

# Анализ уровней аннексина V и цитокинового статуса у больных с острым инфарктом миокарда

А. В. Наумов<sup>1</sup>, Т. В. Прокофьева<sup>1</sup>, О. С. Полунина<sup>1</sup>, Л. В. Сароянц<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Астрахань

<sup>2</sup>ФГБУ «Научно-исследовательский институт по изучению лепры» Минздрава России, г. Астрахань

## РЕЗЮМЕ

**Цель.** Изучение уровней аннексина V и цитокинового статуса у больных с острым инфарктом миокарда.

**Материалы и методы.** Проведено обследование 27 больных с Q-образующим инфарктом миокарда. В качестве группы контроля обследованы 20 соматически здоровых лиц. Все больные инфарктом миокарда поступили в стационар в течение суток от развития клиники. Липидный спектр определяли на автоматическом анализаторе Humalizer-3000 (Human, Германия). Иммунологические исследования проводили на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США). Субпопуляции лимфоцитов оценивались с помощью моноклональных антител производства Immunotech (Coulter Corporation, США). Для выделения клеток, подвергшихся апоптозу, использовали набор ANNEXIN V-FITC/7 AAD (Beckman Coulter, США). Выделение мононуклеаров периферической крови проводили на градиенте плотности «Фикол-гипак» с помощью центрифугирования (Pharmacia Fine Chemicals, Швеция). Определение интерлейкина-1 $\beta$  проводили с использованием тест-системы «Вектор-Бест» («Вектор-Бест», Россия), а фактора некроза опухоли- $\alpha$  – тест-системой RayBio Human TNF- $\alpha$  ELISA Kit (США). Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0.

**Результаты исследования.** На фоне нарушенного липидного профиля (повышение общего холестерина и холестерина ЛПНП, снижение содержания холестерина ЛПВП) у больных острым инфарктом миокарда отмечено достоверное снижение общего числа Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>) ( $p < 0,05$ ), Т-супрессоров (CD8<sup>+</sup>) ( $p < 0,01$ ), повышение числа В-клеток (CD19<sup>+</sup>) ( $p < 0,05$ ) и соотношения CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> – лимфоцитов. У больных инфарктом миокарда наблюдалось достоверное повышение в крови апоптотических клеток и провоспалительных цитокинов, участвующих в апоптозе (ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ ), по сравнению с контролем.

**Заключение.** Усиление спонтанного апоптоза лимфоцитов периферической крови у пациентов с острым инфарктом миокарда является проявлением системного апоптоза при острых коронарных событиях. Вероятно, активизация аннексин-зависимого апоптоза Т-лимфоцитов обусловлена иммунным дисбалансом. Следствием данных изменений является активация цитокиновой системы с выбросом провоспалительных медиаторов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ ). Выявленные зависимости требуют дальнейшего изучения с перспективой разработки прогностических алгоритмов исходов острого инфаркта миокарда на основе показателей уровней аннексина V и провоспалительных цитокинов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** апоптоз, аннексин V, инфаркт миокарда, провоспалительные цитокины.

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Analysis of annexin V levels and cytokine status in patients with acute myocardial infarction

A. V. Naumov<sup>1</sup>, T. V. Prokofieva<sup>1</sup>, O. S. Polunina<sup>1</sup>, L. V. Saroyants<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

<sup>2</sup>Leprosy Research Institute, Astrakhan, Russia

## SUMMARY

**Aim.** Study of annexin V levels and cytokine status in patients with acute myocardial infarction.

**Materials and methods.** We examined 27 patients with Q-forming myocardial infarction who were admitted 12–24 hours after the development of the clinic, and 20 individuals in the control group. The lipid spectrum was determined using an automatic analyzer Humalizer-3000 (Human, Germany). Immunological studies were performed on a flow cytometer Navios (Beckman Coulter, USA). Lymphocyte subpopulations were evaluated using monoclonal antibodies produced by Immunotech (Coulter Corporation, USA). A set of ANNEXIN V-FITC/7 AAD (Beckman Coulter, USA) was used to isolate cells that had undergone apoptosis. Isolation of peripheral blood mononuclears was performed by centrifugation on a density gradient Ficol-hypac (Pharmacia Fine Chemicals, Sweden), interleukin-1 $\beta$  was determined using the Vector-Best test system (Vector-Best, Russia), and the tumor necrosis factor was determined using the RayBio Human TNF- $\alpha$  ELISA Kit (USA). Statistical data processing was performed using the program package Statistica 10.0.

**Results.** In patients with acute myocardial infarction on the background of dyslipidemia (total cholesterol and LDL cholesterol increased, cholesterol-HDL reduced) showed a significant decrease in the total number of T-lymphocytes (CD3<sup>+</sup>) ( $p < 0,05$ ), T-suppressor (CD8<sup>+</sup>) ( $p < 0,01$ ), B-cells number (CD19<sup>+</sup>) and the ratio of CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> lymphocytes increased ( $p < 0,05$ ). In patients with myocardial infarction there was a significant increase of apoptotic cells and pro-inflammatory cytokines involved in apoptosis (IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ ) in the blood compared with the control.

