

АЛЛАХВЕРДИЕВ ЭЛЬВИН СУЛЕЙМАН ОГЛЫ

**ВОЗМОЖНОСТИ ОЦЕНКИ КИСЛОРОД-ТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ
КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ЛЕГОЧНОЙ
ГИПЕРТЕНЗИЕЙ**

3.1.20 Кардиология

1.5.2 Биофизика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

доктор медицинских наук

Мартынюк Тамила Витальевна

доктор биологических наук, профессор

Максимов Георгий Владимирович

Официальные оппоненты:

Филиппов Евгений Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой поликлинической терапии и профилактической медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, главный внештатный кардиолог Минздрава Рязанской области.

Осипов Андреян Николаевич – доктор биологических наук, профессор РАН, заведующий отделом экспериментальной радиобиологии и радиационной медицины Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства.

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Защита диссертации состоится «_____» _____ года, в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.1.029.02, на базе ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И.Чазова» Минздрава России по адресу: 121552 г. Москва, ул. Академика Чазова, 15А.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И.Чазова» Минздрава России и на сайте <http://cardioweb.ru>.

Автореферат разослан «_____» _____ года.

Ученый секретарь диссертационного совета,

доктор медицинский наук, профессор

Ускач Татьяна Марковна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Идиопатическая легочная гипертензия (ИЛГ) — это орфанная форма прекапиллярной легочной гипертензии неустановленной этиологии с неблагоприятным прогнозом при отсутствии адекватного лечения [Авдеев С.Н., 2024; Simonneau G., 2019]. Для верификации диагноза ИЛГ требуется проведение детального обследования, включая целый комплекс инструментальных и лабораторных методов, в том числе катетеризации правых отделов сердца (КПОС) для оценки параметров легочной гемодинамики и вазореактивности.

Патогенез ИЛГ является мультифакторным и включает в себя различные биохимические и биофизические процессы в различных типах клеток. Повышение легочного сосудистого сопротивления (ЛСС) и давления легочной артерии (ДЛА) связаны с вазоконстрикцией, обструктивным ремоделированием вследствие комплексного нарушения структуры и функции стенок легочных сосудов, воспаления и тромбоза [Чазова И.Е., 2020]. Важную роль в патогенезе заболевания играет и гипоксия, которая может быть обусловлена изменениями состояния эритроцитов, например, способностью переносить кислород в результате конформационных изменений в молекулах гемоглобина, с изменением их структуры и нарушению кислород-транспортной функции.

Гипоксия возникает при нарушении эффективности транспортировки газов в кровеносной системе организма (кислород, углекислый газ, а также оксид азота), что определяется распределением и конформацией гемоглобина в эритроците. Изменение сродства гемоглобина (Гб) к кислороду зависит от конформации гемопорфирина молекул Гб и их возможности образовывать различные комплексы с лигандами, что эффективно исследуется при помощи спектроскопии комбинационного рассеивания (КР-спектроскопии) – метода, характеризующего вклад различных связей гемопорфирина в молекулярную структуру белка в цельной крови.

Ранее были опубликованы работы, демонстрирующие, что с помощью спектроскопии комбинационного рассеивания возможно исследовать морфологические параметры эритроцитов и конформацию гемопорфирина гемоглобина у пациентов с ишемической болезнью сердца и с недостаточностью кровообращения, были выявлены корреляции между величинами насыщения гемоглобина кислородом и долей оксигемоглобина в эритроцитах. У пациентов с недостаточностью кровообращения и

ишемической болезнью сердца наблюдалось снижение способности гемоглобина отдавать кислород и содержания оксигемоглобина [Maksimov G.V., 2001; Юсипович А.И., 2013].

В современных клинических рекомендациях патогенетическое лечение ЛАГ основывается на трех ключевых патофизиологических механизмах заболевания – это стимуляция системы эндотелина-1, коррекция дефицита вазодилататоров, а именно простаглицлина и оксида азота, которые способны значительно улучшить прогноз у пациентов с ИЛГ. Контроль за кислород-транспортной функцией эритроцитов крови с помощью метода КР может служить дополнительным методом оценки эффективности проводимой терапии.

Таким образом, изучение способности гемоглобина связывать кислород позволит улучшить оценку клинико-функционального состояния больных с ИЛГ как на стадии диагностики, так и при оценке эффективности проводимой терапии, что определяет научную и практическую значимость работы в современной медицине.

Цель исследования. Изучить особенности кислород-транспортной функции крови с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния в зависимости от тяжести пациентов с идиопатической легочной гипертензией и динамики их состояния в результате лечения, включающего агонист рецепторов простаглицлина селексиаг.

Задачи исследования.

1. Изучить конформацию гемопорфирина гемоглобина эритроцитов в крови и суспензии эритроцитов у пациентов с идиопатической легочной гипертензией и здоровых добровольцев.
2. Сопоставить изменения конформации гемопорфирина гемоглобина в крови и суспензии эритроцитов у пациентов с идиопатической легочной гипертензией и легочной артериальной гипертензией, ассоциированной с системной склеродермией.
3. Оценить динамику изменений конформации гемопорфирина гемоглобина в зависимости от эффективности ЛАГ-специфической терапии, включающей селексиаг.
4. Разработать способ оценки тяжести состояния пациентов с идиопатической легочной гипертензией с использованием метода спектроскопии комбинационного рассеивания.

Научная новизна. В ходе исследования впервые выявлены изменения конформации гемопорфирина гемоглобина в эритроцитах крови, характеризующие способность гемоглобина связывать кислород у пациентов с идиопатической легочной гипертензией в сравнении со здоровыми добровольцами. Сопоставлены конформационные изменения гема гемоглобина эритроцитов в крови у пациентов с идиопатической легочной гипертензией и легочной артериальной гипертензией, ассоциированной с системной склеродермией (ЛАГ-ССД). Впервые разработана методология контроля терапии идиопатической легочной гипертензии с помощью изучения изменений сродства гемоглобина эритроцита к кислороду методом КР-спектроскопии, что позволило судить о изменениях кислород-транспортной функции эритроцитов при патологии и на фоне терапии. Впервые доказана возможность определения эффективности ЛАГ-специфической терапии с помощью КР-спектроскопии.

