

ХУТОРНАЯ

Мария Владимировна

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ТРИГГЕРНОГО РЕЦЕПТОРА TREM-1 В
ФОРМИРОВАНИИ ПОЛИОРГАННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПОСЛЕ
КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ**

3.3.3. Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»

Научный руководитель

доктор медицинских наук, профессор РАН

Григорьев Евгений Валерьевич

Официальные оппоненты:

Полонская Яна Владимировна, доктор биологических наук, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, старший научный сотрудник

Чумакова Светлана Петровна, доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патофизиологии, профессор кафедры

Ведущая организация: ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии» «Научно-исследовательский институт общей реаниматологии имени В.А. Неговского»

Защита диссертации состоится «___» _____ 2024 года в ___ часов на заседании диссертационного совета 24.1.187.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» по адресу: 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» и на сайте: <http://health-family.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор биологических наук

Гребенкина

Людмила Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

К основным патофизиологическим факторам, обуславливающим развитие послеоперационных осложнений, относят клеточное повреждение, гипоксию, гиповолемию, гипотермию, ацидоз и стресс. Совокупность повреждающих факторов обуславливает нарушение баланса иммунных и метаболических процессов, запускает системный воспалительный ответ (СВО), что определяет травмирующую нагрузку на организм и приводит к развитию критических состояний [Helander et al., 2019].

Послеоперационная полиорганная недостаточность (ПОН) является серьезным осложнением у пациентов в отделениях реанимации и интенсивной терапии и представляет собой состояние, когда после хирургического вмешательства возникает дисфункция нескольких органов, быстро прогрессирующая и приводящая к недостаточности органных систем [Xu et al., 2021]. Проблема развития ПОН после операции коронарного шунтирования (КШ) крайне актуальна, так как данное жизнеугрожающее состояние составляет около 80% от показателя общей госпитальной летальности [Gourd, 2020; Liu et al., 2023]. Послеоперационные осложнения разной степени значимости (синдром малого сердечного выброса, острое почечное повреждение, неврологические осложнения) развиваются до 30% случаев от всех кардиохирургических вмешательств и зачастую не связаны с техническими сложностями манипуляций при оперативном вмешательстве [Liu et al., 2023]. Ключевым фактором, приводящим к нарушению функционирования органов и систем, является дисфункция иммунного реагирования при развитии закономерного СВО [Hatakeyama, 2014; Понасенко и др., 2017; Алимова, 2019; Squicciarro et al., 2022].

Триггерному рецептору, экспрессируемому на миелоидных клетках первого типа (TREM-1), отводится важная роль в регуляции воспалительных процессов и иммунного ответа в организме [Gao et al., 2019]. TREM-1 амплифицирует сигналы, поступающие с паттерн-распознающих рецепторов, с последующим усилением синтеза провоспалительных цитокинов. Установлено, что чрезмерная активация TREM-1 формирует избыточный воспалительный ответ, вызывая повреждение органов и тканей. Данное свойство делает TREM-1 привлекательным объектом для изучения триггерных механизмов СВО и прогнозирования его осложнений после

хирургических вмешательств [Kouassi et al., 2018]. Более того, TREM-1 являются неспецифичными в отношении инфекционного и неинфекционного воспалительного ответа, что делает его универсальным маркером.

Понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе развития прогрессирующей ПОН, поможет снизить негативные последствия для органов и систем организма. Определение роли TREM-1, как возможного патогенетического и иммуногенетического фактора, обуславливающего развитие ПОН, может предоставить новые подходы к его прогнозированию и ранней диагностике.

Степень разработанности темы исследования

На сегодняшний день имеются значительные достижения в понимании патогенеза ПОН, однако остаются неисследованными или спорными клеточные и молекулярные механизмы, а также генетические факторы, способствующие запуску и развитию этого серьезного осложнения [Cole et al., 2020]. До сих пор не идентифицированы ключевые гены и механизмы их регуляции, связанные с развитием и прогрессированием неинфекционной ПОН [Gu et al., 2018]. Напротив, большая часть исследований представлена работами по изучению функциональной значимости внеклеточного домена рецептора (sTREM-1), где он продемонстрировал свою роль в развитии воспалительного ответа инфекционной [Palazzo et al., 2012; Ye et al., 2014; de Nooijer et al., 2021] и неинфекционной этиологии [Dopheide et al., 2013; Jérémie et al., 2015; Joffre et al., 2016]. Активно дискутируется вопрос: могут ли sTREM-1 и полиморфизм гена *TREM-1* выступать маркерами воспаления в клинических исследованиях? На сегодняшний день неизвестно, является ли концентрация sTREM-1 генетически регулируемой и влияет ли полиморфизм гена на его уровни экспрессии [Хуторная и др., 2019].

Таким образом, роль иммуногенетических факторов врожденного иммунитета (на примере триггерного рецептора) в патогенезе прогрессирующей ПОН после кардиохирургических вмешательств, остается неясной, что определяет актуальность и цель настоящего диссертационного исследования.

Цель исследования

Определить патогенетическую значимость триггерного рецептора TREM-1 в предрасположенности к развитию полиорганной недостаточности после операции

коронарного шунтирования для прогнозирования и ранней диагностики риска развития критических послеоперационных осложнений.

Задачи исследования

1. Установить патогенетическую связь между носительством рискованных аллелей отдельных вариабельных сайтов гена *TREM-1* и развитием прогрессирующей ПОН после операции коронарного шунтирования.
2. Выявить зависимость между динамикой сывороточной концентрации sTREM-1 и тяжестью состояния пациента, оцененной с помощью шкалы SOFA, в периоперационном периоде коронарного шунтирования.
3. Определить ассоциации полиморфных вариантов *TREM-1* с изменением сывороточных концентраций растворимой формы рецептора (sTREM-1) и развитием прогрессирующей ПОН после операции коронарного шунтирования.
4. Оценить предикторный потенциал полученных маркеров для расчета вероятности риска развития прогрессирующей ПОН в раннем послеоперационном периоде.

Научная новизна исследования

Впервые представлены значимые ассоциации иммуногенетических показателей (определение рискованных генотипов *TREM-1* и определение концентрации sTREM-1) с предрасположенностью к развитию ПОН.

Впервые обнаружена связь высоких сывороточных концентраций sTREM-1 у пациентов до хирургического вмешательства (более 250 пг/мл) с развитием прогрессирующей ПОН.

Впервые установлены ассоциации полиморфных вариантов гена *TREM-1* (rs1817537, rs2234246, rs3804277) с развитием ПОН после планового оперативного вмешательства на коронарных артериях. А также определен вклад изучаемых полиморфных вариантов гена *TREM-1* в формирование предрасположенности к развитию прогрессирующей ПОН у пациентов после КШ.