**Conclusion.** Increased spontaneous apoptosis of peripheral blood lymphocytes in patients with acute myocardial infarction indicates the systemic nature of apoptosis in acute coronary pathology, due to increased annexin-dependent apoptosis of T-lymphocytes as a result of immune disorders, which leads to activation of the cytokine system with an increased concentration of pro-inflammatory mediators (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ). The identified dependencies require further study with the prospect of developing predictive algorithms for myocardial infarction outcomes based on indicators of annexin V and pro-inflammatory cytokines.

**KEY WORDS:** apoptosis, annexin V, myocardial infarction, pro-inflammatory cytokines.

**CONFLICT OF INTEREST.** The authors declare no conflict of interest.

## Введение

Существуют ряд заболеваний, важным компонентом патогенеза которых является апоптоз. Примером может служить инфаркт миокарда (ИМ), в ранний период которого происходит гибель кардиомиоцитов [1–5]. Исследования последних лет продемонстрировали, что недостаточно рассматривать апоптоз исключительно как программируемую гибель поврежденных клеток, так как его роль более значима. В ряде исследований подтверждено участие апоптотических процессов в удалении некротизированных и воспалительных клеток из инфарктированного участка, а также их участие в развитии атеросклероза [6].

Процесс апоптоза регулируется множеством внеклеточных или внутриклеточных факторов. Внутриклеточные действуют непосредственно в патологическом очаге. К ним относятся самые разнообразные агенты – продукты перекисного окисления белков и липидов, термическое воздействие, токсины. При инициации апоптотического пути внутренними факторами запускается так называемая митохондриальная клеточная гибель, при которой из митохондрий выходит цитохром С и связывается с фактором Араф-1, в результате чего высвобождаются проапоптотические факторы. Действие внешних регуляторов опосредуется через гормоны, цитокины и т. д. [7]. Внешний путь активизируется при связывании лиганда с Fas-рецептором (CD 95) через TNF-рецепторы [1]. Было продемонстрировано, что уровень TNF- $\alpha$ , а также полиморфизм генов, ответственных за экспрессию данного цитокина, может влиять на риск развития сосудистых и коронарных событий [8]. TNF- $\alpha$  обладает способностью инициировать цитокиновый каскад, стимулируя продукцию интерлейкина-1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ) и интерлейкина-6 (ИЛ-6). Последний принимает участие в регуляции апоптоза [9, 10].

Интерес к процессу апоптоза в последние десятилетия связан с рядом факторов. Появились новые методические возможности регистрации данного процесса в различных ситуациях и углубленного изучения его молекулярных механизмов. В частности, метод проточной цитофлуориметрии позволяет выявить максимально ранние этапы детерминации клеточной гибели [11]. Распознавание и последующая элиминация апоптотических клеток происходят благодаря появлению на их поверхности специфических молекул. Примером таких субстанций, в норме экспрессирующихся только на эндоцеллюлярной поверхности цитоплазматической мембраны, является фосфатидилсерин (ФС) [12, 13]. Его присутствие в клетках – характерный признак апоптоза [14].

В последние годы внимание исследователей привлекает семейство кальций-зависимых фосфолипид-связывающих белков, представителем которых является аннексин V. Не выделяясь из жизнеспособных клеток, аннексин V является достоверным тонким маркером апоптотических и некротизированных клеток [15]. Аннексин V обладает высоким сродством с ФС и фосфолипидам, принимая активное участие в процессах апоптоза [16]. Следует отметить, что экстернализации ФС предшествуют изменения мембранного потенциала митохондрий и активация каспазы-3, а перестройка цитоскелета клетки и нарушение

целостности мембраны клетки происходят несколько позднее. Экспрессия ФС на наружной поверхности мембраны наблюдается на всем протяжении апоптотического процесса – от самых ранних стадий до гибели клетки. Это позволяет дифференцировать нормальные клетки и клетки, находящиеся в апоптозе. Таким образом, понимание процессов регулируемости апоптоза, углубленное изучение процессов специфической активации апоптотических процессов при ИМ и изучение клеточных механизмов, контролирующих апоптоз, помогут в дальнейшем выработать алгоритмы по ограничению зоны повреждения тканей у пациентов с ИМ.

**Цель исследования:** изучение уровней аннексина V и цитокинового статуса у больных с острым инфарктом миокарда.

## Материалы и методы

Обследовано 27 больных с инфарктом миокарда с зубцом Q (Q-ИМ) в возрасте  $54,7 \pm 7,4$  года. Женщин было 5 (19%), мужчин – 22 (81%). Все больные поступили на стационарное лечение в течение первых суток от момента развития болевого приступа. У всех пациентов имел место ОИМ II типа. Диагноз ОИМ устанавливался в соответствии с клиническими рекомендациями «Четвертое универсальное определение инфаркта миокарда» (2019). Лечение пациентов с ИМ осуществлялось на базе ГБУЗ «АО «Александр-Мариинская областная клиническая больница» (г. Астрахань), период проведения исследования – 2019–20 гг. и проводилось в соответствии с клиническими рекомендациями «Острый инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST электрокардиограммы» (утв. Минздравом России, 2016 г.).