Практическая значимость. В результате исследования разработана оригинальная методика, основанная на оценке конформационных изменений состояния гемопорфирина гемоглобина у пациентов с ЛАГ для применения в рутинной клинической практике, которая позволяет, во-первых, неинвазивным способом оценивать степень тяжести легочной гипертензии у пациентов с впервые установленным диагнозом, во-вторых, определять потребность в проведении повторной КПОС в ходе дальнейшего наблюдения для определения необходимости в эскалации ЛАГ-специфической терапии.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. При оценке кислород-транспортной функции гемоглобина методом КР-спектроскопии в эритроцитах у пациентов с ИЛГ в сравнении со здоровыми добровольцами установлено, что особенности связывания и переноса газов при ИЛГ обусловлены «куполообразной» конформацией гема, близкой к дезоксигенированной форме Гб.
2. При комплексном сравнительном анализе групп пациентов с ЛАГ различной этиологии выявлено, что пациенты с ИЛГ характеризуются большей степенью легочной гипертензии и меньшей выраженностью нарушений кислород-транспортной функции при сопоставимом функциональном классе с группой ЛАГ-ССД.
3. Применение методики КР-спектроскопии у пациентов с ИЛГ позволяет оценивать эффективность ЛАГ-специфической терапии на основании оценки изменений

конформации гемоглобина, в частности, снижение выявления «куполообразной» конформации.

4. Изучение кислород-транспортной функции крови методом КР-спектроскопии вносит дополнительный вклад в оценку тяжести пациентов с ИЛГ при установлении диагноза и динамическом наблюдении и позволяет обосновать необходимость инвазивного дообследования для решения вопроса об эскалации терапии.

Внедрение результатов в клиническую практику. Результаты диссертационного исследования внедрены в клиническую и научную практику отдела легочной гипертензии и заболеваний сердца НИИ клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных в диссертационной работе выводов обеспечивается в результате достаточной репрезентативности исследуемой выборки пациентов, а также в результате применения современных лабораторных, клинических и инструментальных методик. Результаты исследования представлены автором лично на многочисленных российских и международных конгрессах.

Апробация диссертации состоялась на совместной научной межотделенческой конференции НИИ клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова ФГБУ «НМИЦК им. Е.И. Чазова» Минздрава России 04 апреля 2025 года (протокол №125).

Личный вклад автора. Автор самостоятельно осуществлял все этапы научного исследования- от разработки концепции, подбора и анализа профильной литературы до отбора и сопровождения пациентов, организации экспериментальной части исследования и формирования данных. Овладел современными физико-химическими методами анализа биологических тканей и клеток, в том числе — спектроскопией комбинационного рассеяния, лазерной диагностикой, оптической микроскопией и элементами биоматематического анализа и моделирования.

Автор принимал участие в статистической обработке, интерпретации полученных результатов и последующим их анализе. Работу над диссертацией автор выполнил лично, подготовил и разместил публикации в признанных высшей аттестационной комиссией изданиях, а также представлял основные результаты на различных научных конгрессах и конференциях.

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 3 печатные работы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных в перечне Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации, 2 печатные работы индексируемые в Scopus, получен 1 патент на изобретение.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырех глав, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего публикации отечественных и зарубежных авторов. Текст диссертации иллюстрирован 12 таблицами и 15 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы и методы исследования

Всего скринировано 102 пациента с ЛАГ, согласно критериям включения/невключения в исследование было включено 83 пациента с ЛАГ: 63 пациента с ИЛГ и 20 пациентов с ЛАГ-ССД, соответственно. В рамках диагностического поиска при подозрении на ЛАГ проводилось комплексное обследование согласно алгоритмом, предложенным в российских рекомендациях по диагностике и лечению ЛГ (2020г.). Группа контроля включала 10 человек без сердечно-сосудистой патологии («здоровые добровольцы»). У всех пациентов было зафиксировано $\text{ср.ДЛА} \geq 25$ мм рт.ст., выявлены критерии ЛАГ, у больных ИЛГ проведена проба на вазореактивность. Критериями включения в исследование были: возраст старше 18 лет; верифицированный диагноз ИЛГ (для исследуемой группы) или ЛАГ-ССД (для группы сравнения); отсутствие ЛАГ-специфической терапии или стабильное течение ЛАГ, позволяющее осуществить отмену специфической терапии сроком на 5-7 дней (за исключением больных в группе селексиага); подписанное информированное согласие на участие в исследовании. Критериями не включения в исследование являлись: ЛГ установленной этиологии (группы 2-5 или др. ассоциированные формы ЛАГ); врожденные и приобретенные пороки сердца; заболевания опорно-двигательного аппарата, препятствующие проведению теста 6-минутной ходьбы; цереброваскулярные заболевания (например, преходящее нарушение мозгового кровообращения, инсульт) в течение предшествующих 6 месяцев; отказ от КПОС; несоблюдение методов контрацепции женщинами детородного возраста. Для группы лечения селексиагом применялись дополнительные критерии не включения:

печеночная недостаточность средней и тяжелой степени тяжести, тяжелая хроническая почечная недостаточность; беременность, лактация; артериальная гипертензия; ишемическая болезнь сердца по данным мультиспиральной компьютерной томографии коронарных артерий или коронарной ангиографии; тяжелая декомпенсация сердечной недостаточности; тяжелые нарушения сердечного ритма.

У всех участников исследования проводился забор крови из кубитальной вены для исследования конформации гемоглобина эритроцитов как в цельной крови, так и в выделенных эритроцитах цельной крови. Для повышения чувствительности метода, использовали модификацию метода КР – гигантское комбинационное рассеяние (ГКР) с использованием серебряных наноструктур.

В работе проведены четыре серии исследований с использованием КР-спектроскопии для оценки кислород-транспортной функции крови у пациентов с легочной артериальной гипертензией (Рисунок 1). В первой серии изучались спектры цельной крови и СЭ 39 пациентов с впервые выявленной ИЛГ различных функциональных классов, из которых 15 пациентов не получали специфическую терапию; 24 пациента прошли «отмывочный» период терапии, а контрольную группу составили 10 здоровых добровольцев. Вторая серия исследования включала особенности кислород-транспортной функции 20 пациентов с ИЛГ и 20 пациентов с ЛАГ-ССД соответственно. В третьей серии исследования у 14 пациентов с ИЛГ проводился комплексный анализ клинических и гемодинамических параметров, а также оценка конформаций гемоглобина и эффективности терапии с помощью КР-спектроскопии. Четвертая серия была ориентирована на разработку объективной методики оценки степени тяжести ИЛГ с помощью метода КР-спектроскопии. У 10 больных с подозрением на ИЛГ изучалась возможность использования метода КР-спектроскопии для клинической стратификации больных и оценки тяжести заболевания.