Впервые определена взаимосвязь уровня циркулирующей растворимой формы TREM-1 и полиморфных вариантов гена *TREM-1* с выраженностью ПОН у пациентов в послеоперационном периоде КШ. При этом уровень и динамика концентраций sTREM-1, зависящая от носительства определенных аллельных вариантов в трех полиморфных локусах гена *TREM-1* (rs1817537, rs2234246, rs3804277), вносит

значимый вклад в развитие дисфункций органов-мишеней, и в конечном счёте, в развитие прогрессирующей ПОН в раннем послеоперационном периоде КШ.

Теоретическая и практическая значимость работы

В настоящем диссертационном исследовании получены новые знания о вкладе триггерного рецептора, экспрессируемого на миелоидных клетках 1 типа, в патогенез прогрессирующей полиорганной недостаточности, инициированной кардиохирургическим вмешательством.

Получены фундаментальные сведения, которые значительно расширяют имеющиеся представления о роли гена *TREM-1* и концентрации его растворимой формы (sTREM-1) в детерминации ПОН после операции КШ.

Разработан и клинически апробирован патогенетически обоснованный способ прогнозирования риска развития синдрома полиорганной недостаточности у пациентов после коронарного шунтирования (патент РФ № 2641033 С1), позволяющий на основании клинико-anamnestических показателей и молекулярно-генетического тестирования (определение генотипов по полиморфизмам гена *TREM-1*) при скрининговом предоперационном обследовании выявить потенциальных пациентов с высоким риском развития ПОН.

Внедрение результатов данной научно-исследовательской работы в практическую медицину позволит на основании молекулярно-генетического тестирования и показателей концентраций sTREM-1 в крови еще до операции прогнозировать развитие ПОН, скорректировать послеоперационную терапию, снизить риск возможных осложнений и улучшить прогноз для пациентов в послеоперационном периоде.

Определение рискованных генотипов *TREM-1* проводится один раз в жизни и может быть использовано для принятия решений при медикаментозной терапии в послеоперационном периоде при последующих хирургических вмешательствах на коронарных артериях.

Методология и методы исследования

Работа выполнена на основе данных регистра аортокоронарного шунтирования (свидетельство №2012620868 от 27.08.2012 г.), сформированного на базе ФГБНУ «НИИ КПССЗ». На первом этапе исследования проводился анализ клинических и анамнестических данных пациентов, подвергшихся плановому оперативному

вмешательству на коронарных артериях в следствие хронической ишемической болезни сердца. Отбор пациентов для исследования выполнялся в соответствии с критериями включения и исключения. Характеристику операционного и раннего послеоперационного этапов проводили по оценочным критериям с помощью диагностических и прогностических шкал.

В работе использовали методы молекулярно-генетического (выделение ДНК и ПЦР-анализ) и иммунохимического (ИФА) тестирования, позволяющие достаточно полно охарактеризовать исследуемую выборку согласно поставленной цели исследования. Материалом для исследования служила цельная кровь и сыворотка, взятая у пациентов до операции и на 1-е сутки после операции. Для статистического анализа использовали методы описательной статистики, дисперсионного, корреляционного и регрессионного анализов.

Положения, выносимые на защиту

1. В патогенез ранней прогрессирующей ПОН, развивающейся после операции коронарного шунтирования, вовлечены аллели полиморфных вариантов гена *TREM-1*, обладающие рисковой и протективной значимостью.

2. Концентрация sTREM-1 выше 250 пг/мл до хирургического вмешательства на коронарных артериях является одним из факторов, отражающих высокий риск развития ранней прогрессирующей ПОН.

3. Вариабельность в полиморфных локусах rs1817537, rs2234246, rs3804277 гена *TREM-1* ассоциируется с повышением концентрации sTREM-1 в сыворотке крови и связана с ухудшением течения раннего послеоперационного периода КШ и формированием ПОН.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждают достаточно представленный объем выборки пациентов (680 человек), проведение лабораторных исследований современными методами с использованием реагентов «для научных исследований» на высокоточном оборудовании, проведение контрольных исследований в объеме 10% от каждого теста для подтверждения результатов, использование адекватных методов статистической обработки результатов, а также непосредственное участие автора в планировании и выполнении всех этапов исследования.

Апробация результатов исследования

Основные результаты исследования диссертационной работы доложены и обсуждены на Алмазовском молодежном медицинском форуме (Санкт-Петербург, 2019), 10-ой Всероссийской конференции «Противоречия современной кардиологии: спорные и нерешенные вопросы» (Самара, 2021), Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Проблемы фундаментальной медицины» (Кемерово, 2021), XII Международном конгрессе «Кардиология на перекрестке наук» (Тюмень, 2022), Всероссийской научно-практической конференции «Кардиология на марше» (Москва, 2022), IX Международном образовательном форуме «Российские дни сердца» (Санкт-Петербург, 2022), Форуме молодых кардиологов РКО (Москва, 2022), X съезде кардиологов СФО «Сибирская кардиология 2023: новые вызовы и пути решения» (Иркутск, 2023).

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертационной работы опубликовано 16 научных работ, из них 4 статьи в отечественных научных журналах, индексируемых в международной базе Scopus; 1 статья в зарубежном журнале, индексируемом в базе Web of Science; 2 работы – в научных журналах и 8 тезисов в материалах научных российских конференций. Получен один патент РФ на изобретение.

Внедрение результатов работы

Результаты диссертационного исследования внедрены в клиническую практику отделения анестезиологии и реаниматологии НИИ КПССЗ в форме алгоритмов диагностики на основании новых медицинских технологий, подтвержденных актами внедрения: 1. «Метод прогнозирования развития полиорганной недостаточности после коронарного шунтирования с использованием генетических маркеров TREM-1» авторов: д.м.н. Шукевича Д. Л., к.м.н. Понасенко А. В., Хуторной М. В., Цепкиной А. В.; 2. «Алгоритм прогнозирования развития полиорганной недостаточности в кардиохирургии на основании сывороточных концентраций sTREM» авторов: д.м.н. Григорьева Е. В., к.м.н. Понасенко А. В., Хуторной М. В. На основании полученных результатов исследования также разработан «Способ прогнозирования риска развития синдрома полиорганной

недостаточности у пациентов после коронарного шунтирования» (патент РФ № 2641033 С1).

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 138 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3-х глав (обзора литературы, главы с описанием объектов, материала и методов исследования, главы с результатами исследования и их обсуждения), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы и двух приложений. Текст диссертации иллюстрирован 14 таблицами и 17 рисунками. Библиографический указатель включает 167 источников, из них 35 отечественных и 132 зарубежных.