В группу сравнения вошли 20 жителей Астраханской области без значимой соматической патологии, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными пациентами.

Стандарты Good Clinical Practice и основные положения Хельсинкской декларации были положены в основу данного исследования. Проведение исследования одобрено этическим комитетом (заседание РНЭК 15 сентября 2016 г., протокол № 3). Поправок к исходному протоколу РНЭК не было. Каждый обследованный перед включением в исследование дал письменное заключение о добровольном участии в нем.

Для оценки липидного спектра у больных определялись уровни общего холестерина, триглицеридов, холестерина липопротеинов высокой (ЛПВП) и низкой плотности (ЛПНП). Эти исследования проводились на автоматическом анализаторе Humalizer-3000 (Human, Германия).

Иммунологические исследования проводили на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США). Для оценки иммунного статуса образцы клеток крови человека окрашивали с помощью моноклональных антител производства Immunotech (Coulter Corporation, США) – anti-CD 3, конъюгированные с FITC (Fluorescein Isothiocyanate), anti-CD 4-FITC, anti-CD 8-FITC, anti-CD 56-FITC, anti-CD 19-FITC. В качестве контроля использовали изотипические контроли.

Для оценки количества апоптотических клеток использовался набор ANNEXIN V-FITC/7 AAD (Beckman Coulter, США). Принцип действия реагентов основан на высоком сродстве аннексина V и фосфатидилсерина (ФС) и специфичном связывании 7-аминоактиномицина (7AAD) с нуклеотидными парами гуанин – цитозин в ДНК.

Выделение мононуклеаров периферической крови осуществляли с помощью ее центрифугирования на градиенте плотности «Фикол-гипак» (Pharmacia Fine Chemicals, Швеция). Среди популяции лимфоцитов определяли удельный вес клеток, находящихся в апоптозе и (или) некрозе с помощью двумерных гистограмм.

Цитокины определялись в сыворотках крови методом твердофазного иммуноферментного анализа. Определение интерлейкина-1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ) проводили с использованием тест-системы «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия), а фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) – тест-системой RayBio Human TNF-alpha ELISA Kit (США). Для обработки результатов использовался планшетный фотометр Invitrologic (Новосибирск, Россия).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.0. Описательные характеристики представлены медианой, 25-м и 75-м перцентилями. Для сравнения двух независимых групп применялся анализ ранговых вариаций с использованием непараметрического критерия Вилкоксона – Манна – Уитни. Отличия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Корреляционные взаимосвязи между признаками проводили с использованием непараметрического критерия Спирмена.

## Результаты

У больных с ОИМ отмечались нарушения липидного обмена: уровни общего холестерина и холестерина ЛПНП повышались, а содержание холестерина ЛПВП снижалось. Уровень триглицеридов не имел статистически значимых отличий по сравнению с группой контроля (рис. 1).

Далее у больных ИМ и в контрольной группе с помощью проточной цитофлуориметрии был исследован субпопуляционный состав лимфоцитов (табл. 1).

У больных ОИМ отмечены статистически значимое по отношению к контролю снижение общего количества Т-лимфоцитов (CD 3 $^{+}$ ) ( $p < 0,05$ ) и повышение числа В-клеток (CD 19 $^{+}$ ) ( $p < 0,05$ ), снижение числа Т-супрессоров (CD 8 $^{+}$ ) ( $p < 0,01$ ) и вследствие этого – увеличение соотношения CD 4 $^{+}$ /CD 8 $^{+}$  – лимфоцитов ( $p < 0,05$ ).

При оценке уровня аннексина V, как маркера апоптоза, установлено, что у больных ОИМ наблюдалось достоверное ( $p < 0,01$ ) повышение в крови апоптотических клеток по сравнению с контролем (рис. 2).

Внесение в клеточную суспензию метки 7AAD позволяет выявить некроз, а аннексина V – апоптоз. Будучи добавленными одновременно, данные маркеры позволяют оценить количество здоровых, апоптотических и некротических клеток в данной суспензии. Так, жизнеспособные клетки не связывают ни аннексин, ни 7AAD. На ранней стадии апоптоза клетки положительны по аннексину V и отрицательны по 7AAD. В позднюю стадию апоптоза и при некрозе клетки положительны по обоим маркерам. Погибшие клетки отрицательны по аннексину V и положительны по 7AAD.



Рисунок 1. Показатели липидного обмена у больных с острым инфарктом миокарда.

Примечание: \* –  $p < 0,05$  – статистически достоверные различия по сравнению с группой контроля.

