

© Коллектив авторов, 2015
УДК 616.61-006
DOI – <http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2015.10087>
ISSN – 2073-8137

ТРАНСКРИПТОМНЫЕ МАРКЕРЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ИШЕМИЧЕСКОМУ ПОВРЕЖДЕНИЮ ПОЧКИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Д. И. Водолажский, С. Н. Димитриади, Д. С. Кутилин, Е. М. Франциянц, О. И. Кит

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт,
Россия

TRANSCRIPTOMIC MARKERS OF PREDISPOSITION TO ISCHEMIC DAMAGE OF THE KIDNEY IN PATIENTS WITH CANCER

Vodolazhsky D. I., Dimitriadi S. N., Kutilin D. S., Frantsiyants E. M., Kit O. I.

Rostov Research Institute of Oncology, Russia

В настоящее время для поиска маркеров предрасположенности к ишемическому и постреперфузионному повреждению почки в ходе органосохраняющей операции в условиях тепловой ишемии почки, а также для выяснения фундаментальных молекулярно-биологических процессов, лежащих в основе данного явления, целесообразным является изучение экспрессии апоптоз-регулирующих генов. Методом количественной ПЦР в реальном времени проводили определение относительной экспрессии 14 генетических локусов (*MDM 2*, *BAX*, *CASP7*, *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *BCL2*, *CASP8/FADD*, *p53*, *APAF1*, *AIFM1*, *ICAD*, *XIAP*, *HIF1A*). В ходе исследования выявлены гены – *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *CASP8/FADD* и *HIF1A*, экспрессия которых позволяет прогнозировать развитие острого повреждения почек у больных раком почки после проведенной органосохраняющей операции в условиях тепловой ишемии почки.

Ключевые слова: экспрессия генов, ишемическое и постреперфузионное повреждение почки, тепловая ишемия почки, прогноз

Currently, to search markers of susceptibility to ischemia and postreperfusion injury of kidney during nephron sparing surgery in terms of warm renal ischemia, as well as to determine fundamental molecular biological processes that underlie this phenomenon, it is appropriate to study the expression of apoptosis-regulating genes. By quantitative real-time PCR was performed determination of the relative expression of 14 genetic loci (*MDM 2*, *BAX*, *CASP7*, *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *BCL2*, *CASP8/FADD*, *p53*, *APAF1*, *AIFM1*, *ICAD*, *XIAP*, *HIF1A*). The study identified genes – *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *CASP8/FADD* and *HIF1A*, whose expression allows prediction of the acute renal injury development in patients with cancer after nephron-sparing surgery in terms of warm renal ischemia.

Key words: gene expression, ischemic and postreperfusion renal damage, warm renal ischemia, prognosis

Резекция почки со сложными нефрометрическими характеристиками опухоли (по шкале R.E.N.A.L.) чаще всего требует использования длительной тепловой ишемии с последующей реперфузией [3]. Однако ишемия сопровождается повреждением клеток и субклеточных структур, в том числе митохондрий, что приводит к активации факторов апоптоза и инициации каспаза-зависимого апоптозного каскада [10]. Даже общепринятая 20-минутная тепловая

ишемия способствует развитию осложнений в виде острого повреждения почек (ОПП) в раннем послеоперационном периоде [4, 11]. До настоящего времени не описаны маркеры генетической или эпигенетической предрасположенности к риску возникновения ишемического повреждения почки, позволяющие прогнозировать вероятность развития ОПП у пациентов после проведения резекции почки в условиях тепловой ишемии [5, 7]. Поэтому на сегодняшний день является

актуальной задачей скрининга предиктивных маркеров индивидуальной предрасположенности к развитию ОПП после теплового ишемического повреждения почки [1].

Целью нашего исследования стало изучение экспрессии апоптоз-регулирующих генов в тканях почек пациентов с почечно-клеточным раком для поиска маркеров индивидуальной предрасположенности к ишемическому и постреперфузионному повреждению почки, а также выяснения фундаментальных молекулярно-биологических процессов, лежащих в основе данного феномена.

Материал и методы. Лапароскопическая резекция почки в условиях тотальной тепловой ишемии выполнена 12 больным локальным раком почки. На основании клинической картины в послеоперационном периоде пациенты были разделены на две группы – группа А (5 пациентов), в которой развивалась ОПП и уровень креатинина превышал предоперационный более чем на 50 %, и группа Б (7 пациентов), в которой ОПП не развивалась и уровень креатинина не превышал предоперационный более чем на 40 %. В исследовании использовали биоптаты тканей больных с гистологически подтвержденным диагнозом «почечно-клеточный рак T₁N₀M₀». Все экспериментальные процедуры были выполнены с соблюдением принятых этических норм и получением добровольного информированного согласия пациентов.

Во время проведения лапароскопической резекции почки с использованием тепловой ишемии до остановки кровоснабжения в резецируемой почке с помощью пистолета Pro Mag Ultra иглой 16 G выполняли пункционную биопсию среднего сегмента резецируемой почки, забирая столбик ткани интактной паренхимы. Пункционную биопсию повторяли на 10-й минуте проведения ишемии и через 20 минут после восстановления кровотока в почке (реперфузия). Для транспортировки в лабораторию и хранения образцы тканей замораживали в жидком азоте.

Фрагменты тканей гомогенизировали в жидком азоте и проводили экстракцию суммарной РНК по методу P. Chomczynski и N. Sacchi [6]. Полученные препараты РНК обрабатывали ДНК-азой («Синтол», Россия) для удаления следов геномной ДНК. Синтез кДНК проводили с использованием коммерческих наборов «Reverta-L» («Интерлабсервис», Россия).

Методом RT-qPCR определяли относительную экспрессию 14 генетических локусов, вовлеченных в регуляцию сигнальных путей развития апоптоза: *MDM 2*, *BAX*, *CASP7*, *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *BCL2*, *CASP8/FADD*, *p53*, *APAF1*, *AIFM1*, *ICAD*, *XIAP*, *HIF1A*. Дизайн праймеров для RT-qPCR осуществляли с использованием референтных последовательностей ДНК NCBI GenBank. В качестве референтного гена использовали ген *ACTB* (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика используемых в исследовании праймеров

Наименование праймеров	№ NCBI GenBank	Последовательность	T отжига, °C
<i>ACTB</i>	NM_001101.3	Forward: AAC CGC GAG AAG ATG ACC C Reverse: AGC ACA GCC TGG ATA GCA AC	60
<i>MDM2</i>	NM_001145339.2	Forward: TAG GAG ATT TGT TTG GCG TGC Reverse: CCT GCT GAT TGA CTA CTA CCA A	60
<i>BAX</i>	NM_001291428.1	Forward: GGG ACG AAC TGG ACA GTA ACA Reverse: GCT GCC ACT CGG AAA AAG AC	61 60
<i>BCL2</i>	NM_000633.2	Forward: GGA TCC AGG ATA ACG GAG GC Reverse: GAA ATC AAA CAG AGG CCG CA	63 58
<i>p53</i>	NM_000546.5	Forward: TTG GAA CTC AAG GAT GCC CA Reverse: CGG GAG GTA GAC TGA CCC T	58 62
<i>CASP3</i>	NM_004346.3	Forward: CTG GAA TAT CCC TGG ACA ACA GT Reverse: TCG ACA TCT GTA CCA GAC CGA	63 61
<i>CASP8</i>	NM_001228.4	Forward: CTG AAG CAA ACA GCC AGT GC Reverse: GAC CTC AAT TCT GAT CTG CTC AC	60 63
<i>CASP9</i>	NM_032996.3	Forward: TGA GAC CCT GGA CGA CAT CT Reverse: TCC CTT TCA CCG AAA CAG CA	60 58
<i>CASP7</i>	NM_033338.5	Forward: AAG CTG ACT TCC TCT TCG CC Reverse: TCC AGG TCT TTT CCG TGC TC	60 60
<i>CASP8/FADD</i>	NM_003879.5	Forward: GCC GAG GCA AGA TAA GCA AG Reverse: AAT CCA GTT GAT CTG GGG CAA	60 60
<i>AIFM1</i>	NM_001130847.3	Forward: TCA GGG ACA AAG TGG TCG TG Reverse: ATC TTC ATG CTG CTC ACC GT	60 58
<i>APAF1</i>	NM_001160.2	Forward: ACC TCT GCT GAC AAG ACT GC Reverse: GTT GTG GCC CCT CAA TTC AT	60 58
<i>XIAP</i>	NM_001167.3	Forward: ACT GAG AAA ACA CCA TCA CTA ACT Reverse: TGT CCT TGA AAC TGA ACC CCA	60 60
<i>ICAD</i>	NM_213566.1	Forward: TCT GTC CAG CAT CAT CCT CC Reverse: GGT GGC ACA ACT CTG ACG TA	60 60
<i>HIF1A</i>	NM_001530.3	Forward: ACT CAT CCA TGT GAC CAT GAG G Reverse: AGC TTC GCT GTG TGT TTT GTT	61 59

RT-qPCR проводили в 25 мкл ПЦП-смеси, содержащей 12 нг кДНК, 0,25мМ dNTPs, 2,5 мМ MgCl₂, однократный ПЦП-буфер и 1 ед. акт. SynTaq ДНК-полимеразы с ингибирующими активностью фермента антителами («Синтол», Россия), краситель EVA-Green (×1) и по 400 нМ прямого и обратного праймеров для референтного гена (актина, *ACTB*) или гена-мишени. RT-qPCR проводили на

термоциклере Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad, USA). Относительную экспрессию генетического локуса (RE) рассчитывали по формуле $RE=2^{-\Delta Ct}$ [9, 2].

Статистический анализ проводили с использованием прикладных пакетов программ Microsoft Excel 2013 и STATISTICA 8.0. Различия оценивали с использованием непараметрического критерия Манна – Уитни для порогового уровня статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Для скрининга прогностических транскриптомных маркеров ОПП было проведено сравнение уровней относительной экспрессии генов *MDM 2*, *BAX*, *CASP7*, *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *BCL2*, *CASP8/FADD*, *p53*, *APAF1*, *AIFM1*, *ICAD*, *XIAP* и *HIF1A* в биоптатах тканей почки пациентов групп А и Б.

В ходе сравнительного исследования у пациентов с ОПП изначально (до проведения ишемии) было обнаружено статистически достоверное ($p < 0,05$) уменьшение уровня экспрессии следующих генетических локусов по отношению к пациентам без ОПП: *MDM 2* на 30 %, *CASP3* на 50 %, *CASP8* на 60 %, *CASP9* на 80 % и *APAF1* на 40 %. Таким образом, уровень относительной экспрессии проапоптозных генов *CASP3*, *CASP8*, *CASP9* и *APAF1*, а также антиапоптозного гена *MDM2* можно использовать в качестве прогностических предиктивных маркеров предрасположенности к развитию ОПП в случае проведения биопсии до ишемии почки. Отмечалась тенденция к повышенной экспрессии генетического локуса *HIF1A* (в 1,8 раза) у пациентов с предрасположенностью к ОПП. Это может свидетельствовать о возможном гипоксическом состоянии тканей почки у пациентов этой группы (рис. а). Экспрессия генетического локуса *CASP8* и *FADD-like* регулятора апоптоза (*CFLAR*) в группе пациентов с ОПП в 1,4 раза превышала аналогичный показатель для группы пациентов без ОПП, что может свидетельствовать о выраженной тенденции ингибирования апоптоза в группе пациентов с предрасположенностью к ОПП.

Сравнение относительной экспрессии генов в биоптатах, полученных из почек на 10-й минуте проведения ишемии, у пациентов групп А и Б показало статистически достоверные отличия ($p < 0,05$): у пациентов группы А (развивается ОПП) экспрессия генов *BAX*, *CASP7*, *CFLAR*, *APAF1*, *XIAP* и *HIF1A* повышена на 90 %, 100 %, 180 %, 20 %, 110 % и 460 % соответственно по сравнению с экспрессией этих генов у пациентов группы Б (не развивается ОПП) (рис. б).

Важно отметить, что у пациентов с предрасположенностью к ОПП по сравнению с пациентами без предрасположенности во время ишемии наиболее значительно и статистически достоверно увеличивается экспрессия гена *HIF1A*, кодирующего альфа-субъединицу транскрипционного фактора HIF-1 (hypoxia-inducible factor 1). В большинстве клеток в условиях нормоксии ген *HIF1A* конститутивно экспрессируется на низком уровне, однако в условиях гипоксии транскрипция *HIF1A* значительно активируется [12]. *HIF1A*, как известно, индуцирует транскрипцию более 60 генов, которые участвуют в биологических процессах, таких как ангиогенез и эритропоэз, способствующих увеличению доставки кислорода к испытывающим гипоксию тканям [8].

Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что во время ишемии в почках пациентов группы А по сравнению с аналогичными показателями пациентов группы Б более активно индуцируются процессы клеточной пролиферации в ответ на ишемическое воздействие. У этих пациентов также повышается уровень экспрессии проапоптозных генов *BAX* и *APAF1*, эффекторной фазы (*CASP7*), а с другой стороны, увеличивается относительная экспрессия антиапоптозного гена *XIAP*, который ответствен за ингибирование эффекторных каспаз, и увеличивается экспрессия ингибитора апоптоза *CFLAR* по сравнению с пациентами, у которых

ОПП не развивается. В целом у пациентов с ОПП наблюдается одновременная активация как про-, так и антиапоптозных генов, что свидетельствует лишь о потенциальном увеличении шансов развития апоптоза, но не о его реализации в данный момент времени.

Сравнение экспрессии генов в биоптатах, полученных из почек пациентов групп А и Б через 20 минут после восстановления кровотока, показало следующие статистически достоверные отличия ($p < 0,05$): у пациентов группы А обнаружено относительное увеличение экспрессии генов *CFLAR* и *HIF1A* на 250 и 220 % соответственно и снижение экспрессии генов *MDM2*, *CASP9*, *p53*, *APAF1*, *AIFM1*,

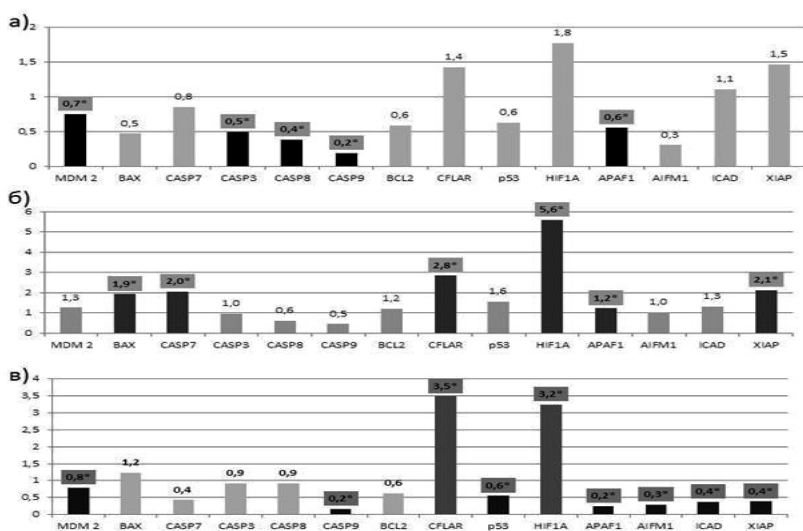


Рис. Соотношение уровня экспрессии генов у пациентов с ОПП к уровню экспрессии у пациентов без ОПП в биоптатах тканей почек, полученных: а) до ишемии; б) на 10-й минуте ишемии; в) через 20 минут после восстановления кровотока

ICAD и *XIAP* соответственно на 20 %, 80 %, 40 %, 80 %, 70 %, 60 % и 60 % по сравнению с пациентами группы Б. После восстановления кровотока в почке, как и во время ишемии, в биоптатах почек пациентов, у которых развилось ОПП, уровень экспрессии генов *CFLAR* и *HIF1A* превышал аналогичный показатель в биоптатах пациентов, у которых ОПП не произойдет. При этом уровень экспрессии генов *MDM2*, *CASP9*, *p53*, *APAF1*, *AIFM1*, *ICAD* и *XIAP* был значительно понижен (рис. в).

Таким образом, профиль экспрессии генов *MDM2*, *BAX*, *CASP7*, *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*,

BCL2, *CFLAR*, *p53*, *APAF1*, *AIFM1*, *ICAD*, *XIAP* и *HIF1A* в биоптатах почек пациентов групп А (ОПП) и Б (без ОПП) статистически достоверно отличается в период до проведения ишемии, во время ишемии и после восстановления кровотока. Это позволяет выделить кластеры генов для биоптатов, полученных на разных этапах хирургического вмешательства, экспрессию которых можно использовать в качестве предиктивных маркерных сигналов для прогнозирования вероятности развития ОПП в послеоперационном периоде (табл. 2).

Таблица 2

Потенциальные предиктивные маркеры развития ОПП в послеоперационном периоде

Этап, на котором получен биоптат	Гены, экспрессия которых статистически достоверно отличается у пациентов с ОПП от пациентов без ОПП	Гены, экспрессия которых более чем в 2 раза отличается у пациентов с ОПП от пациентов без ОПП
1. До ишемии	<i>MDM 2</i> , <i>CASP3</i> , <i>CASP8</i> , <i>CASP9</i> , <i>APAF1</i>	<i>CASP3</i> , <i>CASP8</i> и <i>CASP9</i>
2. На 10-й минуте ишемии	<i>BAX</i> , <i>CASP7</i> , <i>CASP8/FADD</i> , <i>APAF1</i> , <i>XIAP</i> , <i>HIF1A</i>	<i>CASP8/FADD</i> и <i>HIF1A</i>
3. Через 20 минут после восстановления кровотока	<i>MDM 2</i> , <i>CASP9</i> , <i>p53</i> , <i>APAF1</i> , <i>AIFM1</i> , <i>ICAD</i> , <i>XIAP</i> , <i>CASP8/FADD</i> , <i>HIF1A</i>	<i>CASP8/FADD</i> и <i>HIF1A</i>

Заключение. Проведенное исследование позволило выявить генетические локусы, экспрессия которых значительно отличается в двух группах пациентов: с развитием (А) и отсутствием острого повреждения почек (Б): *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *CASP8/FADD* и *HIF1A*. Относительная экспрессия этих генетических локусов может быть использована в качестве молекулярных маркеров предрасположенности к ишемическому и постишемиче-

скому повреждению почки у больных раком почки после проведенной органосохраняющей операции.

Обнаруженные в ходе исследования маркеры также позволяют расширить представления о молекулярных механизмах развития ОПП у одних пациентов и устойчивости к повреждающему воздействию ишемии-реперфузии других пациентов и исходя из этого наметить направления будущих исследований.

Литература

1. Кит, О. И. Экспрессия молекулярных маркеров острого повреждения почек в динамике экспериментальной ишемии / О. И. Кит, Э. М. Франциянц, С. Н. Димитриади [и др.] // Экспериментальная урология. – 2014. – № 4. – С. 12–15.
2. Коган, М. И. Изменение экспрессии генетических локусов в мононуклеарной фракции периферической крови больных раком предстательной железы / М. И. Коган, М. Б. Чибичян, Д. И. Водолажский // Клиническая онкология. – 2012. – № 5. – С. 59–60.
3. Матвеев, В. Б. Органосохраняющее лечение рака почки / В. Б. Матвеев, Д. В. Перлин, К. М. Фигурин, М. И. Волкова // Практическая онкология. – 2005. – Т. 6, № 3. – С. 162–166.
4. Becker, F. Assessing the impact of ischaemia time during partial nephrectomy / F. Becker // European Urology. – 2009. – Vol. 56. – P. 625–635.
5. Burne, M. J. Genetic susceptibility to renal ischemia reperfusion injury revealed in a murine model / M. J. Burne, M. Haq, H. Matsuse [et al.] // Transplantation. – 2000. – Vol. 69, № 5. – P. 1023–1025.
6. Chomczynski, P. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on / P. Chomczynski, N. Sacchi // Nat. Protoc. – 2006. – Vol. 1, № 2. – P. 581–585.
7. Eckardt, K.-U. Role of hypoxia in the pathogenesis of renal disease / K.-U. Eckardt, W. W. Bernhardt, A. Weidemann [et al.] // Kidney International. – 2005. – № 68. – P. 46–51.
8. Lee, J. W. Hypoxia-inducible factor (HIF-1) alpha: its protein stability and biological functions / J. W. Lee, S. H. Bae, J. W. Jeong [et al.] // Experimental & Molecular Medicine. – 2004. – Vol. 36, № 1. – P. 1–12.
9. Schmittgen, T. D. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method / T. D. Schmittgen, K. J. Livak // Nature Protocols. – 2008. – Vol. 3. – P. 1101–1108.
10. Sims, N. R. Mitochondria, oxidative metabolism and cell death in stroke / N. R. Sims, H. Muyderman // Biochimica et Biophysica Acta. – 2010. – Vol. 1802, № 1. – P. 80–91.
11. Tompson, R. H. Renal function after partial nephrectomy: effect of warm ischemia relative to quantity and quality of preserved kidney / R. H. Tompson, B. R. Lane, C. M. Lohse [et al.] // Urology. – 2012. – Vol. 79, № 2. – P. 356–360.

12. Wiener, C. M. In vivo expression of mRNAs encoding hypoxia-inducible factor 1 / C. M. Wiener, G. Booth, G. L. Semenza //

Biochemical and Biophysical Research Communications. – 1996. – Vol. 225, № 2. – P. 485–488.

References

1. Kit O. I., Frantsiyants E. M., Dimitriadi S. N., Kaplieva I. V., Trepitaki L. K. *Eksperimentalnaya urologiya. – Experimental Urology*. 2014;(4):12-15.
2. Kogan M. I., Chibichyan M. B., Vodolazhsky D. I. *Klinicheskaya onkologiya. – Clinical Oncology*. 2012;(5):59-60.
3. Matveev V. B., Perlin D. V., Figurin K. M., Volkova M. I. *Prakticheskaya onkologiya. – Practical Oncology*. 2005;6(3):162-166.
4. Becker F. *European Urology*. 2009;56:625-635.
5. Burne M. J., Haq M., Matsuse H., Mohapatra S., Rabb H. *Transplantation*. 2000;69(5):1023-1025.
6. Chomczynski P., Sacchi N. *Nat. Protoc*. 2006;1(2):581-585.

7. Eckardt K.-U., Bernhardt W. W., Weidemann A., Warnecke Ch., Rosenberger Ch., Wiesener M. M., Willam C. *Kidney International*. 2005;68:46-51.
8. Lee J. W., Bae S. H., Jeong J. W., Kim S. H., Kim K. W. *Experimental & Molecular Medicine*. 2004;36(1):1-12.
9. Schmittgen T. D., Livak K. J. *Nature Protocols*. 2008; 3:1101-1108.
10. Sims N. R., Muyderman H. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2010;1802(1):80-91.
11. Tompson R. H., Lane B. R., Lohse C. M., Leibovich B. C., Fergany A., Frank I., Gill I. S., Blute M. L., Campbell S. C. *Urology*. 2012;79(2):356-360.
12. Wiener C. M., Booth G., Semenza G. L. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1996;225(2):485-488.

Сведения об авторах:

Водолажский Дмитрий Игоревич, кандидат биологических наук, руководитель лаборатории молекулярной онкологии; тел.: +79896110910; e-mail: dvodolazhsky@gmail.com

Димитриади Сергей Николаевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, врач-уролог; тел.: +79282791790; e-mail: dimitriadi@yandex.ru

Кутилин Денис Сергеевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник; тел.: +79515385039; e-mail: k.denees@yandex.ru

Франциянц Елена Михайловна, доктор биологических наук, руководитель лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей; тел.: +79185354388; e-mail: super.gormon@yandex.ru

Кит Олег Иванович, доктор медицинских наук, профессор, директор РНИОИ; тел.: +78633003005; e-mail: onko-sekretar@mail.ru

© Коллектив авторов, 2015

УДК 616.314-089-002

DOI – <http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2015.10088>

ISSN – 2073-8137

ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВАЯ ТРАВМА КАК ФАКТОР НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ЦНС

С. М. Карпов, К. С. Гандылян, К. Г. Каракон, В. А. Зеленский, М. П. Порфириадис, Э. Э. Хачатурян, Д. А. Доменюк, Е. Н. Чалая

Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

MAXILLOFACIAL TRAUMA AS THE CAUSE OF NEUROPHYSIOLOGICAL CNS DISORDERS

Karpov S. M., Gandylyan K. S., Karakov K. G., Zelenskiy V. A., Porfiriadis M. P., Khachatryan E. E., Domenyuk D. A., Chalaya E. N.

Stavropol State Medical University, Russia

Обследовано 37 больных с травмой верхней зоны и 45 больных с повреждением средней зоны лица. Учитывая результаты исследования, авторы полагают, что установление диагноза черепно-мозговой травмы (ЧМТ) при травмах челюстно-лицевой области (верхняя и средняя зоны лица)