные результаты в экспериментах с использованием тонких стеклянных трубок. Наблюдаемая тенденция обусловлена дисперсией фазы в ограниченном пространстве. Локальные минимумы МР-сигнала возникают тогда, когда произведение размера системы и q является интегралом, а дисперсия фазы имеет наибольшую

эффективность. В случаях, когда коэффициент диффузии является константой, предсказать эти значения невозможно. Ключевой момент в том, что диффузию можно наблюдать только с помощью МР-измерений [19].

Во-первых, фактор диффузии b играет очень большую роль в изменениях контрастности тканей и количественных показателей ИКД. Однако одно и то же значение коэффициента b вовсе не всегда демонстрирует одинаковую контрастность и количественные показатели. Эта проблема связана с определением «собственно значения b » и не является следствием различий между производителями и сканерами разных поколений.

Величина фактора b зависит от длительности градиентов диффузии и времени задержки между ними, что отображено в формуле 7:

$$b = \gamma^2 G^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3} \right), \quad (7)$$

где γ — гиромагнитное отношение, G — амплитуда диффузионного градиента, δ — длительность диффузионного градиента, Δ — интервал между двумя диффузионными градиентами.

G определяется аппаратным обеспечением каждого магнитно-резонансного томографа. Поэтому для достижения одного и того же значения b может быть использовано разное время диффузии.

Во-вторых, количественные значения, полученные из диффузионно-взвешенного изображения, и их анализ определяются на основе значений измеряемого коэффициента диффузии.

В большинстве клинических статей время диффузии практически не упоминается. Однако при интерпретации ДВИ и их количественных показателей время диффузии играет значительно большую роль, чем b -значение. Один из новых методов диффузионной МР-томографии используется для исследования структуры ткани путем изменения времени диффузии t — интервала, в течение которого происходит спиновое смещение. Коэффициент диффузии зависит от t за исключением случаев свободной диффузии (характеризующихся отсутствием каких-либо барьеров и имеющих Гауссово распределение) [20]. С увеличением t увеличивается и коэффициент диффузии D . При достаточно большом t , D становится практически константой, а распределение становится Гауссовым. При достаточно большом показателе t каждый компартмент можно рассматривать как абсолютно однородную среду с коэффициентом диффузии D_∞ , при этом происходит усреднение всех микроструктурных особенностей, что делает исследование неинформативным [17].

Для системы, состоящей из множества компартментов, зависимость от t является сигнатурой микроскопических характеристик (таких как размер и плотность расположения клеток), поэтому поддается количественной оценке с помощью МРТ [21].

На данном этапе стоит отметить, что эти формулы необходимы для теоретического понимания процесса диффузии в ключе использования МРТ, но не для применения в рутинной клинической практике. Особенности структуры различных тканей по умолчанию имеют ту или иную степень ограничения диффузии молекул, а «идеальные условия», предполагаемые теорией, могут оказаться недостижимыми.

Следует также понимать, что последовательность ДВИ отображает расстояние, пройденное молекулой воды в вокселе и среднее направление ее траектории. Она не демонстрирует точную траекторию движения молекулы, а демонстрирует результат этого движения — положение этой молекулы на момент сканирования. Несмотря на то, что среднее значение рассчитывается всего лишь в одном вокселе, оно несет информацию о частицах, которые значительно меньше измеряемого вокселя — данное свойство позволяет оценить структуры ткани. Именно этот аспект является уникальным для последовательности ДВИ и представляет собой существенное отличие от других МР-последовательностей.

Способы сокращения времени сканирования

Важным моментом при проведении МРТ является время, затраченное на исследование, а относительно последовательности ДВИ — время получения информации. Перспективным шагом на пути к минимизации времени сканирования при ДВИ стала методика одновременного получения нескольких срезов [22]. Эта методика успешно применяется при исследованиях головного мозга, печени, а также сердечно-сосудистой системы и демонстрирует очень высокие результаты [23–25]. Однако пути сокращения времени сканирования стандартной ДВИ без потери клинически важной информации до сих пор находятся в стадии разработки.

Области применения последовательности ДВИ в клинической практике

Ишемические процессы в головном мозге. Применение ДВИ для диагностики острых нарушений мозгового кровоснабжения обрело крайне широкую популярность с момента своего появления, а на сегодняшний день является золотым стан-

дартом в диагностике ишемии головного мозга. Использование ДВИ в сочетании с перфузионной МРТ, а также с МР-ангиографией играет огромную роль в диагностике, а как следствие — и лечении нарушений мозгового кровоснабжения. Стандартным для нейровизуализации является применение значения b -фактора, равного 1000 с/мм^2 . Интерпретация характера движения молекул, лежащего в основе механизмов ограничения диффузии, изучена недостаточно. Взаимосвязь ограничения диффузии с тяжестью ишемии и клиническим исходом остается невыясненной [26].

Опухоли мозга. Определено, что значения измеряемого коэффициента диффузии (ИКД) снижены в опухолях, содержащих большое количество клеток, таких как лимфома центральной нервной системы, медуллобластома и глиома высокой степени злокачественности. Низкие значения ИКД характерны для крайне злокачественных опухолей. Количественные показатели ИКД также позволяют оценить ответ на проведенное лечение и/или выявить прогрессирование опухолевого процесса [27].

Патологические состояния белого вещества головного мозга. Высокие показатели чувствительности ДВИ к структурным изменениям позволяют диагностировать патологический процесс гораздо раньше, чем при применении других последовательностей. В белом веществе большого мозга любые изменения ориентации тканевых структур внутри вокселя приводят к изменению степени анизотропии. В литературных данных встречаются доказательства, что последовательность ДВИ позволяет выявить рассеянный склероз, болезнь Альцгеймера, лейкоэнцефалопатию, Валлеровскую дегенерацию, церебральную аутосомно-доминантную артериопатию с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией, а также ВИЧ-опосредованные лейкоэнцефалопатии [28–31]. Изменение анизотропии может быть следствием очень мелких аномалий в организации проводящих путей белого вещества, которые невозможно дифференцировать при стандартной визуализации. Это свойство определяет последовательность ДВИ как единственную на сегодняшний день, способную диагностировать подобные изменения [26].

Оценка возрастных особенностей головного мозга. Головной мозг не является статичной системой: тракты белого вещества, созревающие в раннем возрасте, подвергаются характерным изменениям по мере развития и старения организма [32]. Последовательность ДВИ имеет огромный потенциал для оценки степени зрелости вещества мозга в педиатрической практике. Степень анизотропии

волокон белого вещества увеличивается в процессе миелинизации, и, следовательно, диффузионные свойства молекул в белом веществе головного мозга изменяются в процессе роста и развития. В коре головного мозга взрослого человека метрические характеристики нейронов относительно изотропны, но все же обладают коротким временным интервалом анизотропии. Этот преходящий эффект анизотропии, вероятно, отражает процесс миграции и организации клеток кортикального слоя [26]. ДТИ также может быть использована для мониторинга процесса миелинизации на различных этапах развития головного мозга плода, новорожденного, у детей раннего возраста [33]. Аналогичным образом ДТИ может также применяться для определения нарушений процесса миграции серого вещества у детей [34].

Онкологические процессы

Последовательность ДВИ проста в применении и занимает мало времени при проведении стандартного МР-исследования. Для злокачественных новообразований характерны более низкие значения ИКД по сравнению с окружающими нормальными тканями, отеком и доброкачественными образованиями. Злокачественные опухоли различаются по клеточному составу и агрессивности, что может быть количественно оценено по значениям ИКД [35]. В настоящее время широко применяется ДВИ всего тела — диффузионно-взвешенная визуализация с подавлением сигнала фона (DWIBS — англ. diffusion-weighted whole-body imaging with background body signal suppression). Принцип DWIBS заключается в том, что на контрастность изображения влияет только некогерентное движение молекул воды в вокселе, которое является следствием процесса диффузии, значит, когерентное движение молекул вследствие одномоментного перемещения вокселей исследуемого объекта (дыхания, перистальтики) мало влияет на контрастность ДВИ. DWIBS предполагает многократное усреднение сигнала для увеличения соотношения сигнал/шум. Качество изображений позволяет провести в дальнейшем объемный анализ данных (мультипланарное реформирование, реконструкция проекций максимальной интенсивности и объемная реконструкция) [36]. На DWIBS сигналы от большинства здоровых тканей подавляются, за исключением простаты, селезенки, яичников и семенников, спинного мозга и эндометрия. Так же отчетливо определяются области с ограниченной диффузией, такие как лимфатические узлы с высоким содержанием клеток. Небольшие опухоли в брюшной полости или за-

брюшинном пространстве также могут быть диагностированы с помощью этого метода [35].

Злокачественные новообразования головы и шеи. Отмечается значительная разница в показателях ИКД в случаях карцином, лимфом, доброкачественных опухолей слюнных желез и доброкачественных кист. J. Wang и соавторы определили, что значения ИКД менее $1,22 \times 10^{-3}$ мм²/с имеют 86 % положительную прогностическую точность определения злокачественности с чувствительностью 84 % и специфичностью 91 % [37]. ДВИ позволяет проводить дифференциальную диагностику доброкачественных и злокачественных опухолей, лимфомы и плоскоклеточного рака, а также доброкачественных и метастатических лимфаденопатий. ДВИ также позволяет дифференцировать некротические процессы в опухолях от абсцессов. Н. Kato и коллеги определили, что низкие значения ИКД более характерны для гнойного лимфаденита ($0,89 \pm 0,21 \times 10^{-3}$ мм²/с), чем для злокачественных новообразований ($1,46 \pm 0,46 \times 10^{-3}$ мм²/с) [38].

Злокачественные новообразования грудной полости. ДВИ может использоваться для дифференциальной диагностики злокачественных, доброкачественных и воспалительных процессов в легких, а также для диагностики мелкоклеточного и немелкоклеточного рака легкого. В метаанализе, проведенном G. Shen с соавторами, сообщается, что злокачественные образования легких имеют значительно более низкие показатели ИКД, чем доброкачественные; кроме того, существует значительная разница между показателями ИКД для мелкоклеточного и немелкоклеточного рака легкого. Определено, что интенсивность ДВИ сигнала и его гетерогенность отражают агрессивность немелкоклеточного рака легкого и обладают высокой специфичностью при его стадировании [39].

Рак молочной железы. Используя *b*-значения ниже 400 с/мм², определили, что в злокачественных опухолях молочной железы значения ИКД значительно ниже ($1,36 \pm 0,36 \times 10^{-3}$ мм²/с), чем в доброкачественных ($2,01 \pm 0,46 \times 10^3$ мм²/с). Количественные измерения ИКД используются в качестве дополнения к динамическому контрастному усилению. Также определено, что использование ИКД вместе с динамическим контрастированием позволяет проводить дифференциальную диагностику между протоковой карциномой *in situ* и инвазивным раком молочной железы. Установлено, что ДВИ имеет высокую чувствительность для выявления рака молочной железы, особенно в плотных молочных железах [40].

Онкологические заболевания гепатобилиарной системы и поджелудочной железы. После-

довательность ДВИ позволяет диагностировать и локализовать очаговые образования печени и может быть использована в качестве альтернативы контрастному усилению у пациентов с нарушением функции почек. МРТ с контрастированием имеет чувствительность 73,5 %, а ДВИ — 66,3 %, что является достаточно приближенным результатом [24]. ДВИ также применяется при оценке диффузных изменений печени, таких как липодистрофия и фиброз. Однако ее клиническая значимость по отношению к этим изменениям сомнительна, поскольку количественная оценка фиброза печени с помощью ИКД затруднена. Чувствительность и специфичность ДВИ в дифференцировке злокачественных и доброкачественных образований поджелудочной железы составляют 0,83 % и 0,77 % соответственно [41].

Заболевания кишечника. ДВИ используется для диагностики колоректального рака, метастазов, прогнозирования ответа после радиохимиотерапии и лечения рака прямой кишки. Помимо применения при злокачественных опухолях брюшной полости, ДВИ всего тела позволяет диагностировать воспалительные заболевания кишечника. ДВИ в сочетании с МР-энтерографией имеет более высокую чувствительность (92 %), чем МР-энтерография без ДВИ (79 %) в определении активности и распространенности воспалительного процесса [42].

Патология мочеполовой системы. С помощью ДВИ можно легко дифференцировать доброкачественные кисты почек от солидных новообразований. У пациентов с уротелиальной карциномой агрессивность процесса достаточно высоко коррелирует с показателями ИКД. ДВИ позволяет диагностировать карциномы в переходной зоне, опухоли шейки матки и эндометрия (с определением глубины инвазии), рак яичников. ДВИ всего тела используется для выявления метастазов в кости, обладает высокой чувствительностью к выявлению перитонеальной диссеминации. Определено, что измерения ИКД могут использоваться для предоперационной дифференциальной диагностики между лейомиомой матки и лейомиосаркомой, а также для прогнозирования ответа на лечение лейомиомы матки эмболизацией маточных артерий [43].

Визуализация периферических нервов. Развитие технологии ДТИ расширило ее применение на периферическую нервную систему и позволяет оценить целостность аксонов и миелиновой оболочки. ДТИ количественно оценивает раздражение спинномозговых нервов при фораминальном стенозе. Однако из-за сложности использования ши-

рокого применения в клинической практике последовательность ДТИ не обрела [8].

Патология опорно-двигательной системы.

ДВИ повышает диагностическую точность МРТ в дифференциальной диагностике патологических переломов, а также позволяет более точно оценить структурную целостность спинного мозга. Количественный анализ при ИКД выявляет микроскопические изменения в спинном мозге, которые не определяются на T2-ВИ и T1-ВИ. Использование ДВИ позволяет также проводить дифференциальную диагностику травм, рассеянного склероза, бокового амиотрофического склероза, миелита и опухолей спинного мозга [44].

Ограничения использования последовательности ДВИ

Алгоритмы, используемые при получении ДВИ, предполагают соблюдение нескольких условий, таких как идеальная однородность поля, бесконечно быстрое изменение градиента, идеальная форма радиочастотных импульсов и т. д. Однако при существующих технологиях градиентные катушки могут генерировать величину градиента и скорость его переключения в достаточно широком диапазоне. Такой разброс снижает точность ДВИ, приводит к ухудшению качества изображения и появлению артефактов. В ДВИ используется T2-SE последовательность, а интенсивность сигнала ткани зависит как от сигнала T2, так и от степени затухания сигнала после применения импульсов градиента. Поэтому в тканях с очень длинными временами релаксации T2 интенсивный сигнал T2 можно ошибочно принять за ограниченную диффузию — явление, известное как эффект T2-просвечивания. Артефакты восприимчивости возникают вследствие неоднородности магнитного поля, обусловленной сторонними предметами вблизи поля сканирования. Артефакты движения являются основным источником снижения качества изображения при ДВИ. Такого рода артефакты более выражены вдоль направления фазового кодирования, где создают дополнительные несуществующие изображения, потому что сгенерированный сигнал не ограничивается исходным вокселем и распространяется по всему изображению, создавая потенциальную ошибку в ИКД [45].

Текущие проблемы, методы их решения и перспективы

Большинство проблем, возникающих при проведении ДВИ, можно минимизировать путем оптимизации протокола сканирования. В настоящее время этому уделяется большое внимание, вне-

дряются новые разработки для повышения эффективности ДВИ. Последовательности без EPI (turbo-FLASH, HASTE, SSFP) или ДВИ с параллельным возбуждением из двух источников являются новыми технологиями, позволяющими преодолеть недостатки систем 3T. TRON (англ. tracking only navigator echo) — новая методика получения изображений ДВИ, позволяющая устранить артефакты, связанные с движением. Она непрерывно отслеживает срезы и корректирует их положение в реальном времени без использования каких-либо дополнительных устройств. Биполярная последовательность EPI — новый подход к минимизации артефактов, связанных с вихревыми токами (Фуко). Внутривоксельное некогерентное движение с биэкспоненциальной диффузией является методом использования перфузионной информации из диффузионных изображений. В обычных ДВИ предполагается, что вода в биологической среде подчиняется Гауссовым законам (нормальному распределению), что является чрезмерным упрощением системы. На самом деле молекулы воды в таких средах обладают негауссовыми свойствами, которые можно количественно оценить с помощью диффузионного эксцесса (диффузионно-куртозисные изображения — ДКИ). ДКИ позволяет оценить гетерогенность ткани и дает дополнительную информацию к той, которую получают при традиционной ДВИ. До недавнего времени для измерения активности мозга использовались позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) и функциональная BOLD-MPT. Доказано, что свойства диффузии воды модулируются активностью мозга. Изменения на диффузионной функциональной МРТ определяются быстрее, чем изменения на функциональной BOLD-MPT. Внедрение диффузионно-функциональной МРТ открыло новую парадигму. Она обладает огромным потенциалом для решения сложных загадок нейробиологии [46].

Выводы

Последовательность ДВИ является перспективным методом оценки функционального состояния тканей, потенциал которого полностью не раскрыт. Рекомендованные настройки параметров сканирования имеют достаточно широкую вариабельность. Протокол применения ДВИ при проведении МРТ плода и плаценты достаточно длительный и требует максимально возможного сокращения времени исследования, обеспечивающего получение полезной диагностической информации, возможности его сокращения без потери полезной информации не разработаны.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

- Townsend DW. Multimodality imaging of structure and function. *Phys. Med. Biol.* 2008 Feb 21;53(4):1–39. DOI: 10.1088/0031-9155/53/4/R01.
- Vilanova J, Barcelio J. Diffusion-weighted whole-body MR screening. *Eur Radiol* 2008; 67: 440–447. DOI: 10.1016/j.ejrad.2008.02.040.
- Bashir U. Diffusion-weighted imaging | Radiology Reference Article / Radiopaedia.org [Internet]. Radiopaedia. Available from: <https://radiopaedia.org/articles/diffusion-weighted-imaging-2?lang=us>
- Qayyum A. Diffusion-weighted Imaging in the Abdomen and Pelvis: Concepts and Applications. *RadioGraphics*. 2009 Oct;29(6):1797–1810. DOI: 10.1148/rg.296095521.
- Geva T. Magnetic Resonance Imaging: Historical Perspective. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*. 2006 Aug;8(4):573–580. DOI: 10.1080/10976640600755302.
- Le Bihan D. Diffusion MRI: what water tells us about the brain. *EMBO Mol Med*. 2014 May;6(5):569–573. DOI: 10.1002/emmm.201404055.
- Turner R, Le Bihan D, Maier J, et al. Echo-planar imaging of intravoxel incoherent motion. *Radiology*. 1990 Nov;177(2):407–414. DOI: 10.1148/radiology.177.2.2217777.
- Moseley M, Butts K, Yenari M, et al. Clinical Aspects of DWI. *NMR in Biomedicine*. 1995 Nov;8(7):387–396. DOI: 10.1002/nbm.1940080712.
- Warach S, Chien D, Li W, et al. Fast magnetic resonance diffusion-weighted imaging of acute human stroke. *Neurology*. 1992 Sep;42(9):1717–1718. DOI: 10.1212/wnl.42.9.1717.
- Douek P, Turner R, Pekar J, et al. MR color mapping of myelin fiber orientation. *J Comput Assist Tomogr*. 1991 Nov-Dec;15(6):923–929. DOI: 10.1097/00004728-199111000-00003.
- Basser PJ, Mattiello J, Le Bihan D. MR diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophysical Journal* [Internet]. 1994 Jan 1 [cited 2024 Jan 30];66(1):259–267. DOI: 10.1016/S0006-3495(94)80775-1.
- Naraghi A, Awdeh H, Wadhwa V, et al. Diffusion Tensor Imaging of Peripheral Nerves. *Semin Musculoskelet Radiol*. 2015 Mar 12;19(2):191–200. DOI: 10.1055/s-0035-1546824.
- Sergunova KA, Petraikin AV, Akhmad ES, et al. Modeling Diffusion Processes in Magnetic Resonance Imaging. *Radiology — Practice*. 2019;(2):50–68. In Russian [Сергунова К.А., Петрайкин А.В., Ахмад Е.С. и др. Моделирование процессов диффузии в магнитно-резонансной томографии. *Радиология — практика*. 2019;(2):50–68].
- Moraru L, Dimitrievici L. Apparent diffusion coefficient of the normal human brain for various experimental conditions. *AIP Conf. Proc.* 4 January 2017; 1796 (1): 040005. DOI:10.1063/1.4972383.
- Гележе П.Б., Трофименко И.А., Морозов С.П. Основы интерпретации диффузионно-взвешенной томографии всего тела. *Российский электронный журнал лучевой диагностики*. 2015;5(3):65–73.
- Nguyen HT, Grebenkov D, Van Nguyen D, et al. Parameter estimation using macroscopic diffusion MRI signal models. *Phys Med Biol*. 2015 Apr 21;60(8):3389–3413. DOI: 10.1088/0031-9155/60/8/3389.
- Hori M, Kamiya K, Murata K. Technical Basics of Diffusion-Weighted Imaging. *Magnetic Resonance Imaging Clinics of North America*. 2021 May;29(2):129–136. DOI: 10.1016/j.mric.2021.01.001.
- Callaghan PT, Coy A, MacGowan D, et al. Diffraction-like effects in NMR diffusion studies of fluids in porous solids. *Nature*. 1991 Jun;351(6326):467–469.
- Bar-Shir A, Avram L, Özarslan E, et al. The effect of the diffusion time and pulse gradient duration ratio on the diffraction pattern and the structural information estimated from q-space diffusion MR: Experiments and simulations. *Journal of Magnetic Resonance*. 2008 Oct;194(2):230–236. DOI: 10.1016/j.jmr.2008.07.009.
- Gomolka RS, Hablitz LM, Mestre H, et al. Loss of aquaporin-4 results in glymphatic system dysfunction via brain-wide interstitial fluid stagnation. *eLife*. 2023 Feb 9;12:1229–1233. DOI:10.7554/eLife.82232.
- Novikov DS, Fieremans E, Jespersen SN, Kiselev VG. Quantifying brain microstructure with diffusion MRI: Theory and parameter estimation. *NMR in Biomedicine*. 2019 Apr;32(4):3998. DOI: 10.1002/nbm.3998.
- Feinberg DA, Moeller S, Smith SM, et al. Multiplexed Echo Planar Imaging for Sub-Second Whole Brain fMRI and Fast Diffusion Imaging. *PLoS ONE*. 2010 Dec 20;5(12):e15710. DOI: 10.1371/journal.pone.0015710.
- Obele CC, Glielmi C, Ream J, et al. Simultaneous Multislice Accelerated Free-Breathing Diffusion-Weighted Imaging of the Liver at 3T. *Abdom Imaging*. 2015 Oct;40(7):2323–2330. DOI: 10.1007/s00261-015-0447-3.
- Taron J, Martirosian P, Erb M, et al. Simultaneous multislice diffusion-weighted MRI of the liver: Analysis of different breathing schemes in comparison to standard sequences. *Magnetic Resonance Imaging*. 2016 Oct;44(4):865–879. DOI: 10.1002/jmri.25204.
- Lau AZ, Tunnicliffe EM, Frost R, et al. Accelerated human cardiac diffusion tensor imaging using simultaneous multislice imaging. *Magn Reson Med*. 2015 Mar;73(3):995–1004. DOI: 10.1002/mrm.25200.
- Le Bihan D, Johansen-Berg H. Diffusion MRI at 25: Exploring brain tissue structure and function. *NeuroImage*. 2012 Jun;61(2):324–341. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2011.11.006.