Таблица 1  
Лимфоцитарные субпопуляции у больных с острым инфарктом миокарда

Показатель	Контроль, n = 27	ИМ, n = 20
CD 3 $^{+}$ (T-cells)	77,30 [74,20–81,20]	70,70 [60,90–78,30]*
CD 3 $^{+}$ /CD 4 $^{+}$ (Helper T-cells)	48,10 [42,40–53,50]	48,50 [41,10–55,90]
CD 3 $^{+}$ /CD 8 $^{+}$ (Suppressor T-cells)	27,13 [21,60–30,70]	21,20 [15,80–26,50]**
CD 3 $^{+}$ /CD 56 $^{+}$ (NK-cells)	11,98 [5,00–12,60]	9,67 [5,40–11,90]
CD 19 $^{+}$ (B-cells)	10,66 [7,60–12,90]	13,65 [11,10–15,30]*
CD 4 $^{+}$ /CD 8 $^{+}$ Ratio	1,84 [1,45–2,05]	2,57 [1,70–3,10]*

Примечание: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$  – статистически достоверные различия по сравнению с группой контроля (в скобках: 25-й и 75-й перцентили).

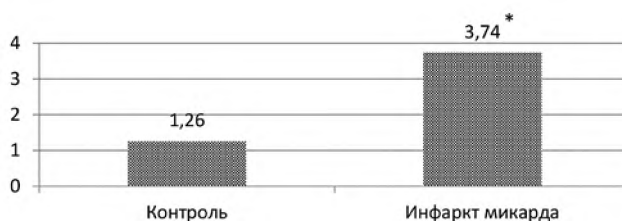


Рисунок 2. Содержание циркулирующих аннексин V-мононуклеаров (%) в периферической крови у больных и здоровых лиц.

Примечание: \* –  $p < 0,01$  – статистически достоверные различия по сравнению с группой контроля.

На рисунке 3 представлены индивидуальные гистограммы больного ОИМ и обследованного из группы контроля.

При анализе гистограммы здорового человека (рис. 3 а) видно, что процент апоптотических клеток составляет 0,5 %, а основная субпопуляция клеток (99,4 %) представлена жизнеспособными мононуклеарами. Такая же картина наблюдалась в целом в контрольной группе: процент жизнеспособных клеток составил 97,04 [95,90–99,40]%, а апоптотических клеток – 1,60 [0,80–2,40]%. В группе больных с ИМ содержание жизнеспособных клеток было снижено и составило 94,80 [92,80–96,90]% при достоверно ( $p < 0,01$ ) возросшем числе апоптотических клеток – 3,74 [2,10–4,90]%, что в качестве примера наглядно продемонстрировано на индивидуальной гистограмме (рис. 3 б).



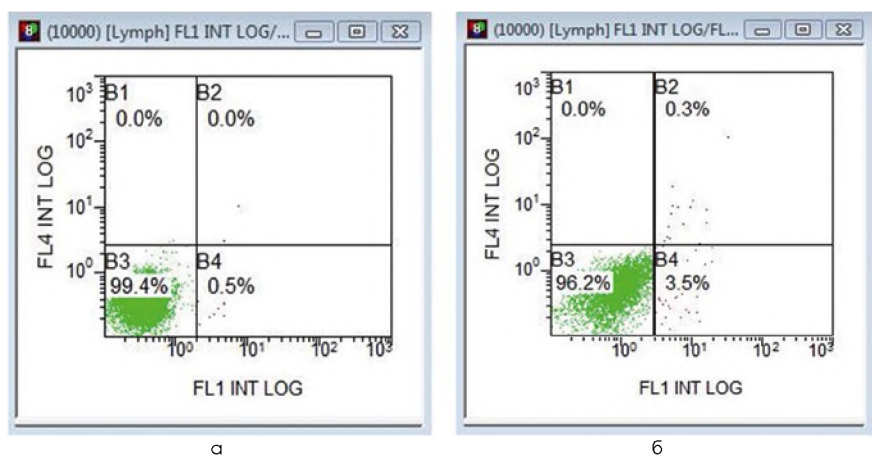


Рисунок 3 (а, б). Двумерная гистограмма распределения апоптотических и жизнеспособных клеток. Ось х – интенсивность флуоресценции аннексина V – FITC. Ось у – интенсивность флуоресценции 7 AAD: а – здоровый человек, б – пациент с ОИМ.

Таблица 2  
Уровни провоспалительных цитокинов (ФНО-α, ИЛ-1β) у больных острым инфарктом миокарда

Параметр	Здоровые лица, n = 27	Больные ОИМ, n = 20
ФНО-α, пг/мл	51,50 [32,60–119,10]	272,10 [160,50–311,20]**
ИЛ-1β, пг/мл	5,10 [4,70–6,90]	11,20 [9,60–17,40]*

Примечание: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$  – статистически достоверные различия по сравнению с группой контроля (в скобках: 25-й и 75-й перцентили).

В группе пациентов с ИМ отмечена положительная корреляция между уровнями аннексина V и общего холестерина ( $r = 0,51$ ;  $p < 0,05$ ), а также отрицательная корреляция между аннексином V и ЛПВП ( $r = -0,49$ ;  $p < 0,05$ ).

Таким образом, нами выявлено усиление спонтанного апоптоза лимфоцитов периферической крови у пациентов с ОИМ по сравнению с контролем, что может быть связано с апоптотическими процессами в кардиомиоцитах.