Личный вклад автора

При выполнении диссертационной работы автор принимал непосредственное участие в поиске и анализе литературных данных, планировании исследования, разработке дизайна, сборе биологического материала, проведении экспериментальной части исследования, статистической обработке полученных результатов, написании научных статей и диссертации. Автор самостоятельно сформулировал цель и задачи исследования, проанализировал полученные результаты и обобщил их в положениях и выводах.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Дизайн исследования



Рисунок 1 – Схема работы

Объект исследования

В данной работе из 728 пациентов регистра отобраны для дальнейшего исследования 680 пациентов, подвергшиеся плановому оперативному вмешательству на коронарных артериях. Основными критериями включения в исследование являлись: 1) клинически и инструментально установленный диагноз хронической ИБС со стенокардией I-IV функционального класса и хронической сердечной недостаточностью I-IV функционального класса; 2) плановая операция коронарного шунтирования; 3) наличие подписанного информированного согласия от пациентов на участие в исследовании. Все лица, имеющие отягощенный анамнез (злокачественные новообразования, аутоиммунные и инфекционные заболевания), сочетанные операции и осложнения, связанные с хирургической тактикой, исключены из исследования.

Принцип разделения пациентов на группы

В основе дизайна распределения пациентов по группам лежит недостаточность важнейших органов и систем на основании объективных критериев состояния организма в раннем послеоперационном периоде. Для динамической оценки выраженности органной недостаточности в раннем послеоперационном периоде использовали шкалу SOFA (Sequential organ failure assessment). Так по клиническому течению раннего послеоперационного периода все пациенты ретроспективно разделены на две группы в зависимости от отсутствия ПОН (n=650) и наличия ПОН (n=30). Наличие в раннем послеоперационном периоде дисфункции 1-2 систем органов с быстрым восстановлением утраченных функций самостоятельно или с помощью медикаментозной терапии определялось как отсутствие ПОН (SOFA 0-3 балла). Наличие дисфункции двух и более систем органов с затруднением восстановления утраченных функций с помощью медикаментозной терапии или их полной утратой определялось как наличие ПОН (SOFA 4 балла и выше).

Материалы и методы исследования

Молекулярно-генетическое тестирование и иммунохимический анализ проводились в отделе экспериментальной медицины НИИ КПССЗ.

Молекулярно-генетическое тестирование выполнено 680 пациентам. Материалом для исследования послужила геномная ДНК, выделенная из периферической крови методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование

8 полиморфных вариантов гена *TREM-1* (rs1817537, rs3804277, rs6910730, rs7768162, rs2234246, rs4711668, rs9471535, rs2234237) осуществляли по протоколу производителя зондов TagMan (Thermo Fisher Scientific, США) методом полимеразной цепной реакции с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени на анализаторе «ViiA™ 7» (Applied Biosystems, США). Наличие, концентрацию и чистоту выделенной ДНК определяли с использованием спектрофотометра «NanoDrop-2000» (Thermo Fisher Scientific, США).

Иммунохимический анализ проведен с биологическими образцами 132 пациентов. Концентрацию sTREM-1 в сыворотке крови определяли твердофазным иммуноферментным методом (ИФА) с использованием коммерческих наборов HumanTREM-1 («R&D Systems», США), предназначенных для научных исследований, в соответствии с инструкциями производителя. Измерение концентрации sTREM-1 в сыворотке крови производили на дооперационном этапе (1-я точка) и через 18-20 часов после операции (2-я точка) на полуавтоматическом спектрофотометре «УНИПЛАН» (ПИКОН, Россия).

Статистический анализ. Для проведения статистического анализа использовали программы «SNPStats» и «GraphPad Prism 8.0.». Проверку нормальности распределения количественных показателей в группах осуществляли методом Колмогорова-Смирнова. Сравнение групп проводили методом дисперсионного анализа (ANOVA). Статистическую значимость различий двух независимых групп оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни, а внутри групп — с помощью W-критерия Уилкоксона. Количественные данные представлены медианой (Me) и интерквартильным диапазоном (Q1-Q3). Категориальные показатели представлены абсолютными и относительными (в %) частотами встречаемости. Для сравнения категориальных показателей, частот генотипов и аллелей в анализируемых группах использовали критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йетса или точный критерий Фишера. Для сравнения частоты встречаемости потенциальных предикторов развития ПОН в исследуемых группах использовалось отношение шансов (ОШ) и его 95% доверительный интервал (95% ДИ). Пороговый уровень статистической значимости при проверке гипотез составлял $p=0,05$. Анализ межгенных взаимодействий проводили при помощи программы «MDR v.3.0.2.».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительная характеристика групп исследования

Сравнительный анализ характера течения ИБС и основных общеклинических характеристик на дооперационном этапе показал, что сформированные группы по большей части сопоставимы по основным показателям (таблица 1). Однако, среди пациентов, у которых в раннем послеоперационном периоде развилась ПОН, было статистически значимо больше лиц с наличием в анамнезе хронической обструктивной болезни легких (ОШ=6,99, 95% ДИ 2,15-22,71; $\chi^2=13,91$; $p=0,006$) и хронической ишемией нижних конечностей (ОШ=2,48 95% ДИ 1,18-5,23; $\chi^2=6,09$; $p=0,024$) по сравнению с группой без ПОН. Также установлено, что в группе с ПОН больше пациентов в возрасте 60 лет и старше (ОШ=0,41, 95% ДИ 0,19-0,88; $\chi^2=5,49$; $p=0,031$). На операционном этапе группы пациентов не отличались по основным операционным параметрам. Однако уже в 1-е сутки у пациентов с ПОН определена выраженная органная дисфункция при оценке по шкале SOFA, что отразилось на длительности пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии.