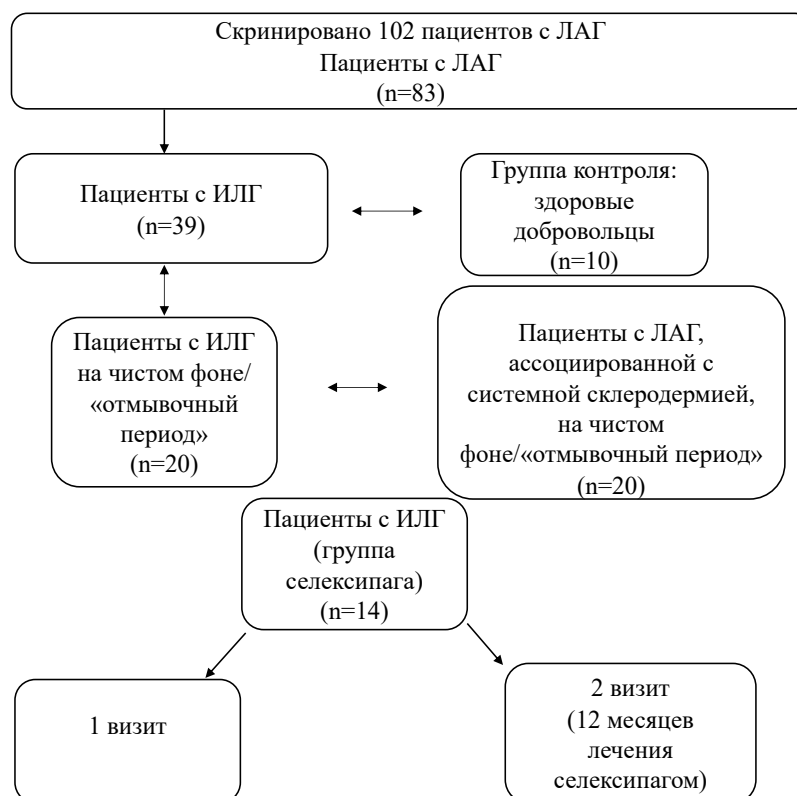


Рисунок 1. – Дизайн исследования

Метод КР-спектроскопии использовали для получения информации о вкладе винильных группах порфиринового макроцикла гема гемоглобина эритроцитов при патологии. Кроме того, он был важен для оценки динамики гемоглобина при патологии, так как позволяет оценить конформационные изменения гема и глобина одновременно, сопоставляя соотношения интенсивностей характерных полос спектра КР гемоглобина (Таблица 1).

Таблица 1. – Соотношение интенсивностей полос спектра КР гемоглобина

Отношение пиков спектра	Значение соотношений
I_{1375}/I_{1172}	Величина отношения, пропорциональная вкладу пиррольных колец молекулы гема в изменениях конформации гемопорфирина, что косвенно характеризует вклад конформации гема оксигемоглобина.
I_{1580}/I_{1375}	Величина отношения, пропорциональная вкладу колебаний винильных групп и симметричных движений пиррольных колец. Рост данного параметра коррелирует с увеличением вероятности нахождения гема гемоглобина в комплексе с лигандами, особенно кислорода.
$I_{1375}/(I_{1355}+I_{1375})$	Величина отношения, пропорциональная вероятности нахождения гема гемоглобина в форме характерной для гема оксигемоглобина.
I_{1580}/I_{1550}	Величина отношения, пропорциональная вкладу колебаний метиновых мостиков между пирролами гемопорфирина. Более высокое значение коррелирует с вероятностью формирования комплекса гемоглобина с лигандами (в частности кислородом) в виде «плоской» конформации гема.
I_{2880}/I_{2930}	Величина отношения, пропорциональная вкладу метильных групп аминокислотных остатков белка глобина, что свидетельствует об изменении конформации глобина гемоглобина.

Анализ статистических данных проводился при помощи программы GraphPad Prism, версия 10.1 для Windows. Статистическую значимость различий в группах оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни или с использованием критерия Вилкоксона ($p < 0,05$).

При обработке непрерывных параметров близких к нормальному распределению использовали расчёт среднего арифметического (M) с соответствующим стандартным отклонением ($\pm SD$). Для описания данных с выраженным отклонением от нормальной статистики рассчитывали медиану (Me), а также интервалы межквартильного размаха: 25-й и 75-й перцентили [$Q1-Q3$], отражающие ключевые статистические тенденции распределения выборки.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исходная комплексная характеристика пациентов с ИЛГ представлена в Таблице 2.

Таблица 2. – Клинико-гемодинамическая характеристика пациентов с ИЛГ на момент включения в исследование

Показатель	Медиана	Квартили
ДбМХ, м	405	[330; 505]
Индекс одышки по Боргу, баллы	5	[3; 5]
ЭхоКГ: СДЛА, мм рт.ст.	90	[80; 100]
ЭхоКГ: S ПП, см ²	24	[20; 32]
КПОС: срДЛА, мм рт.ст.	61	[52; 67]
КПОС: ЛСС, дин*сек/см ²	1153	[862; 1629]
КПОС: ДЗЛА, мм рт. ст.	7	[5; 11]
КПОС: СИ, л/мин*м ²	1,9	[1,5; 2,6]
КПОС: SvO ₂ , %	62	[55; 65]

В проведенной серии экспериментов выявлены выраженные различия КР-спектров крови между пациентами с ИЛГ и контрольной группой. У больных ИЛГ обнаружено увеличение интенсивности полос при 1355, 1550 и 1600 см⁻¹, что отражает изменения конформации макроциклической структуры гема гемоглобина. Одновременно, величина изменения соотношения интенсивности полос КР-спектра аминокислот глобина (2800–3000 см⁻¹) по сравнению с контролем снижалась, что свидетельствует об изменении конформации молекулы глобина гемоглобина эритроцитов при патологии.

Важно, что аналогичные закономерности выявлены и для эритроцитарных суспензий (СЭ, т.е. в отдельном эритроците): у пациентов с ИЛГ интенсивность полос КР- спектра гема гемоглобина выше, а полос КР- спектра глобина, обусловленный вкладом аминокислот глобина, ниже. Этот факт свидетельствует о том, что структура как гема, так и глобиновой части белка претерпевает характерные изменения при данной патологии именно в гемоглобине каждого эритроцита (Рисунок 2).

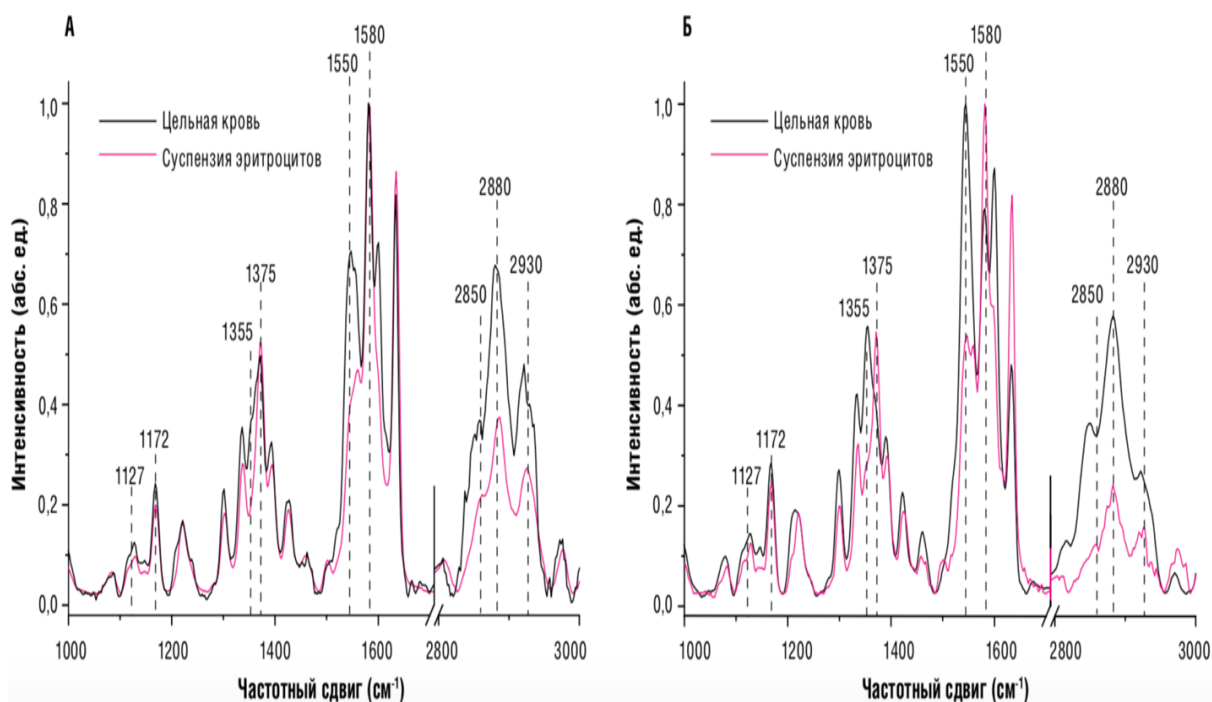


Рисунок 2. – КР-спектр здорового добровольца (контроль) (А) и пациента с ИЛГ (Б) для цельной крови (черная кривая) и суспензии эритроцитов (красная кривая).

Согласно полученным данным гемоглобин эритроцитов у пациентов с ИЛГ чаще находится в дезоксиформе, а макроцикл гема принимает «куполообразную» конформацию (Рисунок 3). Действительно, изменения таких параметров гема, как вклад пиррольных колец и боковых радикалов (например, отношение $(I_{1375}/(I_{1355}+I_{1375}))$), а также специфические изменения боковых $-CH_3$ групп (I_{1375}/I_{1172}) и способности гема связывать лиганды, в том числе кислород (I_{1580}/I_{1375}) характерно именно для конформации гема дезоксигемоглобина. Также наблюдается разница между валентными колебаниями винильных колец гема, отношение (I_{1580}/I_{1550}), и конформацией гема, что коррелирует с изменениями сродства гемоглобина к кислороду и выше в норме, как в цельной крови, так и в СЭ. Особое значение, на наш взгляд, имеет факт увеличения плотности упаковки молекулы глобина у пациентов с ИЛГ (I_{2880}/I_{2930}), что, вероятно, свидетельствует о зависимости изменения конформации молекулы глобина от изменений конформации гема при патологии.

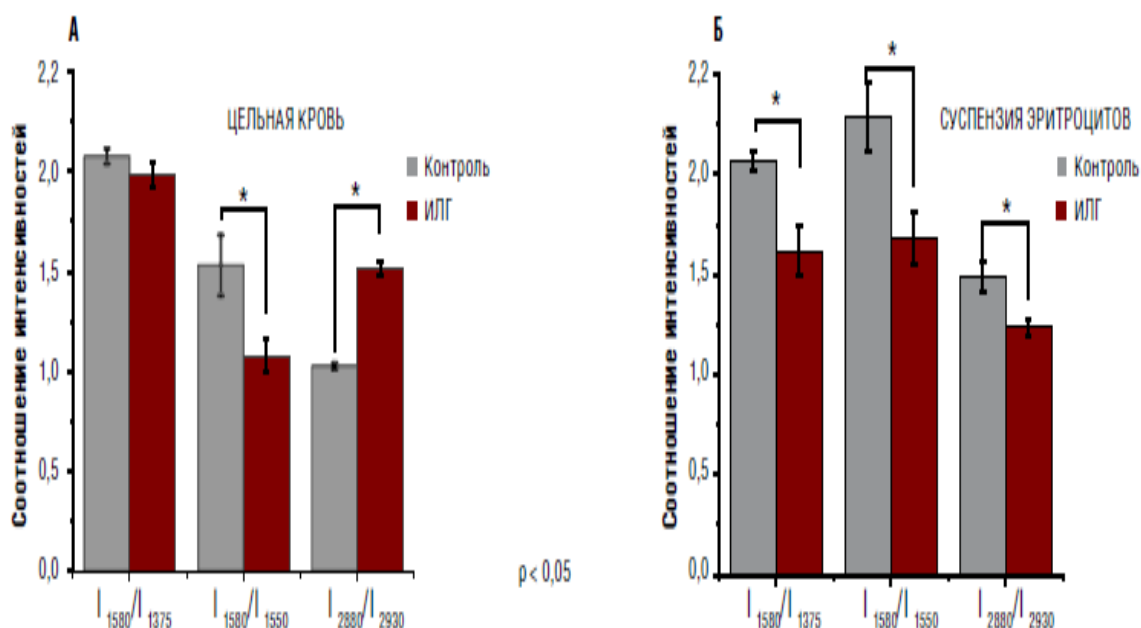


Рисунок 3. – Соотношение интенсивностей полос КР-спектра здоровых добровольцев и пациентов с подтвержденным ИЛГ (красные столбцы) для: А – Гб в эритроцитах цельной крови, Б – Гб в суспензии эритроцитов (* обозначено статистически значимые различия между пробами контроля и ИЛГ ($p < 0,05$)).

В ходе исследования с применением высокоточной ГКР-методики (СЕРС) были выявлены конформационные изменения мембрансвязанного гемоглобина у пациентов с ИЛГ. Важно, что при патологии у мембрансвязанного гемоглобина снижается плотность упаковка глобина (I_{2880}/I_{2930}), но возрастает вероятность нахождения гема в «куполообразной» конформации (Рисунок 4). Формирование данной конформации гема сопровождается повышением сродства гемоглобина к кислороду (I_{1580}/I_{1550}) у контрольной группы. Полученные данные свидетельствуют о глубоких молекулярных перестройках мембрансвязанного гемоглобина, что может характеризовать первичные процессы молекулярных перестроек гемоглобина и эффективности кислород-транспортной функции эритроцитов при ИЛГ.

В целом, изменения затрагивают как структуру гема (включая переход порфиринового кольца к куполообразной форме), так и особенности упаковки белкового компонента, что отражено в комплексных показателях КР-спектроскопии.

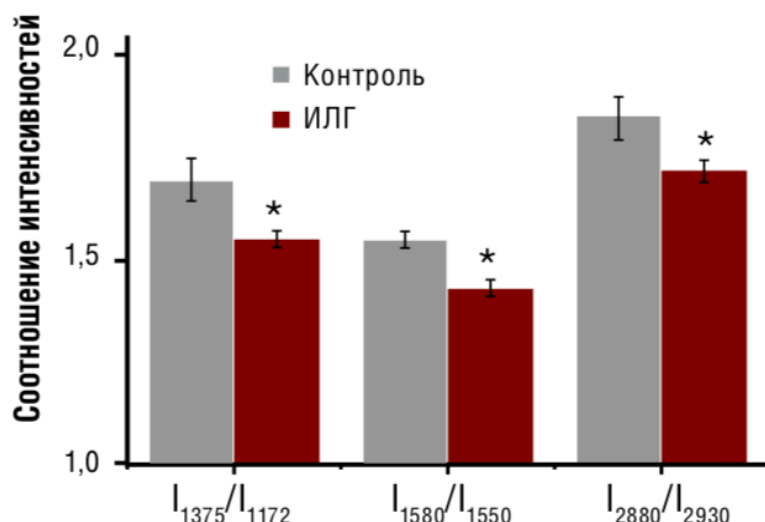


Рисунок 4. – Соотношение величин интенсивностей полос ГКР-спектра Гбмс СЭ здоровых доноров (контроль, серые столбцы) и здоровых добровольцев с подтвержденным ИЛГ (красные столбцы) при насыщении проб кислородом (* обозначено статистически значимые различия между пробами контроля и ИЛГ ($p < 0,05$)).

В ходе следующего исследования было отобрано 20 пациентов с ЛАГ-ССД и 20 пациентов с ИЛГ для оценки кислород-транспортной функции между двумя группами соответственно. В структуре группы отмечалась значимая разница в возрасте, при этом остальные показатели достоверно не отличались (Таблица 3).

Таблица 3. – Клинико-демографическая характеристика пациентов с ИЛГ и ЛАГ-ССД на момент включения в исследование

Параметры	Группа ИЛГ (n=20)	Группа ЛАГ-ССД (n=20)	p
Возраст, лет	41 [39; 50]	64 [57; 72]	0,00005
Женский пол, n (%)	19 (95%)	16 (80 %)	0,7
ИМТ, кг/м ²	25 [22,9;30,0]	26 [24; 29]	0,52
Д6МХ, м	405 [308; 423]	320[300;428]	0,8
Spo2, %	97[96;97,8]	93 [91,2; 97]	0,4
ФК по NYHA II/ III, n %	16 (80%)/4 (20%)	15 (70%)/ 5(30%)	0,6

По данным ЭхоКГ параметр ДЗЛА был существенно выше у ЛАГ-ССД — 11 мм рт.ст. против 8 мм рт.ст. у ИЛГ ($p=0,001$), однако СДЛА был выше в группе ИЛГ 88 мм рт.ст. против 68 мм рт.ст. у ЛАГ-ССД ($p=0,03$) (Таблица 4).

Таблица 4. – Параметры ЭхоКГ для группы ИЛГ и ЛАГ- ССД

Показатели	Группа ИЛГ (n=20)	Группа ЛАГ- ССД (n=20)	p
S ПП, см ²	23,5 [19; 29]	22 [20; 24]	0,66
ПЗР ПП, см	3,2 [3; 3,9]	3,2 [2,85;3]	0,4
КДР ЛЖ, см	4,25 [3,5; 4,5]	4 [3,6; 4,7]	0,24
Ствола ЛА, см	3,2 [3; 3,375]	3,1 [2,925; 3,2]	0,33
TAPSE, см	1,65 [1,4; 1,8]	1,55 [1,4; 2]	0,91
СДЛА, мм рт.ст.	88 [75; 103]	68 [57; 95]	0,03
срДЛА, мм рт.ст.	51 [49,5;59,5]	48 [40,5;55,5]	0,15
ДЗЛА, мм рт.ст.	8 [7; 10]	11 [10; 13]	0,001
Наличие выпота в полости перикарда	7 (35%)	5 (25%)	0,78

При КПОС медианные значения СДЛА были выше в группе ИЛГ — 94 мм рт.ст. [82;113], по сравнению с 82 мм рт.ст. [59;100] в группе ЛАГ-ССД ($p=0,04$). СрДЛА составило 61 мм рт.ст. [48;67] в группе ИЛГ и 50 мм рт.ст. [34;58] в группе ЛАГ-ССД ($p=0,007$). Остальные показатели достоверно не отличались (Таблица 5).

Таблица 5. – Параметры КПОС для группы ИЛГ и ЛАГ-ССД

Показатели	Группа ИЛГ (n=20)	Группа ЛАГ-ССД (n=20)	p
СДЛА, мм рт.ст.	94 [82; 113]	82 [59; 100]	0,04
срДЛА, мм рт.ст.	61 [48;67]	50 [34;58]	0,007
срДПП, мм рт.ст.	9 [6;10]	6 [5;9]	0,2
СИ, л/мин/м ²	2,3 [1,9;2,6]	2,3 [1,7;3,1]	0,9
СВ ₂ , л/мин	3,8 [3,2; 4,2]	3,7 [5; 2,6]	0,8
SvO ₂ , %	63 [59;69]	64 [57;73]	0,5
ЛСС, дин*сек/см ⁵	917 [762;1219]	700 [423;384]	0,1

При сравнении лабораторных данных между исследуемыми группами статистически значимые различия были выявлены по количеству эритроцитов, значению NT-proBNP и уровню Д-димера, где у пациентов с ЛАГ-ССД уровни NT-proBNP и Д-димера были выше, а число эритроцитов — ниже, чем у пациентов с ИЛГ (Таблица 6).

Таблица 6. – Параметры лабораторных данных для группы ИЛГ и ЛАГ-ССД

Показатели	Группа ИЛГ (n=20)	Группа ЛАГ ССД (n=20)	p
Гемоглобин, г/дл	14,9 [11,8; 16,3]	13,1 [12,2; 14,4]	0,16
Гематокрит, %	45,1 [36,8; 48,5]	39,9 [36,7; 43,1]	0,24
Эритроциты, $10^{12}/л.$	5,4 [4,7; 5,9]	4,7 [4,1; 5,1]	0,004
NT-proBNP, пкг/мл	823 [218,7; 1500]	1813 [500; 3000]	0,03
Д-димер, мкг/мл	0,26 [0,15; 0,31]	0,36 [0,26; 0,61]	0,005

Анализ спектральных параметров КР-спектроскопии выявил у пациентов с ИЛГ и ЛАГ-ССД значимые отличия: показатель (I_{1375}/I_{1172}), отражающий колебания связей полуколец пиррола, был достоверно выше в группе ИЛГ как в цельной крови, так и в суспензия эритроцитов. Показатель сродства гемоглобина к кислороду (I_{1580}/I_{1550}) также имел более высокие значения у пациентов с ИЛГ. Соотношение (I_{1580}/I_{1375}), коррелирующее с эффективностью сброса кислорода, оказалось выше в группе ЛАГ-ССД для цельной крови, но в эритроцитах — наоборот, больше у ИЛГ. Интенсивность валентных колебаний аминокислотных остатков глобина (I_{2880}/I_{2930}) не различалась между группами, что косвенно свидетельствует о снижении эффективности транспорта кислорода у пациентов с ЛАГ-ССД, обусловленном специфическими конформационными изменениями белковой структуры гемоглобина (Рисунок 5).

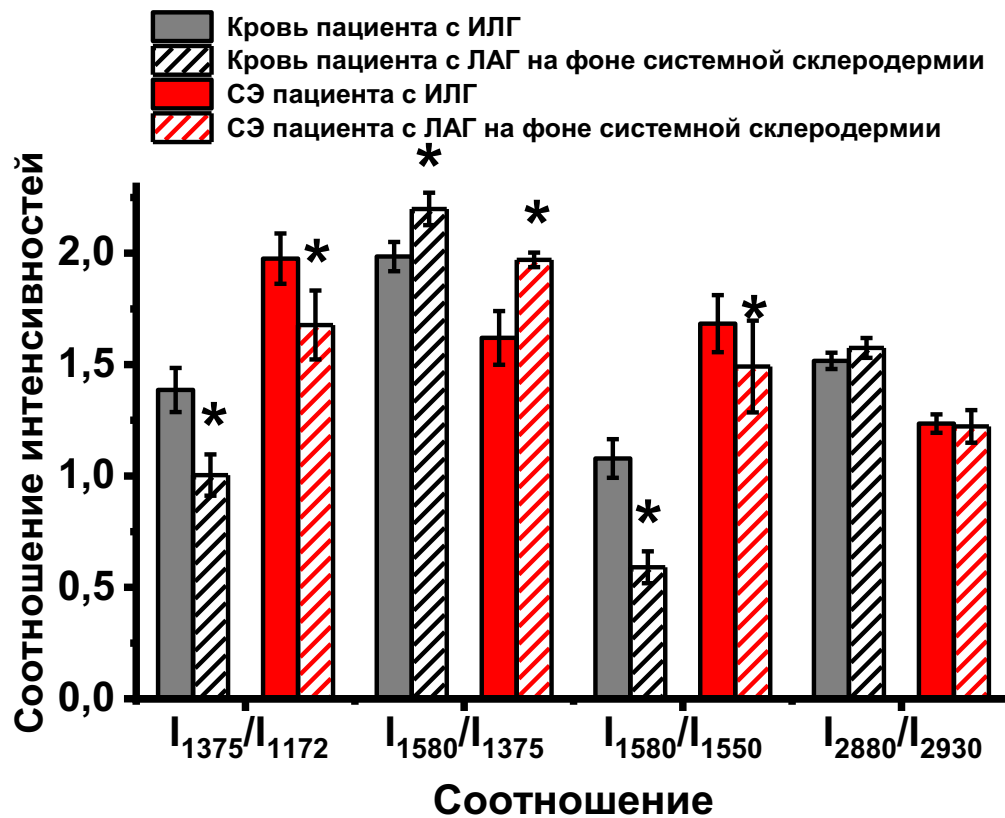


Рисунок 5. – Соотношение величин интенсивности интенсивностей полос КР–спектра контрольной группы, пациентов с подтвержденным ИЛГ и пациентов с ЛАГ -ССД в эритроцитах цельной крови и суспензии эритроцитов (заштрихованные столбцы, СЭ), * обозначены статистически значимые различия между пробами контроля и ИЛГ ($p < 0,05$).

Для изучения динамики изменений конформации гемопорфирина гемоглобина в зависимости от эффективности ЛАГ-специфической терапии, включающей селексилаг в проспективное исследование включено 14 пациента с ИЛГ в возрасте 43 лет [40,0; 50,8], (78,6% -женщин, ФК II- 21,4%, III- 78,6 %). По данным 12-месячного наблюдения, терапия селексипагом сопровождалась выраженным улучшением клинического состояния пациентов: средняя дистанция в тесте 6 минутной ходьбы (Д6МХ) увеличилась до 445 м, интенсивность одышки снизилась по Боргу до 3 баллов, а концентрация NT-proBNP значительно уменьшилась.

Вышеописанная положительная динамика сопровождалась также улучшениями при инвазивном гемодинамическом контроле — рост сердечного выброса СВ (до 4,0 л/мин) и сердечного индекса СИ (до 2,2 л/мин/м²), снижение легочного сосудистого

сопротивления ЛСС до 11,2 ед. Вуда. Параллельно отмечено увеличение насыщенности крови кислородом SvO₂ до 64,5% (Таблица 7).

Таблица 7. – Результаты лечения пациентов с ИЛГ, получавших селексиаг в составе комбинированной схемы через 12 месяцев

Показатели	Исходно	Через 12 месяцев терапии селексиага	p
Д6МХ, м	405,0 [366,3-438,3]	445,0 [431,3-512,0]	0,003
Индекс одышки по Боргу, баллы	5,0 [4,0-5,0]	3,0 [1,3-3,0]	0,01
NT-proBNP, нг/л	550,1 [241,3-1359,5]	242,3 [96,9-816,3]	0,01
СВ, л/мин	3,2 [2,7-3,8]	4,0 [3,2-4,7]	0,01
СИ, л/мин/м ²	1,8 [1,4-2,1]	2,2 [2,1-2,6]	0,003
ЛСС, ед. Вуда	1320,0 [932,1-1487,1]	895,5 [752,2-1196,3]	0,01
SvO ₂ , %	56,5 [53,8-59,8]	64,5 [60,3; 66,8]	0,003

При исследовании крови пациентов с помощью метода КР-спектроскопии удалось выявить колебания гема (на частотах 1000–1800 см⁻¹) и глобина (2800–3000 см⁻¹), которые позволяют судить о его структурном состоянии гемоглобина в эритроците при патологии.

После назначения пациентам селексиага были зафиксированы характерные изменения в КР- спектре гемоглобина крови: интенсивность полосы на 1640 см⁻¹ уменьшилась, что связано, вероятно, с уменьшением количества комплексов Гб-Nox. Подобные комплексы могут встречаться как в эритроцитах цельной крови, так и в изолированных клетках, и их содержание влияет на структуру белка.

В высокочастотной области КР- спектра крови нами выявлено смещение полос 2850 и 2880 см⁻¹ в низкочастотную область на $3 \pm 0,4$ см⁻¹, что, вероятно, связано с изменением конформации глобина гемоглобина эритроцита при патологии. Скорее всего, эти изменения обусловлены укорочением длины сопряжения водородных связей между аминокислотными остатками глобина, что оказывает влияние на стабилизацию его самой структуры и может изменять его функцию.

Таким образом, применение селексипага приводит не только к биохимическим изменениям, но и к изменению тонкой структуры гемоглобина, что находит отражение в спектральных характеристиках белков крови.

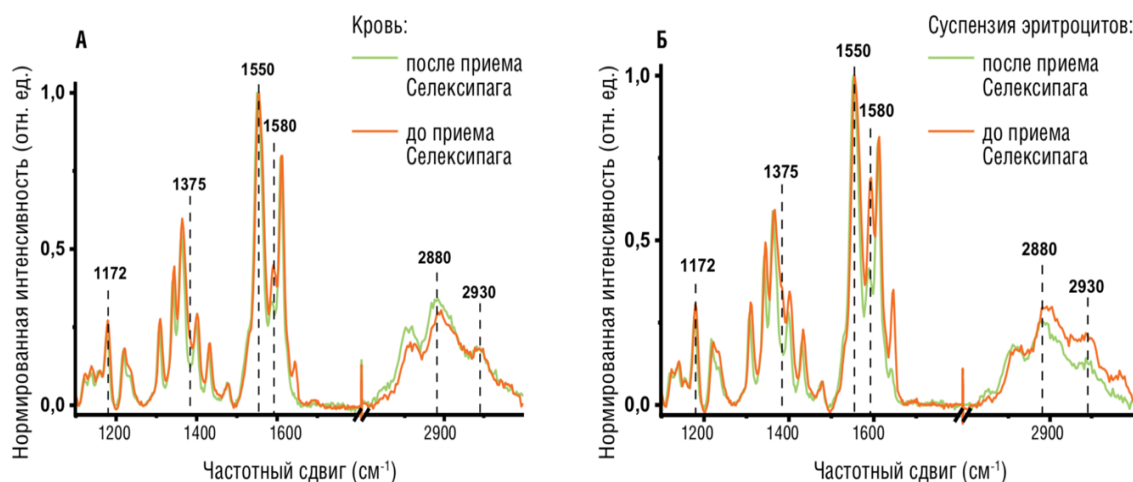


Рисунок 6. – Характерный КР-спектр эритроцитов цельной крови (А) и изолированных эритроцитов (Б) до и после терапии селексипагом.

В цельной крови пациента, при патологии были выявлены конформационные изменения гема, обусловленные вкладом групповых колебаний полуколец пиррола (I_{1375}/I_{1172}), которые были достоверно выше, чем в ГБ после терапии селексипагом. Параметр КР-спектра (I_{1580}/I_{1375}), характеризующий конформацию гема, при которой меняется способность Гб выделять лиганды, не менялся как в цельной крови, так и в СЭ. Соотношения интенсивности полос КР-спектра (I_{1580}/I_{1550}) характеризующее конформацию гема с различным сродством к лигандам (в частности, к кислороду) были достоверно выше после терапии селексипагом для ГБ эритроцитов цельной крови, но не в СЭ. Параметр КР-спектра (I_{2880}/I_{2930}), характеризующий конформацию глобина и отражающий различия между валентными колебаниями аминокислотных остатков глобина был достоверно выше в цельной крови до лечения селексипагом, однако в СЭ был достоверно выше после лечения (Рисунок 7).

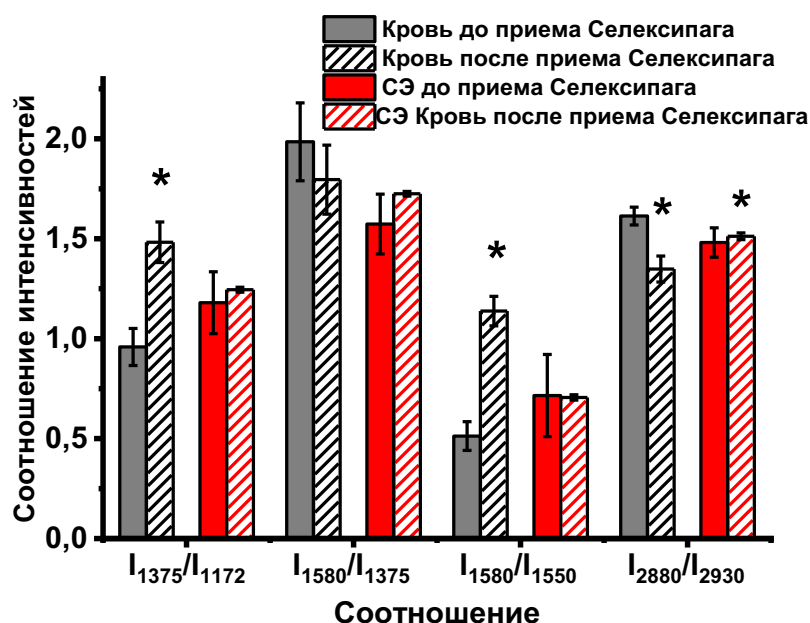


Рисунок 7. – Соотношение величины интенсивностей полос КР-спектра эритроцитов цельной крови (черные столбцы) и изолированных эритроцитов (красные столбцы) пациентов с ИЛГ до и после применения селексипага (* обозначено статистически значимые различия между пробами контроля и ИЛГ ($p < 0,05$), $n=14$).

Таблица 8. – Изменения величин величины соотношения интенсивности (I_{1580}/I_{1550}) различных групп больных

Характеристика	Величина соотношения пика I_{1580}/I_{1550} , у.е.	
	Цельная кровь	Суспензия эритроцитов
Норма, отсутствие ИЛГ	1,98–1,68	3,16–2,82
Начальная стадия ИЛГ, 1–2 ФК	1,67–1,04	2,81–2,64
Поздняя стадия ИЛГ, 3–4 ФК	$\leq 1,03$	$\leq 2,63$

С помощью КР-спектроскопии можно исследовать и контролировать при патологии взаимосвязь между конформацией гема (колебаниями СН-групп в геме Гб) и функциональным классом заболевания, связанных нарушениями кислород-транспортной функции эритроцитов (Таблица 8). Для определения тяжести ИЛГ наиболее информативным является контроль за изменениями конформации гема Гб по величине

соотношения I_{1580}/I_{1550} — оно оказалось самым чувствительным для данного типа патологии.

Таким образом, использование параметров КР-спектроскопии, а именно величин соотношений пиков спектра, позволяет неинвазивно оценивать тяжесть пациента с ИЛГ и определять показания к проведению КПОС. Предложенный нами метод позволяет снизить количество инвазивных вмешательств у больных ЛАГ, а также связанных с ними осложнений.

ВЫВОДЫ

1. С помощью метода спектроскопии комбинационного рассеяния установлено, что в гемоглобине эритроцитов пациентов с идиопатической легочной гипертензией по сравнению с контролем меняется конформация гема: наблюдается «куполообразная конформация» (характерна для дезоксигемоглобина), что может рассматриваться в качестве одной из причин формирования гипоксии.

2. У пациентов с идиопатической легочной гипертензией в отличие от легочной артериальной гипертензии на фоне системной склеродермии при сопоставимом функциональном классе (ВОЗ) и значениях сердечного индекса и легочного сосудистого сопротивления при катетеризации правых отделов сердца наблюдались достоверно более высокие значения систолического и среднего давления в легочной артерии, что сопровождалось менее выраженными нарушениями кислород-транспортной функции за счет изменений колебаний связей полуколец пиррола в геме (I_{1375}/I_{1172}) и сродства гемоглобина к кислороду (I_{1580}/I_{1550}).

3. Назначение селексилага в составе комбинированной терапии через 12 месяцев привело к приросту дистанции в 6 минутной ходьбы на 40 м, снижению индекса по Боргу на 2 балла, NT-proBNP на 308 пг/мл, улучшению гемодинамического профиля (сердечный индекс, легочное сосудистое сопротивление, насыщенность кислородом венозной крови), что сопровождалось улучшением показателей кислород-транспортной функции за счет изменений конформации гема гемоглобина (I_{1375}/I_{1172} I_{1580}/I_{1550}).

4. Применение методики спектроскопии комбинационного рассеяния с использованием величины соотношения I_{1580}/I_{1550} , характеризующей сродство гема

гемоглобина к кислороду, позволяет объективизировать мониторинг эффективности терапии и прогноза течения заболевания у пациентов с идиопатической легочной гипертензией.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для оценки тяжести пациентов с ИЛГ и ЛАГ-ССД и определения вклада нарушений кислород-транспортной функции при верификации диагноза и эффективности терапии рекомендуется проведение спектроскопии комбинационного рассеяния.

2. Для оценки эффективности ЛАГ-специфической терапии следует контролировать динамику изменения следующих параметров КР – спектра крови, характеризующих особенности конформации гема гемоглобина: I_{1375}/I_{1172} , I_{1580}/I_{1550} , I_{1580}/I_{1375} .

3. Метод спектроскопии комбинационного рассеяния позволяет определить когорту пациентов с ИЛГ, которым при оценке эффективности терапии требуется обязательное проведение КПОС, при значениях показателя I_{1580}/I_{1550} для цельной крови $<1,03$ и для суспензии эритроцитов $<2,63$.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Аллахвердиев Э.С. Возможности оценки кислород-транспортной функции при идиопатической легочной гипертензии на фоне успешного применения селексипада / Э.С. Аллахвердиев, Е.А. Резухина, О.В. Слатинская и др. // Евразийский кардиологический журнал. – 2023. – №3. – С. 44-52.
2. Аллахвердиев Э.С. Оценка эффективности ЛАГ-специфической терапии, включающей селексипад, у пациентов с идиопатической легочной гипертензией по данным комплексного обследования с использованием метода спектроскопии резонансного комбинационного рассеяния / Э.С. Аллахвердиев, Е.А. Резухина, О.В. Слатинская и др. // Евразийский кардиологический журнал. – 2023. – №4. – С. 56-63.
3. Allakhverdiev E.S. Raman Spectroscopy and Its Modifications Applied to Biological and Medical Research / E.S. Allakhverdiev, V.V. Khabatova; B.D. Kossalbayev et al. // Cells. – 2022. – V.11. – №3. – P. 1-25.
4. Allakhverdiev E.S. Spectral insights: Navigating the frontiers of biomedical and microbiological exploration with Raman spectroscopy / E.S. Allakhverdiev, B.D. Kossalbayev, A.K. Sadvakasova et al. // Journal of photochemistry and photobiology B: Biology. – 2024. – №252. – P. 1-19.
5. Аллахвердиев Э.С. Возможности применения спектроскопии комбинационного рассеяния у пациентов с прекапиллярной легочной гипертензией / Э.С. Аллахвердиев, О.В. Слатинская, О.В. Родненков и др. // Технологии живых систем. – 2024. – №4. – С. 35-41.
6. Аллахвердиев Э.С., Слатинская О.В., Родненков О.В., Максимов Г.В., Мартынюк Т.В. «Способ прогнозирования тяжести идиопатической легочной гипертензии». Патент на изобретение. Номер патента 2770820. Дата государственной регистрации от 22 апреля 2022 года.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

д-Гб — дезоксигемоглобина	ЛП — левое предсердие
ВОЗ — всемирная организация здравоохранения	о-Гб — оксигемоглобина
ДЗЛА — давление заклинивания легочной артерии	ПЖ — правый желудочек
ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота	ПП — правое предсердие
Д6МХ — дистанция в тесте 6-минутной ходьбы	РНК — рибонуклеиновая кислота
Гб — гемоглобин	СВ — сердечный выброс
Гбмс — мембраносвязанный гемоглобин	СИ — сердечный индекс
Гбцит — цитоплазматический гемоглобин	СДЛА — систолическое давление в легочной артерии
ГКР — гигантское комбинационное рассеяние	ср.ДЛА — среднее давление в легочной артерии
КПОС — катетеризации правых отделов сердца	СЭ — суспензия эритроцитов
ЛАГ — легочная артериальная гипертензия	ССД — системная склеродермия
ЛАГ-ССД — легочная артериальная гипертензия, ассоциированная с системной склеродермией	ФВД — функция внешнего дыхания
ЛСС — легочное сосудистое сопротивление	ФК — функциональный класс
	ЭКГ — электрокардиография
	ЭхоКГ — эхокардиография
	ЭТ-1 — эндотелин 1
	IL — интерлейкин
	NO — оксид азота
	NT-proBNP — мозговой натрийуретический пептид