Ишемия миокарда является одним из тех стрессовых воздействий, которое ведет к выработке белков теплового шока [17], являющихся эндогенными лигандами для рецепторов врожденного иммунитета, в частности Toll-подобных рецепторов-4 (TLR-4). Связывание БТШ 70 с TLR-4 дает сигнал для транскрипции генов, ответственных за синтез провоспалительных цитокинов, что, в свою очередь, способствует развитию дисфункции эндотелия и повреждению сосудистой стенки.

Одними из таких провоспалительных цитокинов, играющих роль в процессе апоптоза, являются ИЛ-1β и ФНО-α. При ОИМ нами было обнаружено достоверное повышение этих показателей по сравнению с контрольными значениями (табл. 2).

## Заключение

В настоящее время с появлением новых методических подходов стало возможным изучение молекулярных основ патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний. Особенно это актуально в плане поиска маркеров риска развития такого серьезного осложнения ишемической болезни сердца, как инфаркт миокарда. ИМ сопровождается как ишемическими процессами, так и иммунновоспалительными реакциями, причинно-следственные связи данных процессов по-прежнему дискуссионны. При острой ишемии миокарда запускается транскрипция генов, в том числе связанных с апоптозом. Поскольку апоптоз является регулируемым процессом, лучшее понимание обстоятельств, запускающих апоптоз при инфаркте миокарда, и клеточных механизмов, контролирующих данный процесс, будет способствовать выработке терапевтических стратегий, направленных на ограничение повреждения тканей у пациентов с инфарктом миокарда [18, 19].

Так, A. Saraste *et al.* [20] продемонстрировали, что в миокардиальных образцах, полученных от больных, умерших от ОИМ, в дополнение к открытому некрозу множество миоцитов подвергаются ишемическому и реперфузионному апоптозу. H. Fliss и D. Gattinger [21] в своих исследованиях показали, что апоптоз происходит исключительно в ишемизированном миокарде, а не в пограничных или отдаленных от ишемии регионах. В других исследованиях апоптотические миоциты выявлялись не только в пограничных зонах недавнего инфаркта [4], но и в «отдаленных от ишемии» областях [5]. Установлено, что процессы, развивающиеся при острой ишемии миокарда, представляют собой сложную цепь взаимопереплетающихся каскадов [22].

Одним из пусковых механизмов активации апоптоза является появление на поверхности клеток молекул ФС, которые переносятся с внутренней цитоплазматической мембраны благодаря образованию комплекса с белком аннексином V [12]. При ИМ происходит программируемая гибель эндотелиоцитов [11], что сопровождается увеличением содержания циркулирующих аннексина V – мононуклеаров в периферической крови, выявленным в нашем исследовании. Это в дальнейшем запускает процессы тромбогенеза и образование протромбиназного комплекса [23].

Изменения липидного спектра у больных ИМ, выявленные в данном исследовании, соответствуют литературным данным и проявлялись повышением атерогенных липопротеидов – общего холестерина и холестерина ЛПНП при одновременном снижении антиатерогенных ЛПВП. Снижение их уровня, по всей видимости, приводит к снижению защиты эндотелиальных клеток от апоптоза.

У больных ОИМ было выявлено статистически значимое, по сравнению с контролем, количество жизнеспособных мононуклеаров ( $CD 3^+$ ) и субпопуляции цитотоксических  $CD 3^+CD 8^+$  – лимфоцитов в периферической крови, что, возможно, связано с их антагонистическим действием в отношении

гиперпродукции Fas/FasL – рецепторов. В литературе имеются сведения о стимулирующем влиянии окисленных ЛПНП на рецепторный и митохондриальный пути апоптоза (Fas/FasL, рецепторы ФНО- $\alpha$  I и II) [24]. После связывания рецепторов данного семейства с соответствующим лигандом происходит каскад реакций, приводящих к гибели активированных аутореактивных Т-лимфоцитов [25]. Аутоиммунный ответ инициируется ФНО- $\alpha$  и благодаря тому, что он способен повышать экспрессию молекул адгезии и некоторых матриксных металлопротеиназ [26].

В нашем исследовании у больных с ОИМ обнаружено более высокое содержание ФНО- $\alpha$  в крови, чем у здоровых людей. Увеличение концентрации ФНО- $\alpha$  в крови, вероятно, связано с индукцией апоптоза путем связывания данного цитокина со специфическим высокоаффинным рецептором к ФНО- $\alpha$  либо в связи со стимуляцией CD95<sup>+</sup> – презентующей активности клеток и индукции Fas-зависимой тонагогенной программы клеток [27].

ФНО- $\alpha$  стимулирует выработку другого медиатора воспаления – интерлейкина-1 $\beta$ . Увеличение концентрации ИЛ-1 $\beta$ , обнаруженное в данном исследовании, также было показано при развитии острой коронарной ишемии [28]. ФНО- $\alpha$  совместно с ИЛ-1 $\beta$  не только индуцируют лейкоцитарно-эндотелиальную адгезию, но и активируют ИЛ-8, способствующий миграции лейкоцитов из сосудистого русла в зону ишемического повреждения миокарда.