Таблица 1 – Сравнительная характеристика групп исследования

Характеристики		Пациенты с ПОН (n=30)	Пациенты без ПОН (n=650)	p
Пол, n (%)	Женщины	6 (20,0)	135 (20,8)	0,888
	Мужчины	24 (80,0)	515 (79,2)	
Возраст, n (%)	< 60 лет	11 (36,7)	379 (58,3)	0,031
	≥ 60 лет	19 (63,3)	271 (41,7)	
Курящие, n (%)		9 (30,0)	226 (34,8)	0,729
Ожирение (ИМТ>30 кг/м ²), n (%)		12 (40,0)	224 (34,5)	0,671
Сахарный диабет 2-го типа, n (%)		9 (30,0)	191 (29,4)	0,888
Артериальная гипертензия, n (%)		27 (90,0)	596 (91,7)	0,732
Инфаркт миокарда, n (%)		23 (76,7)	470 (72,3)	0,752
Значимые нарушения ритма, n (%)		8 (26,7)	191 (29,4)	0,92
Стенозы брахицефальные артерии ≥ 50%, n (%)		7 (23,3)	88 (13,5)	0,213
Острое нарушение мозгового кровообращения, n (%)		5 (16,7)	54 (8,3)	0,171
Хр. ишемия головного мозга, n (%)		8 (26,7)	176 (27,1)	0,863

Хр. ишемия нижних конечностей, n (%)	13 (43,3)	153 (23,5)	0,024
Хр. обструктивная болезнь легких, n (%)	4 (13,3)	14 (2,2)	0,006
Хр. почечная недостаточность, n (%)	2 (6,7)	30 (4,6)	0,646
Летальный исход, n (%)	15 (50)	0	–
ON-PUMP, n (%)	28 (93,3)	564 (86,8)	0,409
OFF-PUMP, n (%)	2 (6,7)	86 (13,2)	
Длительность искусственного кровообращения, мин	125 (96-137)	106 (88-130)	0,794
Время пережатия аорты, мин	65 (61-74)	61 (50-73)	0,111
Кратность кардиopleгии, раз	3 (1-4)	3 (2-4)	0,846
Количество шунтируемых артерий, шт	3 (2-3)	3 (2-3)	0,831
SOFA до операции, баллы	0,5 (0-2)	1 (0-1)	0,916
SOFA после операции, баллы	6 (4-9)	2 (1-3)	0,0001
Пребывание в ОРИТ, дни	13 (6-19,5)	1 (1-1)	0,0001

Примечание: n – абсолютное число, p – уровень значимости, ИМТ – индекс массы тела, ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии; ПОН – полиорганная недостаточность.

Ассоциации полиморфных вариантов *TREM-1* с риском развития ПОН

Распределение частот генотипов проверено на соответствие закону Харди – Вайнберга и в одном случае по полиморфному варианту rs4711668 установлено отклонение от этого равновесия за счет снижения наблюдаемых гетерозигот.

Статистически значимые ассоциации между группами пациентов с ПОН и без ПОН найдены по 5 полиморфным локусам *TREM-1* (рисунок 2) из 8 исследуемых. Установлено, что rs1817537, rs2234246, rs3804277 *TREM-1* значимо ассоциированы с риском развития ПОН в раннем послеоперационном периоде у пациентов с ИБС после операции КШ. Так, аллель G полиморфного варианта rs1817537 (ОШ=2,94, 95% ДИ 1,09-7,92; p=0,019), аллель T rs2234246 (ОШ=3,64, 95%ДИ 1,24-10,73; p=0,0076) и аллель T rs3804277 (ОШ=2,94, 95% ДИ 1,09-7,92; p=0,019) *TREM-1* по доминантной модели наследования ассоциированы с повышенным риском развития ПОН в послеоперационном периоде. Со сниженным риском развития ПОН в послеоперационном периоде ассоциированы: аллель A rs7768162 *TREM-1* (ОШ=0,46, 95% ДИ 0,21-0,98; p=0,043) по доминантной модели наследования и генотип T/T rs4711668 *TREM-1* (ОШ=0,22, 95% ДИ 0,05-0,97; p=0,015) по рецессивной модели

наследования. Опираясь на полученные результаты, можно предположить, что данные полиморфные локусы могут вносить вклад в патогенез развития ПОН после кардиохирургических вмешательств.

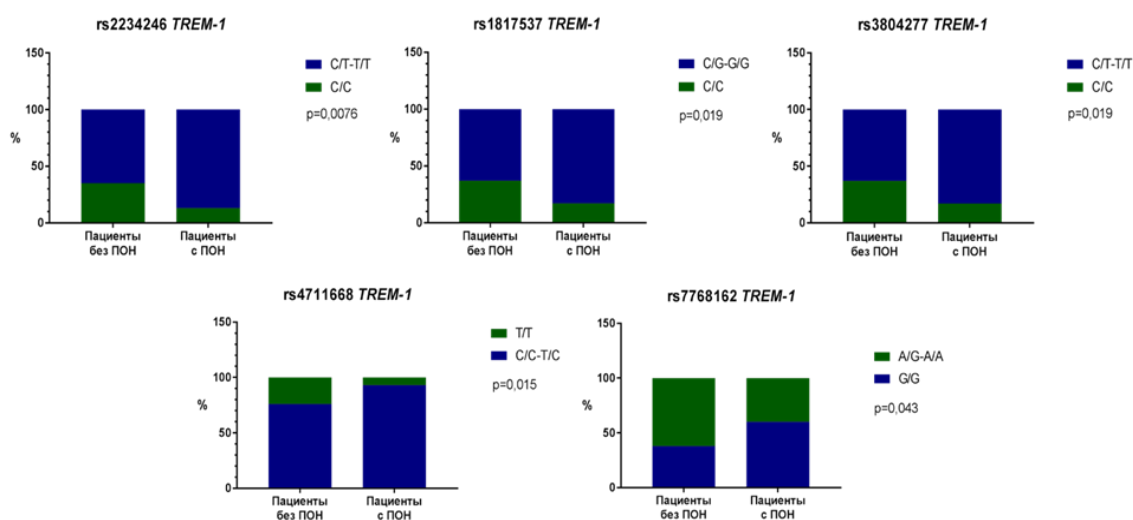


Рисунок 2 – Распределение частот генотипов полиморфных вариантов *TREM1*

При разделении пациентов по половой принадлежности, обнаружена статистически значимая связь по частотам генотипов локуса rs2234246 (рисунок 3). Так, носительство аллеля Т (генотипов С/Т или Т/Т) увеличивает риск развития ПОН после операции КШ у мужчин более чем в три раза (ОШ=3,51, 95%ДИ 1,03-11,93; $p=0,042$). В подгруппе женщин с ПОН значения частоты встречаемости генотипов С/Т и Т/Т были также выше, чем у женщин без ПОН, но не достигли статистически значимых различий и составили 83% и 58% соответственно ($p=0,24$). Других ассоциаций выявлено не было.

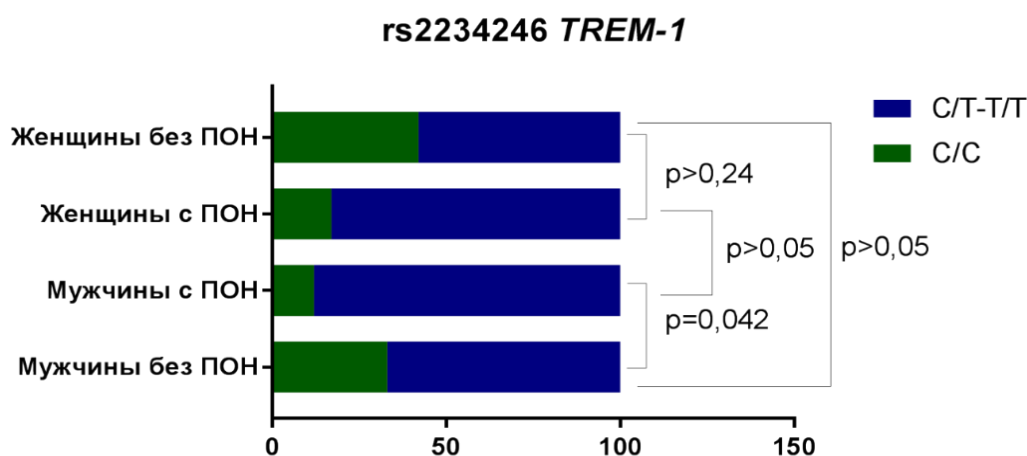


Рисунок 3 – Ассоциация носительства генотипов rs2234246 с развитием ПОН у мужчин

При разделении пациентов в зависимости от возрастной категории (группа: до 60 лет и группа: 60 лет и старше) ассоциаций изучаемых полиморфных локусов с риском развития ПОН выявлено не было ($p \geq 0,05$).

Межгенные взаимодействия полиморфных локусов *TREM-1*, ассоциированных с развитием ПОН после КШ

В результате оценки сочетаний аллелей полиморфных локусов *TREM-1* и их взаимодействия методом MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) установлена наиболее значимая восьмилочусная модель ген-генных взаимодействий полиморфных локусов, ассоциированных с развитием ПОН у пациентов после кардиохирургического вмешательства (таблица 2). Модель характеризуется включением всех ассоциированных с развитием ПОН полиморфных сайтов *TREM-1*.

Таблица 2 – Характеристика модели, определяющая предрасположенность к риску развития ПОН

Модель	Tr. Bal. Acc.	Test. Bal. Acc.	Se.	Sp.	Cons.	Pre.
rs2234246, rs4711668, rs3804277, rs2234237, rs6910730, rs1817537, rs9471535, rs7768162	0,66	0,61	0,91	0,41	10/10	0,06

Примечание: Tr. Bal. Acc. – тренировочная сбалансированная точность, Test. Bal. Acc. – тестируемая сбалансированная точность, Se. – чувствительность; Sp. – специфичность, Cons. – повторяемость результата, Pre. – точность модели.

Динамика концентрации sTREM-1 в сыворотке пациентов

В работе определено, что еще перед хирургическим вмешательством у пациентов из двух дифференцированных групп сывороточные концентрации sTREM-1 определяются на разных уровнях. При этом концентрация sTREM-1 в сыворотке крови у пациентов с проявлением в раннем послеоперационном периоде клинической картины ПОН (307,5 (276,2-452,7) пг/мл) почти в 2 раза ($p < 0,0001$) превышала таковую у пациентов без ПОН (155,3 (131,2-200,6) пг/мл).

В раннем послеоперационном периоде (1-е сутки после оперативного вмешательства) концентрации sTREM-1 у пациентов обеих групп увеличились по сравнению с исходным уровнем ($p < 0,0001$ для группы с ПОН и $p < 0,0001$ для группы без ПОН). При этом у лиц из группы с ПОН концентрации sTREM-1 увеличились

более чем в два раза (655,3 (556,4; 782,2) пг/мл), а у пациентов без ПОН в полтора (238,9 (194,4; 326,1) пг/мл соответственно). Разница в величине концентраций у пациентов двух групп в раннем послеоперационном периоде так же была статистически значима ($p < 0,0001$). Результаты изменений концентрации sTREM-1 у пациентов в периоперационном периоде КШ представлены на рисунке 4. Данный анализ показывает, что при сравнении секреции sTREM-1 по двум временным точкам (как между группами, так и внутри групп) уровень sTREM-1 в сыворотке пациентов с ПОН выше. Можно предположить, что высокие дооперационные значения sTREM-1 прогнозируют вероятность осложненного раннего послеоперационного периода с неблагоприятным клиническим исходом.

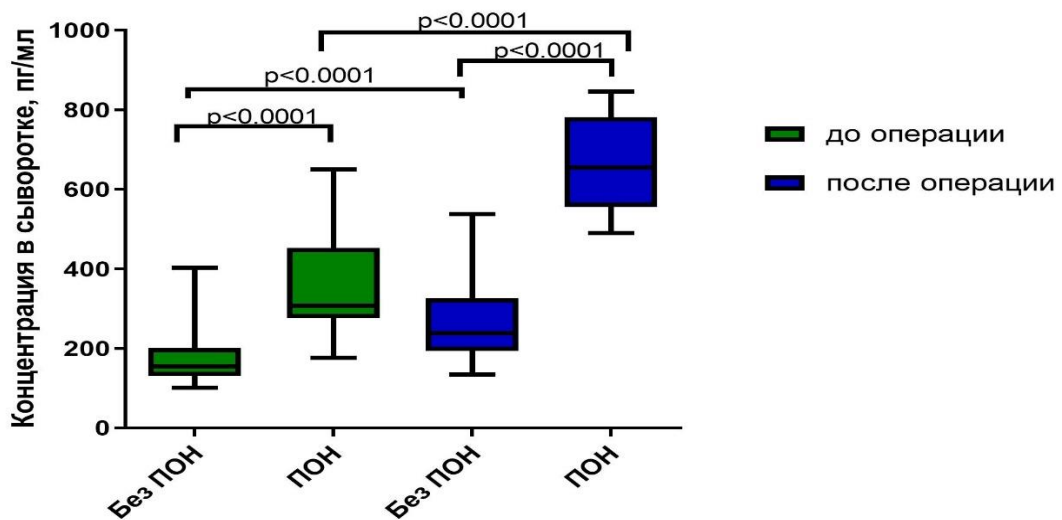


Рисунок 4 – Концентрация sTREM-1 в сыворотке кардиохирургических пациентов

Связь носительства редких аллелей в полиморфных сайтах *TREM-1* с высоким содержанием sTREM-1 у пациентов после КШ

Определено, что носительство редких аллелей в трех полиморфных сайтах (rs2234246, rs3804277 и rs1817537) *TREM-1* связано с высоким содержанием sTREM-1 в сыворотке крови пациентов на дооперационном этапе (рисунок 5) независимо от группы, пола и возраста пациентов ($p = 0,0005$). Установлено, что гомозиготный генотип по минорному аллелю Т rs2234246 *TREM-1* связан с более высоким уровнем sTREM-1 в сыворотке крови в сравнении с генотипами С/Т ($p = 0,0218$) и С/С ($p = 0,0057$) в общей выборке пациентов. Гомозиготные генотипы по минорным аллелям двух других полиморфных сайтов (Т/Т rs3804277 и G/G rs1817537) также ассоциированы с повышением уровня сывороточного sTREM-1 (в сравнении с

гетерозиготными генотипами $p=0,0167$ и гомозиготными генотипами по частому аллелю $p=0,0066$). Связи между носительством определенных аллелей однонуклеотидных полиморфных сайтов *TREM-1* в общей когорте пациентов с уровнем сывороточных концентраций sTREM-1 в 1-е сутки после операции не определено ($p>0,05$). Таким образом можно предположить, что генотипы по минорному аллелю трех полиморфных локусов *TREM-1* могут непосредственно влиять на экспрессию sTREM-1 не зависимо от стрессового повреждающего фактора, в том числе, кардиохирургического вмешательства.