27. Mabray MC, Barajas RF, Cha S. Modern Brain Tumor Imaging. *Brain Tumor Res Treat.* 2015;3(1):8–23. DOI: 10.14791/btrt.2015.3.1.8.
28. Chabriat H, Pappata S, Poupon C, et al. Clinical Severity in CADASIL Related to Ultrastructural Damage in White Matter. *Stroke.* 1999 Dec;30(12):2637–2643. DOI: 10.1161/01.STR.30.12.2637.
29. Eichler FS, Itoh R, Barker PB, et al. Proton MR Spectroscopic and Diffusion Tensor Brain MR Imaging in X-linked Adrenoleukodystrophy: Initial Experience. *Radiology.* 2002 Oct;225(1):245–252. DOI: 10.1148/radiol.2251011040.
30. Hanyu H, Sakurai H, Iwamoto T, et al. Diffusion-weighted MR imaging of the hippocampus and temporal white matter in Alzheimer's disease. *Journal of the Neurological Sciences.* 1998 Apr;156(2):195–200. DOI: 10.1016/s0022-510x(98)00043-4
31. Werring D, Clark C, Barker G, et al. Diffusion tensor imaging of lesions and normal-appearing white matter in multiple sclerosis. *Neurology.* 1999 May;52(8):1626–1932. DOI: 10.1212/wnl.52.8.1626.
32. Moseley M. Diffusion tensor imaging and aging — a review. *NMR in Biomedicine.* 2002 Nov;15(7-8):553–560. DOI: 10.1002/nbm.785.
33. Dubois J, Hertz-Pannier L, Dehaene-Lambertz G, et al. Assessment of the early organization and maturation of infants' cerebral white matter fiber bundles: A feasibility study using quantitative diffusion tensor imaging and tractography. *NeuroImage.* 2006 May;30(4):1121–1132. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2005.11.022.
34. Engelbrecht V, Scherer A, Rassek M, et al. Diffusion-weighted MR Imaging in the Brain in Children: Findings in the Normal Brain and in the Brain with White Matter Diseases. *Radiology.* 2002 Feb;222(2):410–418. DOI: 10.1148/radiol.2222010492.
35. Charles-Edwards EM. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging and its application to cancer. *Cancer Imaging.* 2006;6(1):135–143. DOI: 10.1102/1470-7330.2006.0021.
36. Карельская Н.А., Кармазановский Г.Г. Диффузионно-взвешенная магнитно-резонансная томография всего тела. *Хирургия.* 2010(8):57–60.
37. Surov A, Meyer HJ, Wienke A. Correlation between apparent diffusion coefficient (ADC) and cellularity is different in several tumors: a meta-analysis. *Oncotarget.* 2017 Aug 29;8(35):92–94. DOI: 10.18632/oncotarget.17752.
38. Kato H, Kanematsu M, Kato Z, et al. Necrotic cervical nodes: Usefulness of diffusion-weighted MR imaging in the differentiation of suppurative lymphadenitis from malignancy. *European Journal of Radiology.* 2013 Jan;82(1):e28–35. DOI: 10.1016/j.ejrad.2012.08.014.
39. Shen G, Jia Z, Deng H. Apparent diffusion coefficient values of diffusion-weighted imaging for distinguishing focal pulmonary lesions and characterizing the subtype of lung cancer: a meta-analysis. *Eur Radiol.* 2016 Feb;26(2):556–566. DOI: 10.1007/s00330-015-3840-y.
40. Wang Y, Zhang X, Cao K, et al. Diffusion-tensor imaging as an adjunct to dynamic contrast-enhanced MRI for improved accuracy of differential diagnosis between breast ductal carcinoma in situ and invasive breast carcinoma. *PubMed.* 2015 Apr 1;27(2):209–217. DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2015.03.04.
41. Hong B. Differential diagnosis of pancreatic cancer by single-shot echo-planar imaging diffusion-weighted imaging. *WJG.* 2015;21(20):6374–6380. DOI: 10.3748/wjg.v21.i20.6374.
42. Morani AC, Smith EA, Ganeshan D, Dillman JR. Diffusion-Weighted MRI in Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *American Journal of Roentgenology.* 2015 Jun;204(6):1269–1277. DOI: 10.2214/AJR.14.13359.
43. Baliyan V, Das C, Sharma S, Gupta A. Diffusion-weighted imaging in urinary tract lesions. *Clinical Radiology.* 2014 Aug;69(8):773–782. DOI: 10.1016/j.crad.2014.01.011.
44. Sung JK, Jee W, Jung J, et al. Differentiation of Acute Osteoporotic and Malignant Compression Fractures of the Spine: Use of Additive Qualitative and Quantitative Axial Diffusion-weighted MR Imaging to Conventional MR Imaging at 3.0 T. *Radiology.* 2014 May;271(2):488–498. DOI: 10.1148/radiol.13130399.
45. Chilla GS, Tan CH, Xu C, Poh CL. Diffusion weighted magnetic resonance imaging and its recent trend—a survey. *Quant Imaging Med Surg.* 2015 Jun;5(3):407–422. DOI: 10.3978/j.issn.2223-4292.2015.03.01.
46. Baliyan V, Das CJ, Sharma R, Gupta AK. Diffusion weighted imaging: Technique and applications. *World J Radiol.* 2016 Sep 28;8(9):785–798. DOI: 10.4329/wjr.v8.i9.785.

Информация об авторах:

Левандовский Евгений Валерьевич, к.м.н., врач-рентгенолог кабинета рентгеновской компьютерной диагностики отделения лучевой диагностики ГУ РНПЦ «Мать и дитя»;

Улезко Елена Альбертовна, д.м.н., профессор, заместитель директора по педиатрии ГУ РНПЦ «Мать и дитя»;

Гольцев Михаил Всеволодович, к.ф.-м.н., доцент, заведующий кафедрой медицинской и биологической физики УО «БГМУ».

Authors information:

Yevgeni V. Levandouski, PhD, Radiologist, Radiological dept., RSPC “Mother and child”;

Elena A. Ulezka, MD, Professor, Assistant director of pediatrics, RSPC “Mother and child”;

Mikhail V. Goltsev, PhD, Associate Professor, Head of Dept of Medical and Biological Physics, BSMU.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КРОССЛИНКЕРОВ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ БИОРАСПОЗНАЮЩИХ ЭЛЕМЕНТОВ В ИМПЕДИМЕТРИЧЕСКИХ БИОСЕНСОРНЫХ СИСТЕМАХ ОБНАРУЖЕНИЯ БЕЛКОВЫХ МАРКЕРОВ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Рябко А. А.¹, Ситков Н. О.^{2,3}, Марценюк Е. Н.², Зимина Т. М.^{2,3},
Гареев К. Г.^{2,3}, Шевцов М. А.³

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Физико-технический институт имени А. Ф. Иоффе Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» имени В. И. Ульянова (Ленина)», Санкт-Петербург, Россия

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

Контактная информация:

Ситков Никита Олегович,
СПбГЭТУ «ЛЭТИ»,
ул. Профессора Попова, д. 5, лит. Ф,
Санкт-Петербург, Россия, 197376.
E-mail: sitkov93@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 26.03.2024
и принята к печати 07.06.2024.

Резюме

Одними из наиболее перспективных типов биосенсорных систем для детектирования белковых маркеров заболеваний являются импедиметрические биосенсоры. Важной задачей при разработке таких сенсоров является иммобилизация биораспознающих элементов на поверхности электродов. Молекулы, которые содержат активные функциональные группы и обеспечивают связывание поверхности электродов с функциональными группами биораспознавателей, называют сшивающими агентами, или кросслинкерами. В данном обзоре рассмотрены различные типы кросслинкеров, применяемые для иммобилизации биораспознающих элементов на поверхности электродов из различных материалов, а также описаны технологические особенности их использования для создания биосенсорных структур для обнаружения маркерных белков. Данный обзор будет полезен специалистам в медицинской химии, биохимии и нанотехнологии.

Ключевые слова: белковые маркеры, биосенсоры, иммобилизация, импедиметрия, кросслинкеры, нанотехнологии.

Для цитирования: Рябко А.А., Ситков Н.О., Марценюк Е.Н. и др. Использование кросслинкеров для иммобилизации биораспознающих элементов в импедиметрических биосенсорных системах обнаружения белковых маркеров заболеваний. *Трансляционная медицина*. 2024; 11(3): 264-283. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-3-264-283. EDN: IHLCGV

THE USE OF CROSSLINKERS FOR IMMOBILIZATION OF BIORECOGNITION ELEMENTS IN IMPEDIMETRIC BIOSENSORS FOR PROTEIN BIOMARKERS DETECTION

Andrey A. Ryabko¹, Nikita O. Sitkov^{2,3}, Elizaveta N. Martsenyuk²,
Tatiana M. Zimina^{2,3}, Kamil G. Gareev^{2,3}, Maxim A. Shevtsov³

¹ Ioffe Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

² Saint Petersburg Electrotechnical University “LETI”, Saint Petersburg, Russia

³ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Nikita O. Sitkov,
Saint Petersburg Electrotechnical University
“LETI”,
Professora Popova str., 5, Saint Petersburg,
Russia, 197376.
E-mail: sitkov93@yandex.ru

Received 26 March 2024; accepted 07 June 2024.

Abstract

One of the most promising types of biosensor systems for detection of protein markers of diseases are impedimetric biosensors. An important issue in the development of such sensors is the immobilization of biorecognition elements on the electrode surface. Molecules that contain active functional groups and provide binding of the electrode surface to the functional groups of biorecognition elements are called crosslinkers. This review discusses different types of crosslinkers used for immobilization of biorecognition elements on various electrode materials and describes the technological features of their use to create biosensor structures for the detection of marker proteins. This review will be useful to experts in medicinal chemistry, biochemistry and nanotechnology.

Key words: biosensors, crosslinkers, immobilization, impedimetric detection, nanotechnology, protein markers.

For citation: Ryabko AA, Sitkov NO, Martsenyuk EN, et al. The use of crosslinkers for immobilization of biorecognition elements in impedimetric biosensors for protein biomarkers detection. Translational Medicine. 2024; 11(3): 264-283. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-3-264-283. EDN: IHLCGV

Список сокращений: БСА — бычий сывороточный альбумин, МИП — молекулярно-импринтированные полимеры, ТЭА — триэтоксисилановый альдегид 4-АТР — 4-аминотиофенол, АРТЕS — (3-аминопропил) триэтоксисилан, EDC — N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)-карбодиимид, FTO — легированный фтором оксид олова, ITO — оксид индия-олова, NHS — N-гидроксисукцинимид, PBS — фосфатный буфер, SAM — самоорганизующиеся монослои.

Белки — это важные биомолекулы, которые участвуют в различных жизненных процессах в орга-

низме, таких как катализ, транспорт, сигнализация, регуляция, защита и поддержание структуры. Белки являются молекулярными маркерами различных физиологических состояний. Поэтому детектирование и количественная оценка уровней белков имеют важное значение для диагностики и мониторинга многих заболеваний, в том числе инфекционных, онкологических, аутоиммунных и др. [1–3]. Специалистами отмечается, что точная и своевременная диагностика таких заболеваний требует совершенствования и развития существующих методик детектирования (иммуоферментный анализ (ИФА), иммунофлуоресцентный анализ, хроматография,

электрофорез и т. д.) [4, 5], а также создания новых методов, способных осуществлять более быстрое, высокочувствительное, специфическое, простое и экономичное детектирование белковых маркеров. Еще одной важной задачей современной биомедицины является разработка новых устройств, позволяющих осуществлять экспресс-диагностику заболеваний на месте исследования (Point-of-Care Testing). Подобные системы могут быть реализованы на основе биосенсорных устройств, использующих специфичные биохимические реакции для обнаружения аналита [6, 7]. Точность данных, полученных с помощью биосенсоров, определяется составом анализируемых образцов, биохимическими свойствами используемого распознающего элемента, конструкцией устройства, а также характеристиками преобразователя сигналов.

Наиболее распространенными в биосенсорике являются оптические и электрохимические методы детектирования. При этом электрохимические биосенсоры обладают рядом преимуществ, таких как простота конструкции и миниатюризации, низкий уровень помех от окружающей среды, а также возможность имплантации в тело человека для осуществления непрерывного мониторинга [8]. Электрохимические биосенсоры принято разделять на три группы в зависимости от типа измеряемого параметра: потенциметрические, амперометрические и импедиметрические [9]. Импедиметрические биосенсоры фиксируют изменение комплексного электрического сопротивления (импеданса) в электрохимической ячейке при связывании целевого белка с поверхностью электрода, которая модифицирована специфическими биорецепторами. В отличие от потенциметрических и амперометрических биосенсоров, импедиметрическим биосенсорам не требуются метки для определения аналита, что делает их производство более простым, технологичным и экономичным.

На сегодняшний день импедиметрические биосенсоры являются одним из самых востребованных направлений для детектирования белковых аналитов. Среди распространенных примеров белковых мишеней импедиметрической биосенсорике можно выделить:

- *Воспалительные биомаркеры:* С-реактивный белок [10] и интерлейкин-6 (IL-6) [11], которые часто ассоциируются с воспалительными и аутоиммунными заболеваниями.

- *Биомаркеры сердечной недостаточности:* Сердечные тропонины [12], креатинкиназа [13], миоглобин [14] или В-типа натрийуретический пептид (BNP) [15], которые могут указывать на сердечную недостаточность.

- *Онкомаркеры:* Простатический специфический антиген (ПСА) [16], СА-125 для диагностики рака яичников [17], альфа-фетопrotein (AFP) — для рака печени [18] и белок теплового шока с молекулярной массой 70 кДа (БТШ70), ассоциируемый с различными опухолями [19].

- *Маркеры неврологических расстройств:* Бета-амилоид [20] или тау-белок [21], которые могут быть связаны с болезнью Альцгеймера.

- *Инфекционные маркеры:* Антигены или антитела, специфичные для определенных патогенов, например, коронавируса COVID-19 [22], вируса гепатита [23] или ВИЧ [24].

Эти биомаркеры могут быть обнаружены в различных биологических жидкостях, таких как кровь, моча или слюна, что делает импедиметрические биосенсоры мощным инструментом для ранней диагностики и мониторинга заболеваний. При этом предел детектирования с помощью таких систем может достигать атто- и фемтомолярных концентраций в биологических образцах [25]. В обзоре [26] представлено многообразие примеров применения импедиметрических биосенсоров для обнаружения белковых мишеней.

Для обнаружения белковых мишеней импедиметрические биосенсоры имеют ряд достоинств перед другими электрохимическими системами детектирования. Электроды импедиметрических биосенсоров могут быть модифицированы с помощью различных наноструктурированных материалов, которые увеличивают площадь электродов, улучшая перенос электронов и усиливая детектируемый сигнал. В качестве биораспознающих элементов для обнаружения белковых биомаркеров заболеваний чаще всего используются антитела, пептиды, нуклеотиды и ферменты, которые обеспечивают стабильное и специфичное связывание целевого белка на поверхности электрода. Анализ частотной зависимости электрического импеданса позволяет исследовать различные аспекты связывания целевого белка с рецепторами, включая кинетику, термодинамику, массоперенос и структурные особенности. Важным достоинством импедиметрических биосенсоров является возможность проведения измерений на одной частоте и возможность создания мультисенсорных электродных матриц для обнаружения сразу нескольких биомаркеров на одном чипе. Кроме того, импедиметрические биосенсоры позволяют достаточно удобно применять новые методы обработки сигнала, информационные подходы на основе искусственного интеллекта и нейронных сетей для повышения разрешения, уменьшения шума, оптимизации параметров, классификации данных

и автоматизации анализа [27]. Структурная схема импедиметрического биосенсора для обнаружения белков представлена на рисунке 1.

Одним из важных факторов, влияющих на устойчивое функционирование импедиметрических биосенсоров, являются качество и ста-

бильность биораспознающего слоя, который формируется на поверхности электродов. Для этого необходимо использовать специальные химические соединения, называемые кросслинкерами (или сшивающими агентами), которые способны связывать биораспознаватели с электродами или

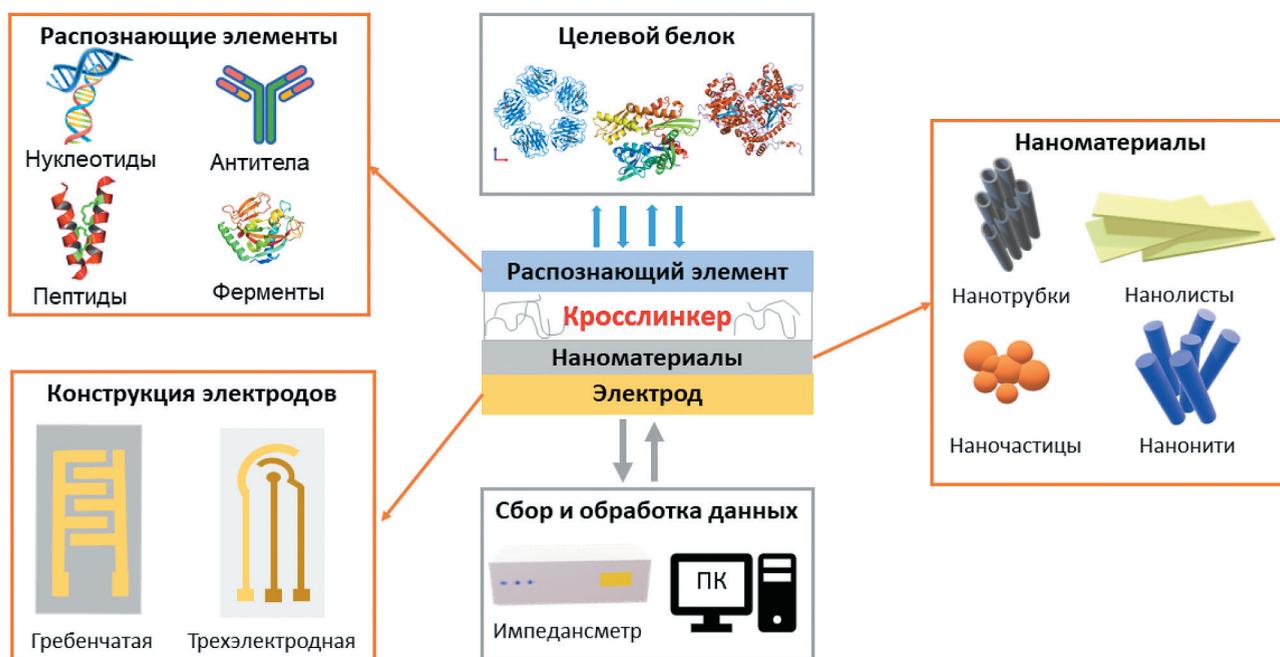


Рис. 1. Структурная схема импедиметрического биосенсора для обнаружения белковых маркеров заболеваний

Figure 1. Structure of impedimetric biosensor for detecting protein markers of diseases

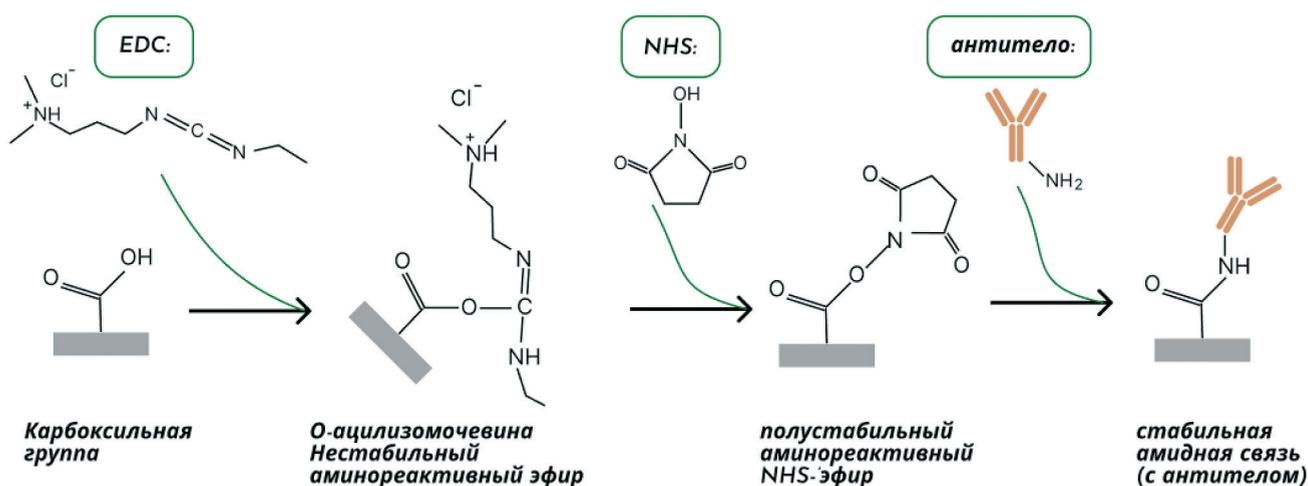


Рис. 2. Активация карбоксильных групп на поверхности материала электрода для образования амидной связи с помощью EDC/NHS химии для связывания биораспознавателя-антитела

Figure 2. Activation of carboxyl groups on the electrode surface to form an amide bond using EDC/NHS chemistry for binding of antibody

друг с другом, образуя сетчатую структуру [28]. Кросслинкеры содержат активные функциональные группы, которые надежно обеспечивают связывание поверхности электродов с функциональными группами биораспознавателей. Выбор подходящего кросслинкера может зависеть от типа биораспознавателя, типа электрода, условий иммобилизации и детектирования. Кросслинкеры могут влиять на такие параметры биосенсора, как плотность, толщина и однородность биораспознающего слоя, а также на специфичность, чувствительность, селективность и стабильность рабочих характеристик [29]. Поэтому исследование влияния кросслинкеров на свойства и функции биораспознающих элементов и биосенсоров в целом является достаточно актуальной задачей для современной трансляционной медицины.

Функционализация поверхности NHS-эфиром

Одним из наиболее широко распространенных методов сшивания биораспознавателей с модифицированными электродами является активация карбоксильных групп с помощью раствора N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)-карбодиимида (EDC) гидрохлорида и N-гидроксисукцинимида (NHS) для образования аминореактивных промежуточных продуктов [30], которые спонтанно реагируют с первичными аминогруппами (EDC/NHS coupling chemistry), как показано на рисунке 2.

EDC гидрохлорид является сшивающим агентом нулевой длины для образования амидных связей [31, 32]. EDC активирует карбоксильные группы с образованием нестабильного промежуточного продукта (O-ацилизо мочевины), который легко вытесняется реакцией нуклеофильного замещения первичными аминогруппами. Для связывания с биораспознающими молекулами EDC используется вместе с NHS либо с его водорастворимым аналогом (sulfo-NHS) [33], который приводит к образованию более стабильного аминореакционного NHS-эфира, вследствие чего эффективность EDC-опосредованных реакций связывания увеличивается. Активированный эфир карбоновой кислоты также реагирует с аминогруппой с образованием амидной связи. NHS-эфиры обладают также относительной устойчивостью и могут храниться при низкой температуре в безводном состоянии.

Поскольку механизм сшивания EDC/NHS наиболее широко используется для формирования чувствительных элементов импедиметрических сенсоров для детектирования белковых маркеров заболеваний, то примеры его реализации можно

сгруппировать по типу используемого материала электродов.

Самоорганизующиеся монослои.

Золотые электроды

Самоорганизующиеся монослои (*self-assembled monolayers, SAM*) содержат карбоксильные группы, которые активируют с помощью EDC/NHS для связывания с биораспознавателем [34]. Молекулы, образующие SAM, также содержат тиольную группу и ковалентно связываются с золотым электродом через Au-S связи. Формирование SAM обеспечивается, как правило, инкубацией золотого электрода в растворе молекул, образующих SAM, в течение длительного времени (около 16–24 ч.) при комнатной температуре. После чего проводят EDC/NHS активацию карбоксильных групп. Поверхность электродов, модифицированных SAM с переходным NHS-эфиром, становится пригодной к иммобилизации биораспознавателя.

Более подробно пример протокола формирования биосенсора с использованием EDC/NHS химии можно рассмотреть на основе работы [35], где для создания SAM использовалась 3-меркаптопропионовая кислота (3-MPA). Общая схема создания биосенсора для обнаружения Альфа-1-В гликопротеина (A1BG), являющегося биомаркером эндометриоза III и IV стадии, представлена на рисунке 3.

Перед формированием SAM золотой электрод подвергали ультразвуковой очистке, промывали деионизованной водой, этанолом и сушили в атмосфере азота. После очистки электроды погружали в раствор 3-MPA (в этаноле) и инкубировали в течение 24 часов, чтобы обеспечить правильное образование SAM на поверхности рабочих электродов. Модифицированные SAM электроды промывали деионизованной водой, сушили в азоте и помещали в смесь 0,4 М EDC и 0,1 М NHS в водном растворе на 15 минут, чтобы обеспечить конверсию карбоксильной группы (–COOH) на переходный NHS-эфир. После следующей промывки деионизованной водой и сушки, поверхность функционализированного электрода покрывали 50 мкл антитела anti-A1BG (8 мкг/мл) в растворе фосфатного буфера (PBS) и инкубировали в течение 30 минут, чтобы обеспечить ковалентную связь между антителом и электродом. Модифицированные электроды трижды промывали раствором PBS для удаления остатков антител. Затем обрабатывали 3 % (по массе) раствором бычьего сывороточного альбумина (BSA) для пассивации ковалентно-активных поверхностных групп. Затем электроды снова трижды промывали раство-

ром PBS и инкубировали в 50 мкл растворенного в PBS антигена A1BG в течение 30 минут.

Этапы создания биосенсоров с использованием золотых электродов с SAM и EDC/NHS активацией сходны. Следует подчеркнуть, что в данном случае особую важность представляет тщательная предварительная очистка Au-электродов, а также их промывка между этапами функционализации и иммобилизации. А для формирования SAM используются различные молекулы, как правило, содержащие меркаптогруппу (тиолы). Так, в работе [36] для формирования SAM использовалась 4-меркаптобензойная кислота, в работе [37] применяли 4-меркаптофенилуксусную кислоту, в работах [38] и [39] SAM формировались из 11-меркаптоундекановой кислоты с протяженной углеродной цепью. Также SAM из молекул с длинной углеродной цепью формировали из (полиэтиленгликоль)3-пропионовой кислоты. В работе [40] SAM на золотых электродах формировали из молекул тиоктовой кислоты.

Проводящие оксиды металлов

Помимо золотых электродов достаточно широко используются прозрачные проводящие электроды на основе оксидов металлов, такие как оксид индия-олова (ITO) и легированный фтором оксид олова (FTO). Молекулы SAM для последующей EDC/NHS обработки также содержат карбоксильные группы, однако связывание молекул SAM с поверхностью ITO (или FTO) обеспечивают, как правило, Р-О или Si-О связи. Для этого электроды из проводящих оксидов металлов дополнительно гидроксилируют, то есть функционализируют ОН-группами погружением в раствор NH_4OH , H_2O_2 , H_2O . Айдин Э. Б. и соавторы [41] для ковалентного связывания с гидроксильными группами на поверхности ITO и образованием Р-О связи использовали 3-фосфопропионовую кислоту (РНР). Аналогично, в работе [42] SAM на поверхности гидрокселированного FTO образовывали с помощью 6-фосфоноксидной кислоты (РНА). Образование SAM производили также погруже-

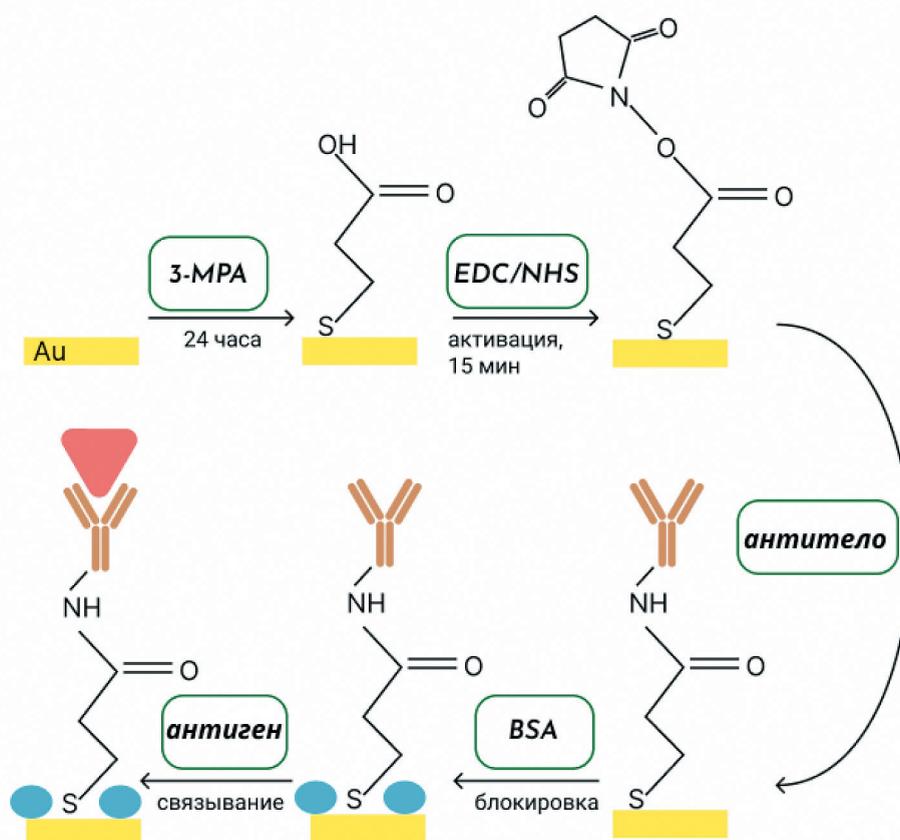


Рис. 3. Схема создания биосенсора с SAM из 3-MPA с использованием EDC/NHS активации карбоксильных групп для регистрации антигена A1BG

Figure 3. Scheme of a biosensor with SAM from 3-MPA using EDC/NHS activation of carboxyl groups for detection of the A1BG antigen

нием электродов в растворы. Иначе производилось связывание SAM в работе [43], где в качестве молекул для формирования SAM использовался карбоксиэтилсилантриол, а связывание обеспечивалось через Si-O связи.

Таким образом, самоорганизующиеся монослои (SAM) на золотых электродах, функционализированные с использованием EDC/NHS химии, представляют собой мощный инструмент для создания высокочувствительных биосенсоров. Тщательная очистка и последующая модификация электродов обеспечивают оптимальное связывание биораспознавателей и позволяют точно регистрировать специфические биомаркеры заболеваний. Использование различных тиольных молекул для формирования SAM расширяет возможности адаптации биосенсоров под конкретные диагностические задачи.

Углеродные материалы

Из достаточно обширного набора углеродных материалов наиболее актуальными для использования в импедиметрических биосенсорах являются углеродные наноматериалы и наноструктуры. Они обеспечивают высокую шероховатость поверхности, повышая тем самым ее активную площадь для дальнейшей иммобилизации, что позволяет повысить динамический диапазон детектирования до клинически релевантных значений. Поэтому, как правило, графитовые или стеклоуглеродные электроды модифицируют различными углеродными наноматериалами.

Рорбах Ф. и коллеги из Университета Бонна (Германия) [44] отмечают, что многостенные углеродные нанотрубки содержат на своей поверхности некоторое количество карбоксильных групп. Тем не менее, в работе [45] экспериментально показали, что электрохимическая обработка многостенных углеродных трубок путем приложения окислительного потенциала 1,4 В привела к значительному увеличению концентрации карбоксильных групп и более эффективному связыванию поверхности электродов с аминокетонами аптамеров в результате использования EDC/NHS активации. Кроме того, отмечается, что аптамеры могут закрепляться на карбоксильных группах окисленных нанотрубок путем химической реакции, а также самостоятельно собираться в углеродные нанотрубки за счет π -стекинговых взаимодействий между основаниями нуклеиновых кислот и стенками углеродных нанотрубок.

Джозгорбани М. и соавторы [46] показали, что частично восстановленный графен в их исследовании содержит достаточное количество карбок-

сильных групп для эффективной иммобилизации. Тем не менее, в работе [47] нанокompозит из восстановленного оксида графена с золотыми наночастицами дополнительно функционализировали 3-меркаптопропионовой кислотой с образованием SAM. В работе [48] в качестве гибкого электрода использовали графеновую пену, которую функционализировали пиренкарбоновой кислотой также через π -стекинг.

Демирбакан Б. и коллеги использовали [49] одноразовые электроды из графитовой бумаги, модифицированные фуллеренами C_{60} . Чтобы обеспечить формирование карбоксильных групп, электрод инкубировали в растворе H_2SO_4 , после чего проводили активацию в растворе EDC/NHS. В работе [50] в качестве материала электрода использовались лабиринтоподобные углеродные «наностенки», легированные бором. Функционализацию карбоксильными группами проводили путем модификации поверхности электрода молекулами бензойной кислоты.

Углеродные наноматериалы и наноструктуры, благодаря своей высокой шероховатости и активной площади, играют важную роль в улучшении динамического диапазона импедиметрических биосенсоров. Электрохимическая обработка и функционализация этих материалов значительно увеличивают эффективность иммобилизации биораспознавателей, что открывает новые перспективы для клинической диагностики.

Полимерные материалы

Поверхность электродов модифицируют также тонкими слоями полимеров, что в некоторой степени сходно с использованием самоорганизующихся монослоев из молекул с длинными углеродными цепочками. Для связывания с аминокетонами с помощью EDC/NHS-кросслинкера полимеры нулевой длины на своей поверхности также должны содержать карбоксильные группы.

В работе [51] кислотозамещенный пиррольный полимер (N-пирролилпропановая кислота, P(Pyr-Pac)), содержащий на концевых участках множество карбоксильных групп, получали с использованием общих методов гидролиза из метоксизамещенного пиррольного полимера P(Pyr-Ome). Метильные группы боковой цепи полимера P(Pyr-Ome) удаляли нагревом в растворе гидроксида натрия при 100 °С. После чего проводили этапы фильтрации и очистки. В целом получение полимера P(Pyr-Pac) в работе обеспечивали также несколькими предварительными этапами с получением: кислотозамещенного пиррольного мономера (Pyr-Pac) из 1-(2-цианоэтил) пиррола, метоксизамещен-

ного пиррольного мономера (Pyr-Ome) из мономеров (Pyr-Pac) и из (Pyr-Ome) полимера P(Pyr-Ome). Нанесение самоорганизующихся полимерных монослоев P(Pyr-Pac) на электрод (гидроксильированный ИТО) проводили с помощью погружения электродов в раствор с полимером. Однако, как правило, полипиррол чаще модифицируют пиррол-карбоновыми кислотами, что несколько упрощает функционализацию. Так, профессор Грандарилья М. и соавторы из Университета Амазонас (Бразилия) [52] для модификации электрода наносили сополимер методом электроосаждения из раствора мономеров пиррола (0,05 моль/л) и пиррол-3-карбоновой кислоты (0,1 моль/л) посредством 5 CV (current-voltage) циклов в диапазоне от 0 до 1 В. В работе [53] сначала проводили электрополимеризацию полипиррола (5 CV-циклов, от 0 до 0,7 В), а затем модифицировали пиррол- α -карбоновой кислотой при постоянном смещении 2 В (15 мин.) для обеспечения C–C связей между полипирролом и карбоновой кислотой. Профессор Ким М. и коллеги [54] при создании биосенсора использовали поли(3,4-этилендиокситиофен) (PEDOT), однако для функционализации карбоксильными группами полимеризацию проводили с включением золотых наночастиц, стабилизированных цитратом натрия. Таким образом, в полученном композите полимер обеспечивал перенос заряда, а золотые частицы в цитратной оболочке обеспечивали карбоксильные группы для дальнейшей активации и связывания с антителами.

Таким образом, в ряде случаев использование полимеров с карбоксильными группами, таких как кислотозамещенный пиррольный полимер, в значительной степени упрощает процесс функционализации электродов для биосенсоров. Методы электроосаждения и электрополимеризации позволяют точно контролировать нанесение полимерных слоев, обеспечивая необходимую функциональность для связывания биораспознавателей.

Другие материалы

Очевидно, что для модификации электродов возможно использование также композитов различных материалов, например, для обеспечения необходимого значения сопротивления, концентрации функциональных групп, шероховатости поверхности и достаточной адгезии. Такими материалами могут быть композиты на основе полимеров и углеродных материалов и наночастиц, а также композиты на основе различных наноматериалов. Например, Ганавати и соавторы [55] модифицировали углеродный электрод многостенными углеродными нанотрубками, декори-

рованными графеновыми квантовыми точками и золотыми наночастицами. Карбоксильные группы данного нанокompозита также активировали в EDC/NHS-растворе.

Известно применение и других типов материалов, карбоксильные группы которых также активировались с помощью EDC/NHS. Так, в работе [56] для создания биосенсора использовались FeCo-металлоорганические каркасы (MOF) для модификации Ni-пены и последующей EDC/NHS-активации. Гупта и коллеги [57] использовали металлоорганические каркасы $Cu_3(BTC)_2$ в составе композита с проводящим полимером полианилином. В работе [58] при модификации электродов использовались фталоцианины кобальта (CoTAPc и CoTPPc), обеспечивающие устойчивое формирование карбоксильных групп. В работах [59] и [60] для модификации электродов использовались коллоидные квантовые точки SnTeSe и CdTe, покрытые L-Цистеином и меркаптоантарной кислотой соответственно.

Следует отметить, что EDC/NHS, как и другие кросслинкеры, могут обеспечивать активацию функциональных групп самих биораспознающих элементов [61]. Также EDC/NHS-активацию используют в многоэтапных протоколах иммобилизации. Так, Тетрис М. из университета Клуж-Напоки (Румыния) и коллеги [62] после EDC/NHS-активации карбоксильных групп на функционализированном электроде проводили связывание п-аминотиофенола, к тиоловой группе которого иммобилизовали золотые наночастицы, к которым в свою очередь через Au-S связь присоединили тиолированный аптамер.

Композитные материалы, обогащенные функциональными группами, открывают новые горизонты в модификации электродов для биосенсоров. Использование EDC/NHS для активации этих групп значительно усиливает возможности иммобилизации биораспознающих элементов, что способствует созданию более чувствительных и точных диагностических устройств.

Таким образом, метод EDC/NHS является ключевым в создании импедиметрических биосенсоров, позволяя эффективно связывать биораспознаватели с электродами. Эта технология обеспечивает стабильность и долговечность амидных связей, что критически важно для точности и надежности биосенсоров. Применение EDC/NHS в различных материалах электродов расширяет возможности детектирования белковых маркеров, что делает этот метод весьма перспективным для клинической диагностики и мониторинга заболеваний.

Кросслинкеры с концевой NHS-группой

Помимо использования EDC/NHS химии для связывания с биораспознающими элементами используются также кросслинкеры, которые в своем составе уже содержат NHS-эфир (или sulfo-NHS) на своих концах. Так, в работе [63] для связывания антитела и тонкого слоя оксида цинка использовался дитиобис (сукцинимидил пропионат) (DSP). В работе [64] профессор Ванг и соавторы в качестве кросслинкера использовали 3,3'-дитиобис(сульфосукцинимидил пропионат) DTSSP, содержащий сульфо-NHS, который обеспечивал иммобилизацию белка G. В работе [65] самоорганизующийся монослой на золотом электроде формировали с помощью Sulfo-LC-SPDP (сульфосукцинимидил 6-(3'-(2-пиридилдитио) пропионамидо) гексаноат) для последующего связывания антител. Шамсуддин С. и коллеги [66] представили многоэтапный процесс формирования биосенсоров на основе аффимеров (каркасных белков, получаемых методом фагового дисплея). Для связывания с аффимерами раствор октопамина (содержащий аминокислоты) смешивали с sulfo-SMCC (сульфосукцинимидил 4-(N-малеимидометил) циклогексан-1-карбоксилат) и оставляли для проведения реакции. Аффимеры, содержащие остаток цистеина в C-концевой области, восстанавливали, смешивали с октопамидом-SMCC и инкубировали. Затем осуществляли электрохимическое осаждение комплекса октопамид-SMCC-аффимер.

Функционализация электродов карбоксильными группами

Несмотря на то, что карбоксильные группы, как правило, активируют с помощью кросслинкеров, известны примеры их самостоятельного использования для иммобилизации биораспознавателей с аминокислотами. Так, в работе [67] для иммобилизации ДНК-аптамера поверхность электрода модифицировали дендримером поли(амидоамина) (ПАМАМ) второй генерации с 1,4-диаминобутановым ядром (G2-PS), который имеет 16 поверхностных групп янтарной кислоты. Поверхностные карбоксильные группы связывались с аминокислотами ДНК-аптамеров. Профессор Ванг С. и коллеги [68] использовали этот подход для создания 8-канальной электрохимической матричной системы. В работе группы авторов из Университета Измира (Турция) [69] углеродные нановолокна активировали электрохимически в ацетатном буфере. Карбоксильные группы на поверхности нановолокон обеспечивали связывание с NH_2 -функционализированными аптамерами.

Функционализация электродов альдегидной группой

Для связывания с аминокислотами биораспознающих элементов также используются кросслинкеры, содержащие альдегидную группу.

Как было упомянуто выше, самоорганизующиеся монослои на оксидах могут быть образованы путем связывания через Si-O связи. Профессор Лоу И. и соавторы [70] представили подход к созданию импедиметрического биосенсора с возможностью интеграции с подложками кремния, а именно использовалась структура, состоящая из кремниевой подложки *p*-типа проводимости, диоксида кремния и нитрида кремния $\text{Si-p/SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$. Для функционализации поверхности Si_3N_4 подложку гидроксильноировали в растворе H_2O_2 и H_2SO_4 с небольшим окислением приповерхностной области. А функционализацию триэтоксисилановым альдегидом (ТЭА) проводили в паровой фазе. Связывание антитела к человеческому сывороточному альбумину (anti-HSA) с ТЭА обеспечивалось реакцией между аминокислотной группой антитела и альдегидной группой ТЭА.

Основным же кросслинкером, содержащим альдегидные группы, является глутаровый альдегид, содержащий концевые альдегидные группы с двух сторон, что позволяет обеспечить связывание с множеством материалов, содержащих концевые аминокислоты. Так, в работе [71] поверхность тонкого слоя SiO_2 функционализировали аминокислотами с помощью (3-аминопропил) триэтоксисилана (APTES). А аминокислоты служили для связывания с глутаровым альдегидом в качестве кросслинкера (также в процессе инкубации) для связывания с антителами. В данной работе поверхность SiO_2 перед функционализацией APTES не гидроксильноировали, а подвергали плазменной обработке аргоном (75 %) и кислородом (25 %).

Бялбжешка В. и коллеги из Польши [72] модифицировали золотые электроды SAM из 4-аминофенола (4-АТФ) путем погружения в раствор абсолютного этанола (4 °C на 20 ч), который связывается с золотым электродом через тиоловую группу с образованием связи Au-S. К аминокислоте 4-АТФ присоединялся глутаровый альдегид, обеспечивающий иммобилизацию антител. Для этапа блокировки использовался BSA. Пример общей схемы иммобилизации через глутаровый альдегид представлен на рисунке 4.

В качестве модифицирующих материалов для связывания с глутаровым альдегидом также используют полимеры и композиты, содержащие аминокислоты. Закария Н. и соавторы из Технологического университета Селангора (Малайзия)

[73] на поверхность Pt/Ir электроосадили полимер орто-фенилендиамина, аминогруппы которого функционализировали глутаральдегидом в качестве сшивающего агента. В работе [74] поверхность ИТО электрода модифицировали проводящим композитом из углеродной сажи C45 и политиофенового полимера, содержащего концевые аминогруппы. Композит наносился методом центрифугирования и затем инкубировался в растворе глутарового альдегида для связывания альдегидных групп с аминогруппами полимера, а затем в растворе антител в течение часа для иммобилизации антител.

В работе [75] поверхность золотого электрода последовательно модифицировали SAM молекулами 4-АТР, полигидроксильными фуллеренами (C₁₂₀O₃₀(OH)₃₀) с предварительной EDC/NHS-активацией OH-групп и, наконец, полиамидаминовыми дендримерами пятой генерации РАМАМ(G5), содержащими множество концевых аминогрупп на своей поверхности. Активацию аминогрупп обеспечивало также связывание с глутаровым альдегидом, в свою очередь взаимодействующим

с антителами. Несвязанные группы глутарового альдегида блокировались глицином.

Таким образом, кросслинкеры с альдегидными группами, такие как глутаровый альдегид, обеспечивают надежное связывание аминогрупп биораспознающих элементов, что является ключевым для создания эффективных импедиметрических биосенсоров. Их использование в сочетании с самоорганизующимися монослоями и различными модифицирующими материалами позволяет достигать высокой точности и стабильности в детектировании белковых биомаркеров.

Функционализация эпоксидной группой

Йылмаз Н. и коллеги из Текирдагского университета (Турция) [76] для функционализации электродов эпоксидными группами (3-глицидоксипропил) триметоксисилана (GPTMS) предварительно гидроксильировали их поверхность в растворе (H₂O/H₂O₂/NH₄OH). Для инкубации ИТО электрода его оставляли на ночь в растворе GPTMS. После промывки электрода этанолом и деионизованной водой инкубировали в растворе PBS, содержащем

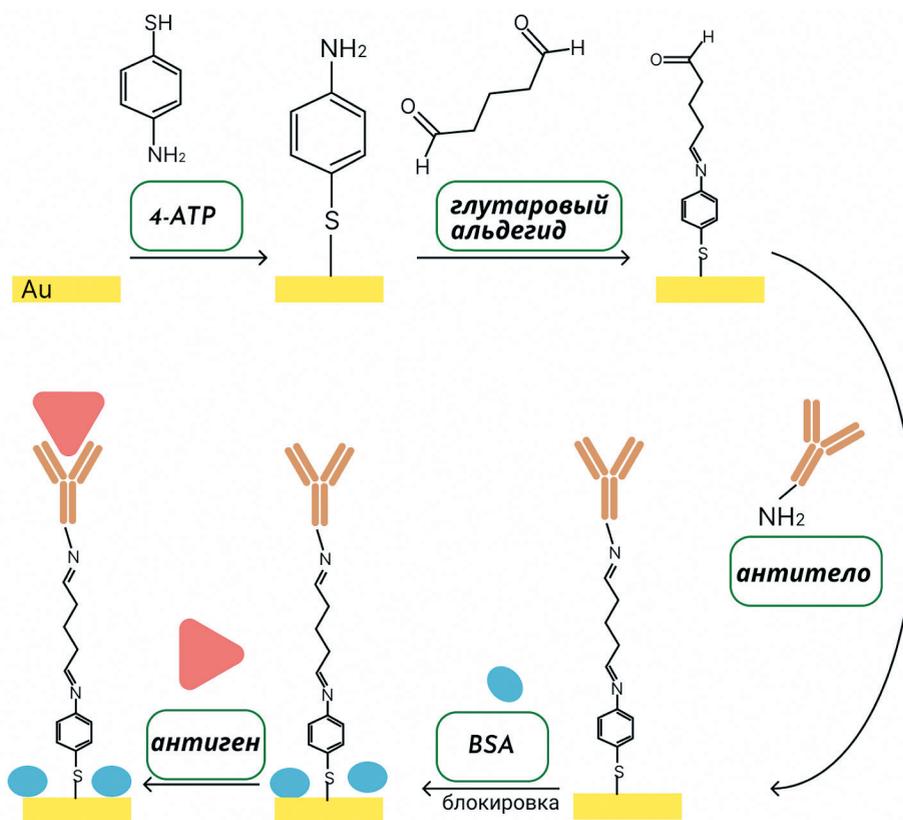


Рис. 4. Пример общей схемы иммобилизации биораспознающего элемента с помощью глутарового альдегида

Figure 4. Example of immobilization of a biorecognition element using glutaraldehyde

антитела. Пример общей схемы иммобилизации биораспознающего элемента с помощью эпоксидной группы представлен на рисунке 5.

Аналогичным образом в работе [77] гидроксильную поверхность функционализировали эпоксидными группами путем силанизации с помощью (3-глицидоксипропил) диэтоксиметилсилана (GPDMS) для связывания с аминокруппами антител.

В работе [78] функционализацию ИТО-электрода эпоксидными группами проводили путем модификации поверхности электрода тонким слоем полипиррола, содержащего активные эпоксидные группы. Мономеры данного полимера были синтезированы путем этерификации пирролпропионовой кислоты и глицидола. Тонкий слой полимера наносился методом электрополимеризации. После чего электрод инкубировали в растворе рецептора IL-6 для иммобилизации через реакцию аминокруппы рецептора и эпоксидной группы полимера с формированием амидной связи. Аналогично, Айдин М. и соавторы [79] для связывания рецептора IL-6 использовали полипиррол с концевыми эпоксидными группами. Однако для увеличения шероховатости, удельной площади поверхности электрода полипиррол с концевыми эпоксидными группами наносился в составе композита с ацетиленовой сажей. Композит с концевыми эпоксидными группами наносился на поверхность ИТО-электрода методом центрифугирования, после чего инкубировался для иммобилизации рецептора.

Функционализация электрода аминокруппой

Очевидно, что если биораспознаватели сами активированы функциональными группами для связывания с аминокруппами, то функционализация электродов может быть ограничена только NH_2 -группами.

В работе [80] для связывания с антителами гидроксильную поверхность стеклянной подложки функционализировали 3-аминопропилтриэтоксисиланом в паровой фазе без использования дополнительных кросслинкеров. Филип Дж. и коллеги из Университета Дохи (Катар) [81] сшивали глутаровый альдегид с биораспознавателем, лектином конканавалином А (ConA). При этом функционализация электрода, модифицированного восстановленным оксидом графена, с помощью аминокрупп проводилась с использованием молекул тионина. Положительно заряженный тионин адсорбировался на поверхности восстановленного оксида графена преимущественно за счет электростатических взаимодействий. В работе [66] для модификации электродов иммуноглобулинами использовался аминокфункционализированный непроводящий полимер полиоктопамин (POct), который наносился методом электрополимеризации. Для связывания с аминокруппами POct олигосахарид антитела окисляли для преобразования углеводов на кристаллизующемся фрагменте иммуноглобулина в альдегидные группы.

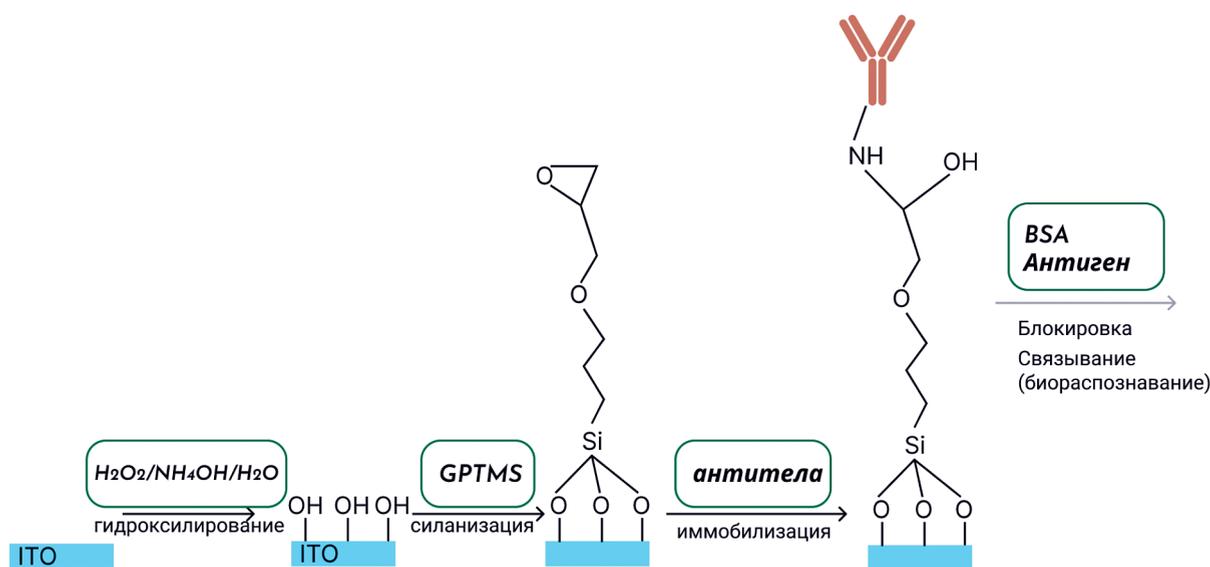


Рис. 5. Пример общей схемы иммобилизации биораспознающего элемента с помощью эпоксидной группы

Figure 5. Example of immobilization of a biorecognition element with an epoxy group

Взаимодействие «авидин-биотин»

Для формирования импедиметрических биосенсоров также широко используется связывание белка стрептавидина или дегликозилированного авидина (нейтравидина) с биотином (витамином В₇). Гомотетрамеры стрептавидина обладают высоким сродством к биотину, обеспечивая сильное нековалентное взаимодействие порядка $K_d \approx 10^{-14}$ моль/л.

Профессор Тангсунан и соавторы [82] использовали взаимодействие «нейтравидин-биотин» для прикрепления биотинилированных аффимеров к поверхности электродов. Для этого на первом этапе поверхность золотых электродов модифицировали слоем политирамина, содержащим аминогруппы, после чего проводили инкубацию в растворе NHS-биотина для связывания с политирамином и инкубировали в растворе нейтравидина. Перед иммобилизацией также проводили процедуру блокировки для снижения неспецифического связывания. Иммобилизацию биотинилированных аффимеров проводили инкубацией в течение 1 часа. Схематичное представление формирования импедиметрического биосенсора, основанного на взаимодействии «нейтравидин-биотин», представлено на рисунке 6.

Аналогично, в работе [83] связывание биотина с электродом также обеспечивалось путем моди-

фикации поверхности золотого электрода полимером. В качестве него использовался сополимер из политирамина 3-(4-гидроксифенил)пропионовой кислоты. Использование 3-(4-гидроксифенил)пропионовой кислоты в составе сополимера привело к снижению емкости двойного электрического слоя сопротивления переноса заряда, что позволило получить ровную полукруглую форму графика Найквиста и более точно определить сопротивление переноса заряда. Политирамин в составе полимера за счет аминогрупп также обеспечил связывание с NHS-биотином и затем нейтравидином для иммобилизации биотинилированного фрагмента прионного белка клеточной формы PrP^C в качестве биораспознавателя.

В работе [84] иммобилизацию стрептавидина проводили путем адсорбции на модифицированном золотыми наночастицами углеродном электроде (на углеродных участках электрода). Стрептавидин обеспечивал связывание с биотинилированным укороченным аптамером Gli4-T для биораспознавания глиадина (для количественного определения глютена в образцах). Перед иммобилизацией аптамеров проводилась блокировка неспецифического связывания с помощью БСА и сорбитола. Профессор Моро Дж. и коллеги из Университета Венеции (Италия) [85] в качестве сенсорной платформы использовали коммерческий углеродный электрод,

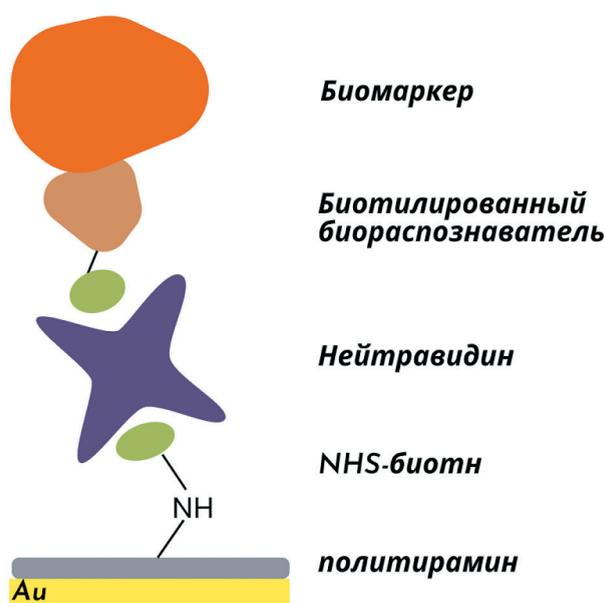


Рис. 6. Формирование импедиметрического биосенсора на основе нейтравидин-биотинового взаимодействия

Figure 6. Formation of an impedimetric biosensor based on neutravidin-biotin interaction

модифицированный стрептавидином (Strep-SPCE; DRP-110STR, Metrohm DropSens). Стрептавидин-биотиновое взаимодействие использовалось для иммобилизации бициклических пептидов, в качестве небольших синтетических биораспознавателей активатора плазминогена урокиназного типа человека (h-uPA), биомаркера рака. Модифицированный стрептавидином электрод иммобилизовали биотинилированными пептидами путем капельного нанесения.

Взаимодействие «авидин-биотин» дополнительно расширяет возможности иммобилизации, предоставляя сильное и специфическое связывание, необходимое для высокоселективного обнаружения белковых мишеней.

Другие типы связывания

Как было показано выше, принципы иммобилизации биораспознающих элементов, как правило, основаны на использовании аминокислотных, тиоловых, карбоксильных, альдегидных и эпоксидных групп или авидин-биотинового взаимодействия. Тем не менее, встречаются и другие типы иммобилизации биораспознавателей, демонстрирующие успешное применение в биосенсорике.

Профессор Ли и коллеги [86] модифицировали электроды цирконий-порфириновым комплексом (Zr-TAPP) без дополнительных этапов активации для иммобилизации антител. Авторы отмечают, что сильное сродство к антителам (AntiNSE) обеспечивалось координационными центрами Zr(III), аминокислотными и π - π^* связями комплекса. В работе [87] в качестве биораспознавателя антигена использовался ДНК-биомиметический зажим (DNA-BC) (образованный парой аптамеров). Для иммобилизации DNA-BC поверхность электрода модифицировали металлоорганическим каркасом $\text{Au}@\text{UiO}-66\text{-NH}_2$. Который имеет большую площадь поверхности и большое количество активных центров Zr^{4+} . Таким образом, закрепление обеспечивалось специфической координацией между Zr^{4+} и фосфатной группой ($-\text{PO}_4^{3-}$) фосфатированного DNA-BC с образованием связи Zr-O-P.

Группа авторов из Яньчэнского технологического института [88] модифицировали электрод гибридным материалом из золотых наночастиц (AuNP) и максена из карбида титана ($\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-MXenes}$). Такой материал позволил иммобилизовать на электроды аптамеры, специфичные к сердечным миоглобину (Myo) и тропонину I (cTnI). Тиол-функционализированный ДНК-аптамер, специфичный к cTnI, связывался посредством стандартной самосборки Au-S. В то время как аптамер для миоглобина адсорбировали посред-

ством металл-хелатного взаимодействия между фосфатными группами и титаном для обеспечения специфического распознавания.

Физическая адсорбция

Иммобилизация биораспознавателей на оксидных наноструктурах часто обеспечивается физической адсорбцией. Так, физическая адсорбция использовалась для иммобилизации различных антител на поверхности нанокомпозита из наночастиц ZnO/CuO [63, 89, 90]. В работе [91] для иммобилизации антител использовали матрицу нанотрубок диоксида титана. При этом отмечается, что оксидные наноструктуры имеют положительный заряд в фосфатном буферном растворе, в то время как антитела заряжены отрицательно. Таким образом, связывание обеспечивается путем прямой физической адсорбции, возникающей в результате слабого электростатического (или Ван-дер-Ваальсового) взаимодействия. Физическая адсорбция использовалась также для иммобилизации антител на поверхности «наноцветков» MoS_2 (двумерный полупроводниковый материал) [92]. Авторы предполагают, что именно морфология «наноцветков» способствовала успешной адсорбции антител. Кхан Р. и коллеги [93] при использовании многостенных углеродных нанотрубок для иммобилизации антител также не применяли активацию функциональных групп и кросслинкеров. Однако можно предположить, что в данной работе связывание обеспечивалось небольшим содержанием поверхностных карбоксильных групп.

Молекулярно-импринтированные полимеры

Одним из перспективных материалов для иммобилизации биораспознающих элементов являются молекулярно-импринтированные полимеры (МИП). МИП — это синтетические полимеры, которые имеют специфические молекулярные отпечатки, соответствующие стерической структуре и размеру молекулы аналита [94]. МИП, получаемые путем полимеризации функциональных мономеров в присутствии молекул-шаблонов, которые затем удаляются из полимерной сетки, оставляя в ней трехмерные отпечатки, способны к специфическому распознаванию и сорбции молекул-шаблонов или их аналогов. В качестве молекул-шаблонов могут использоваться белки или их фрагменты, имеющие структурное сходство с аналитом и обеспечивающие его конформное встраивание в распознающую матрицу [95]. Схематическое представление создания импедиметрического биосенсора на основе МИП показано на рисунке 7.

В импедиметрических биосенсорах для обнаружения белков МИП могут применять как в качестве кросслинкеров, так и в качестве самостоятельных биорецепторов. В первом случае МИП служат для фиксации биораспознающих элементов на поверхности электрода, обеспечивая их ориентацию и сохранение активности [96]. МИП увеличивают площадь контакта между биорецептором и аналитом, а также предотвращают нежелательную денатурацию или десорбцию биорецептора. Во втором случае МИП сами выступают в роли биораспознающих элементов, распознающих и связывающихся с целевыми белками. Для создания такого распознающего элемента необходимо выбрать подходящий мономер, который может образовывать нековалентные связи с молекулой-шаблоном. Таким образом, МИП имитируют функционал биорецепторов без использования биологических компонентов. На их основе могут быть созданы биосенсорные матрицы для мультимодального детектирования целевых биомолекул [97].

Таким образом, методы иммобилизации биораспознающих элементов, такие как использование различных функциональных групп и авидин-биотинового взаимодействия, обладают как преимуществами, так и недостатками. Применение аминогрупп, тиоловых, карбоксильных, альдегидных и эпоксидных групп позволяет создавать стабильные и специфические связи, что увеличивает точность и чувствительность биосенсоров. Однако такие методы могут быть сложными в реализации и требуют строгого контроля условий реакции. В то же время физическая адсорбция и молекулярно-импринтированные полимеры предлагают более простые и быстрые способы иммобилизации, но могут страдать от низкой специфичности и стабильности связывания. Взаимодействие «авидин-биотин» яв-

ляется одним из самых сильных нековалентных взаимодействий, что делает его идеальным для создания высокоселективных биосенсоров, но ограниченность выбора биотинилированных биораспознающих элементов может сужать область применения этого метода.

Заключение

Разработка новых технологий формирования кросслинкеров для иммобилизации распознающих элементов на поверхности электродов в импедиметрических биосенсорах является одной из ключевых задач для улучшения функциональных характеристик биосенсоров, в частности, повышения их чувствительности и специфичности. Исследования в данной области должны включать синтез новых соединений с улучшенными сшивающими свойствами, а также разработку методов поверхностной модификации, способных улучшить стабильность и функциональность интерфейса «электрод-биораспознаватель». На сегодняшний день для создания импедиметрических биосенсорных платформ все большее распространение находит использование самоорганизующихся монослоев, полимерных и композитных покрытий, а также наноматериалов и наноструктур. Оптимизация процессов иммобилизации биораспознающих элементов включает не только улучшение самих кросслинкеров, но и разработку новых высокоточных методов контроля ориентации и плотности биораспознающих молекул на поверхности электродов.

Сопряжение биосенсоров с микрофлюидными системами открывает новые возможности для разработки портативных экспресс-аналитических устройств [98, 99]. В случае интеграции импедиметрического биосенсора в микрофлюидную систему необходимо учитывать технологические

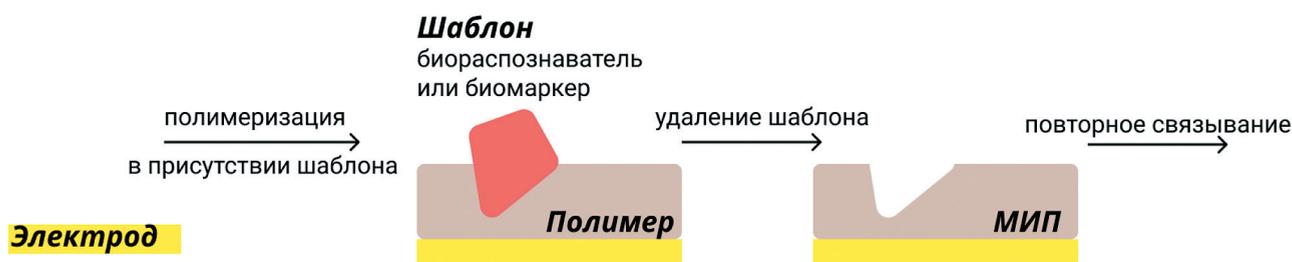


Рис. 7. Пример общей схемы иммобилизации биораспознающего элемента с использованием молекулярно-импринтированных полимеров

Figure 7. Example of immobilization of a biorecognition element using molecularly imprinted polymers

особенности ее формирования, в частности сопряжение с технологией иммобилизации распознающих элементов [100, 101]. Подобного рода интеграция требует разработки совместимых материалов и процессов, способных выдерживать условия формирования микрофлюидных систем или формироваться непосредственно в микрофлюидных системах. Активация поверхности с помощью кросслинкеров зачастую представляет собой достаточно сложный процесс, поэтому слой микрофлюидной системы должен быть стойким ко всем реагентам, используемым в ходе функционализации. Также слой микрофлюидной системы может быть смонтирован на подложку с уже иммобилизованными распознавателями, однако в этом случае не могут быть использованы высокотемпературные процессы соединения слоев биосенсорных систем, такие как термокомпрессионное связывание, способные нарушить функциональность биораспознающего элемента.

Для успешного внедрения в клиническую практику современные биосенсорные устройства должны быть способны детектировать белки в низких концентрациях в сложных биологических образцах. Совершенствование каждого этапа формирования биосенсорных систем обеспечивает улучшение стабильности устройств, их гетерогенную интеграцию с узлами сбора и обработки информации для создания умных диагностических систем и разработку многоканальных матричных платформ для одновременного обнаружения нескольких биомаркеров в пробе малого объема. Развитие биосенсорных технологий имеет важное значение для трансляционной медицины, позволяет ускорить процесс диагностики, сделать его более доступным и точным, а также обеспечить мониторинг состояния пациентов в реальном времени.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Благодарности / Acknowledgments

Ситков Н.О. выражает благодарность Российскому научному фонду за грантовую поддержку работы, проект № 23-79-01136, <https://rscf.ru/project/23-79-01136/>. Шевцов М.А., Гареев К.Г. выражают благодарность Министерству науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2022-301 от 20.04.2022) за финансовую поддержку./ Nikita O. Sitkov acknowledges Russian Science Foundation for grant

support of the work, project No. 23-79-01136, <https://rscf.ru/project/23-79-01136/>. Maxim A. Shevtsov, Kamil G. Gareev acknowledge the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Agreement No. 075-15-2022-301 dated April 20, 2022) for financial support.

Список литературы / References

1. Wang X, Huang J, Chen W, et al. The updated role of exosomal proteins in the diagnosis, prognosis, and treatment of cancer. *Experimental & Molecular Medicine*. 2022 Sep;54(9):1390–400. DOI: 10.1038/s12276-022-00855-4.
2. Tumani H, Brettschneider J. Biochemical markers of autoimmune diseases of the nervous system. *Current pharmaceutical design*. 2012 Oct 1;18(29):4556–63. DOI: 10.2174/138161212802502143.
3. Ogulur I, Pat Y, Ardicli O, Barletta E, et al. Advances and highlights in biomarkers of allergic diseases. *Allergy*. 2021 Dec;76(12):3659–86. DOI: 10.1111/all.15089.
4. Song JG, Baral KC, Kim GL, et al. Quantitative analysis of therapeutic proteins in biological fluids: recent advancement in analytical techniques. *Drug Delivery*. 2023 Dec 31;30(1):2183816. DOI: 10.1080/10717544.2023.2183816.
5. Swami S, Kayenat F, Wajid S. SPR biosensing: Cancer diagnosis and biomarkers quantification. *Microchemical Journal*. 2024 Feb 1;197:109792. DOI: 10.1016/j.microc.2023.109792.
6. Zimina TM, Sitkov NO, Gareev KG, et al. Biosensors and Drug Delivery in Oncotheranostics Using Inorganic Synthetic and Biogenic Magnetic Nanoparticles. *Biosensors*. 2022 Sep 25;12(10):789. DOI: 10.3390/bios12100789.
7. Singh AK, Mittal S, Das M, et al. Optical biosensors: A decade in review. *Alexandria Engineering Journal*. 2023 Mar 15;67:673–91. DOI: 10.1016/j.aej.2022.12.040.
8. Sitkov NO, Karasev VA, Luchinin VV, et al. Development of biosensors for express-detection of protein markers of diseases in blood using peptide biorecognition elements. In *AIP Conference Proceedings* 2019 Aug 9 (Vol. 2140, No. 1). AIP Publishing. DOI: 10.1063/1.5121997.
9. Antiochia R. Electrochemical biosensors for SARS-CoV-2 detection: Voltametric or impedimetric transduction? *Bioelectrochemistry*. 2022 Oct 1;147:108190. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2022.108190.
10. Sohrabi H, Kordasht H, Pashazadeh-Panahi P, et al. Recent advances of electrochemical and optical biosensors for detection of C-reactive protein as a major inflammatory biomarker. *Microchemical Journal*. 2020 Nov 1;158:105287. DOI: 10.1016/j.microc.2020.105287.
11. Yang T, Wang S, Jin H, et al. An electrochemical impedance sensor for the label-free ultrasensitive detection of interleukin-6 antigen. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2013 Mar 1;178:310–5. DOI: 10.1016/j.snb.2012.12.107.

12. Vasantham S, Alhans R, Singhal C, et al. Paper based point of care immunosensor for the impedimetric detection of cardiac troponin I biomarker. *Biomedical Microdevices*. 2020 Mar;22:1–9. DOI: 10.1007/s10544-019-0463-0.
13. Moreira FT, Dutra RA, Noronha JP, et al. Novel sensory surface for creatine kinase electrochemical detection. *Biosensors and Bioelectronics*. 2014 Jun 15;56:217–22. DOI: 10.1016/j.bios.2013.12.052.
14. Sun L, Li W, Wang M, et al. Development of an electrochemical impedance immunosensor for myoglobin determination. *International Journal of Electrochemical Science*. 2017 Jul 1;12(7):6170–9. DOI: 10.20964/2017.07.72.
15. Ghedir EK, Baraket A, Benounis M, et al. Electrochemical Multiplexed N-Terminal Natriuretic Peptide and Cortisol Detection in Human Artificial Saliva: Heart Failure Biomedical Application. *Chemosensors*. 2023 Jul 24;11(7):416. DOI: 10.3390/chemosensors11070416.
16. Pihiková D, Belický Š, Kasák P, et al. Sensitive detection and glycoprofiling of a prostate specific antigen using impedimetric assays. *Analyst*. 2016;141(3):1044–51. DOI: 10.1039/C5AN02322J.
17. Razmi N, Hasanzadeh M. Current advancement on diagnosis of ovarian cancer using biosensing of CA 125 biomarker: Analytical approaches. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2018 Nov 1;108:1–2. DOI: 10.1016/j.trac.2018.08.017.
18. Taheri N, Khoshshafar H, Ghanei M, et al. Dual-template rectangular nanotube molecularly imprinted polypyrrole for label-free impedimetric sensing of AFP and CEA as lung cancer biomarkers. *Talanta*. 2022 Mar 1;239:123146. DOI: 10.1016/j.talanta.2021.123146.
19. Karaboğa MN, Şimşek ÇS, Sezgintürk MK. AuNPs modified, disposable, ITO based biosensor: Early diagnosis of heat shock protein 70. *Biosensors and Bioelectronics*. 2016 Oct 15;84:22–9. DOI: 10.1016/j.bios.2015.08.044.
20. Park JS, Kim HJ, Lee JH, et al. Amyloid beta detection by faradaic electrochemical impedance spectroscopy using interdigitated microelectrodes. *Sensors*. 2018 Feb 1;18(2):426. DOI: 10.3390/s18020426.
21. Karaboga MN, Sezgintürk MK. Analysis of Tau-441 protein in clinical samples using rGO/AuNP nanocomposite-supported disposable impedimetric neuro-biosensing platform: Towards Alzheimer's disease detection. *Talanta*. 2020 Nov 1;219:121257. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.121257.
22. Zeng J, Duarte PA, Ma Y, Savchenko O, et al. An impedimetric biosensor for COVID-19 serology test and modification of sensor performance via dielectrophoresis force. *Biosensors and Bioelectronics*. 2022 Oct 1;213:114476. DOI: 10.1016/j.bios.2022.114476.
23. Shariati M. Impedimetric biosensor for monitoring complementary DNA from hepatitis B virus based on gold nanocrystals. *Journal of The Electrochemical Society*. 2021 Jan 27;168(1):016512. DOI: 10.1149/1945-7111/abdc72.
24. Nandi S, Mondal A, Roberts A, et al. Biosensor platforms for rapid HIV detection. *Advances in Clinical Chemistry*. 2020 Jan 1;98:1–34. DOI: 10.1016/bs.acc.2020.02.001.
25. Bertok T, Lorencova L, Chocholova E, et al. Electrochemical impedance spectroscopy based biosensors: Mechanistic principles, analytical examples and challenges towards commercialization for assays of protein cancer biomarkers. *ChemElectroChem*. 2019 Feb 15;6(4):989–1003. DOI: 10.1002/celec.201900061.
26. Sitkov N, Ryabko A, Moshnikov V, et al. Hybrid Impedimetric Biosensors for Express Protein Markers Detection. *Micromachines*. 2024 Jan 25;15(2):181. DOI: 10.3390/mi15020181.
27. Shimizu FM, de Barros A, Braunger ML, et al. Information visualization and machine learning driven methods for impedimetric biosensing. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2023 May 29;117:115. DOI: 10.1016/j.trac.2023.117115.
28. Robinson C, Juska VB, O'Riordan A. Surface chemistry applications and development of immunosensors using electrochemical impedance spectroscopy: A comprehensive review. *Environmental Research*. 2023 Aug 12;116877. DOI: 10.1016/j.envres.2023.116877.
29. Cholewinski A, Si P, Uceda M, et al. Polymer binders: Characterization and development toward aqueous electrode fabrication for sustainability. *Polymers*. 2021 Feb 20;13(4):631. DOI: 10.3390/polym13040631.
30. Smith S, Goodge K, Delaney M, et al. A comprehensive review of the covalent immobilization of biomolecules onto electrospun nanofibers. *Nanomaterials*. 2020 Oct 27;10(11):2142. DOI: 10.3390/nano10112142.
31. Alavarse AC, Frachini EC, da Silva RL, et al. Crosslinkers for polysaccharides and proteins: Synthesis conditions, mechanisms, and crosslinking efficiency, a review. *International journal of biological macromolecules*. 2022 Mar 31;202:558–96. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2022.01.029.
32. Bhattacharjee P, Ahearne M. Significance of crosslinking approaches in the development of next generation hydrogels for corneal tissue engineering. *Pharmaceutics*. 2021 Feb 28;13(3):319. DOI: 10.3390/pharmaceutics13030319.
33. Sapsford KE, Algar WR, Berti L, et al. Functionalizing nanoparticles with biological molecules: developing chemistries that facilitate nanotechnology. *Chemical reviews*. 2013 Mar 13;113(3):1904–2074. DOI:10.1021/cr300143v.
34. Bryan T, Luo X, Bueno PR, et al. An optimised electrochemical biosensor for the label-free detection of C-reactive protein in blood. *Biosensors and Bioelectronics*. 2013 Jan 15;39(1):94–8. DOI: 10.1016/j.bios.2012.06.051.
35. Pal A, Biswas S, Kare SP, et al. Development of an impedimetric immunosensor for machine learning-based

- detection of endometriosis: A proof of concept. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2021 Nov 1;346:130460. DOI: 10.1016/j.snb.2021.130460.
36. Alsabbagh K, Hornung T, Voigt A, et al. Microfluidic Impedance Biosensor Chips Using Sensing Layers Based on DNA-Based Self-Assembled Monolayers for Label-Free Detection of Proteins. *Biosensors*. 2021 Mar 13;11(3):80. DOI: 10.3390/bios11030080.
37. YaĖar H, Özcan HM, Mehmet O. A new electrochemical impedance biosensor based on aromatic thiol for alpha-1 antitrypsin determination. *Turkish journal of chemistry*. 2021;45(1):104–18. DOI: 10.3906/kim-2007-6.
38. Cecchetto J, Carvalho FC, Santos A, et al. An impedimetric biosensor to test neat serum for dengue diagnosis. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2015 Jul 5;213:150–4. DOI: 10.1016/j.snb.2015.02.068.
39. Schrattenecker JD, Heer R, Hainberger R, et al. Impedimetric IgG-Biosensor with In-Situ Generation of the Redox-Probe. In *Proceedings 2017 Aug 4 (Vol. 1, No. 4, p. 534)*. MDPI. DOI: 10.3390/proceedings1040534.
40. Chinnadayala SR, Park J, Abbasi MA, et al. Label-free electrochemical impedimetric immunosensor for sensitive detection of IgM rheumatoid factor in human serum. *Biosensors and Bioelectronics*. 2019 Oct 15;143:111642. DOI: 10.1016/j.bios.2019.111642.
41. Aydın EB, Sezgintürk MK. Ultrasensitive detection of interleukin 1 α using 3-phosphonopropionic acid modified FTO surface as an effective platform for disposable biosensor fabrication. *Bioelectrochemistry*. 2021 Apr 1;138:107698. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2020.107698.
42. Aydın EB, Sezgintürk MK. An impedimetric immunosensor for highly sensitive detection of IL-8 in human serum and saliva samples: A new surface modification method by 6-phosphonohexanoic acid for biosensing applications. *Analytical biochemistry*. 2018 Aug 1;554:44–52. DOI: 10.1016/j.ab.2018.05.030.
43. GündoĖdu A, Aydın EB, Sezgintürk MK. A novel electrochemical immunosensor based on ITO modified by carboxyl-ended silane agent for ultrasensitive detection of MAGE-1 in human serum. *Analytical biochemistry*. 2017 Nov 15;537:84–92. DOI: 10.1016/j.ab.2017.08.018.
44. Rohrbach F, Karadeniz H, Erdem A, et al. Label-free impedimetric aptasensor for lysozyme detection based on carbon nanotube-modified screen-printed electrodes. *Analytical biochemistry*. 2012 Feb 15;421(2):454–9. DOI: 10.1016/j.ab.2011.11.034.
45. Kara P, de la Escosura-Muñiz A, Maltez-da Costa M, et al. Aptamers based electrochemical biosensor for protein detection using carbon nanotubes platforms. *Biosensors and Bioelectronics*. 2010 Dec 15;26(4):1715–8. DOI: 10.1016/j.bios.2010.07.090.
46. Jozghorbani M, Fathi M, Kazemi SH, et al. Determination of carcinoembryonic antigen as a tumor marker using a novel graphene-based label-free electrochemical immunosensor. *Analytical biochemistry*. 2021 Jan 15;613:114017. DOI: 10.1016/j.ab.2020.114017.
47. Yagati AK, Pyun JC, Min J, et al. Label-free and direct detection of C-reactive protein using reduced graphene oxide-nanoparticle hybrid impedimetric sensor. *Bioelectrochemistry*. 2016 Feb 1;107:37–44. DOI:10.1016/j.bioelechem.2015.10.002.
48. Frias IA, Zine N, Sigaud M, et al. Non-covalent π - π functionalized Gii-sense \square graphene foam for interleukin 10 impedimetric detection. *Biosensors and Bioelectronics*. 2023 Feb 15;222:114954. DOI: 10.1016/j.bios.2022.114954.
49. Demirbakan B, Sezgintürk MK. An impedimetric biosensor system based on disposable graphite paper electrodes: Detection of ST2 as a potential biomarker for cardiovascular disease in human serum. *Analytica Chimica Acta*. 2021 Feb 1;1144:43–52. DOI: 10.1016/j.aca.2020.12.001.
50. Brodowski M, Kowalski M, Skwarecka M, et al. Highly selective impedimetric determination of Haemophilus influenzae protein D using maze-like boron-doped carbon nanowall electrodes. *Talanta*. 2021 Jan 1;221:121623. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.121623.
51. Aydın EB, Aydın M, Sezgintürk MK. Fabrication of electrochemical immunosensor based on acid-substituted poly (pyrrole) polymer modified disposable ITO electrode for sensitive detection of CCR4 cancer biomarker in human serum. *Talanta*. 2021 Jan 15;222:121487. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.121487.
52. Gandarilla AM, Glória JC, Barcelay YR, et al. Application of egg yolk IgY on carboxylated polypyrrole films for impedimetric detection of PfHRP2 antigen. *Bioelectrochemistry*. 2022 Dec 1;148:108273. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2022.108273.
53. Yuan G, He J, Li Y, et al. A novel ultrasensitive electrochemical immunosensor based on carboxy-encapped conductive polypyrrole for the detection of gypican-3 in human serum. *Analytical methods*. 2015;7(5):1745–50. DOI: 10.1039/c4ay02820a.
54. Kim M, Iezzi Jr R, Shim BS, et al. Impedimetric biosensors for detecting vascular endothelial growth factor (VEGF) based on poly (3, 4-ethylene dioxythiophene) (PEDOT)/gold nanoparticle (Au NP) composites. *Frontiers in Chemistry*. 2019 Apr 16;7:234. DOI: 10.3389/fchem.2019.00234.
55. Ghanavati M, Tadayon F, Bagheri H. A novel label-free impedimetric immunosensor for sensitive detection of prostate specific antigen using Au nanoparticles/MWCNTs-graphene quantum dots nanocomposite. *Microchemical Journal*. 2020 Dec 1;159:105301. DOI: 10.1016/j.microc.2020.105301.
56. Vijayaraghavan P, Wang YY, Palanisamy S, et al. Hierarchical ensembles of FeCo metal-organic frameworks reinforced nickel foam as an impedimetric sensor for detection of IL-1RA in human samples. *Chemical*

- Engineering Journal. 2023 Feb 15;458:141444. DOI: 10.1016/j.cej.2023.141444.
57. Gupta A, Sharma SK, Pachauri V, et al. Sensitive impedimetric detection of troponin I with metal-organic framework composite electrode. RSC advances. 2021;11(4):2167–74. DOI: 10.1039/d0ra06665f.
58. Centane S, Mgidlana S, Openda Y, et al. Electrochemical detection of human epidermal growth factor receptor 2 using an aptamer on cobalt phthalocyanines–Cerium oxide nanoparticle conjugate. Bioelectrochemistry. 2022 Aug 1;146:108146. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2022.108146.
59. Januarie KC, Oranzie M, Feleni U, et al. Quantum dot amplified impedimetric aptasensor for interferon-gamma. Electrochimica Acta. 2023 Sep 20;463:142825. DOI: 10.1016/j.electacta.2023.142825.
60. Abazar F, Noorbakhsh A. Chitosan-carbon quantum dots as a new platform for highly sensitive insulin impedimetric aptasensor. Sensors and Actuators B: Chemical. 2020 Feb 1;304:127281. DOI: 10.1016/j.snb.2019.127281.
61. Ruecha N, Shin K, Chailapakul O, et al. Label-free paper-based electrochemical impedance immunosensor for human interferon gamma detection. Sensors and Actuators B: Chemical. 2019 Jan 15;279:298–304. DOI: 10.1016/j.snb.2018.10.024.
62. Tertis M, Leva PI, Bogdan D, et al. Impedimetric aptasensor for the label-free and selective detection of Interleukin-6 for colorectal cancer screening. Biosensors and Bioelectronics. 2019 Jul 15;137:123–32. DOI: 10.1016/j.bios.2019.05.012.
63. Tanak AS, Jagannath B, Tamrakar Y, et al. Non-faradaic electrochemical impedimetric profiling of procalcitonin and C-reactive protein as a dual marker biosensor for early sepsis detection. Analytica chimica acta: X. 2019 Nov 1;3:100029. DOI: 10.1016/j.acax.2019.100029.
64. Wang SX, Acha D, Shah AJ, et al. Detection of the tau protein in human serum by a sensitive four-electrode electrochemical biosensor. Biosensors and bioelectronics. 2017 Jun 15;92:482–8. DOI: 10.1016/j.bios.2016.10.077.
65. Messaoud NB, Dos Santos MB, Trocado V, et al. A novel label-free electrochemical immunosensor for detection of surfactant protein B in amniotic fluid. Talanta. 2023 Jan 1;251:123744. DOI: 10.1016/j.talanta.2022.123744.
66. Shamsuddin SH, Gibson TD, Tomlinson DC, et al. Reagentless Affimer- and antibody-based impedimetric biosensors for CEA-detection using a novel non-conducting polymer. Biosensors and Bioelectronics. 2021 Apr 15;178:113013. DOI: 10.1016/j.bios.2021.113013.
67. Erdem A, Congur G. Dendrimer enriched single-use aptasensor for impedimetric detection of activated protein C. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2014 May 1;117:338–45. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2014.03.003.
68. Erdem A, Congur G. Dendrimer modified 8-channel screen-printed electrochemical array system for impedimetric detection of activated protein C. Sensors and Actuators B: Chemical. 2014 Jun 1;196:168–74. DOI: 10.1016/j.snb.2014.01.103.
69. Senturk H, Eksin E, Işık Ö, et al. Impedimetric aptasensor for lysozyme detection based on carbon nanofibres enriched screen-printed electrodes. Electrochimica Acta. 2021 May 1;377:138078. DOI: 10.1016/j.electacta.2021.138078.
70. Caballero D, Martinez E, Bausells J, et al. Impedimetric immunosensor for human serum albumin detection on a direct aldehyde-functionalized silicon nitride surface. Analytica Chimica Acta. 2012 Mar 30;720:43–8. DOI: 10.1016/j.aca.2012.01.031.
71. Low YK, Chan J, Soraya GV, et al. Development of an ultrasensitive impedimetric immunosensor platform for detection of Plasmodium lactate dehydrogenase. Sensors. 2019 May 29;19(11):2446. DOI: 10.3390/s19112446.
72. Białobrzaska W, Ficek M, Dec B, et al. Performance of electrochemical immunoassays for clinical diagnostics of SARS-CoV-2 based on selective nucleocapsid N protein detection: Boron-doped diamond, gold and glassy carbon evaluation. Biosensors and Bioelectronics. 2022 Aug 1;209:114222. DOI: 10.1016/j.bios.2022.114222.
73. Zakaria N, Mohd Y, Chin LY, et al. Poly-Ortho-Phenylenediamine Modified Pt/Ir Microelectrode as Impedimetric Biosensor. International Journal of Electrochemical Science. 2021 Jan 1;16(7):210736. DOI: 10.20964/2021.07.66.
74. Aydın EB, Aydın M, Sezgintürk MK. A novel electrochemical impedance immunosensor for the quantification of CYFRA 21-1 in human serum. Microchimica Acta. 2023 Jun;190(6):235. DOI: 10.1007/s00604-023-05813-z.
75. Uygun ZO, Şahin Ç, Yılmaz M, et al. Fullerene-PAMAM (G5) composite modified impedimetric biosensor to detect Fetuin-A in real blood samples. Analytical biochemistry. 2018 Feb 1;542:11–5. DOI: 10.1016/j.ab.2017.11.007.
76. Yılmaz N, Aydın EB, Sezgintürk MK. An epoxysilane modified indium tin oxide electrode for the determination of PAK 2: application in human serum samples. Analytica chimica acta. 2019 Jul 25;1062:68–77. DOI: 10.1016/j.aca.2019.02.020.
77. Altay DN, Yagar H, Ozcan HM. A new ITO-based Aβ42 biosensor for early detection of Alzheimer's disease. Bioelectrochemistry. 2023 Oct 1;153:108501. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2023.108501.
78. Aydın EB. Highly sensitive impedimetric immunosensor for determination of interleukin 6 as a cancer biomarker by using conjugated polymer containing epoxy side groups modified disposable ITO electrode. Talanta. 2020 Aug 1;215:120909. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.120909.
79. Aydın EB, Aydın M, Sezgintürk MK. A novel electrochemical immunosensor based on acetylene black/epoxy-substituted-polypyrrole polymer composite for the highly sensitive and selective detection of interleukin

6. Talanta. 2021 Jan 15;222:121596. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.121596.
80. Chuang YH, Chang YT, Liu KL, et al. Electrical impedimetric biosensors for liver function detection. *Biosensors and Bioelectronics*. 2011 Oct 15;28(1):368–72. DOI: 10.1016/j.bios.2011.07.049.
81. Filip J, Zavier S, Klukova L, et al. Immobilization of concanavalin A lectin on a reduced graphene oxide-thionine surface by glutaraldehyde crosslinking for the construction of an impedimetric biosensor. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2017 Jun 1;794:156–63. DOI: 10.1016/j.jelechem.2017.04.019.
82. Thangsunan P, Lal N, Tiede C, et al. Affimer-based impedimetric biosensors for fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3): a novel tool for detection and surveillance of recurrent bladder cancer. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2021 Jan 1;326:128829. DOI: 10.1016/j.snb.2020.128829.
83. Rushworth JV, Ahmed A, Griffiths HH, et al. A label-free electrical impedimetric biosensor for the specific detection of Alzheimer's amyloid-beta oligomers. *Biosensors and bioelectronics*. 2014 Jun 15;56:83–90. DOI: 10.1016/j.bios.2013.12.036.
84. Svirgelj R, Zuliani I, Grazioli C, et al. An effective label-free electrochemical aptasensor based on gold nanoparticles for gluten detection. *Nanomaterials*. 2022 Mar 17;12(6):987. DOI: 10.3390/nano12060987.
85. Moro G, Ferrari L, Angelini A, et al. An Impedimetric Biosensing Strategy Based on BicyclicPeptides as Bioreceptors for Monitoring h-uPA Cancer Biomarkers. *Chemosensors*. 2023 Apr 9;11(4):234. DOI: 10.3390/chemosensors11040234.
86. Li Y, Wang C, Li Z, Wang M, et al. Zirconium-porphyrin complex as novel nanocarrier for label-free impedimetric biosensing neuron-specific enolase. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2020 Jul 1;314:128090. DOI: 10.1016/j.snb.2020.128090.
87. Han C, Xing W, Li W, et al. Aptamers dimerization inspired biomimetic clamp assay towards impedimetric SARS-CoV-2 antigen detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2023 Apr 1;380:133387. DOI: 10.1016/j.snb.2023.133387.
88. Mi X, Li H, Tu Y. An Aptamer Biosensing Strategy for Label-Free Assay of Dual Acute Myocardial Infarction Biomarkers Built upon AuNPs/Ti3C2-MXenes. *Chemosensors*. 2023 Feb 24;11(3):157. DOI:10.3390/chemosensors11030157.
89. Cao L, Kiely J, Piano M, et al. Nanoparticle-based 3D membrane for impedimetric biosensor applications. *Bioelectrochemistry*. 2020 Dec 1;136:107593. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2020.107593.
90. Cao L, Kiely J, Piano M, et al. A copper oxide/zinc oxide composite nano-surface for use in a biosensor. *Materials*. 2019 Apr 6;12(7):1126. DOI: 10.3390/ma12071126.
91. Arkusz K, Paradowska E. Impedimetric detection of femtomolar levels of interleukin 6, interleukin 8, and tumor necrosis factor alpha based on thermally modified nanotubular titanium dioxide arrays. *Nanomaterials*. 2020 Nov 30;10(12):2399. DOI: 10.3390/nano10122399.
92. Sri S, Chauhan D, Lakshmi GB, et al. MoS2 nanoflower based electrochemical biosensor for TNF alpha detection in cancer patients. *Electrochimica Acta*. 2022 Feb 10;405:139736. DOI: 10.1016/j.electacta.2021.139736.
93. Khan R, Pal M, Kuzikov AV, et al. Impedimetric immunosensor for detection of cardiovascular disorder risk biomarker. *Materials Science and Engineering: C*. 2016 Nov 1;68:52–8. DOI: 10.1016/j.msec.2016.05.107.
94. Tse Sum Bui B, Mier A, Haupt K. Molecularly imprinted polymers as synthetic antibodies for protein recognition: The next generation. *Small*. 2023 Mar;19(13):2206453. DOI: 10.1002/sml.202206453.
95. Ben Hassine A, Raouafi N, Moreira FT. Novel electrochemical molecularly imprinted polymer-based biosensor for Tau protein detection. *Chemosensors*. 2021 Aug 25;9(9):238. DOI: 10.3390/chemosensors9090238.
96. Yaman YT, Vural OA, Bolat G, et al. Peptide nanotubes/self-assembled polydopamine molecularly imprinted biochip for the impedimetric detection of human Interleukin-6. *Bioelectrochemistry*. 2022 Jun 1;145:108053. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2022.108053.
97. Karami P, Bagheri H, Johari-Ahar M, et al. Dual-modality impedimetric immunosensor for early detection of prostate-specific antigen and myoglobin markers based on antibody-molecularly imprinted polymer. *Talanta*. 2019 Sep 1;202:111–22. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.04.061.
98. Wu CC, Singh K, Ye JX, et al. A microfluidic chip integrating electrochemical impedimetric immunosensors constructed by top-bottom opposite electrodes for rapid detection of peanut allergen-Ara h 1. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2023 Dec 1;396:134637. DOI: 10.1016/j.snb.2023.134637.
99. Torul H, Arslan ZÇ, Tezcan T, et al. Microfluidic-based blood immunoassays. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2023 May 10;228:115313. DOI: 10.1016/j.jpba.2023.115313/.
100. Sitkov N, Zimina T, Kolobov A, et al. Study of the fabrication technology of hybrid microfluidic biochips for label-free detection of Proteins. *Micromachines*. 2021 Dec 24;13(1):20. DOI: 10.3390/mi13010020.
101. Shahbazi F, Jabbari M, Esfahani MN, et al. Microfluidic-Integrated Biosensors. In *Applied Complex Flow: Applications of Complex Flows and CFD* 2023 Feb 2 (pp. 21-42). Singapore: Springer Nature Singapore. DOI: 10.1007/978-981-19-7746-6_2.

Информация об авторах:

Рябко Андрей Андреевич, к.т.н., младший научный сотрудник лаборатории неравновесных процессов в полупроводниках, ФТИ им. А. Ф. Иоффе РАН;

Ситков Никита Олегович, к.т.н., ассистент кафедры микро- и нанoeлектроники, ФГАОУ ВО СПбГЭТУ «ЛЭТИ» им. В. И. Ульянова (Ленина); старший научный сотрудник НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Марценюк Елизавета Николаевна, студент, кафедры микро- и нанoeлектроники, ФГАОУ ВО СПбГЭТУ «ЛЭТИ» им. В. И. Ульянова (Ленина);

Зими́на Татьяна Михайловна, к.ф.-м.н., доцент кафедры микро- и нанoeлектроники, ФГАОУ ВО СПбГЭТУ «ЛЭТИ» им. В. И. Ульянова (Ленина); старший научный сотрудник НИЛ нанотехнологий, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Гареев Камилъ Газинурович, к.т.н., доцент кафедры микро- и нанoeлектроники, ФГАОУ ВО СПбГЭТУ «ЛЭТИ» им. В. И. Ульянова (Ленина); старший научный сотрудник НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Шевцов Максим Алексеевич, д.б.н., заведующий НИО трансляционной онкологии, НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Authors information:

Andrey A. Ryabko, PhD, Junior Researcher, Laboratory of Nonequilibrium Processes in Semiconductors, Ioffe Institute of the Russian Academy of Sciences;

Nikita O. Sitkov, PhD, assistant lecturer, Department of Micro- and Nanoelectronics, Saint Petersburg Electrotechnical University «LETI»; Senior Researcher, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Elizaveta N. Martsenyuk, student, Department of Micro- and Nanoelectronics, Saint Petersburg Electrotechnical University «LETI»;

Tatiana M. Zimina, PhD, Associate Professor, Department of Micro- and Nanoelectronics, Saint Petersburg Electrotechnical University «LETI»; Senior Researcher, Laboratory of Nanotechnologies, Almazov National Medical Research Centre;

Kamil G. Gareev, PhD, Associate Professor, Department of Micro- and Nanoelectronics, Saint Petersburg Electrotechnical University «LETI»; Senior Researcher, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Maxim A. Shevtsov, PhD, Dr.Sc., Head of Department Translational Oncology, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ АКТИВАЦИИ RUNX2 ПРИ ИНДУКЦИИ ОСТЕОГЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

Громова Е. С., Азаркина К. Е., Костина Д. А.,
Переплетчикова Д. А., Смирнова Д. С., Малашичева А. Б.

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

Контактная информация:
Громова Екатерина Сергеевна,
ФГБУН Институт цитологии РАН,
Тихорецкий пр., д. 4, Санкт-Петербург,
Россия, 194064.
E-mail: kate.gromova01@mail.ru

Статья поступила в редакцию 17.07.2024
и принята к печати 19.07.2024.

Резюме

Актуальность. Несмотря на то, что Runx2 является общепризнанным маркером и регулятором остеогенной дифференцировки, механизмы его регуляции, динамика активации в ходе остеогенной дифференцировки и взаимосвязь с другими генами и генными путями, связанными с остеогенной дифференцировкой, остаются неясными. **Цель** — проанализировать динамику активации Runx2 и влияние стабильного уровня белка на дифференцировочные процессы. **Материалы и методы.** В работе были использованы лентивирусные конструкции генетических изоформ RUNX2: RUNX2full (полноразмерный ген), RUNX2delta (укороченная последовательность), RUNX2stop (со стоп-кодоном), также была использована шпилечная конструкция на RUNX2 — shRUNX2 для подавления его активности. Для поддержания стабильного уровня белка в клетках использовали ингибитор протеасомной деградации MG132. Для анализа динамики активации Runx2 остеогенную дифференцировку индуцировали на разные временные сроки. Анализ результатов проводился методом вестерн-блоттинга, ПЦР в реальном времени, окрашиванием ализариновым красным. **Результаты.** Стабилизация белка Runx2 при 24 часах индукции остеогенной дифференцировки способствует ее усилению. Также уровень транскриптов Runx2 не изменяется, но происходит активация генов-мишеней. **Заключение.** В процессе инициации остеогенной дифференцировки гингивальных фибробластов *in vitro* Runx2 регулируется как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровнях; накопление небольшого уровня транскриптов при индукции остеогенной дифференцировки и стабилизация белка Runx2, по-видимому, являются критически важными.

Ключевые слова: динамика активации Runx2, остеогенная дифференцировка клеток.

Для цитирования: Громова Е.С., Азаркина К.Е., Костина Д.А. и др. Исследование динамики активации Runx2 при индукции остеогенной дифференцировки. Трансляционная медицина. 2024; 11(3): 284-293. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-3-284-293. EDN: HLEVMD

INVESTIGATION OF THE DYNAMICS OF RUNX2 ACTIVATION DURING INDUCTION OF OSTEOGENIC DIFFERENTIATION

Ekaterina S. Gromova, Ksenia E. Azarkina, Daria A. Kostina,
Daria A. Perepletchikova, Daria S. Smirnova, Anna B. Malashicheva

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

Corresponding author:

Ekaterina S. Gromova,
Institute of Cytology of the Russian Academy
of Sciences,
Tikhoretsky Prospekt, 4, Saint Petersburg,
Russia, 194064.
E-mail: kate.gromova01@mail.ru

Received 17 July 2024; accepted 19 July
2024.

Abstract

Background. Despite the fact that Runx2 is a generally recognized marker and regulator of osteogenic differentiation, the mechanisms of its regulation, the dynamics of activation during osteogenic differentiation and the relationship with other genes and gene pathways associated with osteogenic differentiation remain unclear. **The aim** is to analyze the dynamics of Runx2 activation and the effect of stable protein levels on differentiation processes. **Materials and methods.** Lentiviral constructs of RUNX2 genetic isoforms were used in the work: RUNX2full (full-size gene), RUNX2delta (shortened sequence), RUNX2stop (with stop codon), a hairpin design on RUNX2 — shRUNX2 was also used to suppress its activity. The proteasome degradation inhibitor MG132 was used to maintain stable protein levels in cells. To analyze the dynamics of Runx2 activation, osteogenic differentiation was induced for different time periods. The results were analyzed by Western blotting, real-time PCR, and alizarin red staining. **Results.** Stabilization of the Runx2 protein at 24 hours of induction of osteogenic differentiation contributes to its strengthening. Also, the level of Runx2 transcripts does not change, but target genes are activated. **Conclusion.** During the initiation of osteogenic differentiation of gingival fibroblasts in vitro, Runx2 is regulated at both the transcriptional and post-transcriptional levels; accumulation of a small level of transcripts during induction of osteogenic differentiation and stabilization of the Runx2 protein seem to be critically important.

Key words: dynamics of Runx2 activation, osteogenic cell differentiation.

For citation: Gromova ES, Azarkina KE, Kostina DA, et al. Investigation of the dynamics of Runx2 activation during induction of osteogenic differentiation. Translational Medicine. 2024; 11(3): 284-293. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-3-284-293. EDN: HLEVMD

Список сокращений: ВКМ — внутриклеточный матрикс, кДНК — кодирующая дезоксирибонуклеиновая кислота, НЕК — клеточная линия на основе эмбриональных клеток почки человека, ПААГ — полиакриламидный гель, ПЦР — полимеразная цепная реакция, РНК — рибонуклеиновая кислота, ФБС — фетальная бычья сыворотка, ФСБ — фосфатно-солевой буфер, *ВМР* — гены, кодирующие костно-морфогенетические белки, MMLV-RT — обратная транскриптаза вируса лей-

кемии мышей, *SPP1* — ген, кодирующий выработку белка остеооптина, $TGF\beta$ — трансформирующий фактор роста β .

Введение

Runx2 — транскрипционный фактор и сигнальная молекула, играющая важную роль в процессах остеогенной дифференцировки остеобластов [1].

Кроме того, Runx2 является важной сигнальной молекулой и взаимодействует с разными сигналь-

ными путями: Wnt, Bmp и Notch [2]. Кальцификация является важным физиологическим процессом, который происходит как при нормальном развитии, так и при патологии, например, кальцификация опухолей [3].

Runx2 необходим при переходе прогениторных мезенхимных стволовых клеток в преостеобласты, а его активность имеет большее значение на ранних стадиях дифференцировки. Молодые остеобласты продуцируют различные белки, такие как остеокальцин, остеопонтин, костно-морфогенетические белки BMPs. Белки BMP являются активаторами Runx2, и их взаимодействие важно для процесса костеобразования [4]. Также Runx2 участвует и в других процессах, идущих во скелетогенезе, например, взаимодействие Runx2 и сигнального пути TGF- β регулирует дифференцировку хондроцитов и их предшественников [5].

Также на уровень белка Runx2 большое влияние оказывает убиквитин-зависимая деградация в протеасоме. Взаимодействие Runx2 и сигнального пути Notch представляет большой интерес для изучения воздействия на дифференцировку остеобластов, так как Notch является высококонсервативным сигнальным каскадом, который участвует в развитии и регенерации клеток костной ткани.

Также наблюдаются жесткие пространственно-временные паттерны экспрессии генов *RUNX*, что обеспечивает их продуктам экспрессии четкие биологические функции [6].

Несмотря на то, что Runx2 является общепризнанным маркером и регулятором остеогенной дифференцировки, механизмы его регуляции, динамика активации в ходе остеогенной дифференцировки и взаимосвязь с другими генами и генными путями, связанными с остеогенной дифференцировкой, остаются неясными. Таким образом, целью работы является исследование динамики ранней активации транскрипционного фактора Runx2 после индукции остеогенной дифференцировки.

Материалы и методы

В работе использовали первичные культуры гингивальных фибробластов человека, полученные из Покровского банка стволовых клеток [7]. Клеточные культуры регулярно проверяли на отсутствие микоплазмы.

Культивирование гингивальных фибробластов. Гингивальные фибробласты культивировали в модифицированной по Дюльбекко среде «Игла» (DMEM 1g/L D-glucose, Gibco, США) с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки (ФБС; HyClone, США), а также 2 мМ L-глутамин и 1 %

пенициллин/стрептомицин (Gibco, США). Высев клеток производили на желатиновую подложку (0,2 % в водно-солевом буфере). Условия культивирования стандартные — температура 37 °C с 5 % содержанием CO₂. Морфологическую оценку клеточной популяции производили с помощью инвертированного микроскопа Leica DMi1 (Leica, США) при увеличении 20 \times . В экспериментах клетки культивировали до 7 пассажа.

Стабилизация уровня белка в клетках. На следующий день после посева клеток вводили ингибитор протеасомной деградации MG132 (10 мМ) (Sigma Aldrich, США). Инкубацию клеточной культуры с ингибитором проводили в течение 24 часов.

Запуск остеогенной дифференцировки клеток. Индукцию остеогенной дифференцировки проводили в среде с тем же составом, что и при рутинном культивировании клеток. Кроме того, в среду добавляли остеогенные факторы: 200 мкМ L-аскорбиновой кислоты, 10 мМ β -глицерофосфата, 100 нМ дексаметазона (все Sigma Aldrich, США). Смена среды производилась 2–3 раза в неделю. Дифференцировку клеток оценивали методом окрашивания ализариновым красным.

Окрашивание клеток ализариновым красным и экстракция красителя уксусной кислотой. Ализариновое окрашивание клеток осуществлялось в промежутке с 7-го по 21-й день остеогенной дифференцировки, в зависимости от состояния клеток. Из лунок культурального планшета удаляли среду и промывали фосфатно-солевым буфером (ФСБ), далее фиксировали клетки в 70 % этаноле в течение 1 часа при комнатной температуре. Затем лунки дважды промывали дистиллированной водой. В каждую лунку добавляли 200 мкл ализаринового красного и инкубировали в течение 20–40 минут при комнатной температуре. После окрашивания клетки промывали дистиллированной водой и фотографировали результаты. Для экстракции красителя в каждую лунку планшета добавляли 300 мкл 10 % уксусной кислоты и выдерживали 20–40 минут. Полученные экстракты переносили в 96-луночный планшет в трех технических повторах. Измерения производились на спектрофотометре Picon, оснащенном оптическим фильтром, поглощающим длину волны 450 нм.

Сборка и наработка вирусных частиц. В первый день в культуральные чашки (диаметром 10 см) высевали по 3 млн клеток линии HEK293T. Для получения одного вируса выделяли 6 чашек клеток. Через 24 часа, когда клетки достигали 70–80 % конфлюэнтности, в среду добавляли

трансфекционную смесь: на одну чашку — 15 мкг плазмиды интереса, 9,73 мкг psPAX2 и 5,27 мкг MD, 60 мкл PEI (полиэтиленимин), 1 мл OptiMEM (Gibco, США). Через 16–18 часов осуществляли смену среды. Через 24 часа среду с чашек собирали в специальные центрифужные пробирки (Beckman Coulter, США) и центрифугировали 2 часа при 42000 g и 4 °C. Затем концентрированные вирусные осадки ресуспендировали в 1 % бычьим сывороточном альбумине (БСА) в ФСБ. Аликвоты хранили при -80 °C.

Лентивирусная трансдукция клеток. В исследовании использовали следующие лентивирусные конструкции: полноразмерная форма RUNX2Full, изоформа с укороченной последовательностью RUNX2delta, изоформа, несущая стоп-кодон RUNX2stop, шпилечная конструкция на ген RUNX2 — shRUNX2, в качестве контроля вирусной нагрузки — пустой вирусный вектор TRC. Лентивирусную трансдукцию клеток проводили с использованием OptiMEM и HeBr (полибрен) в концентрации 5 мкг/мл среды. Через 18–24 часа меняли на стандартную среду для культивирования или на среду для остеогенной дифференцировки.

Вестерн-блоттинг. Для проведения вертикального электрофореза в ПААГ (полиакриламидном геле) использовали белковые гомогенизированные клеточные лизаты. Для их приготовления применяли лизирующий буфер RIPA (Thermo Scientific, США) и коктейль ингибиторов протеаз (Roche, Германия). Перед обработкой лизирующим буфером и ингибиторами клетки промывали ФСБ дважды. После лизиса гомогенаты переносили в пробирки и помещали в лед на 10 минут, после чего тщательно перемешивали. Пробы центрифугировали 10 минут при 13200g и 4 °C. После центрифугирования супернатанты переносили в новые пробирки. Образцы хранились при -80 °C. Подготовка проб к измерению белка проводилась в соответствии с протоколом Thermo Scientific с использованием стандартов, приготовленных на основе БСА. Измерения проводили на приборе VarioScan (Thermo Scientific, США) при длине волны 450 нм. Для электрофореза в ПААГ брали 15–20 мкг белка и смешивали с буфером для нанесения (4x Лэмли буфер, Sigma Aldrich, США). ПААГ состоял из концентрирующего и разрешающего гелей (их процентность зависит от веса исследуемого белка). Для дальнейшей оценки веса белков использовалась белковая лестница Prestained Protein Marker IV (Servicebio, Китай). Электрофорез проводили 1 час 30 минут при напряжении 200 В. Для переноса белковых образцов на мембрану гель, нитроцеллюлозную мембрану, фильтровальную

бумагу и специальные губки вымачивали в буфере для переноса. Затем все элементы собирали в камере для переноса в таком порядке: фильтровальная бумага, губка, фильтровальная бумага, нитроцеллюлозная мембрана, ПААГ с белковыми образцами и вновь фильтровальная бумага, губка, фильтровальная бумага. Перенос белков на мембрану осуществлялся в течение 30 минут в Trans-Blot Turbo Transfer System при стандартной программе (Bio-Rad, США). После переноса мембрану отмывали в ФСБ с добавлением 0,1 % детергента Tween-20 (Helicon, США). Блокирование неспецифического связывания антител проходило 1 час в 5 % растворе молока в ФСБ с 0,1 % Tween при комнатной температуре. Затем мембрану инкубировали с первичными антителами мыши Runx2 1:100 (SantaCruz, США) в течение ночи при 4 °C. Инкубацию со вторичными козьими антителами 1:1000 (Abcam, США) проводили при комнатной температуре 1 час. Детекция пероксидазного сигнала от вторичных антител осуществлялась с помощью хемилюминесцентного проявителя ECL (Servicebio, Китай) на приборе Chemidoc (Bio-Rad, США). Изображения редактировали в программе paint.net. Количественная обработка результатов проводилась в программе Image J.

Выделение РНК и ПЦР в реальном времени. Тотальную РНК выделяли при помощи реагента Тризол («Евроген», Россия) по рекомендациям производителя. Для обратной транскрипции и синтеза кДНК использовали набор реагентов MMLV RT («Евроген», Россия). Количественный анализ уровня экспрессии генов проводили с использованием коммерческих систем ПЦР в реальном времени SYBR Green («Евроген», Россия) при следующих условиях: 95 °C в течение 5 минут, затем 45 циклов — денатурация при 95 °C в течение 15 секунд и отжиг праймеров с амплификацией 60 секунд при 60 °C. ПЦР проводили в амплификаторе LightCycler 96 Roche в 96-луночных оптических микротитровальных планшетах (Applied Biosystems, США). Относительные уровни экспрессии генов-остеомаркеров (*RUNX2*, *SPPI*, *BMP2*, *BMP4*), гена-мишени сигнального пути Notch (*HEY1*) анализировали при помощи сравнительного метода $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Расчет количественной экспрессии генов интереса проводился относительно референсного гена *GAPDH*. ПЦР проводили в 3 технических повторах.

Статистическая обработка. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы GraphPad Prism 9.0. Для сравнения двух групп был использован непарный t-критерий Стьюдента.

Результаты

1. Активация *Runx2* происходит на раннем сроке остеогенной дифференцировки

Runx2 — считается главным регулятором остеогенной дифференцировки. В литературе малое значение придается сроку, на котором происходит анализ активации, однако есть упоминание ее зависимости от срока дифференцировки [8]. Для изучения изменений динамики *Runx2* во времени, при смене стадий остеогенной дифференцировки, исследования изменений уровня транскрипционного фактора *Runx2* в динамике, клетки дифференцировали на разных сроках после индукции. В гингивальных фибробластах пик продукции *Runx2* наблюдается через 6 часов после запуска остеогенной дифференцировки (рис. 1). Таким образом, данное наблюдение говорит о том, что для инициации клеточной дифференцировки в гингивальных фибробластах изначально имеющийся уровень *Runx2* должен увеличиться для активации генов-мишеней.

2. Влияние изоформ *Runx2* на способность клеток к минерализации ВКМ в условиях остеогенной дифференцировки клеток

Для изучения функционального влияния гена *RUNX2* на индукцию и поддержание остеогенной дифференцировки клеток были сконструированы лентивирусные конструкции, несущие

разные модификации гена *RUNX2*: *RUNX2full* — полноразмерный ген, *RUNX2delta* — укороченная последовательность гена, *RUNX2stop* — последовательность, несущая стоп-кодон, *shRUNX2* — конструкция, образующая шпилечную структуру в транскрипте *RUNX2*. Окраска ализариновым красным на 7-й день дифференцировки гингивальных фибробластов демонстрирует активацию дифференцировочных процессов в клетках и при внесении активирующих конструкций, при этом конструкции с полноразмерным *RUNX2full* и с укороченной его вариацией *RUNX2delta* индуцируют дифференцировку с одинаковой интенсивностью (рис. 2). На 21-й день дифференцировки разница между образцами снижается, и гиперэкспрессия всех трех изоформ *RUNX2* и шпилечная конструкция *shRUNX2* приводят к росту потенциала клеток к минерализации (рис. 3). То есть подавления остеогенной дифференцировки на позднем сроке не происходит, по-видимому, наибольшее влияние на остеогенную дифференцировку оказывает воздействие на раннем сроке индукции.

В ответ на внесение лентивирусных конструкций *RUNX2full* и *RUNX2delta* при индукции остеогенной дифференцировки в гингивальных фибробластах с помощью вестерн-блоттинга было установлено усиление продукции белка *Runx2*, несущего полноразмерный ген *RUNX2* и укор-

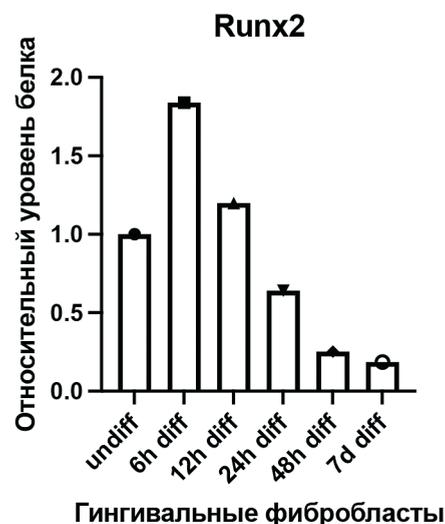
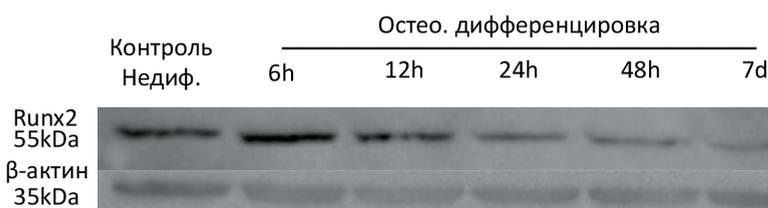


Рис. 1. Вестерн-блоттинг и денситометрия гингивальных фибробластов на *Runx2* и β -актин с контрольными недифференцированными клетками и остеогенной дифференцировкой на сроках 6, 12, 24, 48 часов и 7 дней

Figure 1. Western blotting and densitometry of gingival fibroblasts on *Runx2* and β -actin with control undifferentiated cells and osteogenic differentiation at 6, 12, 24, 48 hours and 7 days

роченную последовательность гена изоформы *RUNX2delta* (рис. 4).

Полученные данные дают понять, что лентивирусные генетические конструкции с изоформами

RUNX2 усиливают индукцию остеогенной дифференцировки. Поэтому следующей задачей было подобрать такие условия экспериментов, которые помогут оценить влияние *Runx2* на запуск осте-

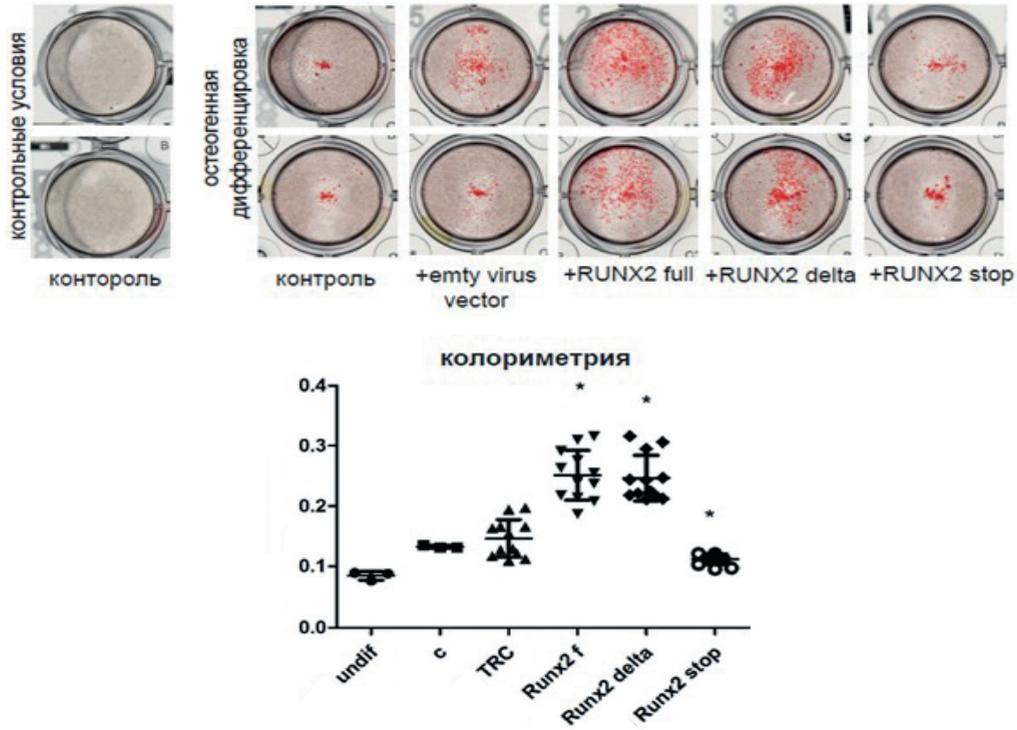


Рис. 2. Ализариновое окрашивание и колориметрия на гингивальных фибробластах с лентивирусами на 7-й день остеодифференцировки

Figure 2. Alizarin staining and colorimetry on gingival fibroblasts with lentiviruses on the 7th day of osteogenic differentiation



Рис. 3. Ализариновое окрашивание и колориметрия на гингивальных фибробластах с лентивирусами на 21-й день остеодифференцировки

Figure 3. Alizarin staining and colorimetry on gingival fibroblasts with lentiviruses on the 21st day of osteogenic differentiation

огенной дифференцировки на уровне изначально имеющегося в клетках белка.

3. Стабилизация уровня белка *Runx2* в гингивальных фибробластах при инициации остеогенной дифференцировки положительно влияет на гены-мишени

Для того чтобы проанализировать, как стабильный уровень транскрипционного фактора *Runx2* влияет на индукцию остеогенной дифференцировки, использовали ингибитор протеасомной деградации MG132.

С помощью ализаринового окрашивания было продемонстрировано, что ингибирование протеасомной деградации положительно влияет на биоминерализацию ВКМ в культуре фибробластов через 24 часа при инициации остеогенной дифференцировки (рис. 5).

На уровне мРНК *RUNX2* демонстрирует незначительное снижение экспрессии гена после ингибирования протеасомной деградации в гингивальных фибробластах через 24 часа после индукции остеодифференцировки (рис. 5).

Уровень экспрессии гена *SPPI*, кодирующего костный сиалопротеин остеопонтин, растет в ответ на стабильный уровень транскрипционного фактора *Runx2* в гингивальных фибробластах при индукции остеогенной дифференцировки.

Полученные результаты позволяют предположить, что постоянный уровень белка способствует

усилению дифференцировки, а индукция данного процесса сопровождается спадом активности ингибитора остеогенной дифференцировки остеопонтина и *BMP2*, рост которого обычно коррелирует с активацией экспрессии *RUNX2*.

Обсуждение

Динамика активации *Runx2* и влияние на остеогенную дифференцировку клеток

В ходе проведенных экспериментов мы показали, что накопление белка *Runx2* происходит уже через 6 часов после индукции остеогенной дифференцировки в культуре гингивальных фибробластов. Также все генетические изоформы *RUNX2* имеют сходное воздействие на способность клеток к минерализации ВКМ через 7-й и 21-й дни индукции остеогенной дифференцировки. Напротив, стабильный уровень белка, сохранившийся в клетках через 24 часа после инициации остеогенной дифференцировки, продемонстрировал рост таких генов-мишеней транскрипционного фактора *Runx2*, как *SPPI* (остеопонтин) и *BMP4*.

Остеобласты способны активно вырабатывать внеклеточный матрикс (ВКМ).

Развитие мезенхимных предшественников и преостеобластов контролируется транскрипционным фактором *Runx2*. Он считается основным регулятором процесса превращения остеобластов

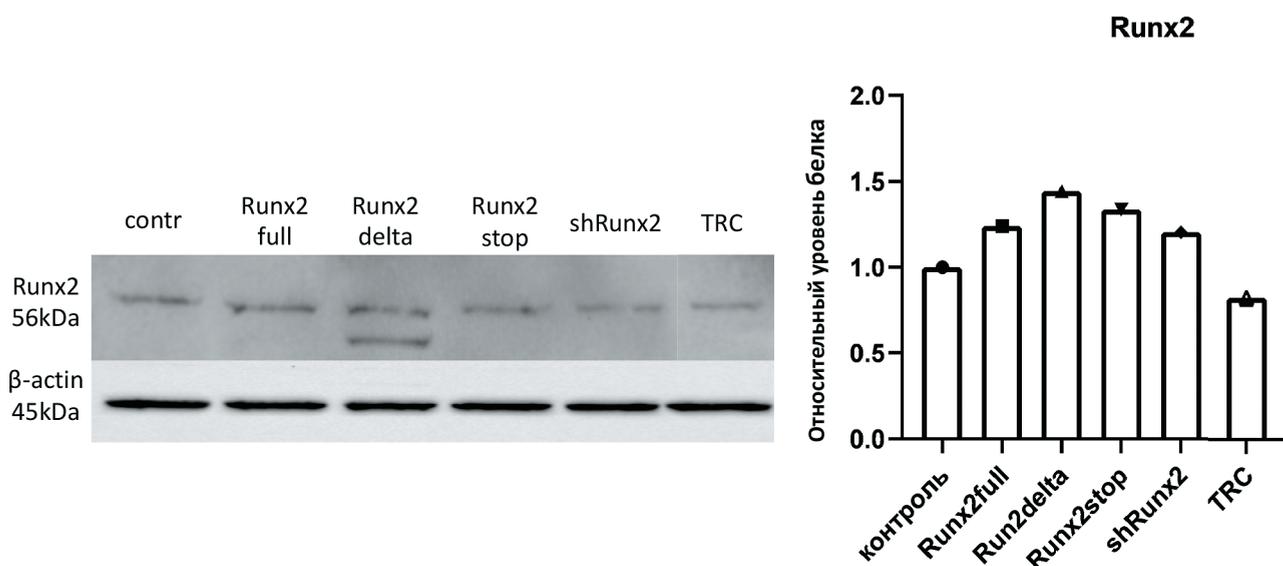


Рис. 4. Вестерн-блоттинг и денситометрия гингивальных фибробластов на *Runx2* и β -актин при индукции остеодифференцировки, 7 дней

Figure 4. Western blotting and densitometry of gingival fibroblasts for *Runx2* and β -actin during induction of osteogenic differentiation, 7 days

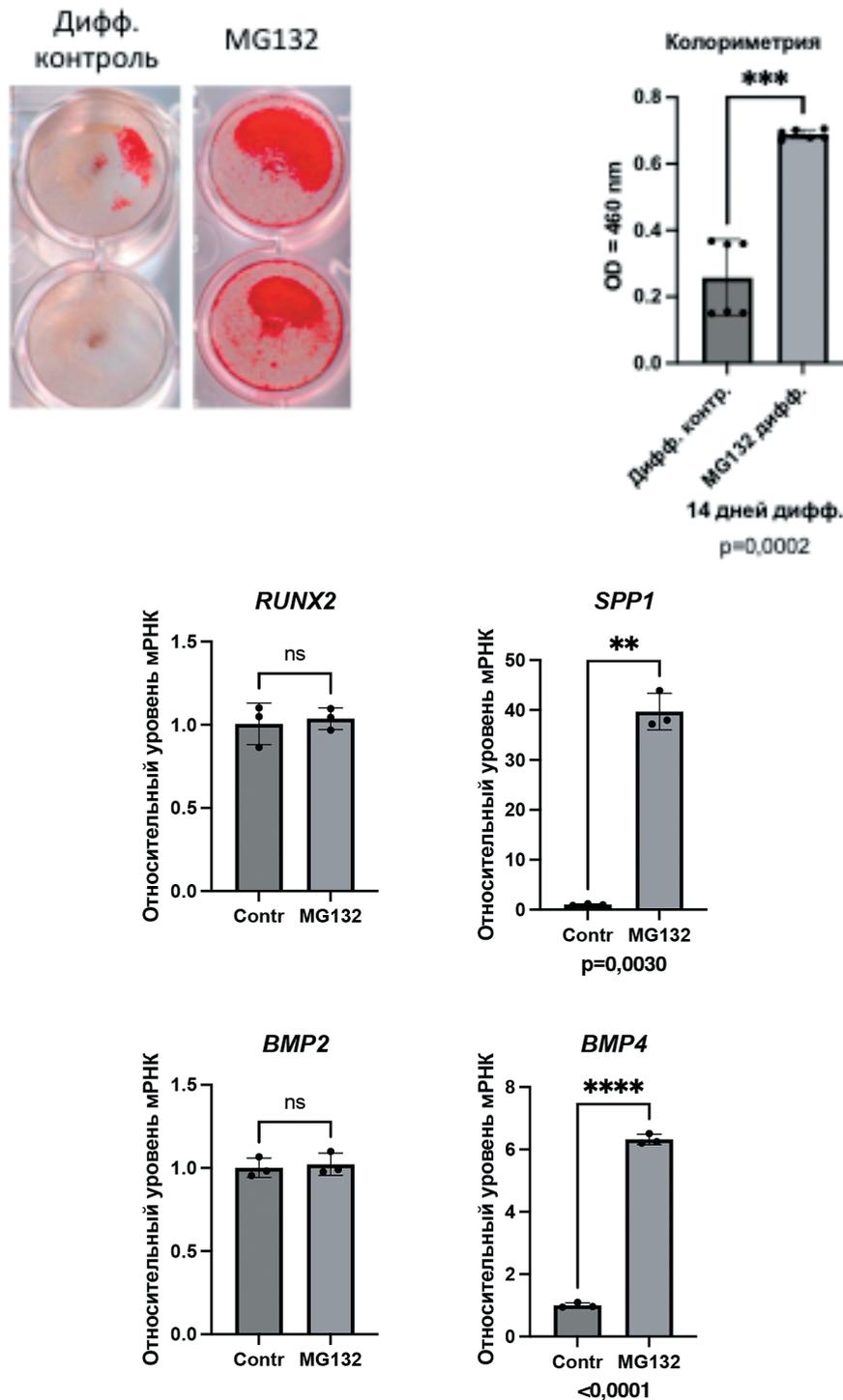


Рис. 5. Ализариновое окрашивание и колориметрия гингивальных фибробластов в условиях остеогенной дифференцировки с ингибитором протеасом и ОТ-ПЦР гингивальных фибробластов при индукции остеодифференцировки через 24 часа культивирования в присутствии ингибитора протеасом MG132 на RUNX2, его гены-мишени BMP2,4, SPP1

Достоверность сравниваемых значений (непараметрический t-критерий): ns — не существенно, ** — $P < 0,01$; **** — $P < 0,0001$.

Figure 5. Alizarin staining and colorimetry of gingival fibroblasts under conditions of osteogenic differentiation with a proteasome inhibitor and RT-PCR of gingival fibroblasts during induction of osteogenic differentiation after 24 hours of cultivation in the presence of MG132 proteasome inhibitor on RUNX2, its target genes BMP2,4, SPP1

Reliability of the compared values (nonparametric t-test): ns — not significant, ** — $P < 0.01$; **** — $P < 0.0001$.

в костную ткань, а также формирования кости. Гены-мишени фактора Runx2, такие как *BGLAP*, отвечают за выработку белка остеокальцина (*OCN*). Этот белок взаимодействует с ВКМ, что приводит к минерализации последнего. Особенность гена *BGLAP* заключается в том, что он работает только в остеобластах и не встречается в других типах клеток [9]. Процесс дифференцировки включает три этапа, каждый из которых характеризуется уникальным набором молекулярных маркеров [8].

Наши эксперименты демонстрируют, что наибольший уровень накопления транскрипционного фактора Runx2 в клетке происходит на раннем сроке остеогенной дифференцировки гингивальных фибробластов — через 6 часов после индукции. Также обе генетические изоформы *RUNX2full* и *RUNX2delta* проявляют одинаковые потенциалы к индукции остеогенной дифференцировки.

Убиквитинирование является одной из модификаций белков, в том числе принимающих участие в процессах деградации белка. Протеасомный путь деградации белков является собой не что иное, как ряд последовательных ферментативных реакций, которые активируют убиквитин (E1), переносчики убиквитина (E2) и убиквитинлигазы (E3). Убиквитинлигаза E3 является регуляторным фактором 1 убиквитина Smad (*Smurf1*). Было показано, что гиперэкспрессия *Smurf1* ингибирует дифференцировку остеобластов. И наоборот, при недостатке *Smurf1* достигалось увеличение образования костной массы посредством контроля деградации в протеасоме MEK2-киназа-МАРК-киназа 2 [10].

Известно, что несколько убиквитинлигаз E3 участвуют в убиквитинировании Runx2 и отрицательно влияют на остеогенную дифференцировку остеобластов [10]. Также сообщается о наличии другого механизма, приводящего к убиквитинированию, и связанной с ним деградации. Иницируются данные реакции комплексом циклин D1/CDK4, и контроль осуществляется посредством фосфорилирования. Кроме того, было обнаружено, что фосфорилирование определенного остатка серина (S294) запускает ацетилирование Runx2, что объясняет его транскрипционную активность и защищает его от деградации [10].

Противоположный убиквитинированию эффект осуществляет ацетилирование, которое оказывает на Runx2 протективное влияние и мешает деградации белка. Runx2 подвергается целому спектру различных посттрансляционных модификаций, с помощью которых происходит регуляция.

В ходе экспериментов на клеточных линиях остеобластов человека было обнаружено, что уровни белка Runx2 и мРНК не соответствуют друг другу [11]. Дальнейшие исследования показали, что мРНК *RUNX2* ассоциирована с полисомами только в дифференцированных остеобластных клетках, а в предшественниках остеобластов и неостеобластных клетках — нет. Эти результаты свидетельствуют о том, что экспрессия *RUNX2* регулируется на уровне трансляции [11].

Также эндогенный уровень белка Runx2 растет от эффекта ингибитора протеасомы 26S, но при этом повышения уровня мРНК не наблюдалось [12]. Однако ингибирование протеасом индуцировало остеогенную дифференцировку: увеличилась экспрессия генов, кодирующих белки остеокальцин и щелочную фосфатазу.

Полученные в данном исследовании результаты демонстрируют, что постоянный уровень белка Runx2 не влияет на изменение уровня транскриптов гена *RUNX2*, однако уровень экспрессии генов-мишеней изменяется. Также подавление протеасомной деградации белка Runx2 приводит к усилению биоминерализации у гингивальных фибробластов. Экспрессия генов, регулирующих выработку морфогенетических костных белков *Bmp 2* и *4*, в гингивальных фибробластах происходит по-разному: уровень транскриптов *BMP2* не изменяется, а *BMP4* растет, что говорит о влиянии постоянной концентрации белка Runx2 в клетке на некоторые гены-мишени в ходе остеогенной дифференцировки.

Заключение

Наше исследование продемонстрировало, что пик накопления белка транскрипционного фактора Runx2 в процессе остеогенной дифференцировки гингивальных фибробластов происходит через 6 часов после индукции, далее его уровень снижается, по-видимому, из-за наличия убиквитин-зависимой протеасомной деградации, а на поздних сроках уровень белка не изменяется. Также данные указывают, что именно на раннем сроке остеогенной дифференцировки клеток возможно повлиять на этот процесс в клетках. Так, нами было выявлено, что стабильный уровень транскрипционного фактора Runx2 при индукции остеогенной дифференцировки усиливает экспрессию таких генов-мишеней, как *SPP1* и *BMP4*. То есть Runx2 имеет тонкую настройку при инициации остеогенной дифференцировки на уровне мРНК и белка, а неизменный уровень транскриптов при сочетании со стабильным уровнем белка Runx2 оказывает прямое влияние на способность клеток к биоминерализации.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Финансирование / Funding

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ № 23-15-00320. /

Research is supported by a grant from The Russian Science Foundation №23-15-00320.

Список литературы / References

- Xu J, Li Z, Hou Y, Fang W. Potential mechanisms underlying the Runx2 induced osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells. *Am J Transl Res*. 2015 Dec 15;7(12):2527–2535. PMID: 26885254; PMCID: PMC4731654.
- Rutkovskiy A, Stenslökken KO, Vaage IJ. Osteoblast Differentiation at a Glance. *Med Sci Monit Basic Res*. 2016 Sep 26;22:95–106. DOI: 10.12659/msmbr.901142.
- Ferreira LB, Gimba E, Vinagre J, et al. Molecular Aspects of Thyroid Calcification. *Int J Mol Sci*. 2020 Oct 19;21(20):7718. DOI: 10.3390/ijms21207718.
- Toth Z, Ward A, Tang SY, McBride-Gagyí S. Sexual differences in bone porosity, osteocyte density, and extracellular matrix organization due to osteoblastic-specific Bmp2 deficiency in mice. *Bone*. 2021 Sep;150:116002. DOI: 10.1016/j.bone.2021.116002.
- Chen Y, Mehmood K, Chang YF, et al. The molecular mechanisms of glycosaminoglycan biosynthesis regulating chondrogenesis and endochondral ossification. *Life Sci*. 2023 Dec 15;335:122243. DOI: 10.1016/j.lfs.2023.122243.
- Mevel R, Draper JE, Lie-A-Ling M, et al. RUNX transcription factors: orchestrators of development. *Development*. 2019 Sep 5;146(17):dev148296. DOI: 10.1242/dev.148296.
- Lobov A, Kuchur P, Khizhina A, et al. Mesenchymal Cells Retain the Specificity of Embryonal Origin During Osteogenic Differentiation. *Stem Cells*. 2024 Jan 13;42(1):76–89. DOI: 10.1093/stmcls/sxad081.
- Stein GS, Lian JB, van Wijnen AJ, et al. Runx2 control of organization, assembly and activity of the regulatory machinery for skeletal gene expression. *Oncogene*. 2004 May 24;23(24):4315–29. DOI: 10.1038/sj.onc.1207676.
- Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, et al. Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell*. 1997 May 30;89(5):747–54. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)80257-3.
- Bruderer M, Richards RG, Alini M, Stoddart MJ. Role and regulation of RUNX2 in osteogenesis. *Eur Cell Mater*. 2014 Oct 23;28:269–86. DOI: 10.22203/ecm.v028a19.
- Sudhakar S, Katz MS, Elango N. Analysis of type-I and type-II RUNX2 protein expression in osteoblasts.

Biochem Biophys Res Commun. 2001 Aug 10;286(1):74–79. DOI: 10.1006/bbrc.2001.5363.

12. Uyama M, Sato MM, Kawanami M, Tamura M. Regulation of osteoblastic differentiation by the proteasome inhibitor bortezomib. *Genes Cells*. 2012 Jul;17(7):548–58. DOI: 10.1111/j.1365-2443.2012.01611.x.

Информация об авторах:

Громова Екатерина Сергеевна, старший лаборант-исследователь лаборатории регенеративной биомедицины, ФГБУН Институт цитологии РАН;

Азаркина Ксения Евгеньевна, старший лаборант-исследователь лаборатории регенеративной биомедицины, ФГБУН Институт цитологии РАН;

Костина Дарья Алексеевна, научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины, ФГБУН Институт цитологии РАН;

Смирнова Дарья Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины, ФГБУН Институт цитологии РАН;

Переpletчикова Дарья Александровна, младший научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины, ФГБУН Институт цитологии РАН;

Малашичева Анна Борисовна, д.б.н., заведующая лабораторией регенеративной биомедицины, ФГБУН Институт цитологии РАН.

Information about the authors:

Ekaterina S. Gromova, Senior Research Laboratory Assistant at the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences;

Ksenia E. Azarkina, Senior Research Laboratory Assistant at the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences;

Daria A. Kostina, Researcher at the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institution Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences;

Darya V. Smirnova, Junior Researcher at the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences;

Daria A. Perepletchikova, Junior Researcher at the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences;

Anna B. Malashicheva, Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences.

ОСНОВНЫЕ АДАПТАЦИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЖЕНСКОГО ОРГАНИЗМА, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ ВНУТРИУТРОБНОЕ РАЗВИТИЕ ПЛОДА

Маркина А. Е.¹, Лабзина М. В.¹, Романова Э. В.¹,
Емельский Н. А.²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарёва», Саранск, Россия

² Общество с ограниченной ответственностью «Эльма», Электросталь, Россия

Контактная информация:

Маркина Алина Евгеньевна,
ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарёва»,
ул. Большевикская, д. 68, Саранск,
Республика Мордовия, Россия, 430005.
E-mail: university11.05.1976@yandex.ru

Статья поступила в редакцию
19.03.2024 и принята к печати
09.07.2024.

Резюме

Адаптационные механизмы, рассмотренные авторами исследования, играют решающую роль в подготовке организма женщины к предстоящей беременности. Особенно важным аспектом исследования является изучение характера адаптационного синдрома после успешного оплодотворения яйцеклетки и оценка эффективности адаптивных реакций. Отмечается, что согласованность и последовательность адаптационных механизмов организма женщины на различных этапах полового акта имеют критическое значение для успешного оплодотворения яйцеклетки. Исследование подчеркивает важность правильного функционирования этих механизмов в контексте беременности и рождения здорового потомства. Понимание этих аспектов позволяет более глубоко взглянуть на процессы, происходящие в организме женщины во время зачатия и влияющие на дальнейшее развитие плода. Всестороннее изучение адаптационных процессов при оплодотворении способствует повышению эффективности репродуктивной системы и обеспечивает благоприятные условия для начала новой жизни. Авторами подчеркивается, что адаптационные механизмы играют важную роль в подготовке организма женщины.

Ключевые слова: адаптационный механизм, беременность, имплантация, оплодотворение, трофобласт, эмбрион.

Для цитирования: Маркина А.Е., Лабзина М.В., Романова Э.В., Емельский Н.А. Основные адаптационные механизмы женского организма, обеспечивающие внутриутробное развитие плода. Трансляционная медицина. 2024; 11(3): 294-303. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-3-294-303. EDN: HIXOVA

THE MAIN ADAPTIVE MECHANISMS OF THE FEMALE BODY THAT ENSURE THE INTRAUTERINE DEVELOPMENT OF THE FETUS

Alina E. Markina¹, Margarita V. Labzina¹, Ella V. Romanova¹, Nikita A. Yemelskiy²

¹ Ogarev National Research Mordovian State University, Saransk, Russia

² Elma LLC, Elektrostal, Russia

Corresponding author:

Alina E. Markina,
Ogarev National Research Mordovian State University,
Bolshevistskaya str., 68, Saransk, Republic of Mordovia, Russia, 430005.
E-mail: university11.05.1976@yandex.ru

Received 19 March 2024; accepted 09 July 2024.

Abstract

The adaptation mechanisms considered by the authors of the study play a decisive role in preparing a woman's body for the upcoming pregnancy. A particularly important aspect of the study is to study the nature of the adaptation syndrome after successful fertilization of the egg and assess the effectiveness of adaptive reactions. It is noted that the consistency and consistency of the adaptation mechanisms of the woman's body at various stages of sexual intercourse are critical for the successful fertilization of the egg. The study highlights the importance of proper functioning of these mechanisms in the context of pregnancy and the birth of healthy offspring. Understanding these aspects allows us to take a deeper look at the processes occurring in a woman's body during conception and influencing the further development of the fetus. A comprehensive study of adaptation processes during fertilization helps to increase the efficiency of the reproductive system and provides favorable conditions for starting a new life. The authors emphasize that adaptation mechanisms play an important role in preparing a woman's body.

Key words: adaptation mechanism, embryo, fertilization, implantation, pregnancy, trophoblast.

For citation: Markina AE, Labzina MV, Romanova EV, Yemelskiy NA. The main adaptive mechanisms of the female body that ensure the intrauterine development of the fetus. Translational Medicine. 2024; 11(3): 294-303. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-3-294-303. EDN: HIXOVA

В современной науке ученые все чаще обращают внимание на адаптивные механизмы, способствующие протеканию беременности, их влияние на возникновение осложнений в процессе гестации, а также на общее понимание патогенеза данных осложнений.

Настоящее исследование проводится с целью глубокого разьяснения процессов, происходящих в женском организме, в том числе механизмов овуляции и подготовки организма к возможной беременности. Комплексность и тонкость этих процессов заставляют ученых смотреть на женскую

репродуктивную систему с новой стороны, раскрывая многочисленные вопросы, связанные с эволюцией процесса человеческого размножения.

Адаптивные механизмы в женском организме важны на всех этапах овуляции, начиная с структурных изменений фолликула и заканчивая механизмами, обеспечивающими выход зрелой яйцеклетки. Особое внимание исследования уделено различным адаптациям, таким как продукция ферментов, разрушающих стенку фолликула, и формирование сосудов для поддержки процесса овуляции.

Нашей целью явилось рассмотрение адапционных механизмов подготовки организма женщины к вынашиванию ребенка, они помогут изменить современные точки зрения на патогенез осложнений беременности.

Дело в том, что с момента зачатия каждый будущий человек обладает индивидуальным набором адаптивных механизмов, то есть запрограммированных в геноме реакций, обеспечивающих адекватные ответы на любые стимулы («раздражители») в пределах физиологических возможностей организма. В этом случае мы вправе говорить о реакциях адаптации, таких как врожденная адаптация организмов новорожденных к условиям высокогорья, тундры, жаркого климата; к циркадным биоритмам; адаптация женщин к циклическим изменениям в организме на протяжении репродуктивного периода и др. Если же стимулы-раздражители по силе, частоте превышают физиологические возможности человека, то организм вынужден включать (вырабатывать) защитные механизмы, каким-то образом компенсировать возникший дисбаланс биоэлектрического (и других показателей) гомеостаза, то есть в данном случае речь идет уже о защитно-компенсаторных реакциях [1–2, 5].

Такое логически четкое разделение понятий (терминов) имеет существенное значение в выборе лечебной тактики при различных заболеваниях и осложнениях беременности.

Последовательность полового цикла у женщин можно считать одной из множества загадок эволюции человека. Какие внешние причины заставили в течение миллионов лет адаптировать женский организм к возможному наступлению беременности в течение каждого месяца, причем в строго определенные дни?! Если это результат борьбы за выживание вида, то зачем тогда усложнять все последующие этапы репродуктивного процесса: регламентацию по времени оплодотворения яйцеклетки, огромные потери ценнейшего биологического материала — спермы, для образования в подавляющем большинстве одного лишь зародыша, длительный (40 недель) срок внутриутробного развития эмбриона (плода), усложненный (плацентарный) способ его питания? Эти и огромное большинство подобных вопросов до настоящего времени не решены исследователями, в связи с этим важно уточнить: какие адапционные механизмы задействованы в организме женщины для обеспечения закодированной в геноме программы репродукции? Развитие и созревание каждой яйцеклетки до готовности к оплодотворению длится всего лишь 12–13 дней, но только после овуляции на 14 день цикла в ор-

ганизме начинается своеобразная подготовка к наступлению возможной беременности. Стимулом для такой подготовки служит выход яйцеклетки за пределы яичника. Сам процесс овуляции продолжается около 30–32 минут, состоит из нескольких фаз, включающих адапционные механизмы по сохранению жизнеспособности яйцеклетки после выхода ее в брюшную полость [1–2, 4].

Незадолго до наступления овуляции выступающая наружу стенка фолликула быстро набухает, и маленькая область в центре капсулы фолликула, называемая стигмой, начинает выдаваться наружу напоподобие соска. Следующие 30 минут из фолликула через стигму начинает медленно вытекать жидкость — первый адапционный механизм, облегчающий выход яйцеклетки из фолликула [1–3].

Уже через 2 минуты после этого стигма лопается, позволяя большому количеству вязкой жидкости постепенно выдавливаться наружу. Этот этап возможен благодаря двум адапционным механизмам, способствующим перфорации стенки фолликула: а) за несколько часов до овуляции капсула фолликула (*teca externa*) начинает выделять из лизосом протеолитические ферменты, которые уменьшают прочность стенки капсулы, вызывают ее набухание и дегенерацию стигмы; б) одновременно начинается быстрое образование и прорастание новых кровеносных сосудов в стенку фолликула и увеличивается продукция простагландинов, вызывающих расширение сосудов [1–2].

В результате этих механизмов происходят трансудация плазмы в фолликул, набухание (растяжение) его стенки и образование, и дегенерация стигмы. Вязкая жидкость, вытекающая из фолликула, увлекает за собой яйцеклетку, окруженную несколькими тысячами клеток гранулезы, вместе составляющими лучистый венец (*corona radiata*) [1–2].

К этому моменту зрелая яйцеклетка увеличивается почти в 10 раз и достигает в диаметре 1–1,5 см, а масса ее при этом возрастает примерно в 1000 раз. Лучистый венец, состоящий из клеток гранулезы, способствует сохранению жизнеспособности яйцеклетки после выхода ее из фолликула, то есть налицо третий адапционный механизм, участвующий в процессе подготовки яйцеклетки к оплодотворению [2].

Буквально через несколько часов после выхода яйцеклетки из яичника оставшиеся клетки теки и гранулезы быстро превращаются в клетки желтого тела. Она увеличивается более чем в 2 раза и начинает наполняться липидом, включения которого придают этим клеткам желтый цвет. Область желтого тела хорошо васкуляризируется,

что обеспечивает его быстрый рост. В результате диаметр его на 7–8 дни после овуляции достигает 1,5 см [2].

Клетки гранулезы в желтом теле снабжены развитым гладким эндоплазматическим ретикуломом, образующим большое количество прогестерона и в меньшей степени эстрогенов. Одновременно клетки теки образуют андрогены (тестостерон и андростендион) в большей степени, чем женские половые гормоны. Однако большинство этих гормонов под влиянием ферментов клеток гранулезы преобразуется в женские половые гормоны. Если оплодотворение яйцеклетки не произошло, то желтое тело начинает инволюционировать и через 30 дней полностью рассасывается [2].

Параллельно циклическим изменениям в яичнике, в матке происходят не менее важные процессы, направленные на сохранение жизнедеятельности и развитие яйцеклетки в случае ее оплодотворения [2]. Большое значение в этих процессах придают прогестерону, под влиянием которого, как считают, в эндометрии возникают секреторные изменения, то есть накопление в клетках питательных веществ, необходимых для обеспечения жизнедеятельности яйцеклетки в случае ее оплодотворения. Морфологически эти изменения проявляются в том, что железы становятся извитыми, в эпителиоцитах желез накапливается большое количество секреторируемых веществ, увеличивается количество цитоплазмы в клетках стромы, кровотоки эндометрия продолжают нарастать пропорционально возрастающей секреторной активности. Кровеносные сосуды становятся чрезвычайно извитыми. На пике секреторной фазы (приблизительно через неделю после овуляции) толщина слоя эндометрия составляет в среднем 14 мм [2, 6].

Если оплодотворение яйцеклетки не происходит, то в связи со снижением стимулирующего влияния половых гормонов быстро развивается инволюция эндометрия: толщина его уменьшается до 65 % от прежней. Затем в течение 24 часов до наступления менструации происходит спазмирование извитых кровеносных сосудов слизистой эндометрия, по-видимому, под влиянием одного из простагландинов, обладающего вазоконстрикторным действием и присутствующего в этот момент в окружающих тканях [2].

Спазмирование сосудов, уменьшение количества питательных веществ в эндометрии и отсутствие гормональной стимуляции вызывает развитие некрозов в нем, особенно кровеносных сосудов. В результате кровь сначала просачивается в сосудистый слой эндометрия, объем геморра-

гии быстро увеличивается в течение 24–36 часов. Постепенно некротизированный внутренний слой эндометрия отделяется от матки, и вся масса отделившихся тканей и кровь, скопившаяся в полости матки, под влиянием стимулирующих сокращения миометрия простагландинов (или других веществ в разлагающемся слушленном слое эндометрия) выталкивается из матки наружу. Во время нормальной менструации теряется около 40 мл крови и 35 мл серозной жидкости [2].

Характер изменений адаптационного синдрома после оплодотворения яйцеклетки. В случае оплодотворения яйцеклетки и образования зиготы адаптационные механизмы в организме беременной значительно усложняются. Теперь они вынуждены выполнять две функции: поддерживать физиологические параметры гомеостаза самой беременной; непрерывно формировать и сохранять новые адаптационные и защитно-компенсаторные реакции, способствующие физиологическому внутриутробному росту и развитию зародыша.

Очевидно, что такие сложные задачи организм может выполнить лишь при исходно сбалансированных метаболических процессах, где каждая система, орган имеют достаточные индивидуальные энергетические запасы для выполнения этих адаптационных реакций. Это главный принцип выживания каждого будущего человека. Как известно, в природе нет абсолютно одинаковых индивидуумов, так как в пределах каждой популяции существуют значительность и изменчивость. Эту изменчивость, наряду с генетическими факторами, обеспечивают те самые индивидуальные адаптационные реакции, которые охраняют внутриутробные этапы (и не только внутриутробные, но и постнатальные) развития эмбриона. Согласно классическим законам биологии, из числа родившихся выживает только часть, и лишь наиболее приспособленные (адаптированные) в дальнейшем участвуют в продолжении рода, что и составляет сущность понятия «борьба за существование» [1–2].

Эффективность адаптационных реакций возрастает и зависит от многих факторов:

- 1) функционального состояния самого женского организма;
- 2) степени готовности репродуктивных органов женщины: биоценоз и кислотность среды влагалища, нормальное расположение шейки матки, отсутствие препятствий в цервикальном канале, функционально полноценный эндометрий, проходимость и достаточная перистальтическая активность маточных труб, особенно фимбрий матки; зрелая, функционально активная яйцеклетка с до-

статочным количеством энергетических веществ для свободного перемещения при необходимости в малом тазу [1].

Яйцеклетки в яичнике находятся на стадии первичного ооцита. Перед выходом яйцеклетки из овариального фолликула ее ядро делится путем мейоза, при этом из ядра высвобождается первое полярное тельце, а первичный ооцит становится вторичным ооцитом. В ходе этого процесса каждая из 23 пар хромосом утрачивает свою пару, которая включается в полярное тельце и покидает клетку. В результате во вторичном ооците остаются 23 непарные хромосомы [1].

В этот момент происходит овуляция, и яйцеклетка в стадии вторичного ооцита попадает в брюшную полость. Но, чтобы этого не произошло, включается адаптационный механизм: при достаточной силе организма бахромки овулярного кольца фаллопиевой трубы плотно обхватывают яичник, и яйцеклетка попадает непосредственно в фаллопиеву трубу, чем облегчается следующий этап процесса ее оплодотворения. Внутренняя поверхность бахромы, расположенной на конце трубы, покрыта ресничным эпителием, реснички которого активируются, как предполагают, эстрогенами яичников. Ритмичные волнообразные движения ресничек направлены в сторону входа (остиума) задействованной трубы. Вследствие этого вместе с током жидкости из лопнувшего фолликула яйцеклетка попадает в трубу. Исследованиями доказано, что 98 % яйцеклеток попадает в трубу именно таким образом [1, 7].

Если же адаптационный механизм не срабатывает, то яйцеклетка «вываливается» в брюшную полость и начинает в ней блуждать в поисках ампулярного конца маточной трубы.

Клинические наблюдения показывают, что исходы в этом случае могут быть разные:

1. Яйцеклетка поступает в фаллопиеву трубу (возможно даже на противоположной стороне матки!), и процесс оплодотворения продолжается в обычном порядке.

2. Яйцеклетка контактирует в трубе со сперматозоидами, но после оплодотворения продвижение ее по трубе в сторону матки невозможно, и возникает трубная беременность.

3. Оплодотворенная яйцеклетка по каким-то причинам не способна продвигаться по трубе, и выпадает в брюшную полость, где имплантируется в сальник или в серозную оболочку органов брюшной полости (брюшная беременность).

4. Яйцеклетка, находящаяся в брюшной полости, не может оплодотворяться и в связи с истощением собственных энергетических ресурсов теряет

подвижность, гибнет и затем рассасывается [2].

Считается, что в норме оплодотворение яйцеклетки происходит в ампуле одной из фаллопиевых труб, вскоре после того, как сперматозоиды и яйцеклетка попадут в ампулу. Образуется бластоциста, которая в течение 3–5 дней проходит оставшуюся часть фаллопиевой трубы и попадает в полость матки. Продвижение поддерживается слабым током жидкости в фаллопиевой трубе. Отметим, что биение ресничек всегда в направлении к матке. Облегчают продвижение оплодотворенной яйцеклетки слабые перистальтические сокращения фаллопиевых труб [2].

Дальше происходят совершенно непонятные события. Внутренняя поверхность трубы образует складки и крипты, задерживающие продвижение бластоцисты вместе с током жидкости в трубе. Кроме того, перешеек фаллопиевой трубы (последние 2 см перед вхождением трубы в матку) остается в состоянии спастического сокращения в течение первых 3 дней после овуляции. Затем быстро нарастает секреция прогестерона в желтом теле яичника, который, как принято считать, первоначально обеспечивает увеличение количества рецепторов прогестерона в гладких мышцах стенки фаллопиевой трубы. Рецепторы, активируемые прогестероном, вызывают расслабление гладких мышц трубы, и бластоциста проникает в полость матки [2, 8].

За время прохождения оплодотворенной яйцеклетки по фаллопиевой трубе она успевает пройти несколько стадий клеточного деления, и затем бластоциста, состоящая уже приблизительно из 100 клеток, попадает в матку. Полагают, что за все это время секреторный аппарат фаллопиевых труб продуцирует большое количество секрета, используемого в развивающейся бластоцисте в качестве питательного вещества [2].

После попадания бластоцисты в матку проходят 1–3 дня, прежде чем она имплантируется в эндометрий. Как правило, имплантация наступает не позже 5–7 дня после овуляции. До этого бластоциста использует для питания секрет эндометрия — маточные бели [2].

Сам процесс имплантации происходит при активном участии трофобластов, расположенных на наружной поверхности бластоцист. Эти клетки продуцируют протеолитические ферменты, метаболизируют и разжижают расположенные вокруг клетки эндометрия [2].

При этом часть высвобождающихся растворенных питательных веществ транспортируется там же трофобластическими клетками в бластоцисту и служит для нее дополнительным источником питания [2].

Таким образом, адаптационные механизмы организма матери обеспечивают подготовку яйцеклетки к оплодотворению и начальные этапы ее имплантации в матке.

До момента овуляции эндометриальные железы, в большей степени в области шейки матки, продуцируют жидкую тягучую слизь, которая образует в цервикальном канале слизистую пробку, нижним полюсом опускающуюся к наружному зеву шейки матки (общеизвестный «симптом зрачка»). Важнейшие функции этой «пробки» — защита верхних отделов полового тракта от инфекции. С момента овуляции эта слизь разжижается, «зрачок» исчезает, а цервикальный канал становится проницаемым для сперматозоидов. При этом нити слизи тянутся вдоль цервикального канала матки, образуя внутри просвета шейки как бы направляющие для проникновения сперматозоидов в нужном направлении из влагалища в матку. Отсюда становится понятной важная роль слизи в успешности процесса оплодотворения [2].

Здесь же следует отметить еще один факт, позитивно влияющий на процесс оплодотворения — поза женщины во время полового акта. Нормальное положение шейки и матки *antevergio*, *anteflexio*, причем наружный зев цервикального канала обращен к заднему своду влагалища. Поэтому физиологической позой для успешного оплодотворения является позиция супруги спиной к мужу, когда доставляется эякулят непосредственно к наружному зеву шейки. Кстати, в такой позе протекает половой акт у подавляющего большинства представителей животного мира [2].

Почему в норме оплодотворяется только один ооцит? Уже через несколько минут после оплодотворения срабатывает закрепленный в филогенезе у человека защитный механизм, препятствующий проникновению других сперматозоидов в яйцеклетку. Ключевую роль в этом механизме играют ионы Ca^{2+} , которые после проникновения первого сперматозоида через блестящую оболочку в яйцеклетку начинают диффундировать внутрь через мембрану ооцита и вызывают высвобождение в окружающее пространство путем экзоцитоза множества околомембранных пузырьков. Гранулы пузырьков содержат вещества, которые пропитывают все части блестящей оболочки и препятствуют взаимодействию с яйцеклеткой других сперматозоидов. Более того, уже прикрепившиеся сперматозоиды начинают отваливаться от блестящей оболочки [2].

Оплодотворенная яйцеклетка (бластоциста) в течение 3–5 дней приходит оставшийся участок фаллопиевой трубы и попадает в полость матки. Продвижение поддерживается слабым током жид-

кости в маточной трубе. В состав жидкости входит секрет эпителиоцитов, выстилающих поверхность просвета трубы, а также продуктов метаболизма сперматозоидов, не участвовавших в акте оплодотворения [2].

Необходимо в практических целях рассмотреть еще один из адаптационных механизмов, облегчающих подготовку к овуляции, который, к сожалению, в тематической литературе не описан: загадочная скорость доставки сперматозоидов в маточную трубу.

Известно, что собственная скорость движения сперматозоидов по половым путям женщины (шейка матки, полость матки, фаллопиевы трубы, общая длина которых не менее 17–18 см) составляет 1–4 мм/мин.

Простые арифметические расчеты позволяют убедиться в том, что при такой скорости сперматозоиды могут оказаться в ампуле маточной трубы максимум через 45 минут. Однако экспериментальные исследования показывают, что некоторые сперматозоиды оказываются «на финише» уже через 5 минут после эякуляции?! Ответ на эту загадку можно получить, если обратить внимание на два факта: 1) при исчезновении слизистой пробки из цервикального канала в начале второй фазы менструального цикла и проходимости маточных труб брюшная полость имеет сообщение с внешней воздушной средой; 2) при дыхательных движениях грудной клетки внутрибрюшное давление за счет движения диафрагмы постоянно меняется [2, 9].

Поэтому логично утверждать, что сперматозоиды, находящиеся около наружного зева цервикального канала, при резком снижении внутрибрюшного давления быстро проникают (засасываются) в просвет фаллопиевой трубы. Проникновение в трубу «чужеродного» биологического материала вызывает в организме женщины «стресс» и универсальную защитную реакцию — спазм истмического отдела трубы, который, как мы помним, сохраняется в течение трех суток. Отсюда становится понятным, почему из 400 млн сперматозоидов, находящихся в эякуляте, только около 1000 попадает в фаллопиеву трубу [2].

Проанализированные нами данные указывают на необходимость синхронизации и последовательности адаптационных механизмов организма женщины на всех этапах полового акта в целях успешного оплодотворения яйцеклетки.

В результате все возрастающей концентрации прогестерона, обладающего релаксирующим свойством, спазм истмуса маточной трубы прекращается, и делящаяся бластоциста попадает в полость матки. Однако имплантация бластоцисты

в эндометрий происходит не сразу, а менее чем через 1–3 суток нахождения ее в матке. Имплантация, как известно, происходит по ходу «сперматозоидной дорожки», то есть на стороне матки, по которой сперматозоид движется по направлению к истмусу трубы. Считается, что основное влияние на качество имплантации оказывают питательные и другие вещества, накопившиеся в эндометрии под влиянием прогестерона во вторую фазу менструального цикла. Активную роль в имплантации играют трофобласты — клетки, расположенные на наружной поверхности бластоцисты. Трофобласты также продуцируют протеолитические ферменты, «переваривают» и переводят в жидкое состояние расположенные по соседству клетки эндометрия [2].

После того как бластоциста имплантировалась в эндометрий, возрастающая секреция прогестерона вызывает дальнейшее набухание клеток эндометрия, способствуя запасанию в них еще большего количества питательных веществ — эякулята, белков, липидов, минеральных веществ, которые обеспечивают питание зародыша на начальных этапах его развития. Скопление этих клеток принято называть децидуальной оболочкой. Питание эмбриона в этот период обеспечивается следующим путем. Трофобласты захватывают клетки децидуальной оболочки, «переваривают» и асимметрируют их и способствуют затем использованию полученных метаболитов для роста и развития эмбриона. Такой способ питания сохраняется на протяжении первых 8 недель после имплантации эмбриона несмотря на то, что формирующаяся плацента также начинает обеспечивать питание зародыша приблизительно с 16 дня после оплодотворения (чуть больше недели после имплантации) [2, 3].

Но функции трофобластов этим не ограничиваются. Когда трофобластические ворсинки бластоцисты проникают в эндотелий, начинается прорастание кровеносных капилляров из зачаточных элементов сосудистой системы формирующегося эмбриона в ворсинки.

Существенную роль в развитии сосудистой системы будущего маточно-плацентарного комплекса играют извитые (спиральные) артериолы, которые являются непосредственными участниками первых контактов материнской крови с зарождающимися структурами кровеносной системы эмбриона. Напомним, рост спиральных маточных артериол продолжается в течение всего этапа продвижения оплодотворенной яйцеклетки по маточной трубе в период ее имплантации. Существует мнение, что разрастание артерий происходит под

влиянием прогестерона [2], но, по-видимому, эту точку зрения нельзя считать окончательной, поскольку общеизвестно, что прогестерон не обладает анаболическим действием. Инвазия клеток трофобласта в эндометрий всегда сопровождается локальным разрушением стенок его сосудов с излитием крови и образованием лакун — своеобразных резервуаров для маточной крови, компоненты которой служат дополнительным источником питания для развивающегося зародыша до начала функционирования маточно-плацентарного сосудистого комплекса [2].

Ворсинки трофобласта образуют ветвления, скопления которых в итоге формируют ворсинки хориона. Таким образом, ворсинки, несущие кровь эмбриона (плода), оказываются окруженными лакунами, содержащими материнскую кровь. Следует заметить, при разрушении стенок капилляров протеолитическими ферментами и гиалуронидазой и образовании лакун есть реальная опасность возникновения маточного кровотечения, которое предотвращают присутствующие в клетках трофобластов (и продуктах метаболизма сперматозоидов, находящихся в полости матки?): фибриноген, ионы Ca^{2+} и простагландины, вызывающие образование локальных тромбов и сокращение зияющих сосудов эндометрия [2].

Поэтому при недостаточности данного адаптационного механизма возникает микро-маточное кровотечение, отторжение бластоцисты (эмбриона) и происходит ранний «самопроизвольный выкидыш», нередко принимаемый за нарушение менструального цикла [2].

Этап имплантации бластоцисты в эндометрий завершается, как правило, на 7 сутки с момента оплодотворения яйцеклетки [2]. При этом бластоциста, сформировавшаяся на 3 сутки из двух типов бластомеров: темных и светлых, приобретает вид полого пузырька, в котором в дальнейшем начинает развиваться зародыш. При этом из темных эмбриобластов образуются тело зародыша и все внезародышевые структуры, за исключением трофобласта. Трофобласт образуется из светлых бластомеров, представляющих собой мелкие светлые быстро делящиеся клетки, которые при интерстициальной имплантации на 7 сутки играют основную роль в нидации бластоцисты и на стадии адгезии (примыкания), и на стадии инвазии (проникновения) [2, 10].

При этом из ворсинок хориона образуются два слоя: цитотрофобласт (внутренний) и симпластотрофобласт, который продуцирует описанные ранее протеолитические ферменты, подготавливающие эндометрий к нидации бластоцисты. В ре-

зультате в слизистой матки образуется имплантационная клетка, в которую попадает blastocysta. Имплантация считается завершенной, когда зародыш полностью погружен в эндометрий и слизистая матки находится над ним. Начинается следующая стадия развития эмбриона — гастрюляция. У человека эта стадия протекает в две фазы. В первую фазу (в норме на 7 сутки) в результате деления эмбриобласта образуются два листка: эпибласт (наружный) и гипобласт (внутренний). Во второй фазе (на 14 сутки) формируются первичные структуры будущего эмбриона — мезодерма и хорда. Одновременно в стадию гастрюляции происходит образование внезародышевых органов: амниотического, желточного пузырьков и хориона, которые в дальнейшем у *homo sapiens* обеспечивают условия для питания и развития зародыша [2].

На второй стадии гастрюляции (15–17 сутки) из выроста (ножки) амниотического пузырька вырастает тяж из зародышевого отдела кишечной трубки — аллантоис, который обеспечивает в дальнейшем васкуляризацию хориона. К этому времени у эмбриона уже сформированы три зародышевых листка, внезародышевые структуры, возникает дифференцировка зародышевых листков и начинается закладка основных зачатков органов [2, 15].

К 35 суткам жизни у эмбриона четко выявляются признаки гисто- и органогенеза, имеются морфологические признаки большинства органов. Считается, что к концу 8 недели эмбриогенез завершается и наступает плодовый период внутриутробного развития зародыша [2].

К этому времени сформировавшиеся пуповинные сосуды эмбриона полностью соединяются с капиллярами эмбрионных ворсин и образуется эмбриоплацентарная циркуляция крови. Помимо этого, к 16–17 неделям начинает функционировать другой, плацентарный, канал обмена продуктами метаболизма организмов плода и матери, сформированный из децидуальной ткани, цитотрофобласта и амниотической оболочки. Такими двумя путями обеспечивается постоянный энергетический и информационный обмен между организмами матери и плода на протяжении всей беременности [2, 16].

Важнейшая роль в этих процессах принадлежит также желточному мешку, который образуется из эндобластического пузырька еще в период плацентации. В конце третьей недели после оплодотворения (на 19 день) в желточном мешке начинают образовываться очаги эритропоэза, формирующие капиллярную сеть, доставляя эритробласты в первичную кровеносную систему плода. Кроме того,

на пятой неделе после оплодотворения в желточном мешке начинают продуцироваться первичные половые клетки, которые затем мигрируют в формирующиеся гонадоэмбрионы [2, 11].

К тому же в этот период вплоть до шестой недели с момента оплодотворения желточный мешок выполняет функции первичной печени, продуцирует необходимые эмбриону белки: α -фетопротейн, α_2 -микроглобулин, трансферрины. В целом ткани желточного мешка выполняют многочисленные функции: обменную, синтетическую, гемопоэтическую, иммунорегуляторную, экскреторную до момента образования соответствующих органов и систем. Лишь в конце первого триместра эмбриогенеза функции желточного мешка как участника метаболических процессов прекращаются, он превращается в ничтожно маленькую кисту у основания пуповины.

Если происходит сбой процесса эмбриогенеза и желточный мешок преждевременно прекращает функционировать, а соответствующие органы плода (печень, селезенка, ретикула — эндотелиальная система и др.) еще окончательно не сформированы, то, как правило, происходит гибель плода и самопроизвольный (несостоявшийся) аборт [2].

С начала второго триместра взаимоотношения матери и плода разительно изменяются, приобретают более сложный характер. Прежде всего, это касается способа доставки пластического материала и процессов энергообеспечения для роста плода. Стоит сопоставить размеры и массу плода в конце первого триместра и перед родами, и станет ясно, что для такой галопирующей прибавки массы тела необходимы иные условия доставки питательных веществ к плоду, по сравнению с начальным периодом гестации.

Для плацентации и эмбриогенеза зародыш использует несколько источников энергии: собственные ресурсы, питательные вещества, заранее накопленные в клетках эндометрия, продукты метаболизма желточного мешка, а также энергетические компоненты материнской крови, содержащейся в лакунах. Но, как очевидно, все перечисленные источники в совокупности способны обеспечить энергией лишь процессы миграции оплодотворенной яйцеклетки и ее многократного деления, а также дифференцировки клеток для закладки будущих органов и систем развивающегося эмбриона [2, 12–14].

Поэтому для стремительно возрастающих запросов развивающегося эмбриона необходимы иные, более адекватные источники питания. У *homo sapiens* эту функцию берет на себя плацента — временное функциональное образование,

регулирующее объем и характер обменных процессов между организмами матери и плода на протяжении 29 недель гестационного периода [2].

Заключение

Обобщая, можно сформулировать следующие ключевые положения [1].

I. Основные адаптационные механизмы организма беременной, обеспечивающие внутриутробное развитие плода:

1. Обеспечение трофики, развития и защиты эмбриона в первом триместре беременности путем накопления питательных веществ в клетках децидуальной оболочки.

2. Преимущественные изменения интенсивности кровотока в матке на стороне имплантации.

3. Активное формирование структур плаценты и постоянная фетозависимая коррекция ее фракций.

4. Сохранение (оптимизация) жизненно необходимых параметров собственного физиологического гомеостаза.

II. Адаптационные реакции плода, обеспечивающие его жизнедеятельность и развитие:

1. Накопление в составе бластоцисты питательных веществ для трофики в начальные фазы эмбриогенеза.

2. Защита от внешних влияний путем образования блестящей оболочки.

3. Создание структур трофобласта, участвующих в имплантации, трофике и собственной защите на ранних этапах эмбриогенеза.

4. Модуляция эндокринного баланса матери путем синтеза специфических белков и гормонов хорионом.

Совокупность и сопряженность перечисленных и некоторых других механизмов составляет понятие «адаптационный синдром».

При нарушении хотя бы одного из адаптационных механизмов в организме мгновенно включается каскад защитно-компенсаторных реакций, результатом чего, как правило, является восстановление параметров физиологического гомеостаза, то есть организм беременной, несмотря на наличие внутриутробно развивающегося плода, в определенной степени сохраняет способность к саморегуляции своих функций.

Но при периодически повторяющихся и, тем более, хронических стрессовых факторах компенсаторные механизмы организма матери истощаются, и он переходит на формирование компенсаторных, но патологических механизмов, способных в известной степени создать условия, приемлемые для продолжения жизни плода, даже в ущерб соб-

ственному здоровью. Другими словами, возникают состояния, в акушерской клинике получившие название «осложнения беременности».

Также можно отметить, что исследования по следующим направлениям позволят расширить понимание адаптационных механизмов женского организма, способствующих внутриутробному развитию плода, а также полученные данные помогут сформировать более глубокий научный обзор и разработать практические рекомендации для поддержания здоровья беременных женщин и развивающихся плодов:

- раскрытие роли эпигенетики в передаче информации о влиянии материнского организма на плод и его развитие;

- анализ взаимосвязи между составом микрофлоры в репродуктивных органах и здоровьем плода, возможностью трансмиссии микроорганизмов на следующее поколение;

- анализ влияния стресса, депрессии и других психоэмоциональных факторов на адаптационные механизмы и здоровье плода;

- выявление влияния гормональных изменений у матери на интраутробное развитие и адаптивные процессы у плода;

- определение влияния загрязнения окружающей среды, включая токсичные вещества, на развитие плода и адаптационные механизмы материнского организма;

- определение оптимального уровня физической активности и диеты для поддержания здоровья матери и правильного развития плода.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Labzina MV, Tultayeva ED, Savochkina AS. Adaptive mechanisms of preparation of the female body for pregnancy. Trends in the development of science and education. 2023. No. 98–8. P. 90–92. In Russian [Лабзина М.В., Тултаева Е.Д., Савочкина А.С. Адаптационные механизмы подготовки женского организма к беременности. Тенденции развития науки и образования. 2023. № 98–8. С. 90–92]. DOI 10.18411/trnio-06-2023-423. EDN IXJBSV.

2. Gaiton AK. Medical physiology / A. K. Gaiton, J. E. Hall / Translated from English; Edited by V. I. Kobrin. M.: Logosphere, 2008. In Russian [Гайтон А.К. Медицинская физиология / А. К. Гайтон, Дж. Э. Холл / Пер.с англ.; под ред. В. И. Кобрин. М.: Логосфера, 2008. 1296 с.]. ISBN 978-5-98657-013-6.

3. The secretory phase of the endometrial cycle. The mechanism of menstruation // MedUniver URL: <https://meduniver.com/Medical/Physiology/1367.html> (date of application: 09/01/2023). Секреторная фаза эндометриального цикла. Механизм менструации // МедУнивер URL: <https://meduniver.com/Medical/Physiology/1367.html> (дата обращения: 01.09.2023).
4. Peck JR, Waxman D. What Is Adaptation and How Should It Be Measured? *J Theor Biol.* 2018 Jun 14;447:190–198. DOI: 10.1016/j.jtbi.2018.03.003.
5. Robker RL, Hennebold JD, Russell DL. Coordination of Ovulation and Oocyte Maturation: A Good Egg at the Right Time. *Endocrinology.* 2018 Sep;159 (9): 3209–3218. DOI: 10.1210/en.2018-00485.
6. El-Hayek S, Clarke HJ. Control of Oocyte Growth and Development by Intercellular Communication Within the Follicular Niche. *Results Probl Cell Differ.* 2016;58: 191–224. DOI: 10.1007/978-3-319-31973-5_8.
7. Jarrell J. The Significance and Evolution of Menstruation. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* Jul 2018; 50: 18–26. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2018.01.007.
8. Kay T, Lehmann L, Keller L. Kin selection and altruism. *Curr Biol.* 2019 Jun 3; 29 (11): R438–R442. DOI: 10.1016/j.cub.2019.01.067.
9. Leiva R, Bouchard T, Boehringer H, et al. Random serum progesterone threshold to confirm ovulation. *Steroids.* 2015 Sep; 101:125–9. DOI: 10.1016/j.steroids.2015.06.013.
10. Bin Guo. Regulatory Mechanism of Embryo Implantation. *Sheng Li Xue Bao.* 2020 Feb 25; 72 (1): 105–114.
11. Maliqueo M, Echiburú B, Crisosto N. Sex Steroids Modulate Uterine-Placental Vasculature: Implications for Obstetrics and Neonatal Outcomes. *Front Physiol.* 2016;7:152. DOI: 10.3389/fphys.2016.00152.
12. Ashary N, Tiwari A, Modi D. Embryo Implantation: War in Times of Love. *Endocrinology.* 2018 Feb 1;159 (2): 1188–1198. DOI: 10.1210/en.2017-03082.
13. Staud F, Karahoda R. Trophoblast: The central unit of fetal growth, protection and programming. *IntJBiochemCellBiol.* Dec 2018;105: 35–40. DOI: DOI: 10.1016/j.biocel.2018.09.016.
14. Odland Karlsen H, Johnsen SL, Rasmussen S, et al. The human yolk sac size reflects involvement in embryonic and fetal growth regulation. *Acta Obstet Gynecol Scand.* Feb 2019;98 (2): 176–182. DOI: 10.1111/aogs.13466.
15. Assessment of groundwater quality and their vulnerability to pollution using GQI and DRASTIC indices / S. Mardiana, R. Anzum, N. K. A. Dwijendra, et al. // *Journal of Water and Land Development.* 2022. Vol. 53. P. 138–142. DOI 10.24425/jwld.2022.140789. EDN VAWQHE.
16. Route Optimization of Container Ships Using Differential Evolution and Gray Wolf Optimization / J. Dalle, P. Chetthamrongchai, G. Widjaja, et al. // *Industrial Engineering and Management Systems.* 2021. Vol. 20, No. 4. P. 604–612. DOI 10.7232/iems.2021.20.4.604. EDN HXQIJU.

Информация об авторах:

Маркина Алина Евгеньевна, ассистент кафедры акушерства и гинекологии имени профессора А. П. Марусова, ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва»;

Лабзина Маргарита Владимировна, к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва»;

Романова Элла Викторовна, к.х.н., доцент кафедры биологической и фармацевтической химии с курсом организации и управления фармацией ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва»;

Емельский Никита Андреевич, врач-терапевт, ООО «Эльма».

Authors information:

Alina E. Markina, Assistant at the Department of Obstetrics and Gynecology named after Professor A. P. Marusov of the Ogarev National Research Mordovian State University;

Margarita V. Labzina, PhD, Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Ogarev National Research Mordovian State University;

Ella V. Romanova, PhD, Associate Professor of the Department of Biological and Pharmaceutical Chemistry with a course in organization and Management of Pharmacy at the Ogarev National Research Mordovian State University;

Nikita A. Yemelskiy, general practitioner, Elma LLC.