Многочисленные исследования показывают, что апоптоз может вызывать гибель клеток кардиомиоцитов после инфаркта миокарда, хотя точные механизмы апоптоза в сердце неизвестны и интерпретация исследований несколько затруднена из-за различных методов, используемых для определения апоптоза. Тем не менее процесс апоптоза в сердце занимает уникальную позицию в области теории и практики апоптоза, аналогичную другим процессам, вызывающим ишемическую болезнь сердца.

Таким образом, в нашем исследовании выявлено усиление спонтанного апоптоза лимфоцитов периферической крови у пациентов с ОИМ по сравнению с контролем. Это подтверждает предположение о системности апоптоза при ОИМ. Субстрат инфаркт-обусловленного апоптоза представлен аннексин-зависимым апоптозом Т-лимфоцитов вследствие иммунного дисбаланса. Это приводит к активации системы цитокинов с гиперпродукцией провоспалительных медиаторов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ ). Выявленные зависимости требуют дальнейшего изучения с перспективой разработки прогностических алгоритмов исходов ОИМ на основе показателей уровней аннексина V и провоспалительных цитокинов.

#### Список литературы / References

- Петрищев Н.Н., Васина Л.В., Луговая А.В. Содержание растворимых маркеров апоптоза и циркулирующих аннексин V-связанных апоптотических клеток в крови больных острым коронарным синдромом. Вестник Санкт-Петербургского университета. 2008; 11 (1): 14–23.  
Petrishev N.N. The content of soluble markers of apoptosis and circulating annexin V-linked apoptotic cells in the blood of patients with acute coronary syndrome. Bulletin of Saint Petersburg University. 2008; 11 (1): 14–23. (In Russ.).
- Palojoki M., Saraste A., Eriksson A. et al. Cardiomyocyte apoptosis and ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2001; 280 (6): 2726–2731. DOI: 10.1152/ajpheart.2001.280.6.H2726.