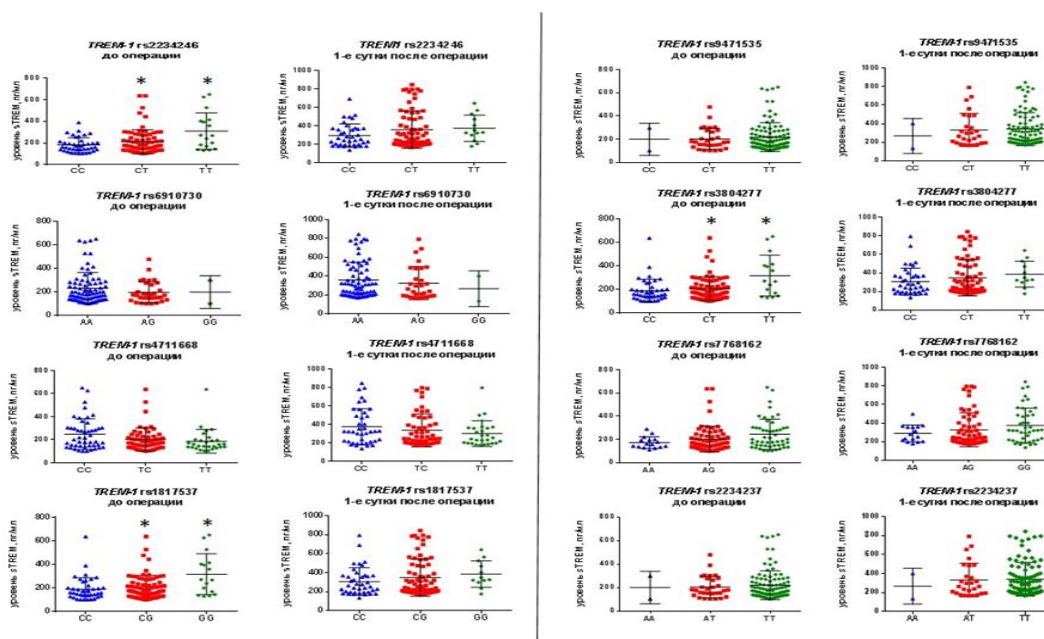


Рисунок 5 – Связь между генотипами полиморфных вариантов гена *TREM-1* с количественным содержанием sTREM-1 в сыворотке крови пациентов

Патогенетическая роль *TREM-1* в механизме формирования полиорганной недостаточности после КШ

При проведении регрессионного анализа между двумя независимыми показателями, такими как концентрация sTREM-1 в сыворотке пациентов и оценка тяжести ПОН по шкале SOFA, установлена средняя положительная взаимосвязь типа «увеличение концентрации sTREM-1 - увеличение оценки по шкале SOFA» в 1-е сутки после операции ($r=0,39$; $p<0,0001$). На дооперационном этапе такая взаимозависимость не обнаружена ($r=0,03$; $p=0,75$).

Использование sTREM-1 в качестве предиктора развития ПОН после кардиохирургической операции оценивали с помощью построения ROC-кривой. При этом, AUC под кривой на дооперационном этапе составила 0,884 (95% ДИ=0,825-

0,943; $p < 0,0001$ при стандартной ошибке 0,030), в первые сутки после операции - 0,913 (95% ДИ=0,860-0,966; $p < 0,0001$ при стандартной ошибке 0,027). Полученные данные регрессионного анализа и ROC-анализа указывает на возможность использования sTREM-1 в качестве маркера ПОН.

С помощью бинарной логистической регрессии с пошаговым включением и исключением 24 генотипов *TREM-1* и 24 вариантов 12 клинических факторов определено, что генотип T/T rs2234246 (ОШ=3,10 (95% ДИ=1,05-9,19) $p=0,042$), возраст старше 60 лет (ОШ=2,34 (95% ДИ=1,05-5,21) $p=0,037$) и наличие хронической обструктивной болезни легких в анамнезе (ОШ=6,71 (95% ДИ=1,61-28,06) $p=0,009$) могут иметь прогностическую ценность в определении риска развития ПОН в раннем послеоперационном периоде КШ. Площадь под ROC-кривой составила 0,742 (95% ДИ 0,705-0,775; $p=0,0003$ при стандартной ошибке 0,054)), а качество прогностической модели – 95,07%.

Таким образом, по результатам работы определены основные маркеры (наличие рискованных аллелей G rs1817537, T rs2234246, T rs3804277 *TREM-1* и концентрация sTREM-1 250 пг/мл и выше), которые отражены в концептуальной схеме патогенеза и показывающие роль молекулярно-генетических факторов в предрасположенности к развитию прогрессирующей ПОН (рисунок 6). Полученные данные могут использоваться в разработке или дополнении диагностических алгоритмов прогнозирования и профилактики ПОН.

Результаты выполненного диссертационного исследования позволяют охарактеризовать рецептор TREM-1 как значимого участника развития прогрессирующей ПОН в раннем послеоперационном периоде КШ. А также помогают приблизиться к пониманию роли TREM-1 в патогенезе ПОН, открывая перспективы для дальнейших исследований. Известно, что выраженность воспалительного ответа зависит от возраста, исходного состояния пациента, адекватной и современной терапии, а также генетических факторов. Опираясь на литературные данные и данные собственного исследования, составлена концептуальная схема патогенеза ПОН (рисунок 6). В представленной на рисунке схеме отражено, что TREM-1 принимает непосредственное участие в запуске иммунных и воспалительных реакций, инициированных кардиохирургическим вмешательством. Для благоприятного течения послеоперационного периода его

активация должна быть балансирующей. Однако чрезмерная активация рецептора характеризуется быстрой дегрануляцией, стимуляцией респираторного взрыва, активацией фагоцитоза, повышенной секрецией продукции провоспалительных цитокинов (TNF α , IL-1 β , IL-6, M-CSF) и хемокинов (IL-8, MCP-1, MCP-3, MIP-1 α) и снижению секреции противовоспалительных цитокинов (IL-10). Амплифицирующее действие TREM-1 приводит к сверхактивной провоспалительной реакции СВО и иммунологическому дисбалансу с продолжительным и чрезмерным воспалением. Нарушается микроциркуляция, повышается проницаемость микрососудов, развивается выраженная вазодилатация и активация системы свертывания крови, что в дальнейшем приводит к эндотелиальной и эпителиальной дисфункции, усилению прокоагуляции, что в конечном итоге выражается полиорганной недостаточностью.

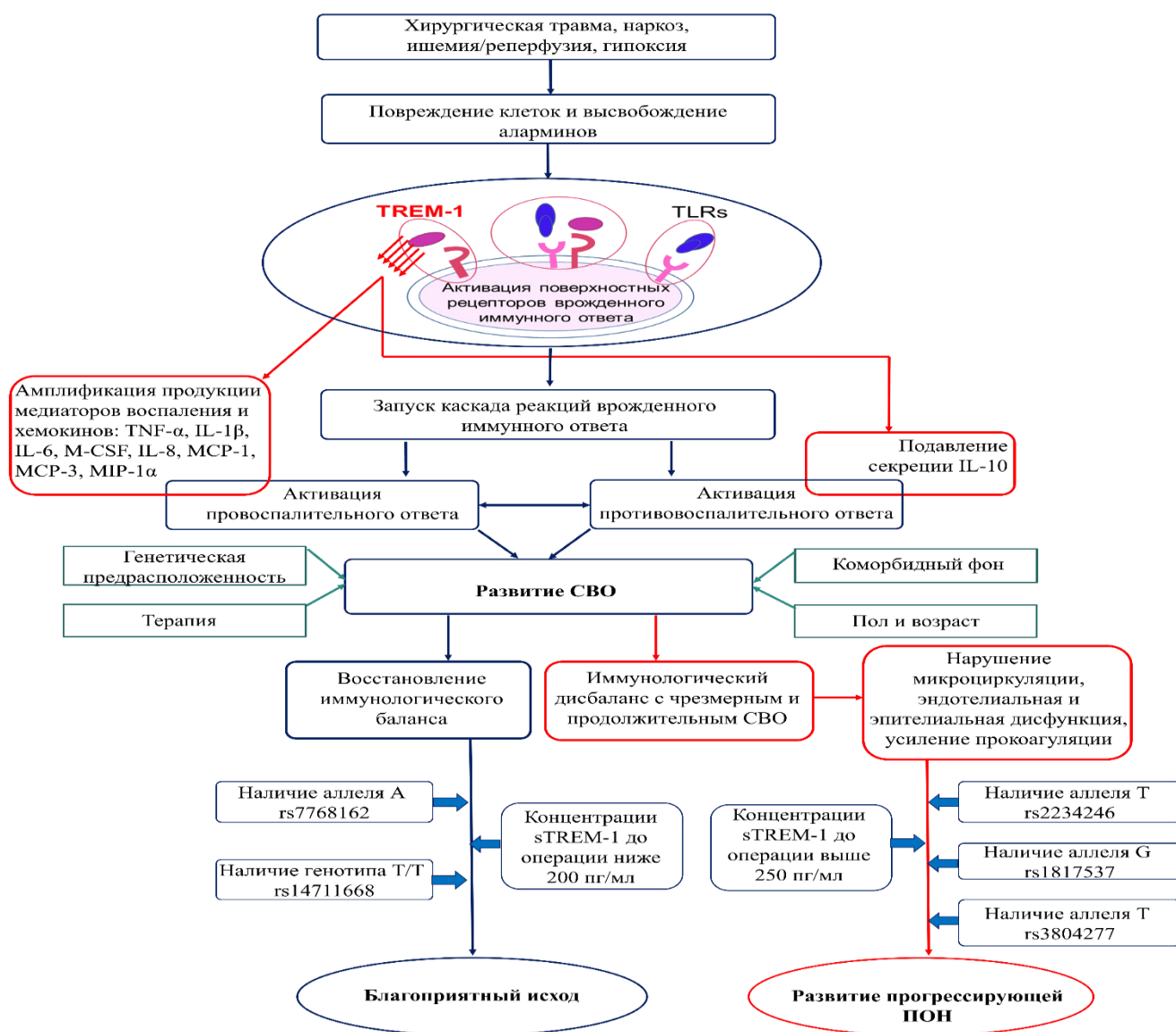


Рисунок 6 – Концептуальная схема патогенеза ПОН с акцентом на молекулярно-генетические факторы

ВЫВОДЫ

1. Носительство аллелей T rs3804277, G rs1817537 и T rs2234246 гена *TREM-1* ассоциировано с развитием прогрессирующей ПОН после перенесенной операции коронарного шунтирования.
2. Послеоперационная ПОН, характеризующаяся прогрессирующим течением и исходным уровнем шкалы SOFA более 4 баллов, коррелирует с концентрацией sTREM-1 250 пг/мл и выше в дооперационном периоде.
3. Уровень и динамика концентрации sTREM-1 зависят от носительства редких аллельных вариантов в трех полиморфных локусах *TREM-1* (rs1817537, rs2234246, rs3804277) и ассоциированы с риском развития прогрессирующей ПОН.
4. Полиморфизм гена *TREM-1* и динамика концентраций sTREM-1 обладают предикторным потенциалом и могут быть использованы для расчета вероятности риска развития ранней прогрессирующей ПОН после операции коронарного шунтирования.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для прогнозирования, диагностики и мониторинга ПОН в раннем послеоперационном периоде КШ пациентам рекомендуется на этапе предоперационной подготовки проводить забор венозной крови для проведения ИФА и ПЦР-анализа по маркеру *TREM-1*. Выявление редких аллелей T rs2234246, G rs1817537 и T rs3804277 *TREM-1* указывает на возможный риск развития ПОН. Высокий риск развития ПОН определяется при носительстве генотипа T/T rs2234246 *TREM-1* в совокупности с возрастным порогом 60 лет и старше и наличием у пациента в анамнезе ХОБЛ. Повышение концентрации sTREM-1 выше 250,0 пг/мл до операции является неблагоприятным признаком возможных тяжелых осложнений. Пациент относится к группе «повышенного риска» развития ПОН в раннем послеоперационном периоде и требует повышенного контроля традиционных клиничко-лабораторных показателей в первые часы после операции. При уровне sTREM-1 выше 550,0 пг/мл через 18-20 часов после операции пациент относится к группе «высокого риска» развития ПОН и требует использования дополнительных методов органопротекции.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ***Публикации в научных журналах, рекомендованных ВАК***

1. Патогенетическая значимость полиморфных вариантов гена TREM1 в развитии полиорганной недостаточности после кардиохирургического вмешательства / **М. В. Хуторная**, А. В. Сеницкая, М. Ю. Сеницкий [и др.] // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. – 2023. – Т. 38, № 2. – С. 147–155. DOI: 10.29001/2073-8552-2023-38-2-147-155 (Индексируется базой данных RSCI, Scopus. Категория К-1. Импакт-фактор РИНЦ 0,380).
2. TREM-1 as a marker of multiple organ failure in cardiac surgery / **M. V. Khutornaya**, M. Yu. Sinitsky, A. V. Sinitskaya [et al.] // Immunological Investigations. – 2023. – Vol. 52, № 5. – P. 583-597. DOI:10.1080/08820139.2023 (Индексируется базой данных Scopus, Web of Science. Импакт-фактор 3,657).
3. Роль растворимой формы триггерного рецептора (sTREM-1) в патогенезе полиорганной недостаточности после кардиохирургических вмешательств / **М. В. Хуторная**, А. В. Сеницкая, М. Ю. Сеницкий [и др.] // Анестезиология и реаниматология. – 2023. – № 1. – С. 26-32. DOI: 10.17116/anaesthesiology202301125 (Индексируется базой данных Scopus. Категория К-1. Импакт-фактор РИНЦ 0,321).
4. Растворимая форма триггерного рецептора миелоидных клеток-1 (sTREM-1) и полиморфные варианты TREM-1 при развитии полиорганной недостаточности после операции коронарного шунтирования / **М. В. Хуторная**, А. В. Понасенко, А. В. Целокина [и др.] // Общая реаниматология. – 2019. – Т. 15, № 3. – С. 48-60. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-3-48-60 (Индексируется базой данных RSCI, Scopus. Импакт-фактор РИНЦ 1,129).
5. Генетические маркеры системной воспалительной реакции в кардиохирургии (обзор) / А. В. Понасенко, М. Ю. Сеницкий, **М. В. Хуторная**, О. Л. Барбараш // Общая реаниматология. – 2017. – Т. 13, № 6. – С. 48-59. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-6-48-59 (Индексируется базой данных RSCI, Scopus. Импакт-фактор РИНЦ 1,129).

Публикации в научных журналах

6. Значение генов врожденного иммунитета в развитии критических послеоперационных осложнений коронарного шунтирования / **М. В. Хуторная**, А. В.

Понасенко, А. С. Радивилко [и др.] // Трансляционная медицина. – 2017. – Т. 4, № 5. – С. 15-27 (Индексируется базой данных RSCI. Импакт-фактор РИНЦ 0,595).

7. Связь полиморфизмов гена TREM-1 с риском развития ишемической болезни сердца в русской популяции / А. В. Понасенко, А. С. Головкин, **М. В. Хуторная** [и др.] // Молекулярная медицина. – 2017. – Т. 15, № 1. – С. 34-39 (Индексируется базой данных RSCI. Импакт-фактор РИНЦ 0,445).

Патенты

8. Пат. № 2641033 С1 Российская федерация, МПК G01N 33/50, C12Q 1/68. Способ прогнозирования риска развития синдрома полиорганной недостаточности у пациентов после коронарного шунтирования, № 2017117216: заявл. 17.05.2017; опубл. 15.01.2018 / А. В. Понасенко, **М. В. Хуторная**, А. Г. Кутихин [и др.]; заявитель и патентообладатель ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний».

Материалы конференций

9. **Хуторная, М. В.** TREM1 как важный участник в развитии критических осложнений у кардиохирургических пациентов / **М. В. Хуторная**, А. В. Понасенко, Е. В. Григорьев // Байкальский медицинский журнал. – 2023. – Т. 2, № 3.

10. **Хуторная, М. В.** Роль полиморфизма генов врожденного иммунитета в развитии осложнений после операции коронарного шунтирования / М. В. Хуторная, А. В. Понасенко, Е. В. Григорьев // Кардиологический вестник. – 2022. – Т. 15, № 2-2. – С. 34-35.

11. **Хуторная, М. В.** Риск развития послеоперационных осложнений при OFF-PUMP или ON-PUMP интраоперационном кровообращении зависит от вариабельности генов врожденного иммунитета / М. В. Хуторная, А. В. Понасенко, Е. В. Григорьев // Российский кардиологический журнал. – 2022. – Т. 27, № S7. – С. 57-58.

12. Роль растворимой формы триггерного рецептора (sTREM) в патогенезе полиорганной недостаточности после кардиохирургических вмешательств / **М. В. Хуторная**, А. В. Понасенко, А. В. Сеницкая [и др.] // Сборник тезисов IX Международного образовательного форума «Российские дни сердца». – М., 2022. – С. 156.

13. **Хуторная, М. В.** Значение триггерного рецептора миелоидных клеток-1 в определении риска развития полиорганной недостаточности после операции коронарного шунтирования / М. В. Хуторная, А. В. Цепокина, А. В. Понасенко [и др.] // Сборник тезисов XII Международного конгресса «Кардиология на перекрестке наук». – М., 2022. – С. 303-304.
14. **Хуторная, М. В.** Изменчивость молекулярной структуры генов врожденного иммунитета и ее значение в развитии критических послеоперационных осложнений коронарного шунтирования / М. В. Хуторная, А. В. Понасенко, Е. В. Григорьев // Материалы X Всероссийской конференции с международным участием «Противоречия современной кардиологии: спорные и нерешенные вопросы». – М., 2021. – С. 56-57.
15. **Хуторная, М. В.** sTREM-1 как маркер полиорганной недостаточности у пациентов с ИБС, подвергшихся операции коронарного шунтирования / М. В. Хуторная, А. В. Сеницкая, А. В. Понасенко // Материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов. – М., 2021. – С. 223.
16. **Хуторная, М. В.** Растворимая форма триггерного рецептора миелоидных клеток-1 (sTREM-1) и значение полиморфизма его гена при определении риска развития полиорганной недостаточности после операции коронарного шунтирования / М. В. Хуторная, А. В. Понасенко, А. В. Цепокина // Трансляционная медицина. – 2019. – Пр. 1. – С. 215.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИБС – ишемическая болезнь сердца; КШ – коронарное шунтирование; ПОН – полиорганная недостаточность; СВО – системный воспалительный ответ; SOFA (Sequential organ failure assessment) – шкала оценки органной недостаточности.