- Palojoki M., Saraste A., Eriksson A. et al. Cardiomyocyte apoptosis and ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2001; 280 (6): 2726–2731. DOI: 10.1152/ajpheart.2001.280.6.H2726.
- Nakajima H., Yanase N., Oshima K. et al. Enhanced expression of apoptosis inducing ligand TRAIL in mononuclear cells after myocardial infarction. Jpn. Heart J. 2003; 44: 833–844. DOI: 10.1536/jhj.44.8333.
- Шахнович Р.М. Острый коронарный синдром. В кн.: Кардиология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007. 692 с.  
Shakhnovich R.M. Acute coronary syndrome. In book: Cardiology: National guidelines. Moscow: GEOTAR-Media; 2007. 692 c.
- Piro F.R., di Gioia C.R., Gallo P. et al. Is apoptosis a diagnostic marker of acute myocardial infarction? Arch Pathol Lab Med. 2000; 124: 827–831. DOI: 10.1043/0003-9985(2000)124<0827:IAADMO>2.0.CO;2.
- Залесский В.Н., Гавриленко Т.И., Фильченков А.А. Апоптоз при ишемии и реперфузии миокарда. Врачебное Дело. 2002; 1: 8–15.  
Zalesky V.N., Gavrilenko T.I., Filchenkov A.A. Apoptosis in myocardial ischemia and reperfusion. Physician's Business. 2002; 1: 8–15.
- Москалева Е.Ю., Севрин С.Е. Возможные механизмы адаптации клетки к повреждениям, индуцирующим программированную гибель. Связь с патологией. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2006; 2: 2–15.  
Moskaleva E. Yu., Sevrin S. E. Possible mechanisms of cell adaptation to damage inducing programmed death. Relationship to pathology. Pathological Physiology and Experimental Therapy. 2006; 2: 2–15.
- Bennef A.M., van Maarle M.C., Hallqvist J. et al. Association of TNF-alpha serum levels and TNFA promoter polymorphisms with risk of myocardial infarction. Atherosclerosis. 2006; 187 (2): 408–414. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2005.09.022.
- Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии. Иммунология. 1997; 5: 7–13.  
Yarilin A.A. Cytokine system and principles of its functioning in norm and pathology. Immunology. 1997; 5: 7–13.
- Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Рубакова Э.И. Система цитокинов. М.: Янус-К, 2000. 64 с.  
Kovalchuk L.V., Gankovskaya L.V., Rubakova E.I. Cytokine system. Moscow: Janus-K, 2000. 64 c.
- Петрищев Н.Н., Васина Л.В. Аннексин А5 и дисфункция эндотелия. Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. академика И.П. Павлова. 2004; XI (3): 45–47.  
Petrishev N.N., Vasina L.V. Annexin A5 and endothelial dysfunction. Scientific Notes of St. Petersburg State Medical University named after I.P. Pavlov. 2004; XI (3): 45–47.
- Fadok V.A., Volker D.R., Campbell P.A. et al. Exposure of phosphatidylserine on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages. J. Immunol. 1992; 148: 22157–22164.
- Guillermo Mariño & Guido Kroemer. Mechanisms of apoptotic phosphatidylserine exposure. Cell Research. 2013; 23: 1247–1248. DOI: 10.1038/cr.2013.115.
- Vanags D.M., Coppola S., Burgess D.H. Protease involvement in fodrin cleavage and phosphatidylserine exposure in apoptosis. Biol. Chem. 1996; 271: 31075–31085. DOI: 10.1074/jbc.271.49.3107513
- Reutelingsperger C.P.M., van Heerde W.L. Annexin V, the regulator of phosphatidylserine catalyzed inflammation and coagulation during apoptosis. Cell. Mol. Life Sci. 1997; 53: 527–532. https://doi.org/10.1007/s00180050067
- Кудрявцев И.В., Головкин А.С., Зурочка А.В., Хайдуков С.В. Современные методы и подходы к изучению апоптоза в экспериментальной биологии. Медицинская иммунология. 2012; 14 (6): 461–482.  
Kudryavtsev I.V., Golovkin A.S., Zurochka A.V., Haidukov S.V. Modern methods and approaches to the study of apoptosis in experimental biology. Medical Immunology. 2012; 14 (6): 461–482.
- Williams R.S., Benjamin I.J. Protective responses in the ischemic myocardium. J. Clin. Invest. 2000; 106: 813–818. https://doi.org/10.1172/JCI11205
- Хусаинова Л.Н., Смакаева Э.Р., Садикова Р.И., Мингазетдинова Л.Н. Клеточные маркеры апоптоза при остром коронарном синдроме. Медицинский вестник Башкортостана. 2013; 8 (3): 78–81.  
Khusainova L.N., Smakaeva E.R., Sadikova R.I., Mingazetdinova L.N. Cell markers of apoptosis in acute coronary syndrome. Medical Bulletin of Bashkortostan. 2013; 8 (3): 78–81.
- Тепляков А.Т., Гракова Е.В., Березикова Е.Н., Шилов С.Н., Копьева К.В., Калужин В.В. Ранние маркеры прогрессирования сердечной недостаточности и апоптоза: роль в прогнозировании риска развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у больных, перенесших инфаркт миокарда. Бюллетень сибирской медицины. 2016; 15 (1): 37–46. DOI: 10.20538/1682-0363-2016-1-37-46.  
Teplyakov A.T., Grakova E.V., Berezikova E.N., Shilov S.N., Kopyeva K.V., Kalyuzhin V.V. Early markers of heart failure progression and apoptosis: role in predicting the risk of adverse cardiovascular events in patients with myocardial infarction. Bulletin of Siberian Medicine. 2016; 15 (1): 37–46. DOI: 10.20538/1682-0363-2016-1-37-46.
- Saraste A., Pulkki K., Kallajoki M. et al. Apoptosis in human acute myocardial infarction. Circulation 1997; 95: 320–323. http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.95.2.320
- Fliiss H., Gattlinger D. Apoptosis in ischemic and reperfused rat myocardium. Circ Res. 1996; 79: 949–956. DOI: 10.1161/01.res.79.5.949
- Константинова Е.В., Кочетов А.Г., Шостак Н.А. и др. Особенности иммунного ответа и воспалительной реакции при атеротромботическом инсульте и инфаркте миокарда. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2015; 115 (12): 48–53. DOI: 10.17116/jnevro201511512248-53.  
Konstantinova E.V., Kochetov A.G., Shostak N.A. et al. Features of immune response and inflammatory response in atherothrombotic stroke and myocardial infarction. Journal of Neurology and Psychiatry n.a. S.S. Korsakov. 2015; 115 (12): 48–53. DOI: 10.17116/jnevro201511512248-53.
- Simak J., Holada K., Vostal J.G. Release of annexin A5-binding membrane microparticles from cultured human umbilical vein endothelial cells after treatment with camptothecin. BMC Cell. Biol. 2002; 3: 11. DOI: 10.1186/1471-2121-3-11.

24. Harada-Shiba M., Kinoshita M., Kamido H., Shimokado K. Oxidized low density lipoprotein induces apoptosis in cultured human umbilical vein endothelial cells by common and unique mechanisms. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 9681–9687. DOI: 10.1074/jbc.273.16.9681.
25. Портянко А. С., Чертовой Е. Д. Система Fas/FasL и ее значение для регуляции взаимоотношений опухоли и иммунной системы при папиллярном раке щитовидной железы у детей и подростков. *Архив патологии.* 2003; 65 (4): 18–21. Portianko A. S., Cherstoy E. D. The Fas/FasL system and its significance for the regulation of tumor-immune system interactions in papillary thyroid cancer in children and adolescents. *Archives of Pathology.* 2003; 65 (4): 18–21.
26. Константинова Е. В., Хомякова Н. Ф., Константинова Н. А. и др. Взаимосвязь апоптоза и экспрессии белков теплового шока лимфоцитов периферической крови у больных с инфарктом миокарда. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2010; 12: 622–625.

Konstantinova E. V., Khomyakova N. F., Konstantinova N. A. et al. Relationship between apoptosis and heat shock protein expression of peripheral blood lymphocytes in patients with myocardial infarction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2010; 12: 622–625.

27. Cecconi C., Curello S., Bachetti T. et al. Tumor necrosis factor in congestive heart failure: a mechanism of disease for the new millennium. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 1998; 41 (1): 25–30.
28. Guillen I., Blanes M., Gomez-Lechon M. J., Castell J. V. Cytokine signaling during myocardial infarction: sequential appearance of IL-1 beta and IL-6. *Am. J. Physiol.* 1995; 269: 229–235. DOI: 10.1152/ajpregu.1995.269.2.R229.

Статья поступила / Received 18.01.22  
Получена после рецензирования / Revised 28.01.22  
Принята к публикации / Accepted 28.06.22

#### Сведения об авторах

**Наумов Андрей Валентинович**, ассистент кафедры профилактической медицины и здорового образа жизни<sup>1</sup>. E-mail: andrey.naumov.93@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7874-7057

**Прокофьева Татьяна Васильевна**, к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней педиатрического факультета<sup>1</sup>. E-mail: prokofeva-73@inbox.ru. ORCID: 0000-0002-3260-2677

**Полунина Ольга Сергеевна**, д.м.н., зав. кафедрой внутренних болезней педиатрического факультета<sup>1</sup>. E-mail: admed@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-8299-6582

**Сароянц Людмила Валентиновна**, д.м.н., зав. лабораторно-экспериментальным отделом<sup>2</sup>. E-mail: luda\_saroyants@mail.ru. ORCID: 0000-0002-4426-3860

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Астрахань

<sup>2</sup>ФГБУ «Научно-исследовательский институт по изучению лепры» Минздрава России, г. Астрахань

**Автор для переписки:** Прокофьева Татьяна Васильевна, E-mail: prokofeva-73@inbox.ru

**Для цитирования:** Наумов А. В., Прокофьева Т. В., Полунина О. С., Сароянц Л. В. Анализ уровней аннексина V и цитокинового статуса у больных с острым инфарктом миокарда. *Медицинский алфавит.* 2022; (19): 33–38. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-33-38>.

#### About author

**Naumov Andrey V.**, assistant at Dept of Preventive Medicine and Healthy Lifestyle<sup>1</sup>. E-mail: andrey.naumov.93@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7874-7057

**Prokofieva Tatyana V.**, PhD Med, associate professor at Dept of Internal Diseases, Faculty of Pediatrics<sup>1</sup>. E-mail: prokofeva-73@inbox.ru. ORCID: 0000-0002-3260-2677

**Polunina Olga S.**, DM Sci (habil.), head of Dept of Internal Diseases, Faculty of Pediatrics<sup>1</sup>. E-mail: admed@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-8299-6582

**Saroyants Lyudmila V.**, DM Sci (habil.), head of Laboratory-Experimental Dept<sup>2</sup>. E-mail: luda\_saroyants@mail.ru. ORCID: 0000-0002-4426-3860

<sup>1</sup>Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

<sup>2</sup>Leprosy Research Institute, Astrakhan, Russia

**Corresponding author:** Prokofieva Tatyana V., E-mail: prokofeva-73@inbox.ru

**For citation:** Naumov A. V., Prokofieva T. V., Polunina O. S., Saroyants L. V. Analysis of annexin V levels and cytokine status in patients with acute myocardial infarction. *Medical alphabet.* 2022; (19): 33–38. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-33-38>.



DOI: 10.33667/2078-5631-2022-19-38-43

## Тромбозы на фоне COVID-19 у лиц среднего возраста

А. Д. Хидирова, Н. П. Ильиных, П. Г. Мадонов

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Новосибирск

#### РЕЗЮМЕ

В данном обзоре представлены особенности коагулопатии и тромботический риск при COVID-19 у лиц среднего возраста. Показано последовательное увеличение D-димера и наличие тромбоза и ТЭЛА у тяжелобольных пациентов среднего возраста с COVID-19 при снижении других параметров свертывания крови, таких как фибриноген, тромбоциты или антитромбин, которые связаны с ДВС-синдромом. Следовательно, есть потребность в выявлении повышенного риска тромботических событий на ранней стадии и предотвращении тромботических событий и повреждения органов, насколько это возможно. Также рассматривается применение тромболитической терапии. В настоящее время прилагаются большие усилия международных медицинских и научных сообществ новая короновирусная инфекция COVID-19 является глобальной проблемой и прогноз для госпитализированных пациентов с COVID-19, особенно при критической форме, продолжает оставаться неблагоприятным не только для пожилых и старых пациентов, но и для лиц среднего возраста. Несмотря на то что это заболевание считается многофакторным, тромботические осложнения играют важную роль в дальнейшем прогнозе у этой категории пациентов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** COVID-19, D-димер, SARS-CoV, тромботический риск, ARDS, ACE2.

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Thrombosis on background of COVID-19 in middle-aged people

L. D. Khidirova, N. P. Ilyinykh, P. G. Madonov

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia