

# БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал  
Выходит 4 раза в год

Том 19, № 1, 2020

ISSN 1682-0363 (print)  
ISSN 1819-3684 (on-line)

## УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ:

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный  
медицинский университет» Минздрава России

Журнал основан в 2001 году  
Зарегистрирован в Министерстве РФ  
по делам печати, телерадиовещания  
и средств массовых коммуникаций  
Свидетельство регистрации ПИ  
№ 77-7366 от 26.03.2001 г.

Журнал издается при поддержке  
ТРОО «Академия доказательной медицины»

Журнал входит в Перечень ведущих  
рецензируемых научных журналов и изданий,  
выпускаемых в РФ, в которых должны быть  
опубликованы основные научные результаты  
диссертаций на соискание ученой степени  
доктора и кандидата наук

Индексация:  
Scopus

Web of Science (WoS (ESCI))  
РИНЦ (Science Index)  
RSCI

Ulrich's International Periodicals Directory  
Cyberleninka  
DOAS

Редакция:

634050, г. Томск, пр. Ленина, 107.

Тел.: (382-2)-51-41-53.

<http://bulletin.tomsk.ru>

E-mail: [bulletin@bulletin.tomsk.ru](mailto:bulletin@bulletin.tomsk.ru)

Оригинал-макет:

Издательство СибГМУ.

634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

Редакторы: Е.Е. Степанова, Ю.П. Готфрид

Перевод: М.Е. Орлова, Дж. Палацца

Электронная верстка, дизайн обложки

Л.Д. Кривцова

Отпечатано в ООО «Литбюро»,

634055, г. Томск, ул. Королёва, 4.

Подписано в печать 23.03.2020 г.

Формат 60 × 84/8. Печать офсетная.

Бумага мелованная. Гарнитура «Мысль».

Печ. л. 26. Усл. печ. л. 25.

Тираж 500 экз. Заказ 210.

Цена – свободная.

Дата выхода в свет 26.03.2020.

Подписка по каталогу «Роспечать» в любом  
отделении почты России, подписной индекс 46319

При перепечатке ссылка на  
«Бюллетень сибирской медицины» обязательна

Ответственность за достоверность информации,  
содержащейся в рекламных материалах, несут рекламодатели.

© Сибирский государственный медицинский университет, 2020

## ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

В.В. Новицкий, академик РАН (Томск)

## ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Л.М. Огородова, член-корреспондент РАН (Томск)

О.И. Уразова, член-корреспондент РАН (Томск)

## НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

В.В. Калюжин, профессор, д-р мед. наук (Томск)

## РЕДКОЛЛЕГИЯ:

В.М. Алифирова, профессор, д-р мед. наук (Томск)

Л.И. Афтанас, академик РАН (Новосибирск)

А.Н. Байков, профессор, д-р мед. наук (Томск)

А.А. Баранов, академик РАН (Москва)

А.И. Венгеровский, профессор, д-р мед. наук (Томск)

Е.Г. Григорьев, член-корреспондент РАН (Иркутск)

А.М. Дыгай, академик РАН (Томск)

М.В. Завьялова, профессор, д-р мед. наук (Томск)

Л.В. Капилевич, профессор, д-р мед. наук (Томск)

С.И. Карась, профессор, д-р мед. наук (Томск)

Р.С. Карпов, академик РАН (Томск)

В.И. Киселев, член-корреспондент РАН (Барнаул)

Н.А. Корнетов, профессор, д-р мед. наук (Томск)

С.В. Логвинов, профессор, д-р мед. наук (Томск)

А.Д. Макарария, член-корреспондент РАН (Москва)

Л.С. Намазова-Баранова, академик РАН (Москва)

С.А. Некрылов, профессор, д-р ист. наук (Томск)

В.П. Пузырев, академик РАН (Томск)

В.Ю. Серебров, профессор, д-р мед. наук (Томск)

В.И. Стародубов, академик РАН (Москва)

Е.А. Степовая, профессор, д-р мед. наук (Томск)

А.Т. Тепляков, профессор, д-р мед. наук (Томск)

В.А. Ткачук, академик РАН (Москва)

В.А. Труфакин, академик РАН (Новосибирск)

О.С. Федорова, профессор, д-р мед. наук (Томск)

И.А. Хлусов, профессор, д-р мед. наук (Томск)

Е.Л. Чойнзонов, академик РАН (Томск)

А.Г. Чучалин, академик РАН (Москва)

А.В. Шабров, академик РАН (Санкт-Петербург)

В.А. Шкурупий, академик РАН (Новосибирск)

М.С. Юсубов, профессор, д-р хим. наук (Томск)

A. Antsaklis, профессор (Греция)

F. Chervenak, профессор (США)

C. Dadak, профессор (Австрия)

Y. Dekhtyar, профессор (Латвия)

M. Epple, профессор (Германия)

D. Gailani, профессор (США)

P. Odermatt (Швейцария)

J. Odland (Норвегия)

M. Poyurovsky, профессор (Израиль)

V. Zhdankin, профессор (США)

# BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

Peer-reviewed scientific-practical journal  
Issued quarterly

## Volume 19, No. 1, 2020

ISSN 1682-0363 (print)  
ISSN 1819-3684 (on-line)

### FOUNDER AND PUBLISHER:

Siberian State Medical University, the Ministry  
for Healthcare of the Russian Federation

Registered by the Ministry of the Russian Federation  
for Affairs of the Press, Television and Radio  
Broadcasting and Mass Communication Media  
Certificate of registration PI No. 77-7366  
dated to 26.03.2001

The journal is published and supported  
by Tomsk Regional Organization «Academy  
of Evidence-based Medicine»

Bulletin of Siberian Medicine is included:  
in the List of peer-reviewed scientific journals  
and publications issued in the Russian Federation,  
which should publish main scientific results  
of doctor's and candidate's theses

Bulletin of Siberian Medicine is indexed:

Scopus  
Web of Science (WoS (ESCI))  
Science Index  
RSCI  
Ulrich's International Periodicals Directory  
Cyberleninka  
DOAS

Editorial Board Office:

107, Lenin Av., Tomsk, 634050, Russian Federation  
Telephone: +7-(382-2)-51-41-53.  
<http://bulletin.tomsk.ru>  
E-mail: [bulletin@bulletin.tomsk.ru](mailto:bulletin@bulletin.tomsk.ru)

Publisher: the Siberian State Medical University.  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050,  
Russian Federation.

Editors: E.E. Stepanova, Yu.P. Gotfrid  
Translate: M.E. Orlova, D. Palazza  
Electronic makeup, cover design  
L.D. Krivtsova

Printed in Litburo LLC,  
4, Korolev Str., Tomsk, 634055, Russian Federation

Signed to print 23.03.2020  
Format 60 × 84/8. Offset print.  
Coated paper. Mysl' font.  
P.l. 26. C.p.l. 25.  
500 copies. Odder no 210.

The price – free.  
Date of publication 26.03.2020.

Pass-through copyright.  
Advertising providers are liable for the truthfulness  
of information in advertising materials.

© Siberian State Medical University, 2020

### EDITOR-IN-CHIEF

V.V. Novitskiy, *Academician of RAS (Tomsk)*

### DEPUTY-EDITORS-IN-CHIEF:

L.M. Ogorodova, *Corresponding Member of RAS (Tomsk)*  
O.I. Urazova, *Corresponding Member of RAS (Tomsk)*

### SCIENCE EDITOR

V.V. Kalyuzhin, *Professor (Tomsk)*

### EDITORIAL BOARD:

V.M. Alifirova, *Professor (Tomsk)*  
L.I. Aftanas, *Academician of RAS (Novosibirsk)*  
A.N. Baikov, *Professor (Tomsk)*  
A.A. Baranov, *Academician of RAS (Moscow)*  
A.I. Vengerovsky, *Professor (Tomsk)*  
Ye.G. Grigoriyev, *Corresponding Member of RAS (Irkutsk)*  
A.M. Dygai, *Academician of RAS (Tomsk)*  
M.V. Zav'yalova, *Professor (Tomsk)*  
L.V. Kapilevich, *Professor (Tomsk)*  
S.I. Karas, *Professor (Tomsk)*  
R.S. Karpov, *Academician of RAS (Tomsk)*  
V.I. Kiselyov, *Corresponding Member of RAS (Barnaul)*  
A.N. Kornetov, *Professor (Tomsk)*  
S.V. Logvinov, *Professor (Tomsk)*  
A.D. Makatsaria, *Corresponding Member of RAS (Moscow)*  
L.S. Namazova-Baranova, *Academician of RAS (Moscow)*  
S.A. Nekrylov, *Professor (Tomsk)*  
V.P. Puzryyov, *Academician of RAS (Tomsk)*  
V.Yu. Serebrov, *Professor (Tomsk)*  
V.I. Starodubov, *Academician of RAS (Moscow)*  
Ye.A. Stepovaya, *Professor (Tomsk)*  
A.T. Teplyakov, *Professor (Tomsk)*  
V.A. Tkachuk, *Academician of RAS (Moscow)*  
V.A. Trufakin, *Academician of RAS (Novosibirsk)*  
O.S. Fedorova, *Professor (Tomsk)*  
I.A. Khlusov, *Professor (Tomsk)*  
Ye.L. Choinzonov, *Academician of RAS (Tomsk)*  
A.G. Chuchalin, *Academician of RAS (Moscow)*  
A.V. Shabrov, *Academician of RAS (St. Petersburg)*  
V.A. Shkurupiy, *Academician of RAS (Novosibirsk)*  
M.S. Yusubov, *Professor (Tomsk)*  
A. Antsaklis, *Professor (Greece)*  
F. Chervenak, *Professor (USA)*  
C. Dadak, *Professor (Austria)*  
Y. Dekhtyar, *Professor (Latvia)*  
M. Epple, *Professor (Germany)*  
D. Gailani, *Professor (USA)*  
P. Odermatt, *(Switzerland)*  
J. Odland, *(Norway)*  
M. Poyurovsky, *Professor (Israel)*  
V. Zhdankin, *Professor (USA)*

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ	ORIGINAL ARTICLES
<p><i>Акимова Е.В., Акимов М.Ю.</i> Ассоциации распространенности ишемической болезни сердца и нарушений сна среди мужчин открытой популяции среднеурбанизированного города Западной Сибири</p>	<p><i>Akimova E.V., Akimov M.Ju.</i> Association of coronary heart disease and sleep disorders among men in a medium-sized urban city of Western Siberia</p>
<p><i>Бабьшикина Н.Н., Дронова Т.А., Замбалова Е.А., Завьялова М.В., Слонимская Е.М., Чердынцева Н.В.</i> Роль рецептора эпидермального фактора роста EGFR в эффективности неoadъювантной химиотерапии у больных тройным негативным раком молочной железы</p>	<p><i>Babysbkina N.N., Dronova T.A., Zambalova E.A., Zavyalova M.V., Slonimskaya E.M., Cherdyntseva N.V.</i> The role of epidermal growth factor receptor (EGFR) in the efficacy of neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer patients</p>
<p><i>Белокрылова М.Ф., Гарганеева Н.П., Никитина В.Б., Епанчинцева Е.М.</i> Астения как актуальная проблема здоровья женщин с непсихотическими психическими расстройствами: возрастной аспект</p>	<p><i>Belokrylova M.F., Garganeeva N.P., Nikitina V.B., Epanchintseva E.M.</i> Asthenia as a pressing health issue FOR women with non-psychotic mental disorders: age perspective.</p>
<p><i>Васильева С.Н., Симуткин Г.Г., Счастный Е.Д., Лебедева Е.В., Бохан Н.А.</i> Аффективные расстройства при коморбидности с алкогольной зависимостью: клинико-динамические особенности, уровень социальной адаптации больных</p>	<p><i>Vasilieva S.N., Simutkin G.G., Schastnyy E.D.</i> Affective disorders in comorbidity with alcohol addiction: clinical and dynamic features, social adaptation level of patients</p>
<p><i>Вдовин В.М., Момот А.П., Орехов Д.А., Толстоколов И.Г., Лычёва Н.А., Шевченко В.О., Шахматов И.И., Красюкова В.О., Фогт Э.В.</i> Системные гемостатические эффекты фибриномера при ингибировании агрегационной функции тромбоцитов в эксперименте</p>	<p><i>Vdovin V.M., Momot A.P., Orekhov D.A., Tolstokorov I.G., Lycheva N.A., Shevchenko V.O., Shakhmatov I.I., Krasnyukova V.O., Fogt E.V.</i> Experimental study of THE systemic hemostatic effects of fibrin monomer in inhibition of platelet aggregation</p>
<p><i>Дружинина О.А., Жукова Н.Г., Шперлинг Л.П.</i> Качество жизни при цервикальной дистонии</p>	<p><i>Druzhinina O.A., Zbukova N.G., Shperling L.P.</i> Quality of life at cervical distonia</p>
<p><i>Кайгородова Е.В., Федулова Н.В., Очиров М.О., Дьяков Д.А., Молчанов С.В., Часовских Н.Ю.</i> Различные популяции опухолевых клеток в асцитической жидкости больных раком яичников</p>	<p><i>Kaigorodova E.V., Fedulova N.V., Ochirov M.O., Dyakov D.A., Molchanov S.V., Chasovskikh N.Yu.</i> Dissimilar tumor cell populations in ascitic fluid of ovarian cancer patients</p>
<p><i>Карнаушкина М.А., Федосенко С.В., Данилов Р.С., Комарова И.С., Петров В.А.</i> Эозинофильный катионный белок как неинвазивный маркер характера воспалительного ответа у больных хронической обструктивной болезнью легких</p>	<p><i>Karnaushkina M.A., Fedosenko S.V., Danilov R.S., Komarova I.S., Petrov V.A.</i> Eosinophilic cationic protein as a non-invasive marker of the nature of inflammatory response in patients with chronic obstructive pulmonary disease</p>

*Лебедева А.И., Муслимов С.А., Гареев Е.М.,  
Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С., Попов С.В.*

Макрофаги как регуляторы гомеостаза миокарда  
после его ишемического повреждения в условиях  
применения аллогенного биоматериала

67

*Lebedeva A.I., Muslimov S.A., Gareev E.M.,  
Afanasyev S.A., Condratyeva D.S., Popov S.V.*

Macrophages as the homeostasis regulators  
in the ischemically damaged myocardium in  
condition of the use of allogenic biomaterial

*Мустафина С.В., Винтер Д.А., Щербаклова Л.В.,  
Малюткина С.К., Рагино Ю.И., Рымар О.Д.*

Половозрастные особенности распространенности  
метаболически здорового фенотипа ожирения

76

*Mustafina S.V., Vinter D.A., Shcherbakova L.V.,  
Malyutina S.K., Ragino Yu.I., Rymar O.D.*

The gender-specific features prevalence of the  
metabolic healthy obesity phenotype

*Никulina С.Ю., Шульман В.А., Чернова А.А.,  
Прокопенко С.В., Никulin Д.А., Платунова И.М.,  
Третьякова С.С., Чернов В.Н., Мариловецова О.В.,  
Келеменева А.Н., Максимов В.Н., Гуражева А.А.*

Ассоциация полиморфизма rs10507391 с развити-  
ем острого нарушения мозгового кровообращения  
у пациентов с сердечно-сосудистой патологией

85

*Nikulina S.Yu., Shulman V.A., Chernova A.A.,  
Prokopenko S.V., Nikulin D.A., Platonova I.M.,  
Tretyakova S.S., Chernov V.N., Mariloutseva O.V.,  
Kelemeneva A.N., Maksimov V.N.,  
Gurazbeva A.A.*

Association of rs10507391 polymorphism with  
the development of acute cerebrovascular  
accident in patients with cardiovascular  
pathology

*Петрова И.В., Бирулина Ю.Г., Трубачева О.А.,  
Беляева С.Н., Шнайдер О.А., Носарев А.В.,  
Гусакова С.В., Васильев В.Н., Суханова Г.А.*

Экспериментальная оценка влияния экзогенного  
монооксида углерода на клетки крови

94

*Petrova I.V., Birulina J.G., Trubacheva O.A.,  
Belyaeva S.N., Shneider O.L., Nosarev A.V.,  
Gusakova S.V., Vasilev V.N., Subanova G.A.*

Experimental estimation of the effects of  
exogenous carbon monoxide on blood cells

*Самойлова Е.В., Фатова М.А., Миндзаев Д.Р.,  
Житарева И.В., Насонова С.Н., Жиров И.В.,  
Терещенко С.Н., Коротаева А.А.*

Решающее правило для стратификации больных  
хронической сердечной недостаточностью II и III  
функционального класса

101

*Samoilova E.V., Fatova M.A., Mindzaev D.R.,  
Zhitareva I.V., Nasonova C.N., Zhirov I.V.,  
Tereschenko C.N., Korotaeva A.A.*

Decision rule for stratification of patients with  
chronic heart failure of functional class II  
and III

*Часовских Н.Ю., Гречишников А.Ю., Смирнов Д.В.*  
Функциональная аннотация и анализ обогащения  
сигнальных путей генов, ассоциированных с бо-  
лезнью Альцгеймера и болезнью Паркинсона

108

*Chasovskikh N.Yu., Grechishnikova A.Yu.,  
Smirnov D.V.*

Analysis of functions and enriched signaling  
pathways of genes associated with Alzheimer's  
disease and Parkinson's disease

## ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

*Бахтияров К.Р., Буданов П.В., Пронина В.А.,  
Вирибская Е.В.*

Вульводения – мультидисциплинарная проблема

114

*Bakhtiyarov K.R., Budanov P.V., Pronina V.A.,  
Virivskaia E.V.*

Vulvodynia – multidisciplinary problem

*Бейлерли О.А., Гареев И.Ф.*

Роль длинных некодирующих РНК в биологии  
опухолей

125

*Beylerli O.A., Gareev I.F.*

The role of long non-coding RNA in the  
biology of tumors

<i>Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Черногорюк Г.Э., Калюжина Е.В., Беспалова И.Д., Терентьева Н.Н., Лившиц И.К., Останко В.А., Сибирева О.Ф., Часовских Н.Ю.</i> Хроническая сердечная недостаточность: синдром или заболевание?	134	<i>Kalyuzhin V.V., Teplyakov A.T., Chernogoryuk G.E., Kalyuzhina E.V., Bepalova I.D., Terentyeva N.N., Livshits I.K., Ostanko V.L., Sibireva O.F., Chasovskikh N.Yu.</i> Chronic heart failure: syndrome or disease?
<i>Карась С.И.</i> Виртуальные пациенты как формат симуляционного обучения в непрерывном медицинском образовании (обзор литературы)	140	<i>Karas S.I.</i> Virtual patients as a format for simulation learning in the continuing medical education (review article)
<i>Ковширина А.Е., Федорова О.С., Ковширина Ю.В., Онищенко С.В., Таслицкий С.С., Катанахова Л.А., Чижиков А.В., Татауров И.А., Огородова Л.М.</i> Анализ эпидемиологических исследований взаимосвязи холангиокарциномы и печеночных трематодозов	150	<i>Kovshirina A.E., Fedorova O.S., Kovshirina Y.V., Onishchenko S.V., Taslicki S.S., Katanakhova L.L., Chizhikov A.V., Tataurov I.A., Oorodova L.M.</i> Association between cholangiocarcinoma and liver flukes: epidemiological studies review
<i>Комина А.В., Лаврентьев С.Н., Руksha Т.Г.</i> МикроРНК и малые интерферирующие РНК как инструменты направленной регуляции клеточных процессов для терапии онкологических заболеваний	160	<i>Komina A.V., Lavrentiev S.N., Ruksba T.G.</i> MicroRNAs and small interfering RNAs as tools for the directed regulation of cellular processes for cancer therapy
<i>Полонская Я.В., Каштанова Е.В., Аникина А.В., Рагино Ю.И.</i> Оценка кальцификации коронарных артерий и отдаленный прогноз сердечно-сосудистых заболеваний	172	<i>Polonskaya Y.V., Kashtanova E.V., Anikina A.V., Ragino Yu.I.</i> Assessment of calcification of the coronary arteries and long-term prognosis of cardiovascular disease
<i>Понасенко А.В., Синицкий М.Ю., Хуторная М.В.</i> Молекулярно-генетические маркеры фибрилляции предсердий	180	<i>Ponassenko A.V., Sinitsky M.Y., Kbutornaya M.V.</i> Molecular genetic markers of atrial fibrillation
<i>Трошкинев Н.М., Подоксенов А.Ю., Связов Е.А., Егунов О.А., Кривошечков Е.В., Киселев В.О.</i> Исторические и современные аспекты хирургического лечения аномалии Эбштейна	190	<i>Troshkinev N.M., Podoksenov A.Yu., Svyazov E.A., Egunov O.A., Krivoshechkov E.V., Kiselev V.O.</i> Historical and modern aspects of surgical treatment of Ebstein's anomaly
<b>СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ</b>		<b>CASE CLINICAL PRACTICE</b>
<i>Захарьян Е.А., Григорьев П.Е., Шатов Д.В.</i> Синдром такоцубо после протезирования митрального клапана (клинический случай)	203	<i>Zakbarian E.A., Grigoriev P.E., Shatov D.V.</i> Takotsubo syndrome after mitral valve replacement and defibrillation

УДК 616.12-005.4:616.8-009.836]-055.1(1-21)(571.1)

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-6-12>

## Ассоциации распространенности ишемической болезни сердца и нарушений сна среди мужчин открытой популяции среднеурбанизированного города Западной Сибири

Акимова Е.В.<sup>1</sup>, Акимов М.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Тюменский кардиологический научный центр, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИИЦ) Российской академии наук  
Россия, 625026, г. Тюмень, ул. Мельникайте, 111

<sup>2</sup> Тюменский индустриальный университет  
Россия, 625000, г. Тюмень, ул. Володарского 38

### РЕЗЮМЕ

**Целью** исследования явилось установление ассоциации распространенности ишемической болезни сердца (ИБС) и нарушений сна среди мужчин открытой популяции 25–64 лет среднеурбанизированного города Западной Сибири.

**Материалы и методы.** На репрезентативной выборке населения среди лиц мужского пола 25–64 лет было проведено кросс-секционное эпидемиологическое исследование на модели г. Тюмени. Распространенность ИБС определялась на основании стандартных эпидемиологических методов, самооценка сна по алгоритмам программы Всемирной организации здравоохранения «МОНИКА-психосоциальная». При расчете отношения шансов развития ИБС сон удовлетворительный, хороший, очень хороший расценивались как отсутствие признака, сон очень плохой, плохой – как присутствие.

**Результаты.** Распространенность ИБС по расширенным эпидемиологическим критериям у мужчин открытой городской популяции составила 12,4%, частота выявления «определенной» и «возможной» ИБС была практически одинаковой. Стандартизованный по возрасту показатель распространенности нарушений сна составил 50,9%. В мужской популяции 25–64 лет при нарушении сна установлен существенный риск развития ИБС по расширенным критериям (5,05), а также «определенной» (5,28) и «возможной» (3,13) ее форм. В возрастной категории 55–64 лет установлен существенный риск развития ИБС по расширенным критериям (5,57) и «определенной» формы ИБС (10,21).

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о важности дальнейшего изучения нарушения сна у мужчин трудоспособного возраста в сибирских популяциях, его взаимосвязей с конвенционными и неконвенционными факторами риска ИБС, а также о целесообразности превентивных мероприятий, направленных на снижение влияния факторов психоэмоционального напряжения среди российского населения.

**Ключевые слова:** эпидемиологическое исследование, ИБС, нарушение сна, открытая популяция, мужчины.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено этическим комитетом Тюменского кардиологического центра (протокол № 63 от 21.05.2012).

✉ Акимова Екатерина Викторовна, e-mail: [akimovaev@infarkta.net](mailto:akimovaev@infarkta.net).

Для цитирования: Акимова Е.В., Акимов М.Ю. Ассоциации распространенности ишемической болезни сердца и нарушений сна среди мужчин открытой популяции среднеурбанизированного города Западной Сибири. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 6–12. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-6-12>.

## Association of coronary heart disease and sleep disorders among men in a medium-sized urban city of Western Siberia

Akimova E.V.<sup>1</sup>, Akimov M.Ju.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Tyumen Cardiology Research Center, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences 111, Melnikayte Str., Tyumen, 625026, Russian Federation

<sup>2</sup> Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Federal Research Center “Institute of Cytology and Genetics” of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences 175/1, B. Bogatkov Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation

### ABSTRACT

**The aim** of the study was to establish the association of the prevalence of coronary heart disease (CHD) and sleep disorders among men between the ages of 25 and 64 belonging to an open population of a medium-sized urban city of Western Siberia.

**Materials and methods.** A cross-sectional epidemiological study was conducted on a representative sample of the population among males of 25–64 years old in Tyumen. The prevalence of coronary heart disease was determined based on standard epidemiological methods. Self-assessments by participants in the study of quality of sleep was determined by the World Health Organization (WHO) Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease-Psychosocial Program (WHO MONICA-psychosocial). When calculating the odds ratio of developing coronary heart disease, self-reports of satisfactory, good, or very good sleep were regarded as a lack of an indicator; while very bad and bad sleep were considered positive indicators.

**Results.** The prevalence of CHD according to the extended epidemiological criteria for men in an open urban population was 12.4%; the detection rate of “definite” and “possible” CHD was almost equal. The age-standardized prevalence rate of sleep disorders was 50.9%. There is a significant risk of developing CHD with extended criteria (5.05), as well as “definite” (5.28) and “possible” (3.13) forms in the male population at 25–64 years of age. In the 55 to 64 age group, there is a significant risk of developing CHD according to the extended criteria (5.57) and the “definite” form of CHD (10.21).

**Conclusion.** Thus, the findings suggest the importance of further study of sleep disorders in working age men in Siberian populations, its relationships with conventional and non-conventional risk factors of CHD, as well as the feasibility of preventive measures aimed at reducing the influence of psycho-emotional stress factors among the Russian population.

**Key words:** epidemiological study, coronary heart disease, sleep disorders, open population, men.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that there is no funding for the study.

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the local ethics committee at (Protocol No. 63 of May, 2012).

**For citation:** Akimova E.V., Akimov M.Ju. Association of coronary heart disease and sleep disorders among men in a medium-sized urban city of Western Siberia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 6–12. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-6-12>.

## ВВЕДЕНИЕ

Понятие сна в научной литературе описано, с одной стороны, как естественное состояние организма, определяющее нормальное функционирование всех его систем и органов, с другой – как один из важных факторов, влияющих на уровень здоровья населения. Основная функция сна – это восстановительный процесс, который в большой степени позволяет организму адаптироваться к меняющимся условиям внутренней и внешней среды. При его нарушении возможности адаптации снижаются, что в итоге ведет к развитию соматической патологии и, прежде всего, сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [1].

Описанным в научной литературе термином, который обозначает нарушение сна (НС), является диссомния, объединяющая следующие виды расстройств сна: затрудненное начало сна и его поддержание – инсомния; сонливость днем и избыточный сон – гиперсомния; периодические ночные феномены (гетерогенная группа) – парасомния. Многочисленные исследования, посвященные изучению нарушений сна, указывают как на неудовлетворенность своим сном, так и на более короткую продолжительность сна значительного числа населения [2]. Результаты исследования расстройств сна Национальной комиссией США показали, что почти у 40% населения Америки имеются проблемы, связанные с нарушениями сна, причем хроническими нарушениями сна страдают более 40 млн человек взрослого населения, тогда как периодический характер инсомнии наблюдается почти у 30 млн американцев [3].

Данные современных исследований, определивших изменение редакции Европейских рекомендаций по кардиоваскулярной профилактике в отношении значимости психосоциальных факторов риска ССЗ, указывают на то, что кардиоваскулярный риск и прогноз в большой степени определяют психосоциальные факторы риска. К ним относятся как факторы хронического социального стресса, так и негативные психоэмоциональные состояния (жизненное истощение, личностная тревожность, депрессия), которые в свою очередь относятся к основным факторам нарушений сна [4–6]. Изменения автономной кардиоваскулярной регуляции, которые превращают сон в периоды значительной физиологической бури, характеризующейся внезапными и резкими изменениями сердечного ритма и артериального давления, связаны с циклическими фазами быстрого и медленного сна. Выявленная кардиоваскулярная нестабильность, связанная с

фазами сна, послужила основой для исследований по определению риска и прогноза прежде всего ССЗ в зависимости от длительности и других изменений циклических фаз сна. Существует ряд исследований, в которых НС выступает возможным фактором риска прогрессии и инициации сердечно-сосудистой патологии [7–9]. В соответствии с этим определение риска развития ишемической болезни сердца (ИБС) в зависимости от нарушений сна в открытой популяции у мужчин трудоспособного возраста представляется актуальным и своевременным.

Целью исследования явилось установление ассоциации распространенности ИБС и нарушений сна среди мужчин открытой популяции 25–64 лет среднеурбанизированного города Западной Сибири.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Кросс-секционное эпидемиологическое исследование (одномоментное) было проведено на сформированной методом случайных чисел репрезентативной выборке населения из избирательных списков Центрального административного округа г. Тюмени (мужчины в возрастном диапазоне 25–64 лет,  $n = 1\,000$ , в каждом десятилетии жизни –  $n = 250$ ), отклик составил 85,0%.

В рамках кардиологического скрининга электрокардиография (ЭКГ) покоя проводилась в положении лежа в 12 отведениях. Распространенность ИБС по расширенным эпидемиологическим критериям определялась на основании стандартных эпидемиологических методов с выделением ИБС по строгим эпидемиологическим критериям – «определенной» формы ИБС (ОИБС) и ИБС по нестрогим эпидемиологическим критериям – «возможной» формы ИБС (ВИБС). ОИБС устанавливалась на основании положительного ответа на вопросник Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) (стенокардия напряжения) и результатов Миннесотского кода по ЭКГ, включая в себя «определенный» инфаркт миокарда (ИМ), стенокардию напряжения и безболевую форму ИБС. Основанием для определения ВИБС являлись результаты Миннесотского кода по ЭКГ, которые включали «возможный» ИМ, «возможную» ишемию, ишемию с гипертрофией левого желудочка и аритмическую форму ИБС.

Исследование неконвенционных (психосоциальных) факторов риска ИБС проводили жестко стандартизованными методами по алгоритмам программы ВОЗ «МОНИКА-психосоциальная» с использованием стандартной анкеты психосоциальной МОНИКА [7]. Самооценка сна определялась

путем опросного метода и включала следующие позиции: очень хороший сон, хороший сон, удовлетворительный сон, плохой сон, очень плохой сон.

При расчете отношения шансов (ОШ) развития ИБС у мужчин с НС сон удовлетворительный, хороший, очень хороший расценивались как отсутствие признака; сон очень плохой, плохой – как присутствие.

Статистический анализ полученных данных был проведен с применением стандартного пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics, версия 21.0.

Стандартизация количественных показателей по возрасту проводилась в соответствии с последней переписью населения РФ (городское население мужского пола в возрастном диапазоне 25–64 лет), определялись стандартизованные по возрасту показатели (СП). Критерий  $\chi^2$  Пирсона был использован для оценки статистической значимости различий показателей между двумя группами, при проверке статистических

гипотез за критический уровень значимости принимался  $p < 0,05$ . С помощью расчета ОШ и его 95%-го доверительного интервала (ДИ) были установлены ассоциации распространенности НС и ИБС.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты кардиологического скрининга продемонстрировали высокую распространенность ИБС по расширенным эпидемиологическим критериям – стандартизованный по возрасту показатель в открытой популяции составил 12,4%. В открытой популяции Тюмени 25–64 лет частота выявления «определенной» и «возможной» ИБС была практически одинаковой. Наиболее уязвимыми возрастными периодами в отношении роста распространенности ИБС у тюменских мужчин по строгим эпидемиологическим критериям явились возрастные десятилетия 45–54 и 55–64 лет, по нестрогим и расширенным критериям – весь изучаемый возрастной диапазон (рис. 1).

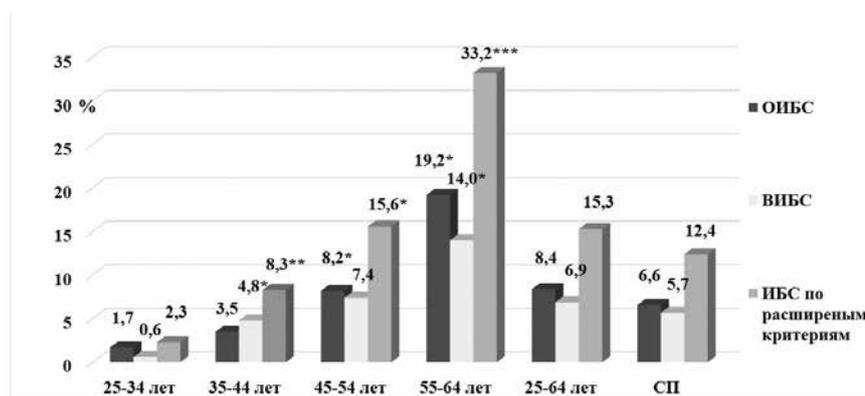


Рис. 1. Распространенность ишемической болезни сердца у мужчин открытой популяции 25–64 лет: СП – стандартизованный показатель; \*  $p < 0,5$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  – достоверность различий показателей между двумя последующими возрастными группами

В таблице показаны результаты исследования по нарушению сна в популяции. Свой сон как очень хороший либо хороший определили 46,4% мужского населения города (СП 49,2%). Распространенность плохого сна составила 10% (СП 8,9%), очень плохого сна – 0,7% (СП 0,6%) мужской популяции. На вопрос анкеты «Как Вы спите?» существенно большее число ответов «очень хорошо» было получено в группе самого молодого изучаемого возраста 25–34 лет сравнительно с возрастным десятилетием 45–54 лет.

Ответ «хорошо» также чаще встречался в молодом возрасте 25–34 и 35–44 лет, статистически значимые различия в этих группах в таком варианте ответов получены по отношению к соответствующим показателям в группах зрелого

возраста 45–54 и 55–64 лет. В наиболее молодой и наиболее старшей возрастных категориях статистически значимые различия получены также и с общепопуляционным показателем. Что касается удовлетворительного сна, у лиц молодого возраста в третьем десятилетии жизни имели место статистически значимые различия относительно показателей в старших возрастных категориях и СП. В шестом десятилетии жизни удовлетворительный сон встречался существенно чаще, чем в четвертом десятилетии. Плохой сон также отмечался существенно чаще в возрастных категориях 45–54 и 55–64 лет и в популяции в целом сравнительно с показателем в молодом возрасте 25–34 лет, в возрастной категории 55–64 лет показатель в 1,5 раза превалировал над СП.

Нарушение сна в мужской популяции 25–64 лет в зависимости от возраста											
Показатель	Возраст										
	25–34		35–44		45–54		55–64		25–64		СП
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Как Вы спите?											
Очень хорошо	20	11,3	19	8,3	12	5,2*	13	6,1	64	7,5	8,0
Хорошо	92	52,0	101	44,3	79	34,2***	59	27,6***	331	38,9**	41,2
Удовлетворительно	59	33,3	90	39,5	110	47,6**	105	49,1**	364	42,8*	41,4
Плохо	6	3,4	17	7,5	28	12,1**	34	15,9***	85	10,0**	8,9
Очень плохо	0	0,0	1	0,4	2	0,9	3	1,4	6	0,7	0,6

Примечание. Статистически значимые различия показателей обозначены звездочкой (\*) в верхнем регистре справа между возрастной группой 25–34 лет и другими возрастными группами; в нижнем регистре справа – между возрастной группой 35–44 лет и другими возрастными группами; в верхнем регистре слева – между возрастной группой 45–54 лет и другими возрастными группами; в нижнем регистре слева – между возрастными группами 55–64 и 25–64 лет. СП – стандартизованный по возрасту показатель.

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

Стандартизованный по возрасту показатель распространенности респондентов с плохим и очень плохим сном составил 9,5% мужской популяции. Хороший и очень хороший сон существенно чаще встречался в младших возрастных категориях, удовлетворительный и плохой сон – в старших возрастных категориях (см. таблицу).

На рис. 2 показано ОШ при наличии или отсутствии нарушений сна и ИБС по строгим, нестрогим и расширенным эпидемиологическим критериям в популяции мужчин 25–64 лет. Так, нарушение сна в популяции показало наиболее высокий риск развития ОИБС (5,28 при 95%-м ДИ 2,67–10,46;  $p < 0,05$ ) и ИБС по расширенным критериям (5,05 при 95%-м ДИ 2,92–8,74;  $p < 0,05$ ), тогда как и риск развития ВИБС при наличии НС также был существенным и составил 3,13 (95%-м ДИ 1,47–6,65;  $p < 0,05$ ) (рис. 2).

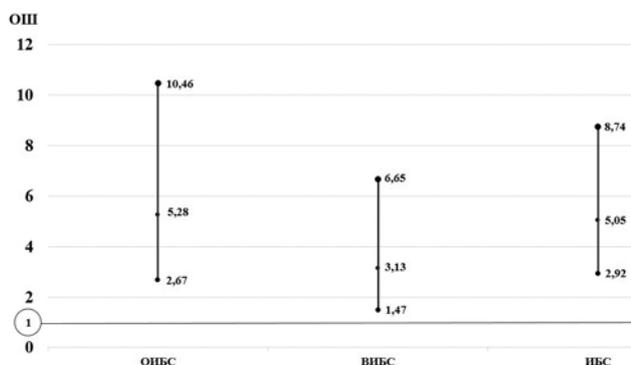


Рис. 2. Отношение шансов развития ишемической болезни сердца и нарушения сна в открытой мужской популяции 25–64 лет

По возрастным десятилетиям жизни не наблюдалось единой тенденции. Статистической значимости показатель достиг лишь в возрастной категории 55–64 лет, когда риск развития ОИБС при наличии НС в этой возрастной категории увеличился почти вдвое по сравнению с тем же показателем в общей популяции (10,21 при 95%-м ДИ 3,26–31,93;  $p < 0,05$ ). Риск развития ИБС по расширенным эпидемиологическим критериям при наличии НС в возрасте 55–64 лет практически не изменился по сравнению с таковым в общей популяции (5,57 при 95%-м ДИ 2,30–13,52;  $p < 0,05$ ), а риск ВИБС при наличии НС в старшей возрастной группе оказался статистически незначимым (рис. 3).

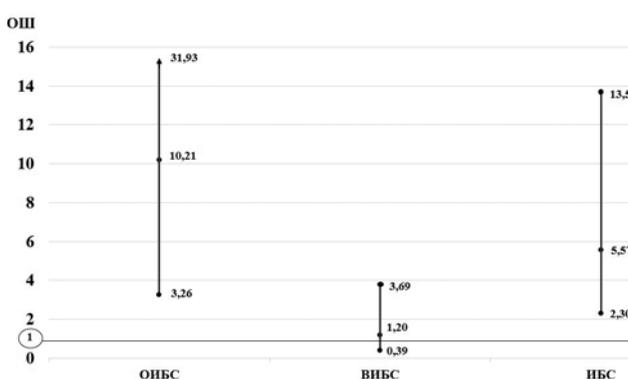


Рис. 3. Отношение шансов развития ишемической болезни сердца и нарушения сна у мужчин 55–64 лет

## ОБСУЖДЕНИЕ

У мужчин открытой популяции среднеурбанизированного города Западной Сибири (на модели г. Тюмени) стандартизованный по возрасту пока-

затель распространенности НС составил 50,9%. Показатель оказался достаточно высоким, но и сопоставимым с данными, установленными на других сибирских популяциях, – результатами томских (61,2%) и новосибирских (48,3%) авторов на открытых городских популяциях мужчин трудоспособного возраста [7, 10]. Согласно результатам исследования Т.М. Максимовой, среди российского населения частота нарушений сна в среднем составила около 30%, с минимальными значениями показателя у лиц молодого возраста, с максимальными значениями – у респондентов старшего возраста [11]. Вместе с тем в настоящем исследовании у тюменских мужчин частота выявления НС также превалировала в старшем возрасте.

По мнению отечественных и зарубежных исследователей, НС проявляется при наличии факторов психоэмоционального напряжения – личностной тревожности, жизненного истощения, депрессии и в соответствии с этим также является предиктором развития ССЗ [2, 3, 5–7, 12]. Изучение самооценки качества сна дает возможность выявить частоту его нарушений в популяции, оценить проблемы, связанные с НС, дифференцированно в разных группах населения, соответственно, установить группы населения с повышенным риском развития сердечно-сосудистой патологии.

В тюменской популяции 25–64 лет высокие градации НС у мужчин с наличием ишемической болезни сердца встречались в пять раз чаще, чем у лиц с отсутствием ИБС, та же тенденция имела место и для мужчин с наличием «определенной» формы ИБС. При наличии «возможной» формы ИБС нарушение сна выявлялось в три раза чаще по сравнению со стандартизованным показателем по возрасту общей популяции. В настоящем исследовании общепопуляционные тенденции превалировали и в старшей возрастной категории 55–64 лет, что соответствует результатам по другим психосоциальным факторам на тюменской популяции [6, 13]. Тем не менее, в отличие от других факторов психоэмоционального напряжения, высокие градации нарушений сна существенно чаще имели место, начиная с молодого возраста (35–44 лет), у лиц с «возможной» ИБС. Такая ситуация, вероятно, является закономерной, поскольку, согласно данным литературы, значительное число пациентов с наличием хронического НС связывают свои недомогания с жизненной ситуацией, причем в подавляющем числе случаев имеют место проблемы личного характера. В молодом возрасте НС возникают

в связи с проблемами идентичности, в пожилом возрасте – из-за негативного отношения к старости, страха смерти и недовольства жизни в целом [2].

Полученные результаты на тюменской популяции подтверждаются данными других исследований в отношении НС как предиктора развития ССЗ. Так, в новосибирской популяции среди мужчин 25–64 лет относительный риск развития ССЗ за 10 лет проспективного наблюдения при НС с оценкой сна «плохо» составил 2,6 относительно лиц с оценкой сна «хорошо» [7]. Анализ данных одномоментного исследования неорганизованной популяции Cardiovascular Health Study показал, что дневная сонливость у мужчин как единственное НС ассоциировалась с кардиоваскулярной смертью [12]. По результатам кросс-секционного исследования на финской популяции наиболее высокая распространенность ИБС была установлена среди мужчин, у которых ночной сон составлял 6 ч и менее. Соотношение сохранялось после включения в многофакторную модель таких параметров, как конвенционные факторы риска ССЗ (курение, артериальная гипертензия, алкоголь), а также качество сна, возраст, прием транквилизаторов и снотворных средств, коронарный тип личности и наличие психосоциальных факторов [14].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о важности дальнейшего изучения нарушения сна у мужчин трудоспособного возраста в сибирских популяциях, его взаимосвязей с конвенционными и неконвенционными факторами риска ИБС, а также о целесообразности превентивных мероприятий, направленных на снижение влияния факторов психоэмоционального напряжения среди российского населения.

## ВЫВОДЫ

1. Распространенность ИБС по расширенным эпидемиологическим критериям у мужчин открытой городской популяции составила 12,4%, частота выявления «определенной» и «возможной» ИБС была практически одинаковой. Стандартизованный по возрасту показатель распространенности нарушений сна составил 50,9%.

2. В мужской популяции 25–64 лет при нарушении сна установлен существенный риск развития ИБС по расширенным критериям (5,05), а также «определенной» (5,28) и «возможной» (3,13) ее форм. В возрастной категории 55–64 лет установлен существенный риск развития ИБС по расширенным критериям (5,57) и «определенной» формы ИБС (10,21).

## ЛИТЕРАТУРА

- Palagini L., Bruno R.M., Gemignani A., Baglioni C., Ghiadoni L., Riemann D. Sleep loss and hypertension: a systematic review. *Curr. Pharm. Des.* 2013; 19 (13): 2409–2419. DOI: 10.2174/1381612811319130009.
- Morphy H., Dann K.M., Lewis M. Epidemiology of insomnia: a Longitudinal Study in a UK population. *Sleep.* 2007; 30 (3): 274–280. DOI: 10.1093/sleep/30.3.274.
- Ram S., Seirawan H., Kumar S.K., Clark G.T. Prevalence and impact of sleep disorders and sleep habits in the United States. *Sleep Breath.* 2010; 14 (1): 63–70. DOI: 10.1007/s11325-009-0281-3.
- Европейские рекомендации по профилактике сердечно-сосудистых заболеваний в клинической практике (пересмотр 2016). *Российский кардиологический журнал.* 2017; 22 (6): 7–85. DOI: 10.15829/1560-4071-2017-6-7-85.
- Manfredini R., De Giorgi A., Tiseo R., Boari B., Cappadona R., Salmi R., Gallerani M., Signani F., Manfredini F., Mikhailidis D.P., Fabbian F. Marital status, cardiovascular diseases, and cardiovascular risk factors: a review of the evidence. *J. Womens Health.* 2017; 26 (6): 624–632. DOI: 10.1089/jwh.2016.6103.
- Каюмова М.М., Горбунова Т.Ю., Гакова Е.И., Акимов А.М. Частота ассоциации соматических факторов риска ИБС и личностной тревожности у мужчин. *Врачи.* 2018; 29 (4): 40–43. DOI: 10.29296/25877305-2018-04-07.
- Гафаров В.А., Панов Д.О., Громова Е.А., Гагулин И.В., Гафарова А.В. Нарушения сна и риск артериальной гипертензии и инсульта в открытой популяции среди женщин 25–64 лет в России/Сибири (популяционное исследование – программа ВОЗ “MONICA-psychosocial”). *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2017; 16 (5): 86–90. DOI: 10.15829/1728-8800-2017-5-86-90.
- Robillard R.P., Lanfranchi P.A., Prince F., Filipini D., Carrier J. Sleep deprivation increases blood pressure in healthy normotensive elderly and attenuates the blood pressure response to orthostatic challenge. *Sleep.* 2011; 34 (3): 335–339. DOI: 10.1093/sleep/34.3.335.
- Wolk R., Gami A.S., Garcia-Touchard A., Somers V.K. Sleep and cardiovascular disease. *Curr. Probl. Cardiol.* 2005; 30 (12): 625–662. DOI: 10.1016/j.cpcardiol.2005.07.002.
- Кавешников В.С., Серебрякова В.Н., Трубачева И.А. Отношение к своему здоровью, его параметры и самооценка среди участников профилактической акции. *Сибирский медицинский журнал.* 2014; 29 (3): 115–122. DOI: 10.29001/2073-8552-2014-29-3-115-122.
- Максимова Т.М. Социальный градиент в формировании здоровья населения. М.: ПЕР СЭ, 2005: 240.
- Sullivan M.D., LaCroix A.Z., Spertus J.A., Hecht J. Five-year prospective study of the effects of anxiety and depression in patients with coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* 2000; 86 (10): 1135–1138. DOI: 10.1016/s0002-9149(00)01174-7.
- Каюмова М.М., Акимова Е.В., Гафаров В.В., Каюмов Р.Х., Акимов А.М., Кузнецов В.А. Жизненное истощение: взаимосвязь с распространенностью ишемической болезни сердца. *Российский кардиологический журнал.* 2014; 19 (8): 68–72. DOI: 10.15829/1560-4071-2014-8-68-72.
- Kainth A., Hewitt A., Pattenden J. Systematic review of interventions to reduce delay in patients with suspected heart attack. *Emerg. Med. J.* 2004; 21: 506–508. DOI: 10.1136/emj.2003.013276.

## Сведения об авторах

Акимова Екатерина Викторовна, д-р мед. наук, зав. лабораторией эпидемиологии и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, Тюменский кардиологический научный центр, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-9961-5616.

Акимов Михаил Юрьевич, канд. техн. наук, доцент, кафедра эксплуатации автомобильного транспорта, Тюменский индустриальный университет, г. Тюмень. ORCID 0000-0003-1016-7560.

✉ Акимова Екатерина Викторовна, e-mail: akimovaev@infarkta.net.

Поступила в редакцию 04.04.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Роль рецептора эпидермального фактора роста EGFR в эффективности неоадьювантной химиотерапии у больных тройным негативным раком молочной железы

Бабышкина Н.Н.<sup>1,2</sup>, Дронова Т.А.<sup>1,2</sup>, Замбалова Е.А.<sup>1</sup>,  
Завьялова М.В.<sup>1,2,3</sup>, Слонимская Е.М.<sup>1,3</sup>, Чердынцева Н.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)  
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

<sup>3</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

### РЕЗЮМЕ

**Актуальность.** Выявление предсказательных молекулярных маркеров тройного негативного рака молочной железы позволит оценить эффективность неоадьювантной химиотерапии (НАХТ) и определить оптимальные подходы к прогнозированию течения заболевания.

**Цель исследования.** Изучить взаимосвязь экспрессии рецептора эпидермального фактора роста EGFR и полиморфных вариантов его гена с эффективностью неоадьювантной химиотерапии у больных тройным негативным раком молочной железы.

**Материалы и методы.** В исследование включены 70 пациенток с тройным негативным раком молочной железы, получавших 2–4 курса НАХТ по схеме FAC или CAH. Оценка эффективности НАХТ проводилась по шкале RECIST. Уровень экспрессии EGFR в опухоли до и после НАХТ оценивался иммуногистохимическим методом. Анализ полиморфных вариантов гена *EGFR* в локусах rs2227983 и rs1468727 проведен с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

**Результаты.** Выявлено, что в процессе НАХТ уровень экспрессии EGFR в опухоли значительно снижается ( $p = 0,000$ ). Показано, что достижение объективного клинического и полного патоморфологического ответа опухоли ассоциировано с низким уровнем экспрессии EGFR ( $p = 0,007$  и  $p = 0,000$  соответственно). Отсутствие эффективного ответа на НАХТ у больных тройным негативным раком молочной железы связано с носительством мутантных генотипов EGFRCC в локусе rs1468727 ( $p = 0,042$ ). Кроме того, среди пациентов, несущих мутантный вариант гена *EGFR*CC, чаще встречаются опухоли с высокой экспрессией *EGFR* по сравнению с больными, имеющими дикий вариант *EGFR*TT ( $p = 0,047$ ).

**Заключение.** Уровень экспрессии EGFR в опухоли и полиморфные варианты его гена в локусе rs1468727 могут рассматриваться в качестве потенциальных молекулярных маркеров с предсказательной значимостью в отношении эффективности НАХТ у больных тройным негативным раком молочной железы.

**Ключевые слова:** тройной негативный рак молочной железы, неоадьювантная химиотерапия, рецептор эпидермального фактора роста EGFR, полиморфизм генов.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 19-75-30016 «Новая технология прогнозирования и профилактики отдаленного метастазирования на

✉ Бабышкина Наталья Николаевна, e-mail: nbabyshkina@mail.ru.

основе детекции циркулирующих метастаз-иницирующих и нишеобразующих клеток и их специфических мишеней».

**Соответствие принципам этики.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Работа проведена согласно принципам добровольности и конфиденциальности в соответствии с «Основами законодательства РФ об охране здоровья граждан» (Указ Президента РФ от 24.12.1993 № 2288) на основании разрешения локального комитета по биомедицинской этике НИИ онкологии Томского НИМЦ.

**Для цитирования:** Бабышкина Н.Н., Дронова Т.А., Замбалова Е.А., Завьялова М.В., Слонимская Е.М., Чердынцева Н.В. Роль рецептора эпидермального фактора роста EGFR в эффективности неoadъювантной химиотерапии у больных тройным негативным раком молочной железы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 13–20. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-13-20>.

## The role of epidermal growth factor receptor (EGFR) in the efficacy of neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer patients

Babyshkina N.N.<sup>1,2</sup>, Dronova T.A.<sup>1,2</sup>, Zambalova E.A.<sup>1</sup>,  
Zavyalova M.V.<sup>1,2,3</sup>, Slonimskaya E.M.<sup>1,3</sup>, Cherdyntseva N.V.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC) of Russian Academy of Sciences 5, Kooperativny Str., Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup> National Research Tomsk State University (NR TSU) 36, Lenin Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>3</sup> Siberian State Medical University (SSMU) 2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

### ABSTRACT

**Background.** Identification of predictive molecular markers of triple-negative breast cancer (TNBC) will enable the evaluation of the efficacy of neoadjuvant chemotherapy (NACT) and define optimum approaches for the prognosis of the disease course in TNBC patients.

**The aim** of the study was to examine the correlation between the expression of the epidermal growth factor receptor (EGFR), its gene's polymorphic variants and the neoadjuvant chemotherapy (NACT) efficacy in triple-negative breast cancer (TNBC) patients.

**Materials and methods.** The study included 70 patients with triple-negative breast cancer, who had received 2-4 cycles of FAC and CAX regimens. The efficacy of the neoadjuvant chemotherapy was assessed according to the RECIST scale. The EGFR expression level in tumors before and after the NACT was evaluated with the help of immunohistochemistry. Genotypes for *EGFR* (rs2227983 and rs1468727) were detected by a real-time PCR.

**Results.** It was found that NCT significantly decreases the EGFR expression level in the tumor ( $p = 0.000$ ). The research associates the objective clinical response as well as the pathological complete response with the low EGFR expression level ( $p = 0.007$  and  $p = 0.000$  respectively). Patients carrying the *EGFRCC* mutant genotype of rs1468727 did not achieve a pathological complete response ( $p = 0.042$ ). In addition, patients with *EGFRCC* mutant genotype are more likely to have tumors with a high EGFR expression compared to *EGFRTT* wild-type genotype patients ( $p = 0.047$ ).

**Conclusion.** The EGFR expression level in tumor tissue and the polymorphic variants of its gene in the rs1468727 locus can be considered as potential molecular markers with predictive significance in relation to the NACT efficacy in triple-negative breast cancer patients.

**Key words:** triple-negative breast cancer, neoadjuvant chemotherapy, epidermal growth factor receptor (EGFR); gene polymorphisms.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The research was conducted under financial support from the Russian Science Foundation (RSF), Grant No. 19-75-30016 “New strategy for the prediction and prevention of distant metastasis based on the detection of circulating metastasis-initiating and niche-forming cells and their specific targets”.

**Conformity with the principles of ethics.** All patients signed an informed consent to participate in the study. The research was carried out according to the principles of voluntariness and confidentiality in compliance with the “Fundamentals of the Legislation of the Russian Federation on the Protection of Public Health (Decree of the President of the Russian Federation of December 24, 1993 No. 2288) based on the permission of the local committee on biomedical ethics of the Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center.

**For citation:** Babyshkina N.N., Dronova T.A., Zambalova E.A., Zavyalova M.V., Slonimskaya E.M., Cherdyntseva N.V. The role of epidermal growth factor receptor (EGFR) in the efficacy of neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer patients. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 13–20. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-13-20>.

## ВВЕДЕНИЕ

В структуре заболеваемости раком молочной железы тройной негативный подтип занимает особое место, поскольку характеризуется агрессивным течением и имеет неблагоприятный прогноз в отношении выживаемости [1–3]. Наиболее существенной характеристикой тройного негативного рака молочной железы (ТНРМЖ) является отсутствие мишеней воздействия для проведения гормонотерапии и таргетной терапии герцептином, что существенно затрудняет лечение данного заболевания. На сегодняшний день противоопухолевая системная терапия является одним из основных этапов комплексного лечения тройного негативного рака молочной железы. При использовании неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) цитостатические препараты способствуют уменьшению размера опухоли, что позволяет выполнять органосохраняющие операции и максимально сохранить здоровые ткани молочной железы. Однако полный патоморфологический ответ опухоли наблюдается лишь у 12–30% больных [4, 5]. Таким образом, поиск дополнительных прогностических маркеров чувствительности и резистентности к различным группам цитостатиков, позволяющих индивидуализировать терапевтические подходы у больных тройным негативным подтипом, остается актуальной задачей.

Одним из активно изучаемых в последние годы молекулярных маркеров является рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), трансмембранный гликопротеин, вовлеченный в регуляцию процессов клеточного роста и злокачественной трансформации. Считается общепризнанным тот факт, что амплификация и (или) гиперэкспрессия EGFR ведут к развитию резистентности к эндокринной терапии в эстроген-зависимых опухо-

лях [6, 7]. В своих недавних исследованиях мы продемонстрировали высокий уровень экспрессии EGFR в опухоли у больных, резистентных к терапии тамоксифеном, и показали его прогностическую значимость [8]. В эстроген-независимых опухолях гиперэкспрессия EGFR в большей степени является результатом увеличения числа копий гена из-за полисомии, нежели за счет активирующих мутаций или амплификации EGFR и, как правило, ассоциирована с прогрессированием заболевания и низкими показателями выживаемости больных [9, 10]. Стоит отметить, что прогностическому значению экспрессии EGFR у больных ТНРМЖ посвящено большое число исследований [11–14], однако вклад функционально значимых полиморфных сайтов гена *EGFR* в сопоставлении с уровнем экспрессии его белкового продукта в механизмы резистентности к неoadъювантной химиотерапии остается в настоящее время недостаточно изученным.

Цель исследования – изучить взаимосвязь экспрессии EGFR и функционально значимых полиморфных вариантов его гена с эффективностью неoadъювантной химиотерапии у больных тройным негативным раком молочной железы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 70 пациенток в возрасте 28–69 лет с верифицированным диагнозом ТНРМЖ, находившихся на лечении в отделении общей онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2007 по 2013 г. Все больные получали в неoadъювантном режиме 2–4 курса полихимиотерапии по схеме FAC (5-фторурацил 500 мг/м<sup>2</sup> в 1-е сут, адриамицин 50 мг/м<sup>2</sup> в 1-е сут, циклофосфамид 500 мг/м<sup>2</sup> в 1-е сут, внутривенно;

интервал между курсами 21 сут), или САХ (циклофосфан 100 мг/м<sup>2</sup> внутримышечно в течение 14 сут, адриамицин 30 мг/м<sup>2</sup> внутривенно в 1-е и 8-е сут, кселода 1 000 мг/м<sup>2</sup> 2 раза/сут, *per os*, в течение 14 сут; интервал между курсами 21 сут) с последующим проведением хирургического лечения (в объеме радикальной резекции, секторальной резекции с аксиллярной лимфаденэктомии или радикальной мастэктомии). По показаниям в адъювантном режиме были проведены курсы полихимиотерапии (FAC) и лучевой терапии.

Оценка эффективности НАХТ осуществлялась по шкале RECIST. Объективный клинический ответ определялся по сумме полных и частичных регрессий опухоли молочной железы, наличие стабилизации и прогрессирования заболевания рассматривалось как отсутствие эффективности лечения. Выраженность лекарственного патоморфоза в ткани молочной железы и регионарных лимфатических узлах оценивалась по классификации, предложенной Е.Ф. Лушниковым (1977) [15]. Диагноз «полная морфологическая регрессия» устанавливался при отсутствии опухолевых элементов как в ткани молочной железы, так и в исследуемых лимфатических узлах. Срок наблюдения за больными составил 12–80 мес.

С целью изучения полиморфных вариантов гена *EGFR* проводилось выделение ДНК из образцов периферической крови с помощью наборов QIAamp DNA Mini Kit (50) (Qiagen). Качественная и количественная оценка ДНК проведена на спектрофотометре NanoDrop-1000 (NanoDrop, США). Полиморфные варианты гена *EGFR* в локусах rs2227983 и rs1468727 изучены с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени по технологии TaqMan.

Последовательность праймеров и проб подбирали при помощи программы OligoAnalysisVector NTI с использованием генетического банка данных ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). Реакционная смесь для полимеразной цепной реакции объемом 15 мкл включала 100 нг геномной ДНК; 0,5–1,5 мкл специфической пары праймеров и проб с концентрацией 1 о.е./мл; 200 мкМ каждого дезоксирибонуклеотидтрифосфата; 1,2–2,0 мкл буфера (60 мМ Tris-HCl (pH 8,5 при 25 °C), 1,5 мМ MgCl<sub>2</sub>; 25 мМ KCl; 10 мМ 2-меркаптоэтанол; 0,1% Тритон X-100) и 0,5–1,0 ед. Taq ДНК-полимеразы (компания «Медиген», г. Новосибирск). Программа амплификации включала предварительную денатурацию при 95 °C в течение 2 мин, с последующими 40 циклами при 95 °C (10 с), отжига при специфической температуре для каждой пары праймеров (30 с) на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США).

Уровень экспрессии EGFR в опухоли до и после проведения НАХТ изучен на парафиновых срезах с помощью иммуногистохимического метода. Применялись антитела к EGFR (клон SP9, рабочее разведение 1 : 100) фирмы Novus Biologicals (США). Результаты иммуногистохимических реакций оценивали полуколичественно, в зависимости от доли (%) положительно окрашенных клеток и интенсивности их окрашивания, по меньшей мере, в 10 областях каждого среза при увеличении 400. Интенсивность окрашивания была оценена по шкале от 0 до 3, при этом значение 0 определялось как отрицательное окрашивание, 1+ – как слабое окрашивание, 2+ – как умеренное окрашивание и 3+ – сильное окрашивание. Срезы с умеренной (2+) или сильной (3+) цитоплазматической и (или) мембранной окраской в более чем 10% клеток считали EGFR-позитивными, срезы с отрицательным окрашиванием (0) или слабой (1+) экспрессией в менее чем 10% клеток – EGFR-негативными.

Для анализа полученных данных использована программа SPSS 21.0 (IBM SPSS Statistics, США). Распределение генотипов исследуемых генов было проверено на соответствие равновесию Харди–Вайнберга. Для сравнения частот встречаемости аллелей и генотипов гена *EGFR*, оценки их взаимосвязи с уровнем экспрессии EGFR, а также анализа взаимосвязи уровня экспрессии EGFR с эффективностью НАХТ был использован двусторонний критерий Фишера. Если количество наблюдений в таблице сопряженности было больше 5, то в расчет принимали  $\chi^2$  с поправкой Йетса. Различия считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Для анализа изменений уровня экспрессии EGFR в опухоли мы оценили содержание клеток с негативной и позитивной экспрессией в биопсийных образцах до неoadъювантной химиотерапии и в послеоперационных образцах после лечения. Выявлено, что показатели экспрессии EGFR в процессе проведения НАХТ значительно изменялись. Так, число клеток с позитивной экспрессией EGFR снижалось с 85,7 до 44,8%; количество EGFR-негативных клеток, напротив, увеличивалось с 14,3 до 55,2% ( $p = 0,000$ ; рис. 1). Поскольку установлено, что применение НАХТ приводит к снижению уровня экспрессии EGFR, мы проанализировали, насколько такие экспрессионные особенности связаны с ответом опухоли на терапию. Выявлено, что высокая частота как

объективного клинического, так и полного патоморфологического ответа опухоли наблюдалась

у больных с низким уровнем экспрессии EGFR ( $p = 0,007$  и  $p = 0,000$  соответственно, рис. 2).

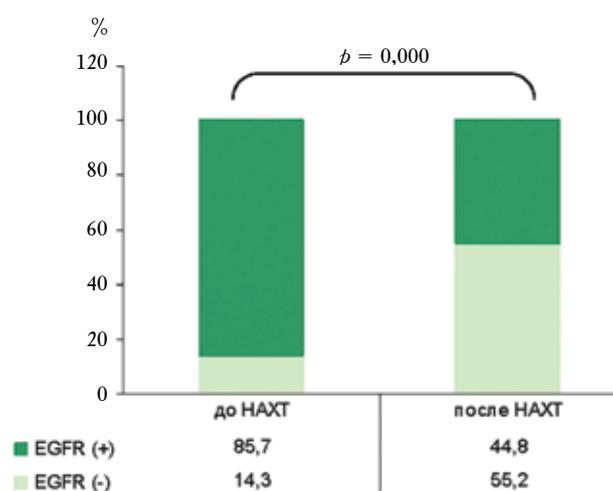


Рис. 1. Уровень экспрессии EGFR в опухоли до и после проведения неoadъювантной химиотерапии

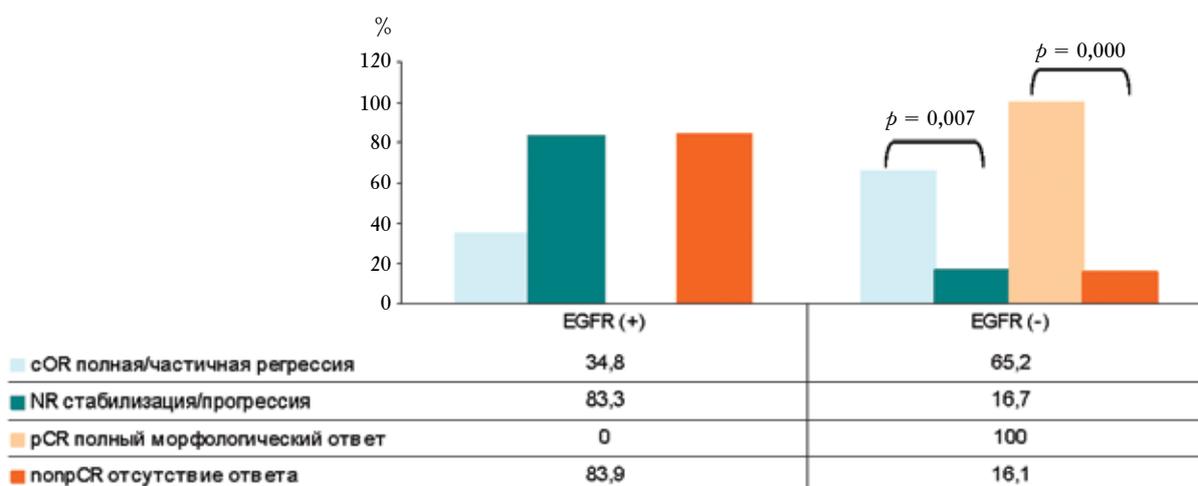


Рис. 2. Связь уровня экспрессии EGFR в опухоли с эффективностью неoadъювантной химиотерапией

Далее в образцах периферической крови пациентов с тройным негативным раком молочной железы изучены полиморфные варианты гена *EGFR* в двух локусах rs1468727 и rs2227983 для оценки их возможной вовлеченности в реализацию механизмов чувствительности и резистентности опухоли к неoadъювантной химиотерапии. При анализе объективного клинического ответа выявлено, что частота встречаемости мутантного генотипа EGFRCC в локусе rs1468727 у пациентов со стабилизацией и (или) прогрессированием заболевания более чем в два раза превосходила таковую у больных с полной и (или) частичной регрессией, однако без статистических различий ( $p = 0,114$ , таблица). Изучение полных морфо-

логических регрессий позволило получить значимую ассоциацию данного мутантного варианта с неэффективным ответом опухоли ( $p = 0,042$ , табл. 1).

Мы проанализировали связь исследуемых полиморфных вариантов *EGFR* с уровнем экспрессии кодируемого им белка. Установлено, что носители мутантных генотипов EGFRCC локуса rs1468727 чаще имели позитивную экспрессию EGFR в опухоли до проведения НАХТ по сравнению с носителями диких вариантов гена *EGFR* ( $p = 0,047$ , рис. 3). После проведения НАХТ позитивная экспрессия EGFR в опухоли регистрировалась у всех пациентов (100%), имеющих мутации в данном полиморфном локусе ( $p = 0,038$ , рис. 3).

Таблица

Связь полиморфизмов гена <i>EGFR</i> с эффективностью НАХТ								
Генотип/ аллель	Объективный клинический ответ, <i>n</i> (%)				Полный патоморфологический ответ, <i>n</i> (%)			
	полная/ частичная	стабилизация/ прогрессирование	ОШ (95% ДИ)	<i>p</i>	полный ответ	отсутствие ответа	ОШ (95% ДИ)	<i>p</i>
<i>EGFR</i> (rs1468727)								
TT	25 (54,4)	7 (46,7)	1,00		12 (54,5)	20 (51,3)	1,00	
TC	17 (36,9)	5 (33,3)	1,00		10 (45,5)	12 (30,8)	1,00	
CC	4 (8,7)	3 (20,0)	0,38 (0,06–2,54)	0,348	0 (0,0)	7 (17,9)	1,22 (1,05–1,44)	0,042 <sup>1</sup>
T	67 (72,8)	19 (63,3)	1,00		34 (77,3)	52 (66,7)	1,00	
C	25 (27,2)	11 (36,7)	0,64 (0,25–1,69)	0,322	10 (22,7)	26 (33,3)	0,59 (0,23–1,48)	0,217
<i>EGFR</i> (rs2227983)								
GG	25 (54,4)	7 (46,7)	1,00		12 (54,5)	20 (51,3)	1,00	
GA	19 (41,3)	6 (40,0)	1,00		10 (45,5)	15 (38,5)	1,00	
AA	2 (4,3)	2 (13,3)	0,30 (0,03–3,34)	0,251	0 (0,0)	4 (10,2)	1,11 (1,00–1,24)	0,287
G	69 (75,0)	20 (66,6)	1,00		34 (77,3)	55 (70,6)	1,00	
A	23 (25,0)	10 (33,4)	0,67 (0,25–1,79)	0,372	10 (22,7)	23 (29,4)	0,70 (0,27–1,79)	0,420

Примечание. ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал. <sup>1</sup> различия показателей между группами «полный ответ» и «отсутствие ответа».

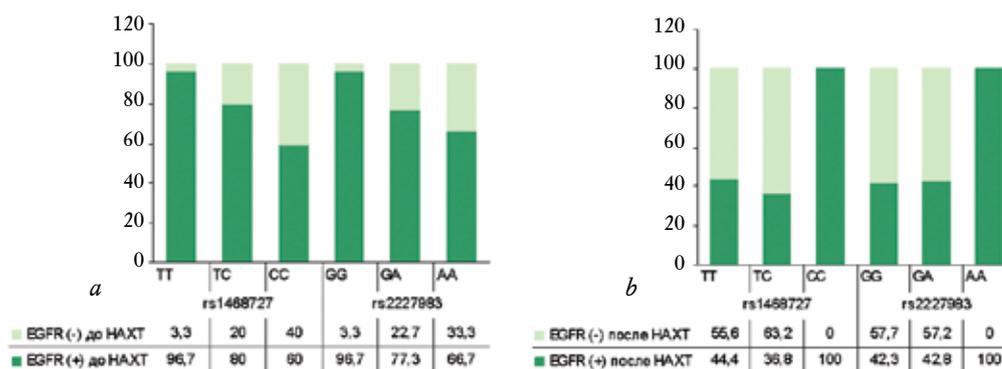


Рис. 3. Связь уровня экспрессии EGFR в опухоли до (а) и после (б) неoadьювантной химиотерапии с полиморфизмами гена *EGFR*

## ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования мы показали значимое снижение уровня экспрессии EGFR в опухоли в процессе НАХТ, которое ассоциировано с объективным клиническим и полным патоморфологическим ответом опухоли. Полученные нами данные находят подтверждение в литературных источниках. Известно, что использование стандартных комбинаций алкилирующих агентов и таксанов при местнораспространенном или метастатическом раке молочной железы приводит к снижению изначально высокого уровня экспрессии EGFR, что имеет прогностическую значимость [16]. Кроме того, уровень экспрессии EGFR рассматривается в настоящее время в качестве потенциального предиктивного маркера ответа на НАХТ у больных ТНРМЖ [17].

Отсутствие эффективного ответа на предоперационную химиотерапию у больных ТНРМЖ в нашем исследовании связано с носительством мутантных генотипов *EGFR* локуса rs1468727. Известно, что полиморфный вариант rs1468727 затрагивает интронную область гена *EGFR* и напрямую не изменяет аминокислотную последовательность белка. Однако мутации внутри интронов могут оказывать существенное влияние на уровень процессов транскрипции и стабильность РНК. Предполагается, что мутантный вариант *EGFR*CC локуса rs1468727 связан с увеличением активности рецептора, его экспрессии или стабильности, что ведет к активации *EGFR*-опосредованных сигналов и значительному увеличению пролиферативного потенциала опухоли [18]. Эта гипотеза находит подтверждение в наших исследованиях, поскольку мутантный гено-

тип *EGFRCC* связан с отсутствием ответа опухоли на НАХТ. Важно, что у 60% пациентов с данной мутацией опухоли характеризуются положительной экспрессией EGFR. Высокий уровень экспрессии EGFR может способствовать активации большого числа внутриклеточных мессенджеров, в том числе PI3K/Akt, Ras/MAPK, STAT, что приводит к стимуляции пролиферативных процессов и увеличению инвазивного потенциала опухоли, способствующих неэффективному лечению. Следует отметить, что исследованный нами полиморфизм гена *EGFR* практически не описан в литературе, продемонстрирована лишь связь мутации rs1468727 с прогнозом глиом [19].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эффективность НАХТ у больных ТНРМЖ сопряжена с генотипическими и фенотипическими особенностями EGFR. Механизмы неэффективности неoadъювантной химиотерапии могут быть обусловлены мутацией *EGFR* в локусе rs1468727, приводящей к высокой экспрессионной активности рецептора, что обуславливает реализацию EGFR-опосредованных сигнальных каскадов, обеспечивающих пролиферативный потенциал опухоли. Снижение уровня экспрессии EGFR в опухолевой ткани после проведения НАХТ и полиморфные варианты гена *EGFR* rs1468727 могут рассматриваться в качестве потенциальных молекулярных критериев, ассоциированных с эффективностью неoadъювантной химиотерапии у больных ТНРМЖ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. De Ruijter T.C., Veeck J., de Hoon J.P., van Engeland M., Tjan-Heijnen V.C. Characteristics of triple-negative breast cancer. *Clin. Oncol.* 2011; 137 (2): 183–192. DOI: 10.1007/s00432-010-0957-x.
2. Wahba H.A., El-Hadaad H.A. Current approaches in treatment of triple-negative breast cancer. *Cancer Biol. Med.* 2015; 12 (2): 106–116. DOI: 10.7497/j.issn.2095-3941.2015.0030.
3. Oualla K., El-Zawahry H.M., Arun B., Reuben J.M., Woodward W.A., Gamal El-Din H., Lim B., Mellas N., Ueno N.T., Fouad T.M. Novel therapeutic strategies in the treatment of triple-negative breast cancer. *Ther. Adv. Med. Oncol.* 2017; 9 (7): 493–511. DOI: 10.1177/1758834017711380.
4. Voduc K.D., Cheang M.C., Tyldesley S., Gelmon K., Nielsen T.O., Kennecke H. Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. *Journal of Clinical Oncology.* 2010; 28 (10): 1684–1691. DOI: 10.1200/JCO.2009.24.9284.
5. Cortazar P., Zhang L., Untch M., Mehta K., Costantino J.P., Wolmark N., Bonnefoi H., Cameron D., Gianni L., Valagussa P., Swain S.M., Prowell T., Loibl S., Wickerham D.L., Bogaerts J., Baselga J., Perou C., Blumenthal G., Blohmer J., Mamounas E.P., Bergh J., Semiglazov V., Justice R., Eidtmann H., Paik S., Piccart M., Sridhara R., Fasching P.A., Slaets L., Tang S., Gerber B., Geyer C.E. Jr., Pazdur R., Ditsch N., Rastogi P., Eiermann W., von Minckwitz G. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet.* 2014; 384 (9938): 164–172. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)62422-8.
6. Osborne C.K., Schiff R. Mechanisms of endocrine resistance in breast cancer. *Ann. Rev. Med.* 2011; 62: 233–247. DOI: 10.1146/annurev-med-070909-182917.
7. Chong K., Subramanian A., Sharma A., Mokbel K. Measuring IGF-1, ER- $\alpha$  and EGFR expression can predict tamoxifen-resistance in ER-positive breast cancer. *Anti-cancer Res.* 2011; 31 (1):23–32.
8. Дронова Т.А., Бабышкина Н.Н., Завьялова М.В., Паталяк С.В., Слонимская Е.М., Чердынцева Н.В., Кжышковска Ю.Г. Взаимосвязь компонентов EGFR/PI3K/AKT-сигнального пути с эффективностью терапии тамоксифеном у больных эстрогензависимым раком молочной железы. *Успехи молекулярной онкологии.* 2018; 5 (3): 40–50. DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-3-40-50.
9. Tischkowitz M., Brunet J.S., Begin L.R., Huntsman D.G., Cheang M.C., Akslen L.A., Nielsen T.O., Foulkes W.D. Use of immunohistochemical markers can refine prognosis in triple negative breast cancer. *BMC Cancer.* 2007; 7: 134. DOI: 10.1186/1471-2407-7-134.
10. Park H.S., Jang M.H., Kim E.J., Kim H.J., Lee H.J., Kim Y.J., Kim J.H., Kang E., Kim S.W., Kim I.A., Park S.Y. High EGFR gene copy number predicts poor outcome in triple-negative breast cancer. *Mod. Pathol.* 2014; 27 (9): 1212–1222. DOI: 10.1038/modpathol.2013.251.
11. Zhang M., Zhang X., Zhao S., Wang Y., Di W., Zhao G., Yang M., Zhang Q. Prognostic value of survivin and EGFR protein expression in triple-negative breast cancer (TNBC) patients. *Target Oncol.* 2014; 9 (4): 349–357. DOI: 10.1007/s11523-013-0300-y.
12. Yue Y., Astvatsaturyan K., Cui X., Zhang X., Fraass B., Bose S. Stratification of prognosis of triple-negative breast cancer patients using combinatorial biomarkers. *PLoS One.* 2016; 11 (3): e0149661. DOI: 10.1371/journal.pone.0149661.
13. Abdelrahman A.E., Rashed H.E., Abdelgawad M., Abdelhamid M. Prognostic impact of EGFR and cytokeratin 5/6 immunohistochemical expression in triple-negative breast cancer. *Ann. Diagn. Pathol.* 2017; 28: 43–53. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2017.01.009.
14. Foidart P., Yip C., Radermacher J., Blacher S., Lienard M., Montero-Ruiz L., Maquoi E., Montaudon E., Château-Joubert S., Collignon J., Coibion M., Jossa V., Marangoni E., Noël A., Sounni N.E., Jerusalem G. Expression of MT4-MMP, EGFR, and RB in triple-negative breast cancer strongly sensitizes tumors to erlotinib

- and palbociclib combination therapy. *Clin. Cancer Res.* 2019; 25 (6): 1838–1850. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1880.
15. Лушников Е.Ф. Лучевой патоморфоз опухолей человека. М.: Медицина, 1977: 327.
16. Van Reesema L.L.S., Zheleva V., Winston J.S., Jansen R.J., O'Connor C.F., Isbell A.J., Bian M., Qin R., Bassett P.T., Hinson V.J., Dorsch K.A., Kirby B.W., van Sciver R.E., Tang-Tan A.M., Harden E.A., Chang D.Z., Allen C.A., Perry R.R., Hoefler R.A., Tang A.H. S1AH and EGFR, two RAS pathway biomarkers, are highly prognostic in locally advanced and metastatic breast cancer. *EBioMedicine.* 2016; 11: 183–198. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.08.014.
17. Tang Y., Zhu L., Li Y., Ji J., Li J., Yuan F., Wang D., Chen W., Huang O., Chen X., Wu J., Shen K., Loo W.T., Chow L.W. Overexpression of epithelial growth factor receptor (EGFR) predicts better response to neo-adjuvant chemotherapy in patients with triple-negative breast cancer. *J. Transl. Med.* 2012; 10 (1): S4. DOI: 10.1186/1479-5876-10-S1-S4.
18. Li B., Zhao W., Li J., Yan M., Xie Z., Zhu Y., Chen C., Jin T. Effect of epidermal growth factor receptor gene polymorphisms on prognosis glioma patients. *Oncotarget.* 2016; 7(39): 63054–63064. DOI: 10.18632/oncotarget.10666.
19. Wang X., Zhang H., Wang D., Li X. Association of genetic polymorphisms of EGFR with glioma in a Chinese population. *Genet. Test Mol. Biomarkers.* 2015; 19 (1): 59–62. DOI:10.1089/gtmb.2014.0228.

## Вклад авторов

Бабышкина Н.Н. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Дронова Т.А. – анализ и интерпретация данных. Замбалова Е.А. – анализ и интерпретация данных, обзор публикаций по теме рукописи. Завьялова М.В. – анализ и интерпретация данных. Слонимская Е.М. – разработка концепции и дизайна. Чердынцева Н.В. – разработка концепции и дизайна.

## Сведения об авторах

Бабышкина Наталья Николаевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной онкологии и иммунологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-0562-3878.

Дронова Татьяна Анатольевна, аспирант, лаборатория молекулярной онкологии и иммунологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-3009-2404.

Замбалова Елена Анатольевна, аспирант, НИ ТГУ; мл. науч. сотрудник, лаборатория биохимии опухолей, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-3698-8455.

Завьялова Марина Викторовна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9429-9813.

Слонимская Елена Михайловна, д-р мед. наук, профессор, зав. отделением общей онкологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-4382-5697.

Чердынцева Надежда Викторовна, д-р биол. наук, профессор, член-корреспондент РАН, зав. лабораторией молекулярной онкологии и иммунологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-1526-9013.

✉ Бабышкина Наталья Николаевна, e-mail: nbabyshkina@mail.ru.

Поступила в редакцию 19.03.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Астения как актуальная проблема здоровья женщин с непсихотическими психическими расстройствами: возрастной аспект

Белокрылова М.Ф.<sup>1,2</sup>, Гарганеева Н.П.<sup>1,2</sup>, Никитина В.Б.<sup>1</sup>, Епанчинцева Е.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ), Российской академии наук  
Россия, 634014, г. Томск, ул. Алеутская, 4

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования** – изучение клинических проявлений астении и субъективного благополучия у женщин с непсихотическими психическими расстройствами в возрасте 40–65 лет.

**Материалы и методы.** Проведено сплошное обследование 204 женщин в возрасте 40–65 лет, поступивших в течение 1 года на лечение по поводу непсихотических психических расстройств. Данные о клинических проявлениях астении дополнялись ранговой оценкой пациентами утомляемости и настроения, определением выраженности астении с помощью субъективной Шкалы оценки астении MFI-20; расчетом менопаузального индекса Купермана; оценкой эмоционального компонента благополучия по Шкале субъективного благополучия. При статистической обработке использовались методы описательной статистики, непараметрической статистики (для сравнения независимых выборок – критерий Краскела – Уоллиса, *U*-критерий Манна – Уитни; для выявления взаимосвязи признаков – корреляционный анализ по Спирмену).

**Результаты.** Структура выявленных расстройств включала невротические, связанные со стрессом, и соматоформные расстройства (F40-49) – 67,6%; 27,0% – органические непсихотические расстройства (F06.4; F06.6); 5,4% – аффективные расстройства (F34.1). Органическое астеническое расстройство было также вторым диагнозом у 69 пациенток. Жалобы на утомляемость предъявили 196 женщин. Пациентки с жалобами на постоянную утомляемость значимо чаще отмечали головную боль, раздражительность, сниженное настроение, пессимистические мысли, сонливость, приступы удушья. Выявленный у них низкий уровень субъективного благополучия коррелировал с более высокими показателями астении по субшкалам MFI-20, кроме субшкалы «Снижение мотивации».

У женщин с астеническим синдромом показатели по всем субшкалам MFI-20 были ниже, чем у пациентов с депрессивным синдромом. Выявлен меньший уровень субъективного благополучия у пациенток с депрессивным, тревожно-депрессивным и тревожно-фобическим синдромами, которые отличались и более выраженными проявлениями астении.

**Заключение.** Сопряженность и взаимодополняемость использованных в исследовании шкал позволяют измерить как астению, так и ассоциированные с ней эмоциональное состояние и субъективное благополучие женщин с непсихотическими психическими расстройствами.

**Ключевые слова:** астения, непсихотические психические расстройства, менопауза, женщины.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Финансирование в рамках темы НИР, номер госрегистрации АААА-А19-119020690013-2.

✉ Белокрылова Маргарита Федоровна, e-mail: belmf@yandex.ru.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали письменное информированное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 99 от 17.04.2017).

Для цитирования: Белокрылова М.Ф., Гарганеева Н.П., Никитина В.Б., Епанчинцева Е.М. Астения как актуальная проблема здоровья женщин с непсихотическими психическими расстройствами: возрастной аспект. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 21–28. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-21-28>.

## Asthenia as a pressing health issue FOR women with non-psychotic mental disorders: age perspective

Belokrylova M.F.<sup>1,2</sup>, Garganeeva N.P.<sup>1,2</sup>, Nikitina V.B.<sup>1</sup>, Epanchintseva E.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC) of the Russian Academy of Sciences*

*4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation*

<sup>2</sup> *Siberian State Medical University (SSMU)*

*2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

### ABSTRACT

The aim of the study was to investigate the clinical phenomena of asthenia and subjective well-being of women aged 40–65 with non-psychotic mental disorders.

**Materials and methods.** A complete examination of 204 women aged 40–65 who received treatment for non-psychotic mental disorders within 1 year has been conducted. The data on the clinical phenomena of asthenia were supplemented by patients' rank assessment of fatigue and mood, determination of asthenia severity using the Multidimensional Fatigue Inventory (MFI-20), a calculation of the Kupperman menopausal index, and an assessment of the emotional component of well-being on the subjective well-being scale. For statistical processing, the methods of descriptive statistics and non-parametric statistics were used (for comparing independent samples – the Kruskal–Wallis criterion and Mann–Whitney *U*-criterion were applied; for identifying the connection of signs – Spearman rank correlation was used).

**Results.** The profile of the identified disorders included neurotic, stress-related and somatoform disorders (F40-49) – 67.7%, organic non-psychotic disorders (F06.4; F06.6) – 27.0%, and affective disorders (F34.1) – 5.4%. The organic asthenic disorder was also the second most frequent diagnosis among 69 patients. 196 women complained of fatigue. Patients with complaints of constant fatigue were significantly more likely to report headache, irritability, low mood, pessimistic thoughts, drowsiness, and asthma attacks. Their low level of subjective well-being correlated with higher rates of asthenia on MFI-20 subscales, except for the “Reduced Motivation” subscale.

The rates for all MFI-20 subscales among women with asthenic syndrome were lower than for patients with the depressive syndrome. A lower level of subjective well-being was revealed in patients with depressive, anxiety-depressive and anxiety-phobic syndromes, which differed by more pronounced manifestations of asthenia.

**Conclusion.** The conjugation and complementarity of the scales used in the study made it possible to measure both asthenia and the emotional state and subjective well-being of women with non-psychotic mental disorders associated with it.

**Key words:** asthenia, non-psychotic mental disorders, menopause, women.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was performed as a part of the R&D topic, registration number AAAA-A19-119020690013-2.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed a written informed consent. The study was approved by the local Ethics Committee at Mental Health Research Institute of Tomsk NRMС (Protocol No. 99 of 17.04.2017).

**For citation:** Belokrylova M.F., Garganeeva N.P., Nikitina V.B., Epanchintseva E.M. Asthenia as a pressing health issue FOR women with non-psychotic mental disorders: age perspective. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 21–28. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-21-28>.

## ВВЕДЕНИЕ

Астения является неспецифическим состоянием, широко представленным как в психиатрической практике, так и в клинике внутренних болезней с частотой в популяции от 12–18%, на приеме у врачей общей практики – 20–25% [1]. Повышенная утомляемость наблюдается при многих психических расстройствах и соматических заболеваниях, выявляемых у женщин в период пери- и постменопаузы. В возрастной промежуток 40–65 лет, определяющий состояние здоровья на последующие годы, важны оценка абсолютного суммарного сердечно-сосудистого риска по Европейской шкале SCORE, выявление заболеваний и состояний, усиливающих риск кардиоваскулярных осложнений. В фокусе внимания исследователей такие факторы риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, как ожирение, артериальная гипертония, дислипидемия, инсулинорезистентность, сахарный диабет и др. [2], изучаются биомаркеры кардиоваскулярных заболеваний [3], влияние тиреоидных гормонов [4].

Отечественные кардиологи констатируют значительные ограничения трудоспособности вследствие «сочетанных кардиометаболических проблем» у женщин к 60 годам, которые становятся причиной прекращения трудовой деятельности [5]. Часто встречающимися у женщин в возрасте 45–60 лет названы депрессивное настроение, физическая и психическая усталость, дискомфорт, связанный с болями в мышцах и суставах [6], у китайских женщин 40–60 лет – физическое и психическое истощение (90,3%), дискомфорт в суставах и мышцах (88,5%), раздражительность (78,1%) и проблемы со сном (77,1%) [7]. Польские исследователи обнаружили у 25,5% из 815 здоровых женщин в возрасте 45–60 лет депрессивные симптомы при заполнении опросника Бека (BDI), у 40,6% – тревогу (по данным STAI), их взаимосвязь с бессонницей, проблемами с концентрацией, усталостью и психомоторным «возбуждением» [8]. В литературе отражены многочисленные исследования распространенности и

структуры депрессивных расстройств у женщин в пери- и постменопаузальный периоды [9], описаны характерные для «климактерической депрессии» признаки [10].

Перекрестные симптомы астении и депрессии, такие как слабость, утомляемость, нарушения сна, нередко затрудняют своевременную диагностику, что усугубляется при наличии сопутствующих заболеваний внутренних органов [11]. Психоэмоциональные нарушения, обнаруживаемые у женщин в «период менопаузального перехода» [12] и в постменопаузу, в большинстве случаев сопряжены с симптоматикой коморбидных заболеваний внутренних органов [13] и психопатологическими расстройствами, обусловленными преодолением влияния психосоциальных факторов. Научные работы, реализуемые в данном направлении, ориентированы на восстановление и (или) поддержку энергетических ресурсов женщин, сохранение их работоспособности и улучшение качества жизни.

Цель данного исследования – изучение клинических проявлений астении и субъективного благополучия у женщин с непсихотическими психическими расстройствами в возрасте 40–65 лет.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на базе первого клинического психиатрического отделения клиники НИИ психического здоровья Томского НИМЦ. Было проведено сплошное обследование 204 женщин в возрасте 40–65 лет, поступивших в течение 1 года на лечение по поводу непсихотических психических расстройств и подписавших письменное информированное согласие на участие в исследовании. Верификация диагноза текущего психического расстройства осуществлялась в соответствии с диагностическими критериями МКБ-10. Согласно условиям включения, в группу обследованных вошли пациентки с невротическими, связанными со стрессом, соматоформными расстройствами; органическими непсихотическими расстройствами; аффективными расстройствами (дистимия). Критерии исключения: случаи

верифицированного диагноза шизофрении; наличие признаков деменции; аффективные расстройства (кроме дистимии).

Использовались методы: клинико-психопатологический, физикальный, психологический, клинико-лабораторный, статистический. На каждого пациента заполнялась «Карта комплексной оценки психического и физического здоровья женщины».

Данные о клинических проявлениях астении дополнялись ранговой оценкой пациентами утомляемости и настроения, определением выраженности астении с помощью субъективной Шкалы оценки астении MFI-20 [14]. Результаты отражают пять составляющих (субшкал) астении: общая астения (General Fatigue), физическая астения (Physical Fatigue), пониженная активность (Reduced Activity), снижение мотивации (Reduced Motivation) и психическая астения (Mental Fatigue). Показатели выше 12 баллов по любой из субшкал подтверждали наличие астении; суммарный балл по пяти субшкалам более 60 – клинически выраженную астению.

В ходе исследования проводился сравнительный анализ психопатологических симптомов в группах женщин, разделенных в соответствии с критериями оценки возрастных изменений функционирования гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы (этапы старения репродуктивной системы женщин, согласно критериям STRAW+10 (2011)) [12].

Для количественной оценки выраженности климактерического синдрома осуществляли расчет менопаузального индекса Курпермана (Kurperman H.S., 1953, в модификации Е.В. Уваровой, 1982). Индекс массы тела определяли по формуле: масса тела (кг) / рост (м<sup>2</sup>).

Для измерения эмоционального компонента субъективного благополучия использовалась Шкала субъективного благополучия (Pegudet-Badoux A., Mendelssohn G., Chiche J. (1988) в адаптации М.В. Соколовой (1996)). Среднее значение составляет  $5,5 \pm 2,0$ . Чем выше данный показатель, тем ниже субъективное благополучие испытуемого.

Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica 8.0. Для оценки непараметрических данных при сравнении независимых выборок применялись критерии Краскала – Уоллиса, Манна – Уитни. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей  $Me (Q_1-Q_3)$ . Для выявления взаимосвязи признаков использовался корреляционный анализ по Спирмену ( $R_s$ ). При анализе

таблиц сопряженности применялся критерий Фишера. Критический уровень значимости при проверке гипотез принимался  $p = 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из 204 женщин на момент обследования 109 (53,43%) впервые обратились к психиатру, 45 (22,05%) поступили на лечение повторно, 50 (24,5%) имели три и более госпитализаций в анамнезе. Более половины пациенток (55,39%) (113 из 204) отмечали предшествующие данной госпитализации стрессовые ситуации, касающиеся взаимоотношений с супругами, родителями, детьми или проблем на работе.

Среднее специальное образование имели 58,82% (120 человек), 36,76% (75) – высшее, 3,92% (8) – среднее, 1 человек – неоконченное высшее образование. Были замужем 108 женщин (52,94%), одиноки – 88 (43,13%), состояли в отношениях – 8. Продолжали трудовую деятельность 159 человек (77,94%). Из 204 женщин 48 (57,14%) были в периоде постменопаузы. Структура непсихотических психических расстройств в общей группе включала: 47,5% (97 человек) – расстройства адаптации (F43); 27,0% (55) – органические непсихотические расстройства (F06.4; F06.6); 18,6% (38) – другие тревожные расстройства (F41); 5,4% (11) – аффективные расстройства (F34.1); 1,5% (3) – соматоформные расстройства (F45). Вторым диагнозом у 49 женщин с расстройством адаптации и 20 с тревожными расстройствами было органическое астеническое расстройство. Общее число случаев органических расстройств составило 60,8% (124 из 204 женщин). Сопутствующие заболевания внутренних органов: гипертоническая болезнь (преимущественно II стадии) – 75,98% (155/204), болезни щитовидной железы (чаще хронический тиреоидит) – 48,5% (99), болезни желчного пузыря, желчевыводящих путей и поджелудочной железы – 39,7% (81), болезни суставов (остеоартрозы) – 35,8% (73), болезни пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки – 20,1% (41), синдром раздраженного кишечника – 14,7% (30), болезни печени – 6,4% (13). Обнаружена высокая сочетаемость гипертонической болезни с метаболическими нарушениями углеводного и жирового обменов, сахарный диабет 2-го типа – 5,4% (11), нарушение толерантности к глюкозе – 12,3% (25), ожирение – 37,3% (76) и др.

Жалобы на утомляемость предъявили 196 женщин (96,1%). Головные боли наблюдались в 74,5% случаев (152 пациентки), головокружение – в 60,8% (124), нарушения сна – в 82,4% (168), сон-

ливость – в 48,0% (98). Жалобы на нарушения внимания и памяти составили 51,0% (104), на изменчивость настроения, сниженное настроение – 74,5% (152), пессимистические мысли – 41,2% (84), «приливы жара» – 43,6% (89), приступы удушья – 18,6% (38), повышенную возбудимость, раздражительность – 58,8% (120).

Не выявлено значимых различий в выраженности утомляемости между группами работающих и неработающих, замужних и одиноких, с первичной или повторными госпитализациями, с наличием или отсутствием менопаузы. Выраженность утомляемости не зависела от наличия или отсутствия гипертонической болезни. Не выявлено корреляций между степенью выраженности утомляемости и возрастом на момент обследования, возрастом наступления менопаузы, длительностью менопаузы, индексом массы тела.

При ранжировании выраженности утомляемости 8 женщин (средний возраст 55,0 (48,5–58,0) лет) отрицали наличие данного симптома (группа 0); 32 (53,0 (48,0–56,5) лет) отмечали периодически возникающие состояния утомляемости (группа 1); 80 пациенток (52,0 (45,5–57,0) лет) – часто ощущаемую повышенную утомляемость (группа 2); 84 (52,0 (45,5–57,0) лет) жаловались на постоянную, выраженную утомляемость (группа 3).

Среди множества имеющихся симптомов в клинической картине текущего состояния у пациенток межгрупповые различия по выраженности утомляемости были обнаружены в зависимости от наличия (отсутствия) головной боли ( $\chi^2 = 13,98$ ;  $p = 0,002932$ ). На постоянную утомляемость чаще жаловались пациентки с головной болью ( $F = 3,245$ ;  $p = 0,000$ ). В группе 1 реже встречались жалобы на головную боль (различия с группой 2 подтверждены  $\chi^2 = 5,78$ ;  $p = 0,016204$ ; с группой 3 –  $\chi^2 = 7,37$ ;  $p = 0,006615$ ) и пессимистические мысли (соответственно  $\chi^2 = 6,34$ ;  $p = 0,042084$ ; и  $\chi^2 = 11,49$ ;  $p = 0,003204$ ). Выявлены значимые различия между группами 1 и 3 по частоте жалоб на приступы удушья ( $\chi^2 = 5,26$ ;  $p = 0,021827$ ;  $F = 6,555$ ;  $p = 0,000$ ), сонливость ( $\chi^2 = 18,33$ ;  $p = 0,000019$ ,  $F = 19,378$ ;  $p = 0,000$ ), сниженное настроение ( $\chi^2 = 11,38$ ;  $p = 0,009859$ ), которые также реже встречались в группе 1. По частоте нарушений сна различий между группами не наблюдалось. В группах 2 и 3 частота жалоб на головную боль, снижение настроения, пессимистические мысли, приливы жара и ряд других симптомов не различалась. Но были выявлены различия по частоте приступов удушья ( $\chi^2 = 7,27$ ;  $p = 0,006999$ ;  $F = 7,622$ ;  $p = 0,000$ ),

повышенной возбудимости, раздражительности ( $\chi^2 = 6,18$ ;  $p = 0,012906$ ;  $F = 6,260$ ;  $p = 0,000$ ), сонливости ( $\chi^2 = 13,96$ ;  $p = 0,000187$ ;  $F = 14,372$ ;  $p = 0,000$ ), которые наблюдались чаще в группе 3.

Таким образом, пациенты с жалобами на постоянную утомляемость (группа 3) чаще обнаруживали раздражительность, повышенную возбудимость, сниженное настроение, пессимистические мысли, сонливость, приступы удушья.

Сравнительный анализ показателей субъективного благополучия выявил значимые различия между группой 0 (3,5 (2,0–5,0) баллов) и группами 1 (6,0 (4,0–7,5) баллов), 2 (6,0 (5,0–7,0) баллов) и 3 (7,0 (6,0–8,0) баллов), что подтверждает эмоциональное благополучие пациенток, не испытывающих утомляемости ( $p_{0-1} = 0,019645$ ;  $p_{0-2} = 0,004650$ ;  $p_{0-3} = 0,000222$ ). Значимые различия также определены между группами 1 и 3 ( $p = 0,007481$ ), 2 и 3 ( $p = 0,009579$ ) при отсутствии различий между группами 1 и 2, что косвенно свидетельствует о сходном влиянии на уровень субъективного благополучия «периодически» и «часто» возникающих состояний утомляемости (вероятно, лингвистически недостаточно дифференцируемых пациентками при заполнении опросника). В соответствии с интерпретацией результатов по Шкале субъективного благополучия, более высокие показатели в группе 3 подтверждают низкий уровень субъективного благополучия пациенток с жалобами на постоянную утомляемость.

Обнаружена положительная корреляционная связь показателей по Шкале субъективного благополучия и значения менопаузального индекса ( $R_s = 0,37$ ;  $p = 0,000000$ ), отражающая снижение субъективного благополучия женщин по мере увеличения менопаузального индекса. Выявлены различия между группами 0, 1, 2 и 3. В таблице представлены значения менопаузального индекса в группах пациенток с непсихотическими психическими расстройствами в возрасте 40–65 лет с различной выраженностью утомляемости.

При значениях менопаузального индекса 35–58 баллов, которые отмечались у женщин в группах 2 и 3, можно было говорить о средней степени выраженности климактерического синдрома, преобладающими были «вегетативные нарушения».

Выявлена прямая корреляционная связь между показателями по субъективной Шкале оценки астении MFI-20 (далее – MFI-20) и Шкале субъективного благополучия в группе 204 женщин: чем сильнее выражена астения, тем ниже субъективное благополучие пациентки.

Таблица

Значения менопаузального индекса в группах женщин в возрасте 40–65 лет с различной выраженностью утомляемости					
Группа	<i>n</i>	Менопаузальный индекс, <i>Me</i> ( $Q_1-Q_3$ )	<i>p</i>	<i>U</i>	<i>Z</i>
0	8	16,0 (13,0–25,0)	(0–1) 0,067869	74,00000	–1,82588
			(0–2) 0,005692	129,500	–2,76503
			(0–3) 0,000432	82,00000	–3,51964
1	32	23,5 (21,0–29,0)	(1–2) 0,000134	687,00000	–3,81932
			(1–3) 0,000000	334,50000	–6,23576
2	80	31,0 (25,0–37,0)	(2–3) 0,000004	1957,500	–4,61389
3	84	38,0 (31,5–44,0)			

Примечание. В скобках – группы (0, 1, 2, 3), между значениями в которых указан уровень статистической значимости различий *p*.

Были сопоставлены показатели субшкал MFI-20 и предъявляемые жалобы на утомляемость. Получены статистически значимые корреляции в зависимости от выраженности утомляемости по всем субшкалам, наиболее существенные по суммарному показателю астении ( $R_s = 0,47$ ;  $p < 0,001$ ) и субшкале «Общая астения» ( $R_s = 0,53$ ;  $p < 0,001$ ). В частности, определены средние суммарные показатели астении по MFI-20, составившие в группе 0 36,5 (31,0–41,5) баллов, в группе 1 – 54,0 (48,0–62,0), в группе 2 – 57,0 (49,0–65,0), в группе 3 – 66,0 (59,0–72,0) баллов.

Полученные количественные показатели астении подтвердили отсутствие астении у пациентов в группе 0. В группе 1 наибольшая выраженность астении наблюдалась по субшкале «Общая астения» (усталость). В группе 2 показатели выше 12 баллов отмечены по субшкалам «Общая астения», «Физическая астения» (слабость, в том числе в мышцах, конечностях, усталость, желание отдохнуть), «Пониженная активность». В группе 3 наряду с перечисленными выше получены высокие показатели по субшкале «Психическая астения» (трудности удержания внимания, ухудшение сообразительности и памяти). Во всех группах не отмечено повышения показателей по субшкале «Снижение мотивации», что косвенно свидетельствует о наличии у пациенток планов, желания их реализовывать и получать удовольствие от выполненных дел.

Как оказалось, субъективно оцениваемое от неустойчивости до снижения настроение коррелировало со всеми субшкалами MFI-20. Пациентки, не предъявлявшие жалоб на настроение ( $n = 52$ ), имели низкие показатели по субшкалам по сравнению с остальными женщинами. Значимые различия выявлены между показателями у пациенток, отметивших неустойчивость, изменчивость настроения в течение суток ( $n = 77$ ), и женщин с жалобами на сниженное настроение ( $n = 64$ ) по суммарному уровню астении, по субшкалам

«Пониженная активность» и «Сниженная мотивация», а также пациенток, оценивших свое настроение как «полная апатия» ( $n = 11$ ), по субшкалам «Физическая астения» и «Сниженная мотивация». При этом были определены максимальная выраженность общей, физической, суммарной астении по Шкале MFI-20 и снижение активности у женщин с жалобами на сниженное настроение и апатию. Их же отличали превышающие 12 баллов значения по субшкале «Снижение мотивации», большая частота повышенной возбудимости, раздражительности и сонливости в течение дня, несмотря на отсутствие различий по частоте нарушений сна. Особенностью психического состояния пациенток с жалобами на сниженное настроение в отличие от женщин без таких жалоб было преобладание тревожно-депрессивного (44,0 против 15,4%) и депрессивного (13,3 против 3,9%) синдромов ( $\chi^2 = 21,72$ ;  $p = 0,000228$ ), преимущественно в рамках расстройства адаптации.

При проведении сравнительного анализа уровня астении по субшкалам MFI-20 у пациенток с различными психопатологическими синдромами на момент обследования выявлен ряд значимых различий. Наиболее высокие суммарные показатели астении отмечены у пациенток с ведущими депрессивным (66,0 (61,0–74,0) баллов), тревожно-депрессивным (61,0 (53,0–68,0) баллов) (чем значимо отличались от больных с астеническим синдромом – 55,5 (48,0–65,0) баллов) и тревожно-фобическим (63,0 (53,0–70,0) баллов) синдромами. По данному показателю значимые различия также получены между пациентками с тревожным и депрессивным синдромом ( $p = 0,009441$ ), с депрессивным и тревожно-депрессивным синдромом ( $p = 0,039813$ ). «Общая астения» достигала более высокого уровня, чем другие характеристики астении, независимо от ведущего психопатологического синдрома.

У женщин с астеническим синдромом показатели по всем субшкалам MFI-20 были ниже, чем у пациентов с депрессивным синдромом (во всех случаях  $p < 0,05$ ); а по показателям субшкалы «Пониженная активность» ниже, чем у пациентов с тревожно-депрессивным и тревожно-фобическим синдромами. Между пациентами с тревожным и депрессивным синдромами были выявлены значимые различия по всем субшкалам MFI-20 ( $p < 0,05$ ), кроме субшкалы «Психическая астения». Пациенты с тревожно-депрессивным и тревожно-фобическим синдромами имели более высокие показатели по шкале «Пониженная активность», чем лица с тревожным синдромом. «Физическая астения» была более выраженной у пациентов с депрессивным синдромом (14,0 (13,0–16,0) баллов) по сравнению с больными с тревожно-депрессивным синдромом (12,0 (11,0–15,0) баллов;  $p = 0,008555$ ).

При оценке субъективного благополучия у пациентов с различными психопатологическими синдромами на момент обследования выявлен меньший уровень субъективного благополучия у пациенток с депрессивным, тревожно-депрессивным и тревожно-фобическим синдромами, которые отличались и более выраженными проявлениями астении.

Таким образом, повышенная утомляемость в подавляющем большинстве случаев входит в симптомокомплекс текущего состояния женщин с непсихотическими психическими расстройствами. Как основной симптом, астения часто наблюдается при расстройствах адаптации, невротических и аффективных расстройствах, является неотъемлемым признаком органического астенического расстройства. Высокий удельный вес сопутствующих заболеваний внутренних органов, привносящих в клиническую картину у женщин в период перименопаузы астенические проявления, актуализирует вопросы дифференциальной диагностики и соответствующей терапевтической тактики.

Полученные данные показывают дополнительные возможности использования субъективной Шкалы оценки астении MFI-20 при обследовании пациентов с непсихотическими психическими расстройствами. Субшкала «Снижение мотивации», интактная при оценке различной выраженности астении в субъективных жалобах пациентов, представляет дифференциальный признак, указывающий на наличие сниженного настроения. Чувствительность субшкал MFI-20 к субъективному восприятию пациентками изменчивости собственного настроения, а также выявленные

различия показателей астении в зависимости от ведущего психопатологического синдрома расширяют диапазон психометрического применения Шкалы оценки астении MFI-20. В том числе, когда возникают дифференциально-диагностические трудности в разграничении утомляемости как проявления астении или ресурсного истощения в рамках депрессии невротического уровня.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ в группе женщин с непсихотическими психическими расстройствами позволяет рекомендовать применение наряду с общепринятыми психометрическими шкалами ранговой оценки пациентами утомляемости и настроения, субъективной Шкалы оценки астении MFI-20, Шкалы субъективного благополучия для количественного подтверждения динамики имеющих симптомов в психическом состоянии пациентов. Полученные результаты показали сопряженность и взаимодополняемость данных шкал, измеряющих не только астению, но и ассоциированное с ней эмоциональное состояние и связанное с ними субъективное благополучие пациента.

Своевременное выявление астении у женщин в возрастном диапазоне 40–65 лет с учетом риска сердечно-сосудистых осложнений и взаимосвязи с депрессивными, тревожными расстройствами направлено на профилактику более поздних проявлений и формирования когнитивных расстройств и старческой астении, что входит в перечень основных целевых задач современного профилактического направления и диспансеризации населения в первичном звене здравоохранения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Шакирова И.Н., Дюкова Г.М. Астения – междисциплинарная проблема. *Трудный пациент*. 2012; 10 (5): 14–16.
2. Лопатина О.В., Балан В.Е., Ткачева О.Н., Шарашкина Н.В., Журавель А.С. Факторы женского здоровья с точки зрения старения репродуктивной системы и риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. *Альманах клинической медицины*. 2015; 37: 111–117.
3. Останко В.А., Калачева Т.П., Калюжина Е.В., Лившиц И.К., Шаловой А.А., Черногорюк Г.Э., Беспалова И.Д., Юнусов Р.Ш., Лукашова Л.В., Помогаева А.П., Тепляков А.Т., Калюжин В.В. Биологические маркеры в стратификации риска развития и прогрессирования сердечно-сосудистой патологии: настоящее и будущее. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (4): 264–280. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-4-264-280.
4. Алиев Б.Н. Взаимосвязь уровня тиреоидных гормонов в крови с факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний. *Медицинские новости*. 2018; 11 (290): 51–54.

5. Ильина Л.М., Юренева С.В., Дубровина А.В., Эбзиева З.Х. Влияние менопаузы на работающих женщин: фактор, которому не придается должного значения. *Проблемы репродукции*. 2016; 22 (1): 87–94.
6. Makara-Studzińska M., Kryś-Noszczyka K., Jakiel G. The influence of selected socio-demographic variables on symptoms occurring during the menopause. *Prz. Menopauzalny*. 2015; 14 (1): 20–26. DOI: 10.5114/pm.2015.48637.
7. Chou M.F., Wun Y.T., Pang S.M. Menopausal symptoms and the menopausal rating scale among midlife chinese women in Macau, China. *Women Health*. 2014; 54 (2): 115–126. DOI: 10.1080/03630242.2013.871767.
8. Grochans E., Szkup M., Kotwas A., Kopeć J., Karakiewicz B., Jurczak A. Analysis of sociodemographic, psychological, and genetic factors contributing to depressive symptoms in pre-, peri- and postmenopausal women. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2018; 15 (4): pii E712. DOI: 10.3390/ijerph15040712.
9. Мазо Г.Э., Ганзенко М.А. Депрессии у женщин в период менопаузального перехода. *Психиатрия и психофармакотерапия*. 2016; 18 (6): 30–36.
10. Бохан Н.А., Лукьянова Е.В., Симуткин Г.Г. Депрессивные расстройства у женщин в климактерическом возрасте (обзор зарубежной литературы за 2012–2016 гг.). *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (2): 100–113. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-2-100-113.
11. Гарганеева Н.П., Белокрылова М.Ф., Костин А.К., Кошель А.П., Епанчинцева Е.М., Лебедева В.Ф., Аксенов М.М., Перчаткина О.Э., Карташова И.Г., Рудницкий В.А., Горбацевич Ю.Н., Цыбульская Е.В., Алексеев В.А. Коморбидность ахалазии пищевода, смешанной тревожной и депрессивной реакции у пациентки молодого возраста: проблемы диагностики и лечения. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (2): 290–298. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-2-290-298.
12. Боровкова Е.И. Клинические проявления, диагностика и ведение пациенток в пери- и менопаузе. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2017; 17 (3): 112–117. DOI: 10.17116/rosakush2017173112-117.
13. Таболина А.А. Особенности психопатологических нарушений у женщин в перименопаузе. *Медицинские новости*. 2017; 8: 60–65.
14. Smets E.M., Garssen B., Bonke B., De Haes J.C. The multidimensional fatigue inventory (MFI) psychometric qualities of an instrument to assess fatigue. *J. Psychosom. Res.* 1995; 39 (3): 315–325. DOI: 10.1016/0022-3999(94)00125-0.

## Вклад авторов

Белокрылова М.Ф. – разработка концепции и дизайна, проведение практической части исследования, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации. Гарганеева Н.П. – разработка концепции и дизайна, проведение практической части исследования, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации. Никитина В.Б. – разработка концепции и дизайна, проведение практической части исследования, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации. Епанчинцева Е.М. – проведение практической части исследования.

## Сведения об авторах

Белокрылова Маргарита Федоровна, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение пограничных состояний, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ; профессор, кафедра психиатрии, наркологии и психотерапии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-2497-6684.

Гарганеева Наталья Петровна, д-р мед. наук, профессор, кафедра общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ; врач-терапевт, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-7353-7154.

Никитина Валентина Борисовна, д-р мед. наук, зав. лабораторией клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-1644-770X.

Епанчинцева Елена Макаровна, канд. мед. наук, зав. первым клиническим психиатрическим отделением, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-2974-2441.

(✉) Белокрылова Маргарита Федоровна, e-mail: belmf@yandex.ru.

Поступила в редакцию 19.07.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## **Аффективные расстройства при коморбидности с алкогольной зависимостью: клиничко-динамические особенности, уровень социальной адаптации больных**

**Васильева С.Н.<sup>1</sup>, Симуткин Г.Г.<sup>1</sup>, Счастный Е.Д.<sup>1</sup>, Лебедева Е.В.<sup>1</sup>, Бохан Н.А.<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634014, г. Томск, ул. Алеутская, 4

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634055, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>3</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)  
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

### **РЕЗЮМЕ**

**Цель исследования** – выявление клиничко-динамических характеристик аффективных расстройств (АР) при их коморбидности с алкогольной зависимостью (АЗ).

**Материалы и методы.** Обследованы 65 пациентов с АР – 22 женщины (34%) и 43 (66%) мужчины. Основная группа – 34 пациента с аффективными расстройствами и коморбидной алкогольной зависимостью в возрасте 44,5 лет [36,0; 51,5]. Группа сравнения – 31 пациент с аффективными расстройствами без коморбидной наркологической патологии в возрасте 45 лет [32; 52]. Сравнимые группы были сопоставимы по полу, возрасту и нозологической структуре ( $p > 0,05$ ). В исследовании применялись следующие методы: клиничко-психопатологический, клиничко-катамнестический, психометрический, статистический, а также психометрические шкалы: шкала глобальной клинической оценки CGI, шкала депрессии Гамильтона HDRS-17, шкала тревоги Гамильтона HARS, шкала самооценки социальной адаптации SASS.

**Результаты.** Проведена сравнительная оценка клиничко-динамических характеристик аффективных расстройств и уровня социальной адаптации. Проанализирована хронология возникновения коморбидных аффективных расстройств и алкогольной зависимости.

**Заключение.** Присоединение алкогольной зависимости к аффективным расстройствам ухудшает их клиничко-динамические показатели и уровень социальной адаптации пациентов.

**Ключевые слова:** аффективные расстройства, алкогольная зависимость, коморбидность, клиника, адаптация.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ 19-15-00023 «Клинические особенности и поиск потенциальных биомаркеров коморбидности алкоголизма и аффективных расстройств».

**Соответствие принципам этики.** Все участники исследования подписали информированное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ психического здоровья (протокол № 53 от 01.10.2012).

**Для цитирования:** Васильева С.Н., Симуткин Г.Г., Счастный Е.Д. Аффективные расстройства при коморбидности с алкогольной зависимостью: клиничко-динамические особенности, уровень социальной адаптации больных. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 29–35. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-29-35>.

✉ Васильева Светлана Николаевна, e-mail: vasilievasn@yandex.ru.

## Affective disorders in comorbidity with alcohol addiction: clinical and dynamic features, social adaptation level of patients

Vasilieva S.N.<sup>1</sup>, Simutkin G.G.<sup>1</sup>, Schastnyy E.D.<sup>1</sup>, Lebedeva E.V.<sup>1</sup>, Bokhan N.A.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (TNRMC) of the Russian Academy Sciences 4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

<sup>2</sup> Siberian State Medical University (SSMU) 2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>3</sup> National Research Tomsk State University (NR TSU) 36, Lenin Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

### ABSTRACT

**The aim of the study** was to reveal clinical and dynamic characteristics of affective disorders (AD) in comorbidity with alcohol addiction (AA).

**Materials and methods.** 65 patients with affective disorders [22 women (34%) and 43 men (66%)] were examined. The main group included 34 patients aged 44.5 [36.0; 51.5] with affective disorders and comorbid alcohol addiction. The comparison group included 31 patients aged 45 years [32; 52] with affective disorders without comorbid narcological pathology. Compared groups were matched by sex, age and nosological structure ( $p > 0.05$ ). The following methods were used in the study: clinical and psychopathological, clinical follow-up, psychometric, statistical, as well as these psychometric scales: Clinical Global Impression (CGI), Hamilton Depression Rating Scale (HDRS-17), Hamilton Anxiety Rating Scale (HARS), Social Adaptation Self-evaluation Scale (SASS).

**Results.** The comparative assessment of clinical and dynamic characteristics of affective disorders and social adaptation level was conducted. Chronology of occurrence of comorbid affective disorders and alcohol addiction was analyzed.

**Conclusion.** Addition of alcohol addiction to affective disorders worsens the clinical and dynamic indices and social adaptation level of patients.

**Key words:** affective disorders, alcohol addiction, comorbidity, clinical picture, adaptation.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was supported by the Russian Science Foundation grant 19-15-00023 "Clinical features and the search for potential comorbidity biomarkers of alcoholism and affective disorders".

**Conformity with the principles of ethics.** All participants of the study signed an informed consent. The study was approved by the local Ethics Committee at the Mental Health Research Institute (Protocol No. 53 of 01.10.2012).

**For citation:** Vasilieva S.N., Simutkin G.G., Schastnyy E.D. Affective disorders in comorbidity with alcohol addiction: clinical and dynamic features, social adaptation level of patients. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 29–35. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-29-35>.

## ВВЕДЕНИЕ

Проблема коморбидности психических расстройств остается актуальной и требует дальнейшего изучения, несмотря на огромное количество исследований, посвященных ей [1–4]. Высокий уровень коморбидности аффективных расстройств (АР) с другими психическими расстройствами подтверждается результатами эпидемиологических и клинических исследований [5, 6]. Алкогольную зависимость (АЗ) относят к

одной из наиболее часто встречаемых коморбидных патологий при АР наряду с тревожными расстройствами и расстройствами личности [7–10]. Частота встречаемости зависимости от алкоголя среди пациентов с АР в несколько раз превышает таковую в общей популяции. При АР алкогольная зависимость развивается чаще у мужчин, в то время как у женщин в качестве коморбидной патологии чаще выступают тревожные расстройства [11]. При биполярном аффективном расстройстве (БАР) риск развития АЗ в 6–7 раз

выше, чем в общей популяции, а при депрессии АЗ встречается у 25–40% [12–13].

По результатам анализа данных, собранных из специализированных учреждений восьми европейских стран, среди пациентов с АЗ ( $n = 1767$ ) в возрасте 18–64 лет депрессия выявлялась в 43,2% случаев (95%-й ДИ: 40,7–45,8) [14]. Пациенты с АР нередко используют алкоголь для смягчения симптомов депрессии и тревоги [15]. При наркологической патологии частота расстройств настроения также достигает высокого уровня. Аффективные расстройства и АЗ повышают риск развития друг друга, но по данным отдельных авторов, такая закономерность отмечается лишь у лиц мужского пола [16].

Множество исследований посвящено выявлению патогенетических взаимодействий при коморбидности АЗ и аффективной патологии. Получены результаты, указывающие на общность генетических факторов в развитии обоих расстройств [17], вовлеченность в патогенез одних и тех же нейрогуморальных механизмов. Такие личностные особенности, как алекситимия и социальная тревожность, являются общими психологическими факторами алкоголизма и депрессии [18]. В настоящее время проблема взаимоотношений АР и патологического влечения к алкоголю остается неразрешенной и актуальной.

Известно, что АЗ может формироваться до и после развития аффективной патологии. По некоторым данным, расстройство настроения манифестирует раньше и уже на его фоне формируется АЗ [19]. Коморбидность АР с зависимостью от алкоголя порождает трудности дифференциации, с одной стороны, со сформированной АЗ и симптоматического употребления алкоголя, с другой – депрессивных расстройств (ДР) и вторичной депрессии, обусловленной интоксикацией этанолом или реакцией личности на социальные последствия алкоголизма. Важным дифференциальным критерием первичной депрессии является манифестация ДР до развития алкоголизма.

Аффективные расстройства при коморбидности с АЗ отличаются более частым повторением депрессивных эпизодов (ДЭ), большим числом суицидальных попыток, большей степенью дезадаптации и худшим прогнозом [20, 21]. Литературные данные в отношении влияния коморбидного алкоголизма на эффективность антидепрессивного лечения при ДР неоднозначны. Одни авторы указывают на негативное влияние алкоголизма на результаты лечения депрессии антидепрессантами [22], другие такого влияния не подтверждают [23]. Также злоупотребление алкоголем затрудняет сотрудничество

врача и пациента, снижает комплаентность.

Цель – выявление клинко-динамических характеристик аффективных расстройств при их коморбидности с алкогольной зависимостью. Для достижения цели проведена сравнительная оценка клинко-динамических показателей АР, коморбидных с АЗ и АР, протекающих изолированно.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 65 пациентов с АР в соответствии с МКБ-10 [24] – 22 женщины (34%) и 43 (66%) мужчины. Медиана *Me* возраста пациентов женского пола – 45,5 лет, интерквартильная широта (*MDQ*) – [35; 56], мужского пола – 38 лет [31; 57]. Анализ семейного положения пациентов изучаемой группы выявил значительный удельный вес одиноких пациентов – 39 (60%); вдовых – 9 (14%), состоящих в разводе – 9 (14%), холостых – 8 (12%). В исследуемой группе пациенты с высшим образованием составили 59% ( $n = 38$ ), средним специальным образованием – 20% ( $n = 13$ ), средним образованием – 21% ( $n = 14$ ). В зависимости от АР пациенты изучаемой выборки распределились следующим образом: БААР, текущий ДЭ – 18% ( $n = 12$ ), рекуррентное депрессивное расстройство (РДР) – 42% ( $n = 27$ ), ДЭ – 26% ( $n = 17$ ), дистимия – 14% ( $n = 9$ ).

Исследуемые пациенты были разделены на две группы. В основную группу вошли 34 пациента с АР и коморбидной АЗ (11 женщин и 23 мужчины) в возрасте 44,5 лет [36; 51,5]. Нозологическая структура АР была представлена: БААР – 24% ( $n = 8$ ), РДР – 38% ( $n = 13$ ), ДЭ – 26% ( $n = 9$ ) и дистимией – 12% ( $n = 4$ ). Давность АЗ пациентов составила 8 лет [3,5; 11]. В 60% случаев ( $n = 19$ ) больные в период депрессии меняли манеру потребления спиртных напитков – начинали пить в одиночестве, небольшими порциями. В единичных случаях ( $n = 3$ ) отмечался прием оглушающих доз алкоголя. Основными мотивами употребления алкоголя при развитии депрессивной симптоматики являлись: отвлечься от тягостных мрачных мыслей, заглушить чувство тоски, отключиться от проблем, справиться с тревогой, бессонницей.

Группа сравнения состояла из 31 пациента (11 женщин и 20 мужчин) с АР без коморбидной наркологической патологии, в возрасте 45 лет [32; 52]. АР были представлены следующими нозологиями: БААР – 13% ( $n = 4$ ), РДР – 45% ( $n = 14$ ), ДЭ – 26% ( $n = 8$ ), дистимия – 16% ( $n = 5$ ). Сравнимые группы были сопоставимы по полу, возрасту и нозологической структуре ( $p > 0,05$ ).

В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хель-

синкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (1975) с поправками (2008). Из основных методов исследования применялись: клинико-психопатологический, клинико-катамнестический, психометрический, статистический. В ходе исследования использовались следующие психометрические шкалы: шкала глобальной клинической оценки CGI, шкала депрессии Гамильтона HDRS-17, шкала тревоги Гамильтона HARS. Уровень качества жизни и социального функционирования пациентов в различных сферах жизнедеятельности определялся при помощи шкалы самооценки социальной адаптации (ШССА), разработанной в 1997 г. М. Bosc, A. Dubini, V. Polin. Вопросы, включенные в эту шкалу, направлены на оценку удовлетворенности отдельными сферами жизни (работой, внутрисемейными отношениями и отношениями за пределами семьи, досугом и т.д.) и своим социальным функционированием.

В исследуемых группах оценивались следующие характеристики АР [25]: возраст к началу АР, синдромальный вариант депрессии, показатели суицидального поведения пациентов, количество аффективных эпизодов в год при БАР и РАР, уровень депрессии по HDRS-17, тревоги по HARS, тяжести заболевания по CGI-S. Также были оценены уровень социальной адаптации пациентов по ШССА и хронологическая последовательность развития АР и АЗ.

Статистическая обработка данных проводилась с применением пакета стандартных прикладных программ Statistica v. 8.0 (Stat Soft Inc., США). Для количественных показателей, не отвечающих критериям нормального распределения, вычисляли медиану, интерквартильный размах  $Me [Q_1; Q_3]$ , уровень статистической значимости различий между группами определяли по критериям Манна – Уитни. Анализ качественных признаков проводился через исследование их частот посредством таблиц сопряженности с использованием критерия  $\chi^2$ . При работе с малыми выборками применяли критерий Фишера. Оценку достоверности различий между долями проводили с использованием Z -критерия.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Возраст к началу АР в основной группе составил 28,5 лет [20,0; 39,5], в группе сравнения – 30 лет [26; 40]. Группы по данному показателю не имели статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ). Распределение пациентов исследуемых групп в зависимости от ведущего синдрома депрессии представлено в табл. 1. Межгрупповых различий по синдромальной структуре депрессии не обнаружено ( $p > 0,05$ ).

Таблица 1

Распределение больных основной и контрольной групп в зависимости от синдромального варианта депрессии, n (%)		
Синдромальные варианты депрессии	Основная группа	Группа сравнения
Тревожная	13 (38)	9 (29)
Дисфорическая	14 (41)	8 (26)
Ипохондрическая	3 (9)	4 (13)
Конверсионная	2 (6)	5 (16)
Динамическая	2 (6)	5 (16)
Всего	34 (100)	31 (100)

Далее нами были проанализированы следующие показатели суицидального поведения: наличие суицидальных мыслей в текущем эпизоде и суицидальных попыток в анамнезе. Распределение пациентов в зависимости от наличия в текущем состоянии суицидальных мыслей не имело статистически значимых межгрупповых различий ( $p > 0,05$ ): в основной группе суицидальные мысли присутствовали в клинической картине в 65% случаев ( $n = 22$ ), в группе сравнения – в 48% ( $n = 15$ ). У пациентов основной группы на фоне абстинентного синдрома суицидальные мысли становились наиболее мучительными, нередко приобретали навязчивый характер. Анализ анамнестических и катамнестических данных указал на более частую встречаемость у пациентов основной группы суицидальных попыток в анамнезе: 27 и 6% соответственно ( $p < 0,05$ ). Наиболее значимыми для суицидогенеза в основной группе были не только тягостные депрессивные переживания, но и психотравмирующие обстоятельства, в качестве которых часто выступали социальные последствия алкоголизации.

Оценка количества аффективных эпизодов в год у пациентов с диагнозом РАР и БАР показала, что в основной группе данный показатель оказался выше по сравнению с группой сравнения – 1,5 [0,9; 2,0] и 0,9 [0,7; 1,6] соответственно,  $U = 200,000$ ;  $Z = 2,509$ ,  $p = 0,012$ .

Степень выраженности депрессивной симптоматики по HDRS-17 в группах не имела статистически значимых различий (табл. 2).

Балльная оценка по шкале тревоги Гамильтона у обследованных пациентов показала, что пациентов с высоким уровнем тревоги в основной группе оказалось больше, чем в группе сравнения ( $p < 0,05$ ). При анализе распределения пациентов в зависимости от тяжести заболевания по CGI-S обнаружено, что тяжелое расстройство (6 баллов) в основной группе выявлялось чаще, чем в группе сравнения: 35% ( $n = 12$ ) и 13% ( $n = 4$ ) соответственно ( $p < 0,005$ ).

Шкала	Основная группа			Группа сравнения		
	легкая	умеренная	тяжелая	легкая	умеренная	тяжелая
HDRS-17	2 (5,9)	24 (70,6)	8 (23,5)	4 (12,9)	23 (74,2)	4 (12,9)
HARS	1 (2,9)	10 (29,5)	23 (67,6)#	1(3,2)	17 (54,9)	13 (41,9)

#  $p < 0,05$ .

В зависимости от общего количества баллов по ШССА пациенты сравниваемых групп были разделены на три подгруппы: с плохой социальной адаптацией (0–22 балла), с затрудненной социальной адаптацией (22–35 баллов) и с хорошей социальной адаптацией (35–52 балла). Оценка уровня социальной адаптации исследуемых пациентов в основной и группе сравнения показала, что большую долю составили пациенты с затрудненной и плохой социальной адаптацией (табл. 3).

Таблица 3

Показатель	Основная группа	Группа сравнения
Плохая социальная адаптация	7 (21)	3 (10)
Затрудненная социальная адаптация	23 (68)	17 (55)
Хорошая социальная адаптация	4 (11)	11 (35)#

#  $p < 0,05$ .

При этом в основной группе пациентов с хорошей социальной адаптацией по шкале ШССА оказалось меньше ( $p < 0,05$ ), чем в группе сравнения. Оценка хронологической последовательности возникновения коморбидных расстройств в основной группе показала, что АР в большинстве случаев ( $p < 0,05$ ) предшествовали развитию АЗ в 74% случаев ( $n = 25$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе данных обращает на себя внимание тот факт, что у пациентов с АР как при коморбидности с АЗ, так и без таковой, более чем в половине случаев выявляются тревожный и дисфорический варианты депрессии. По результатам эпидемиологических и клинических исследований распространенность развернутых тревожных расстройств у пациентов с АР и АЗ достигает высоких значений [9, 26, 27]. В нашу выборку пациенты с тревожными расстройствами не включались, а имеющиеся симптомы тревоги были составляющей частью клинической картины АР и АЗ. При этом оценка степени выраженности тревоги в группах выявила более высокий уровень тревоги

у пациентов при сочетании АР с АЗ по сравнению с пациентами с АР без коморбидной АЗ. Возраст пациентов к началу АР при коморбидности с АЗ и без таковой по результатам нашего исследования не имел статистически значимых различий. В литературе встречаются данные о более молодом возрасте манифестации АР при их коморбидности с другими психическими расстройствами [28].

Как известно, АР и АЗ нередко сопровождаются суицидальным поведением [29–32], а их коморбидность приводит к еще большему росту суицидального риска [33]. Полученные нами данные в отношении суицидальных попыток в анамнезе подтвердили, что коморбидность АР с АЗ увеличивает риск суицидального поведения пациентов. Полученные показатели подтверждают литературные данные о негативном влиянии АР и АЗ на социальную адаптацию пациентов. Сочетание этих расстройств приводит к более выраженному снижению данного показателя. У исследуемых нами пациентов в большинстве случаев АР предшествовали развитию АЗ, что согласуется с литературными данными [19]. При этом ряд авторов указывают, что до манифестации АР чаще имеет место злоупотребление алкоголем, но не АЗ [34].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что при АР с коморбидной АЗ по сравнению с АР без алкогольной зависимости чаще возникают обострения аффективной патологии, отмечается более высокий риск суицидального поведения, уровень тревоги и тяжести заболевания. Также пациенты с коморбидностью этих расстройств имеют более худшие показатели социальной адаптации, чем пациенты с «чистыми» АР. В большинстве случаев алкогольная зависимость развивается на фоне АР. Таким образом, алкогольная зависимость при коморбидности с аффективными расстройствами негативно влияет на их клинико-динамические показатели и уровень социальной адаптации пациентов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гуткевич Е.В. Психические расстройства и наследственные заболевания: коморбидность, фенотипы и

- «поле действия гена». *Психическое здоровье*. 2018; 16 (3): 35–37. DOI: 10.25557/2074-014X.2018.03.35-37.
2. Kessler R.C., Sampson N.A., Berglund P., Gruber M.J., Al-Hamzawi A., Andrade L., Bunting B., Demyttenaere K., Florescu S., de Girolamo G., Gureje O., He Y., Hu C., Huang Y., Karam E., Kovess-Masfety V., Lee S., Levinson D., Medina Mora M.E., Moskalewicz J., Nakamura Y., Navarro-Mateu F., Browne M.A., Piazza M., Posada-Villa J., Slade T., Ten Have M., Torres Y., Vilagut G., Xavier M., Zarkov Z., Shahly V., Wilcox M.A. Anxious and non-anxious major depressive disorder in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *Epidemiol Psychiatr. Sci.* 2015; 24 (3): 210–226. DOI: 10.1017/S2045796015000189.
  3. Марусин А.В., Корнетов А.Н., Сваровская М.Г., Вагайцева К.В., Павленюк Е.С., Степанов В.А. Ассоциация генов подверженности к алкоголизму, шизофрении и болезни Альцгеймера с психодиагностическими признаками в популяции русских. *Бюллетень сибирской медицины*. 2016; 15 (5): 83–96. DOI: 10.20538/1682-0363-2016-5-83-96.
  4. Лебедева Е.В., Счастный Е.Д., Симуткин Г.Г., Репин А.Н., Нонка Т.Г. Клиническая характеристика аффективных расстройств и эффективность антидепрессивной терапии у больных хронической ишемической болезнью сердца. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (4): 85–93. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-4-85-93.
  5. Hollocks M.J., Lerh J.W., Magiati I., Meiser-Stedman R., Brugha T.S. Anxiety and depression in adults with autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis. *Psychol. Med.* 2019; 49 (4): 559–572. DOI: 10.1017/S0033291718002283.
  6. Wu Z., Cao L., Peng D., Mellor D., Zhang C., Li H., Wang Z., Song Y., Li C., Fang Y. The clinical correlates of comorbid anxiety symptoms and syndromal anxiety in patients with major depressive disorder. *Psychiatry Res.* 2018; 269: 251–257. DOI: 10.1016/j.psychres.2018.07.019.
  7. Gómez-Coronado N., Sethi R., Bortolasci C.C., Arancini L., Berk M., Dodd S. A review of the neurobiological underpinning of comorbid substance use and mood disorders. *J. Affect Disord.* 2018; 241: 388–401. DOI: 10.1016/j.jad.2018.08.041.
  8. Prior K., Mills K., Ross J., Teesson M. Substance use disorders comorbid with mood and anxiety disorders in the Australian general population. *Drug Alcohol. Rev.* 2017; 36 (3): 317–324. DOI: 10.1111/dar.12419.
  9. Nabavi B., Mitchell A. J., Nutt D. A Lifetime prevalence of comorbidity between bipolar affective disorder and anxiety disorders: a meta-analysis of 52 Interview-based studies of psychiatric population. *EBioMedicine*. 2015; 2 (10): 1405–1419. DOI: 10.1016/j.ebiom.2015.09.006.
  10. Рощина О.В., Розин А.И., Счастный Е.Д., Бохан Н.А. Клиническое значение коморбидности аффективных расстройств и алкогольной зависимости. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (4): 110–118. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-4-110-118.
  11. Schuch J.J., Roest A.M., Nolen W.A., Penninx B.W., de Jonge P. Gender differences in major depressive disorder: Results from the Netherlands study of depression and anxiety. *J. Affect Disord.* 2014; 156: 156–163. DOI: 10.1016/j.jad.2013.12.011.
  12. Мосолов С.Н., Костюкова Е.Г., Кузавкова М.В. Биполярное аффективное расстройство: диагностика и терапия; под ред. С.Н. Мосолова. М.: МЕДпрессинформ; 2008: 384.
  13. Николишин А.Е., Шейн В.В., Конорева А.Е., Кибитов А.О., Гофман А.Г. Сочетание алкогольной зависимости и депрессии: трудности и особенности терапии. *Современная терапия психических расстройств*. 2017; 3: 7–15. DOI: 10.21265/PSYPH.2017.42.6849.
  14. Rehm J., Allamani A., Aubin H.J., Della Vedova R., Elekes Z., Frick U., Jakubczyk A., Kostogianni N., Landsmane I., Manthey J., Miquel L., Paille F., Pieper L., Probst C., Scafuri F., Shield K.D., Snikere S., Struzzo P., Trapencieris M., Voller F., Wittchen H.U., Gual A., Wojnar M. People with alcohol use disorders in specialized care in eight different European countries. *Alcohol. Alcohol.* 2015; 50 (3): 310–318. DOI: 10.1093/alcalc/aggv009.
  15. Crum R.M., La Flair L., Storr C.L., Green K.M., Stuart E.A., Alvanzo A.A., Lazareck S., Bolton J.M., Robinson J., Sareen J., Mojtabai R. Reports of drinking to self-medicate anxiety symptoms: longitudinal assessment for subgroups of individuals with alcohol dependence. *Depress Anxiety*. 2013; 30 (2): 174–183. DOI: 10.1002/da.22024.
  16. Bulloch A., Lavorato D., Williams J., Patten S. Alcohol consumption and major depression in the general population: the critical importance of dependence. *Depress Anxiety*. 2012; 29 (12): 1058–1064. DOI: 10.1002/da.22001.
  17. Katz R.S., Kravitz H.M. Fibromyalgia, depression and alcoholism: A family history study. *J Rheumatol.* 1996; 23 (1): 149–154.
  18. Кристал Г. Нарушение эмоционального развития при аддиктивном поведении. Психология и лечение зависимого поведения; под ред. С. Даулинга. М.: Класс; 2000: 11–27.
  19. Crum R.M., Mojtabai R., Lazareck S., Bolton J.M., Robinson J., Sareen J., Green K.M., Stuart E.A., La Flair L., Alvanzo A.A., Storr C.L. A prospective assessment of reports of drinking to self-medicate mood symptoms with the incidence and persistence of alcohol dependence. *JAMA Psychiatry*. 2013; 70 (7): 718–726. DOI: 10.1001/jamapsychiatry.2013.1098.
  20. Cardoso B.M., Kauer Sant’Anna M., Dias V.V., Andrezza A.C., Ceresér K.M., Kapczinski F. The impact of comorbid alcohol use disorder in bipolar patients. *Alcohol*. 2008; 42 (6): 451–457. DOI: 10.1016/j.alcohol.2008.05.003.
  21. Simhandl C., Radua J., König B., Amann B.L. Prevalence and impact of comorbid alcohol use disorder in bipolar disorder: A prospective follow-up study. *Aust. N. Z. J. Psychiatry*. 2016; 50 (4): 345–351. DOI: 10.1177/0004867415585855.
  22. Hashimoto E., Tayama M., Ishikawa H., Yamamoto M., Saito T. Influence of comorbid alcohol use disorder on treatment response of depressive patients. *J. Neu-*

- ral. *Transm. (Vienna)*. 2015; 122 (2): 301–306. DOI: 10.1007/s00702-014-1254-7.
23. Iovieno N., Tedeschi E., Bentley K.H., Evins A.E., Papakostas G.I. Antidepressants for major depressive disorder and dysthymic disorder in patients with comorbid alcohol use disorders: a meta-analysis of placebo-controlled randomized trials. *J. Clin. Psychiatry*. 2011; 72 (8): 1144–1151. DOI: 10.4088/JCP.10m06217.
  24. Психические расстройства и расстройства поведения (F00–F99) (Класс V МКБ-10, адаптированный для использования в Российской Федерации). М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации. 1998: 292.
  25. Корнетов Н.А., Скороходова Т.Ф., Решетников В.И., Счастный Е.Д., Симуткин Г.Г. Базисная карта формализованного описания диагностически стандартизированных клинических данных больных с аффективными расстройствами. Томск. 1991: 40.
  26. Terra M.B., Barros H.M., Stein A.T., Figueira I., Jorge M.R., Palermo L.H., Athayde L.D., Gonçalves M.S., Spanemberg L., Possa M.A., Daruy Filho L., Da Silveira D.X. Social anxiety disorder in 300 patients hospitalized for alcoholism in Brazil: High prevalence and undertreatment. *Comprehensive Psychiatry*. 2006; 47 (6): 463–467. DOI: 10.1016/j.comppsy.2006.02.004.
  27. Boschloo L., Vogelzangs N., Smit J.H., van den Brink W., Veltman D.J., Beekman A.T., Penninx B.W. Comorbidity and risk indicators for alcohol use disorders among persons with anxiety and/or depressive disorders: findings from the Netherlands Study of Depression and Anxiety (NESDA). *J. Affect Disord.* 2011; 131; (1–3): 233–242. DOI: 10.1016/j.jad.2010.12.014.
  28. Joslyn C., Hawes D.J., Hunt C., Mitchell P.B. Is age of onset associated with severity, prognosis, and clinical features in bipolar disorder? A meta-analytic review. *Bipolar Disord.* 2016; 18 (5): 389–403. DOI: 10.1111/bdi.12419.
  29. Orui M., Kawakami N., Iwata N., Takeshima T., Fukao A. Lifetime prevalence of mental disorders and its relationship to suicidal ideation in a Japanese rural community with high suicide and alcohol consumption rates. *Environ Health Prev. Med.* 2011; 16 (6): 384–389. DOI: 10.1007/s12199-011-0209-y.
  30. Morin J., Wiktorsson S., Marlow T., Olesen P.J., Skoog I., Waern M. Alcohol use disorder in elderly suicide attempters: a comparison study. *Am. J. Geriatr. Psychiatry*. 2013; 21 (2): 196–203. DOI: 10.1016/j.jagp.2012.10.020.
  31. Лебедева Е.В., Симуткин Г.Г., Счастный Е.Д., Репин А.Н., Сергиенко Т.Н. Особенности тревожно-депрессивных расстройств и суицидального поведения у пациентов пожилого и старческого возраста с хронической ишемической болезнью сердца. *Суицидология*. 2014; 5 (5): 69–76.
  32. Васильева С.Н., Симуткин Г.Г., Счастный Е.Д., Иванова С.А., Бохан Н.А. Суицидальное поведение больных биполярным аффективным расстройством при коморбидных психических заболеваниях. *Суицидология*. 2018; 9 (3): 86–92. DOI: 10.32878/suiciderus.18-09-03(32)-86-92.
  33. Oquendo M.A., Currier D., Liu S., Hasin D., Grant B., Blanco C. Increased risk for suicidal behavior in comorbid bipolar disorder and alcohol use disorders: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions (NESARC). *J. Clin. Psychiatry*. 2010; 71 (7): 902–909. DOI: 10.4088/JCP.09m05198gry.
  34. Falk D.E., Yi H.Y., Hilton M.E. Age of onset and temporal sequencing of lifetime DSM-IV alcohol use disorders relative to comorbid mood and anxiety disorders. *Drug Alcohol Depend.* 2008; 94 (1-3): 234–245. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2007.11.022.

## Вклад авторов

Васильева С.Н., Лебедева Е.В. – проведение исследования, статистический анализ и интерпретация данных. Симуткин Г.Г. – разработка концепции и дизайна исследования, обоснование рукописи. Счастный Е.Д. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Бохан Н.А. – окончательное утверждение рукописи для публикации.

## Сведения об авторах

Васильева Светлана Николаевна, канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение аффективных состояний, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-0939-0856.

Симуткин Герман Геннадьевич, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение аффективных состояний, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-9813-3789.

Счастный Евгений Дмитриевич, д-р мед. наук, профессор, зав. отделением аффективных состояний, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-2148-297X.

Лебедева Елена Владимировна, канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение аффективных состояний, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-6117-6454.

Бохан Николай Александрович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор НИИ психического здоровья, ТНИМЦ РАН; зав. кафедрой психиатрии, наркологии и психотерапии, СибГМУ; кафедра психотерапии и психологического консультирования, НИ ТГУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-1052-855X.

✉ Васильева Светлана Николаевна, e-mail: vasilievasn@yandex.ru.

Поступила в редакцию 12.12.2018

Подписана в печать 25.12.2019

## Системные гемостатические эффекты фибрин-мономера при ингибировании агрегационной функции тромбоцитов в эксперименте

Вдовин В.М.<sup>1,3</sup>, Момот А.П.<sup>2,3</sup>, Орехов Д.А.<sup>4</sup>, Толстокоров И.Г.<sup>5</sup>, Лычёва Н.А.<sup>3</sup>, Шевченко В.О.<sup>5</sup>, Шахматов И.И.<sup>1,3</sup>, Красюкова В.О.<sup>1</sup>, Фохт Э.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Алтайский государственный медицинский университет (АГМУ)

Россия, 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40

<sup>2</sup> Алтайский филиал Национального медицинского исследовательского центра гематологии

Россия, 656045, г. Барнаул, ул. Ляпидевского, 1/2

<sup>3</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) физиологии и фундаментальной медицины

Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4

<sup>4</sup> Алтайский краевой кардиологический диспансер

Россия, 656055, г. Барнаул, ул. Малахова, 46

<sup>5</sup> ООО КДЦ «Добрый доктор»

Россия, 656006, г. Барнаул, ул. Балтийская, 4а

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Изучить гемостатические эффекты фибрин-мономера (ФМ) при посттравматическом паренхиматозном кровотечении на фоне фармакологически обусловленного угнетения агрегационной функции тромбоцитов.

**Материалы и методы.** В экспериментах *in vivo* на кроликах-самцах оценивали гемостатические эффекты фибрин-мономера (0,25 мг/кг) в сравнении с транексамовой кислотой (ТК) (15 мг/кг) при посттравматическом паренхиматозном кровотечении на фоне предварительного угнетения агрегационной функции тромбоцитов ацетилсалициловой кислотой (2,0 мг/кг) и клопидогрелем (8,0 мг/кг). Оценивали объем и темп кровопотери, а также показатели системы гемостаза.

**Результаты.** Установлено, что ФМ в сравнении с плацебо при внутривенном введении за 1 ч до травмы способен профилактировать тяжелое кровотечение, связанное с приемом антиагрегантов. Объем кровопотери после введения ФМ снижался по медиане в 6,0 раз, темп кровопотери – в 5,9 раза, а при использовании ТК – в 2,4 ( $P_{\text{ФМ-ТК}} < 0,02$ ) и 4,8 раза соответственно. Гемостатические эффекты ТК реализовывались при смещении гемостатического равновесия в сторону усиления фибринообразования (увеличение уровня D-димера в плазме крови). Применение ФМ не сопровождалось сколько-нибудь значимыми изменениями в системе свертывания крови.

**Заключение.** Фибрин-мономер в дозе 0,25 мг/кг способен при внутривенном введении профилактировать тяжелое посттравматическое паренхиматозное кровотечение, вызываемое сочетанным приемом препаратов, обладающих различными механизмами антиагрегантного действия. Механизм гемостатических эффектов, связанных с ФМ, в настоящее время изучается.

**Ключевые слова.** Фибрин-мономер, ацетилсалициловая кислота, клопидогрел, транексамовая кислота, гемостатический эффект.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено за счет средств гранта РФФИ (№ 18-415-220001), при финансовой поддержке ООО фирмы «Технология-Стандарт» и ФГБОУ ВО АГМУ МЗ России.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом АГМУ (протокол № 12 от 12.11.2015 г.), проводили в соответствии с Директивой 86/609/ЕЕС, Хельсинкской декларацией и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Для цитирования: Вдовин В.М., Момот А.П., Орехов Д.А., Толстокоров И.Г., Лычёва Н.А., Шевченко В.О., Шахматов И.И., Красюкова В.О., Фогт Э.В. Системные гемостатические эффекты фибрин-мономера при ингибировании агрегационной функции тромбоцитов в эксперименте. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 36–42. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-36-42>.

## Experimental study of systemic hemostatic effects of fibrin monomer in inhibition of platelet aggregation function

Vdovin V.M.<sup>1,3</sup>, Momot A.P.<sup>2,3</sup>, Orekhov D.A.<sup>4</sup>, Tolstokorov I.G.<sup>5</sup>, Lycheva N.A.<sup>3</sup>, Shevchenko V.O.<sup>5</sup>, Shakhmatov I.I.<sup>1,3</sup>, Krasuykova V.O.<sup>1</sup>, Fogt E.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Altai State Medical University (ASMU)  
40, Lenina Av., Barnaul, 656038, Russian Federation

<sup>2</sup> Altai Branch of National Research Center for Hematology  
1/2, Lyapidevskogo Str., Barnaul, 656045, Russian Federation

<sup>3</sup> Research Institute of Physiology and Fundamental Medicine  
4, Timakova Str., Novosibirsk, 630117, Russian Federation

<sup>4</sup> Altai Regional Cardiology Health Center  
46, Malakhova Str., Barnaul, 656055, Russian Federation

<sup>5</sup> Consulting Diagnostic Center «Dobryi Doktor» Ltd.  
4a, Baltiyskaya Str., Barnaul, 656006, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** The study objective was to examine fibrin monomer hemostatic effects in post-traumatic parenchymal hemorrhage in the setting of pharmacologically associated platelet aggregation inhibition.

**Materials and methods.** In the in vivo experimental study on male rabbits, the hemostatic effects of fibrin monomer (FM) (0.25 mg/kg) were evaluated in comparison with tranexamic acid (TA) (15 mg/kg) in post-traumatic parenchymal hemorrhage against the background of preliminary inhibition of platelet aggregation function with acetylsalicylic acid (2.0 mg/kg) and clopidogrel (8.0 mg/kg). Volume and rate of blood loss were estimated, as well as the parameters of the hemostatic system.

**Results.** It has been established that FM versus placebo when administered intravenously 1 hour before the injury can prevent severe bleeding associated with taking antiplatelet agents. The volume of blood loss after FM administration decreased in median by 6.0 times, the rate of blood loss – by 5.9 times, and when using TA – by 2.4 ( $P_{FM-TA} < 0.02$ ) and 4.8 times respectively. The hemostatic effects of TA were realized when the hemostatic balance was shifted towards the increased fibrin formation (an increase in the level of D-dimer in the blood plasma). The use of FM was not accompanied by any significant changes in the blood coagulation system.

**Conclusion.** The fibrin monomer at a dose of 0.25 mg/kg i.v. is capable of preventing severe post-traumatic parenchymal bleeding caused by the combined use of drugs with different antiplatelet action. The phenomenon is not completely clear and needs to be analyzed in further research. The mechanism of hemostatic effects associated with FM is currently being studied.

**Key words:** fibrin monomer, acetylsalicylic acid, clopidogrel, tranexamic acid, hemostatic effect.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was supported by a grant from the Russian Foundation for Basic Research (No. 18-415-220001), «Technology-Standard» Ltd., Altai State Medical University.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee under Altai State Medical University (ASMU) (Protocol No. 12 of 12.11.2015).

For citation: Vdovin V.M., Momot A.P., Orekhov D.A., Tolstokorov I.G., Lycheva N.A., Shevchenko V.O., Shakhmatov I.I., Krasnyukova V.O., Fogt E.V. Experimental study of THE systemic hemostatic effects of fibrin monomer in inhibition of platelet aggregation. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 36–42. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-36-42>.

## ВВЕДЕНИЕ

Геморрагический синдром при травмах, обширных операциях и других ятрогенных воздействиях может представлять собой угрозу для жизни и может требовать проведения экстренных мероприятий для сохранения жизни и здоровья пациента [1]. В частности, купирование кровотечений, ассоциированных с интенсивным лекарственным подавлением агрегации тромбоцитов, способно быть серьезной проблемой, в том числе у кардиологических больных [2]. В последнем случае для снижения кровопотери рекомендованы различные терапевтические подходы, в число которых относят трансфузии донорских тромбоцитов, применение десмопрессина (способствующего экспрессии эндотелиоцитами фактора Виллебранда) и (или) прием транексамовой кислоты, ингибирующей фибринолитические реакции [3–5].

В ранее проведенных исследованиях в нашей лаборатории был установлен феномен выраженного гемостатического действия малых доз фибрин-мономера (ФМ) (дез-ААВВ-фибриногена)

при нанесении дозированной травмы печени в условиях *in vivo* [6, 7]. Этот эффект сохранялся и при внутрисосудистом ингибировании тромбина, индуцированном пероральным приемом дабигатрана этексилата [8]. Отметим также, что ФМ в отмеченных выше экспериментах применялся внутривенно в дозе 0,25 мг/кг, что соответствует его физиологическому уровню в плазме крови здоровых людей (менее 7,8 мкг/мл) [9].

Цель данного исследования – изучить гемостатические эффекты фибрин-мономера при посттравматическом паренхиматозном кровотечении на фоне фармакологически обусловленного угнетения агрегационной функции тромбоцитов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 49 здоровых кроликах-самцах породы шиншилла массой 3,0–4,5 кг, содержащихся в стандартных условиях вивария. Из животных методом блочной рандомизации были сформированы четыре группы (рис. 1).

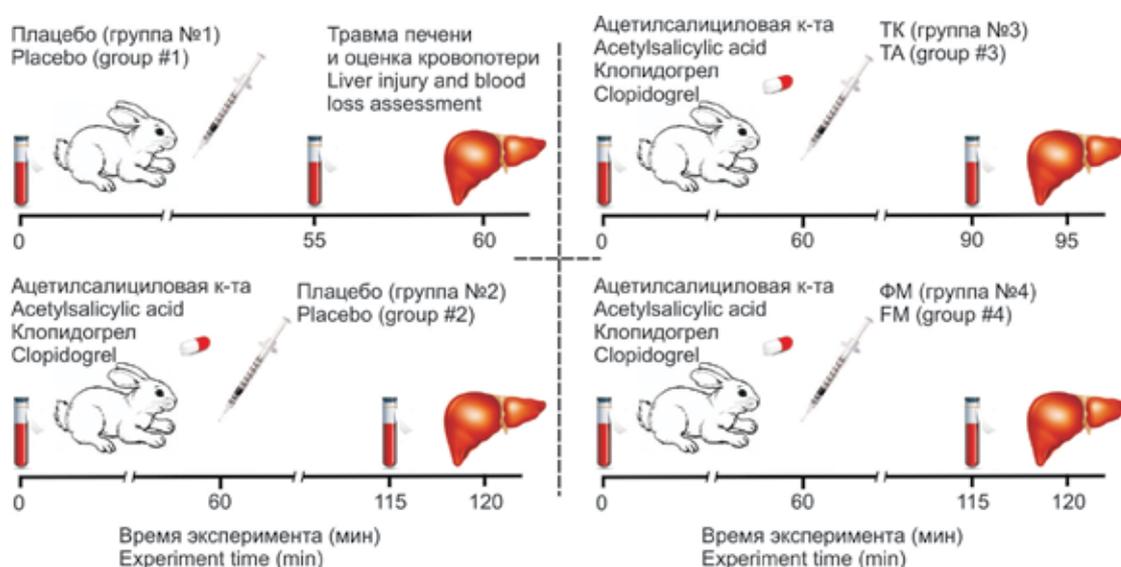


Рис. 1. Дизайн исследований с дозированной травмой печени:

ТК – транексамовая кислота; ФМ – фибрин-мономер;



- забор крови для оценки гемостаза;



- введение препарата.

Животным группы № 1 ( $n = 11$ ) в краевую вену уха при помощи иглы-катетера Cathy (фирма НМД) вводили плацебо в объеме 0,5 мл (4,0 М раствор мочевины, соответствующий ее концентрации в растворе ФМ). Затем через 1 ч проводили лапаротомию и наносили стандартную травму печени в соответствии с имеющимися рекомендациями [10] под общей анестезией телазолом (компания «Зэотис», Испания). Животным групп № 2, 3, 4 для подавления агрегации тромбоцитов в начале эксперимента *per os* вводилась смесь растворенных в воде ацетилсалициловой кислоты (тромбо АСС, Ланнахер Хайльмиттель ГмбХ, Австрия) в дозе 2,0 мг/кг и клопидогреля (плавикс, Санофи Винтроп Индустрия, Франция) в дозе 8,0 мг/кг.

Через час после приема указанных антиагрегантов животным внутривенно вводили растворы следующих препаратов: в группе № 2 ( $n = 10$ ) – плацебо, в группе № 3 ( $n = 18$ ) – транексамовой кислоты (транексам, Московский эндокринный завод, Россия) в дозе 15 мг/кг, в группе № 4 ( $n = 10$ ) – ФМ в дозе 0,25 мг/кг. Применяемый в эксперименте препарат ФМ был получен по ранее зарегистрированной технологии [11]. Спустя 1 ч после введения плацебо и ФМ животным групп № 2 и 4, а животным группы № 3 – через 30 мин, выполняли стандартную травму печени под общей анестезией. После нанесения травмы при помощи марлевых салфеток оценивали характер паренхиматозного кровотечения – по объему кровопотери в % от расчетного объема циркулирующей крови (% ОЦК) с учетом массы тела животного, а также по темпу кровопотери в единицу времени (мг/с) [10]. Для оценки системы гемостаза кровь получали после надреза краевой вены уха (самостоятельно) дважды – перед введением препаратов и нанесением травмы печени (рис. 1). Кровь помещали в пробирки с соответствующими стабилизаторами: для подсчета числа тромбоцитов – с калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты (AQUISEL® КЗЕ/EDТА 3К, фирма Aquisel S.L., Испания) в объеме 0,25 мл, для изучения других параметров – в полистироловые центрифужные градуированные с полихлорвиниловыми крышками, содержащими 0,11 М (3,8%) раствор цитрата натрия (соотношение крови и стабилизатора 9:1) в объеме 5,0 мл. Получение богатой и обедненной тромбоцитами плазмы крови проводили по общепринятой методике.

Исследование гемокоагуляции предусматривало оценку количества тромбоцитов в венозной крови и их функцию (агрегацию, индуцируемую аденозиндифосфатом динатриевой соли – АДФ,

взятой в концентрации 10 мкМ), активированного парциального тромбопластинового (АПТВ) и протромбинового (ПВ) времени свертывания, а также концентрации фибриногена и уровня D-димера. Результаты оценки АПТВ и ПВ представляли в виде отношения, рассчитанного по формуле:  $\text{Ratio} = \text{BC}_{\text{опыт}} / \text{BC}_{\text{контроль}}$ , где Ratio – отношение;  $\text{BC}_{\text{опыт}}$  – время свертывания в опытной плазме (с);  $\text{BC}_{\text{контроль}}$  – время свертывания в контрольной плазме (с). Число тромбоцитов определяли с помощью гематологического анализатора Drew-3 (Drew Scientific Inc., Англия). Агрегационная функция тромбоцитов оценивалась с использованием агрегометра Chronolog 490-2D (CHRONOLOG Corporation, США), коагулометрические показатели – коагулометра Thrombostat 2 (Behnk Elektronik, Германия) с применением наборов реагентов фирмы «Технология-Стандарт» (Россия), уровень D-димера измеряли при помощи анализатора-рефлектометра Nycocard Rader II и тест-системы Nycocard® D-Dimer (Axis-Shield PoC AS, Норвегия).

Распределение признаков оценивали по критерию Шапиро – Уилка, различия между группами в зависимости от распределения – по  $t$ -критерию Стьюдента,  $U$ -критерию Манна – Уитни, критерию Фишера, корреляцию – по коэффициенту ранговой корреляции Спирмена ( $r_s$ ). Различия считались статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ . Обработка результатов проводилась программой MedCalc Version 17.9.7 (лицензия BU556-P12YT-BBS55-YAH5M-UBE51). Данные представлены в виде медианы, 25- и 75-го перцентилей ( $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе исследования установлена высокая летальность животных в группе № 2 (4 особи из 10), связанной с остановкой сердечно-легочной деятельности на фоне продолжающегося кровотечения. В отличие от этого в других группах летальность отсутствовала (в группах № 1 и 4;  $p_{1-2} = 0,035$ ;  $p_{2-4} = 0,035$ ) или была ниже – в группе № 3 (3 особи из 18),  $p_{2-3} = 0,208$ ).

Гибель животных во 2-й группе была сопоставима с выраженностью кровопотери (рис. 2). Объем кровопотери в группе животных, получивших антиагреганты и плацебо (группа № 2), был в 1,4 раза выше (13,6 [11,3; 22,0]% ОЦК) в сравнении с аналогичным показателем в группе животных, получивших только плацебо (группа № 1) (10,1 [4,1; 13,5]% ОЦК). Вместе с тем темп кровопотери у животных в указанных группах не различался.

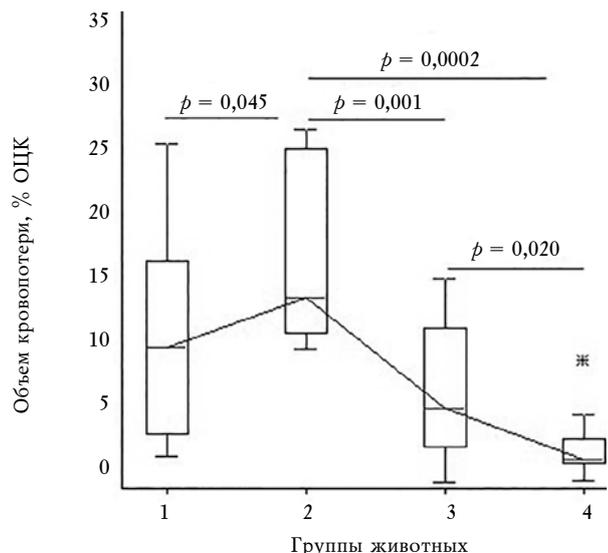


Рис. 2. Параметры кровопотери в экспериментальных группах: *Me* – горизонтальная линия внутри прямоугольника, 2,5- и 97,5-й перцентили – нижний и верхний вертикальные бары

Данные наблюдения свидетельствуют о воспроизведении в группе № 2 геморрагического синдрома, обусловленного двойной антиагрегантной терапией.

Далее было установлено, что объем кровопотери в группах животных, предварительно получавших антиагреганты, после в/в введения ТК (группа № 3) (5,7 [3,1÷10,6]% ОЦК) и ФМ (группа № 4) (2,0 [1,8÷3,2]% ОЦК) оказался, соответственно, в 2,4 раза и 6,0 раз меньше в сравнении с группой № 2 (плацебо). Аналогичные закономерности наблюдались и при оценке темпа кровопотери, который снижался после введения ТК (группа № 3) (6,2 [4,5÷8,3] мг/с) в 4,8 раза и ФМ (группа № 4) (5,0 [4,3÷6,8] мг/с) – в 5,9 раза по сравнению с группой плацебо (группа № 2) (29,9 [11,9÷34,3] мг/с).

Определена положительная связь между объемом и темпом кровопотери у животных, получивших как ТК (группа № 3),  $rS = 0,86$  ( $p = 0,002$ ), так и ФМ (группа № 4),  $rS = 0,79$  ( $p = 0,006$ ), которая отсутствовала в группах плацебо (№ 1, 2).

Наряду с оценкой кровопотери с целью визуализации медикаментозно обусловленной тромбоцитопатии, а также сравнительной оценки последствий применения ТК и ФМ были изучены показатели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов и коагулограммы (таблица).

Таблица

Показатели системы гемостаза у экспериментальных групп на фоне введения антиагрегантов, гемостатиков и плацебо ( <i>Me</i> [ $Q_{25}$ ÷ $Q_{75}$ ])								
Показатель	Группа № 1		Группа № 2		Группа № 3		Группа № 4	
	до (1а)	после (1б)	до (2а)	после (2б)	до (3а)	после (3б)	до (4а)	после (4б)
Число тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	477,5 [405,8 ÷ 621,5]	480,5 [412,3 ÷ 555,0] $p_{1a-1b} = 0,151$	430,5 [413,3 ÷ 479,8]	475,0 [438,5 ÷ 515,3] $p_{2a-2b} = 0,121$	429,5 [373,0 ÷ 504,8]	408,0 [347,3 ÷ 477,5] $p_{3a-3b} = 0,102$	475,5 [468,0 ÷ 561,0]	460,0 [411,5 ÷ 532,8] $p_{4a-4b} = 0,312$
АДФ-индуцированная агрегация, %	20,5 [19,0 ÷ 28,7]	22,0 [19,2 ÷ 31,4] $p_{1a-1b} = 0,598$	18,4 [17,0 ÷ 19,7]	1,3 [0,4 ÷ 6,4] $\Delta_{2a-2b} - 14$ раз (times) $p_{2a-2b} = 0,005$	20,8 [17,4 ÷ 37,6]	6,8 [4,0 ÷ 9,8] $\Delta_{3a-3b} - 3$ раза (times) $p_{3a-3b} = 0,0003$	19,8 [11,7 ÷ 20,8]	1,1 [1,0 ÷ 1,9] $\Delta_{4a-4b} - 18$ раз (times) $p_{4a-4b} = 0,00007$
АПТВ, отношение	1,1 [1,0 ÷ 1,2]	1,1 [0,9 ÷ 1,2] $p_{1a-1b} = 0,248$	1,1 [0,9 ÷ 1,1]	1,0 [0,9 ÷ 1,1] $p_{2a-2b} = 0,110$	0,9 [0,8 ÷ 1,1]	0,9 [0,8 ÷ 1,0] $p_{3a-3b} = 0,124$	1,0 [0,9 ÷ 1,0]	0,9 [0,9 ÷ 1,0] $p_{4a-4b} = 0,614$
ПВ, отношение	1,1 [0,6 ÷ 1,6]	0,9 [0,9 ÷ 1,3] $p_{1a-1b} = 0,476$	1,1 [1,0 ÷ 1,2]	1,1 [1,0 ÷ 1,1] $p_{2a-2b} = 0,645$	1,0 [0,8 ÷ 1,3]	0,9 [0,8 ÷ 1,4] $p_{3a-3b} = 0,458$	1,1 [1,0 ÷ 1,1]	1,0 [1,0 ÷ 1,1] $p_{4a-4b} = 0,251$
Фибриноген, г/л	3,3 [2,8 ÷ 4,4]	3,7 [2,8 ÷ 4,5] $p_{1a-1b} = 0,811$	3,3 [3,0 ÷ 3,5]	3,4 [3,2 ÷ 3,8] $p_{2a-2b} = 0,758$	3,5 [2,9 ÷ 3,9]	3,2 [3,0 ÷ 3,8] $p_{3a-3b} = 0,753$	3,5 [3,2 ÷ 4,1]	3,4 [3,0 ÷ 4,1] $p_{4a-4b} = 0,872$
D-димер, нг/мл	100,0 [100,0 ÷ 100,0]	100,0 [100,0 ÷ 200,0] $p_{1a-1b} = 0,205$	100,0 [100,0 ÷ 175,0]	100,0 [100,0 ÷ 200,0] $p_{2a-2b} = 0,180$	300,0 [200,0 ÷ 400,0]	1000,0 [525,0 ÷ 1350,0] $\Delta_{3a-3b} + 3,3$ раза (times) $p_{3a-3b} = 0,010$	150,0 [100,0 ÷ 275,0]	175,0 [100,0 ÷ 300,0] $p_{4a-4b} = 0,463$

Примечание. АДФ – аденозиндифосфат; АПТВ – активированное парциальное тромбопластиновое время; ПВ – протромбиновое время;  $\Delta$  – разница показателей;  $p$  – достигнутый уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей.

У животных на фоне сочетанного приема антиагрегантов (в группах № 2, 3 и 4) отмечалось угнетение АДФ-обусловленной агрегационной функции тромбоцитов (%) в 3–18 раз, без изменения числа кровяных пластинок, а также без сдвигов со стороны хронометрических показателей коагулограммы и концентрации фибриногена.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в эксперименте результаты указывают на то, что заметные гемостатические эффекты ТК реализовывались на фоне более чем трехкратного (по медиане) увеличения уровня D-димера в плазме крови при сохраняющейся фармакологически обусловленной тромбоцитопатии, что расценивается нами как свидетельство сдвига гемостатического равновесия в сторону усиления фибринообразования. При этом применение ФМ при подавлении функции тромбоцитов не сопровождалось сколько-нибудь значимой активацией свертывания крови, что, однако, находится в противоречии с наблюдаемым системными гемостатическими эффектами (по объему и темпу кровопотери).

Как известно, ацетилсалициловая кислота необратимо угнетает циклооксигеназу-1 тромбоцитов с последующим уменьшением образования тромбоксана А<sub>2</sub>. Клопидогрел, в свою очередь, представляет собой пролекарство и посредством метаболизма в печени превращается в свою активную форму в виде антагониста P2Y<sub>12</sub>-рецепторов тромбоцитов [12]. В случаях использования ФМ мы не наблюдали коррекции сниженной под действием этих антиагрегантов функции тромбоцитов, что в настоящее время не позволяет объяснить механизм отмеченных гемостатических эффектов, связанных с ФМ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фибрин-мономер (дез-ААВВ-фибриноген) в дозе 0,25 мг/кг способен при внутривенном введении профилактировать тяжелое посттравматическое паренхиматозное кровотечение, вызываемое сочетанным приемом препаратов, обладающих различными механизмами антиагрегантного действия. Природа данного явления не вполне ясна и нуждается в расшифровке в ходе дальнейших исследований.

## ЛИТЕРАТУРА

- Rossaint R., Bouillon B., Cerny V., Coats T.J., Duran-teau J., Fernández-Mondéjar E., Filipescu D., Hunt B.J., Komadina R., Nardi G., Neugebauer E.A., Ozier Y., Rid-dez L., Schultz A., Vincent J.L., Spahn D.R. The European guideline on management of major bleeding and coagu-lopathy following trauma: fourth edition. *Crit. Care.* 2016; 20: 100. DOI: 10.1186/s13054-016-1265-x.
- Gaussem P., Martin A.C., Belleville-Rolland T., Helley D., Bachelot-Loza C., Godier A. Antiplatelet agents and transfusion. *Transfus. Clin. Biol.* 2017; 24 (3): 160–165. DOI: 10.1016/j.traccli.2017.05.014.
- Alamelu J., Liesner R. Modern management of severe platelet function disorders. *Br. J. Haematol.* 2010; 149 (6): 813–823. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2010.08191.x.
- Shi J., Ji H., Ren F., Wang G., Xu M., Xue Y., Chen M., Qi J., Li L. Protective effects of tranexamic acid on clopi-dogrel before coronary artery bypass grafting: a multi-center randomized trial. *JAMA Surg.* 2013; 148 (6): 538–547. DOI: 10.1001/jamasurg.2013.1560.
- Zahed R., Mousavi Jazayeri M.H., Naderi A., Naderpo-ur Z., Saeedi M. Topical tranexamic acid compared with anterior nasal packing for treatment of epistaxis in pa-tients taking antiplatelet drugs: randomized controlled trial. *Acad. Emerg. Med.* 2018; 25 (3): 261–266. DOI: 10.1111/acem.13345.
- Вдовин В.М., Момот А.П., Орехов Д.А., Толстокоров И.Г., Шевченко В.О., Красюкова В.О., Шахматов И.И., Лычѐва Н.А., Белозерская Г.Г. Время-зависимые системные гемостатические эффекты фибрин-мономера при дозированной травме печени. *Казанский медицинский журнал.* 2019; 100 (2): 257–263. DOI: 10.17816/КМЖ2019-257.
- Момот А.П., Вдовин В.М., Шахматов И.И., Толстоко-ров И.Г., Орехов Д.А., Шевченко В.О., Лычѐва Н.А., Кудинов А.В., Белозерская Г.Г., Киселев В.И. Систем-ные гемостатические и протромботические эффекты фибрин-мономера в эксперименте при дозированной травме печени. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2019; 39 (1): 6–12. DOI: 10.15372/SSMJ20190101.
- Вдовин В.М., Момот А.П., Красюкова В.О., Толстоко-ров И.Г., Орехов Д.А., Шевченко В.О., Шахматов И.И., Лычѐва Н.А. Системные гемостатические и гемоста-зиологические эффекты фибрин-мономера при прямом ингибировании тромбина в эксперименте. *Российский физиологический журнал.* 2019; 105 (2): 207–2015. DOI: 10.1134/S0869813919020109.
- Kyoung-Jin P., Eui-Hoon K., Hee-Jin K., Sun-Hee K. Eva-luation of the diagnostic performance of fibrin mono-mer in disseminated intravascular coagulation. *Kore-an J. Lab. Med.* 2011; 31 (3): 143–147. DOI: 10.3343/kjlm.2011.31.3.143.
- Миронов А.Н. Руководство по проведению доклини-ческих исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012; 1: 944.
- Момот А.П., Шахматов И.И., Ломаев И.С., Терехов С.С. Способ промышленного получения фибрин-мономера из плазмы крови. Патент РФ № 2522237. 10.07.2014. Бюл. № 19.
- Зиганшин А.У. Новые антиагреганты – блокаторы тромбоцитарных P2-рецепторов. *Казанский меди-цинский журнал.* 2010; 91 (1): 73–79.

## Вклад авторов

Вдовин В.М. – разработка концепции и дизайна, постановка экспериментальной модели, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации. Момот А.П. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации. Орехов Д.А. – постановка экспериментальной модели, анализ и интерпретация данных. Толстокоров И.Г. – постановка экспериментальной модели, анализ и интерпретация данных. Лычёва Н.А. – анализ и интерпретация данных. Шевченко В.О. – постановка экспериментальной модели, анализ и интерпретация данных. Шахматов И.И. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Красюкова В.О. – постановка экспериментальной модели. Фохт Э.В. – постановка экспериментальной модели.

## Сведения об авторах

Вдовин Вячеслав Михайлович, канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой патологической физиологии, АГМУ, г. Барнаул, ст. науч. сотрудник, лаборатория физиологии и патологии гемостаза и гемодинамики, НИИ физиологии и фундаментальной медицины, г. Новосибирск.

Момот Андрей Павлович, д-р мед. наук, профессор, директор Алтайского филиала Национального медицинского исследовательского центра гематологии, г. Барнаул; гл. науч. сотрудник, лаборатория физиологии и патологии гемостаза и гемодинамики, НИИ физиологии и фундаментальной медицины, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-8413-5484.

Орехов Дмитрий Андреевич, хирург, Алтайский краевой кардиологический диспансер, г. Барнаул, Россия. ORCID 0000-0003-0644-6313.

Толстокоров Игорь Геннадьевич, хирург, ООО КДЦ «Добрый доктор», г. Барнаул. ORCID 0000-0001-5406-9191.

Лычёва Наталья Александровна, канд. биол. наук, доцент, мл. науч. сотрудник, лаборатория физиологии и патологии гемостаза и гемодинамики, НИИ физиологии и фундаментальной медицины, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-6488-340X.

Шевченко Валентин Олегович, хирург, ООО КДЦ «Добрый доктор», г. Барнаул. ORCID 0000-0002-3471-3426.

Шахматов Игорь Ильич, д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой нормальной физиологии, АГМУ, г. Барнаул; ст. науч. сотрудник, лаборатория физиологии и патологии гемостаза и гемодинамики, НИИ физиологии и фундаментальной медицины, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-0979-8560.

Красюкова Вероника Олеговна, ассистент, кафедра патологической физиологии, АГМУ, г. Барнаул. ORCID 0000-0001-5752-3003.

Фохт Эдуард Вернерович, лаборант, кафедра нормальной физиологии, АГМУ, г. Барнаул.

(✉) Вдовин Вячеслав Михайлович, erytrab@gmail.com.

Поступила в редакцию 07.06.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Качество жизни при цервикальной дистонии

Дружинина О.А.<sup>1</sup>, Жукова Н.Г.<sup>2</sup>, Шперлинг Л.П.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Городская клиническая поликлиника № 1 (ГКП № 1)  
Россия, 630099, г. Новосибирск, ул. Серебрянниковская, 42

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>3</sup> Областной центр экстрапирамидных заболеваний с кабинетом ботулинотерапии  
Россия, 630099, г. Новосибирск, ул. Серебрянниковская, 42

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Изучить физические и психологические составляющие качества жизни больных, страдающих цервикальной дистонией.

**Материалы и методы.** Обследованы 170 респондентов: 120 пациентов с цервикальной дистонией составили основную группу, 50 человек включены в группу контроля – респонденты с цервикалгиями различного генеза. Диагноз цервикальной дистонии установлен клинически, согласно единым критериям по диагностике и лечению дистонии, принятым в 2011 г. Европейской федерацией неврологических обществ и Обществом двигательных расстройств (European Federation of Neurological Societies / Movement Disorders Society, EFNS / MDS). Болевой синдром в шейном отделе позвоночника у группы контроля был вызван дегенеративным процессом и подтвержден рентгенографическим обследованием и (или) магнитно-резонансной томографией. В рамках проводимого нами исследования определялось качество жизни у мужчин и женщин в обеих группах с помощью опросника SF-36 с изучением параметров физического и психологического благополучия.

**Результаты и заключение.** Установлено достоверно значимое влияние цервикальной дистонии на соматические и психические параметры качества жизни как у мужчин, так и у женщин. Выявлено достоверное снижение всех показателей качества жизни у больных цервикальной дистонией по сравнению с респондентами, не имеющих дистонического гиперкинеза. Цервикальная дистония как хроническое заболевание приводит к психофизиологическому напряжению, что значительно ухудшает качество жизни больных. Выявлены достоверные гендерные внутригрупповые различия: женщины из групп цервикальной дистонии и цервикалгий в большей степени подвержены психологической депривации и снижению физической деятельности, чем мужчины из этих же групп.

**Ключевые слова:** цервикальная дистония, качество жизни, гендерные различия.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

**Соответствие принципам этики.** Все участники исследования подписывали добровольное информированное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (дата заседания 28.11.2016 г. Регистрационный номер – 4943).

**Для цитирования:** Дружинина О.А., Жукова Н.Г., Шперлинг Л.П. Качество жизни при цервикальной дистонии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 43–49. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-36-42>.

✉ Дружинина Оксана Аркадьевна, e-mail: [oxi-novosib@mail.ru](mailto:oxi-novosib@mail.ru).

## Quality of life at cervical dystonia

Druzhinina O.A.<sup>1</sup>, Zhukova N.G.<sup>2</sup>, Shperling L.P.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> City polyclinic № 1

42, Serebrennikovskaya Str., Novosibirsk, 630099, Russian Federation

<sup>2</sup> Siberian State Medical University (SGMU)

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>3</sup> Regional Center for Extrapyramidal Diseases with Botulinum Therapy Room

42, Serebrennikovskaya Str., Novosibirsk, 630099, Russian Federation

### ABSTRACT

**The aim** of the study was to study the physical and psychological components regarding the quality of life of patients with cervical dystonia.

**Material and methods.** 170 respondents were examined. The main group included 120 patients with cervical dystonia, 50 patients were included in the control group, consisting of patients with cervicgia of various genesis. The diagnosis of cervical dystonia met uniform criteria for the diagnosis and treatment of dystonia adopted in 2011 by the European Federation of Neurological Societies and the Movement Disorders Society (European Federation of Neurological Societies / Movement Disorders Society, EFNS / MDS). In the control group, the pain syndrome of the cervical spine was caused by a degenerative process and was confirmed by X-ray examination and/or MRI. As part of our research, we determined the quality of life in men and women in both groups using the SF-36 questionnaire with a study of the parameters of physical and psychological well-being.

**Results and conclusion.** A considerably significant effect of cervical dystonia on the somatic and mental parameters regarding the quality of life in both men and women has been established. Significant decrease in all indicators representing the quality of life in patients with cervical dystonia was revealed compared with respondents without dystonic hyperkineses. As a chronic disease, cervical dystonia leads to psycho-physiological stress, which significantly impairs the quality of life of patients. Significant gender differences were identified: women from the groups of cervical dystonia and cervicgia were more often exposed to psychological deprivation and reduced physical activity than men from the same groups.

**Key words:** cervical dystonia, quality of life, gender differences.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that there is no funding for the study.

**Conformity with the principles of ethics.** All participants of the study signed an informed consent. The study was approved by the Ethics Committee at Siberian State Medical University (date of the meeting: November 28, 2016, registration number – 4943).

**For citation:** Druzhinina O.A., Zhukova N.G., Shperling L.P. Quality of life at cervical dystonia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 43–49. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-43-49>.

## ВВЕДЕНИЕ

Заболелания, приводящие к снижению уровня общего здоровья и социально-профессиональной активности, всегда находятся в центре внимания исследователей и практикующих специалистов. Цервикальная дистония (ЦД) относится к ним. Известно, что ЦД является фокальным вариантом мышечной дистонии и характеризуется насильственными, зачастую мучительными гиперкинезами мышц шейного отдела, формирующими

неестественную установку шеи и (или) головы [1]. Патогенетическая реализация дистонического гиперкинеза до сих пор остается не в полной мере изученной. Современной ведущей гипотезой рассматривается мультифакториальность заболевания, согласно которой генетическая предропределенность реализуется под воздействием внешних триггеров [2, 3]. ЦД может комбинироваться с тремором (быстрые, ритмичные гиперкинезы) и миоклониями (неритмичные гиперкинезы) [4] и часто сочетается с болевым синдромом

[5], диссомнией [6] и тревожно-депрессивным расстройством. Боль – наиболее частый коморбидный синдром при ЦД, встречающийся у 70% пациентов [7]. Нередко заболевание дебютирует с боли в затылке и шейном отделе позвоночника [8]. Учитывая фенотипическое разнообразие, характерное для этого гиперкинеза, для определения паттерна используют концепцию, в которой выделяют вариант ротации шеи и (или) головы относительно туловища [9]. Наиболее часто встречающийся формой ЦД является тортиколлис (дистонический разворот шеи в сторону). Известно, что дебют заболевания приходится на период трудоспособного и социально активного возраста – между 20 и 60 годами. Хроническое течение дистонии, формирование функционального дефицита приводят как к профессиональной, так и социальной дезадаптации и, как следствие, к инвалидизации больных [10].

Согласно современной парадигме клинической медицины, главной целью лечения любого заболевания является улучшение качества жизни на фоне уменьшения или купирования клинических симптомов [11]. С 2004 г. президентом Российской Федерации обозначены критерии развития России, где качеству жизни определена как социальная, так и экономическая значимость [12]. Известно, что качество жизни является как интегральной, так и субъективной характеристикой, охватывающей физическое, психическое состояние и социально-профессиональные аспекты [13, 14]. У пациентов с хроническим течением заболевания особенно важно определение показателей качества жизни, позволяющих самому больному проанализировать свое состояние. Такая оценка демонстрирует не только то, как пациент переносит заболевание, но и степень адаптации к ней.

Несмотря на активное изучение проблемы ЦД в последние десятилетия, обращает на себя внимание немногочисленность исследований, рассматривающих влияние гиперкинеза на качество жизни больных. Это обусловило необходимость проведения исследования качества жизни у пациентов с ЦД.

Цель исследования – изучить физические и психологические характеристики качества жизни у больных с ЦД.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было обследовано 170 человек. В основную группу включены 120 пациентов с ЦД в возрасте от 27 до 82 лет, из них 31 (25,8%) мужчина и 89 (74,2%) женщин. Больные находились на амбулаторном наблюдении в Областном цен-

тре экстрапирамидных заболеваний с кабинетом ботулинотерапии г. Новосибирска. Диагноз ЦД соответствовал единым принятым критериям, согласно Клиническим рекомендациям по диагностике и лечению дистонии от 2011 и 2014 гг. [15, 16]: наличие дистонической позы, корригирующих трюков и парадоксальных кинезий, выявление прямой взаимосвязи гиперкинеза со статической, физической и психологической нагрузкой, присутствие суточных флюктуаций. Исследование осуществлено в соответствии с этическими стандартами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Министерства здравоохранения РФ от 19.06.2003 № 266.

Самой распространенной формой ЦД был тортиколлис – 58 (48,3%) человек, у 41 (34,2%) диагностирован латероколлис и у 21 (17,5%) были определены другие формы ЦД. Болевой синдром разной степени выраженности присутствовал у 117 (97,5%) пациентов. Сочетание ЦД с тремором наблюдалось у 70 (58,3%) обследуемых, с миоклониями – у 14 (11,6%).

Контрольную группу составили 50 респондентов: 16 (32%) мужчин и 34 (68%) женщины в возрасте от 25 до 82 лет, с цервикалгиями, обусловленными дегенеративными изменениями шейного отдела позвоночника, подтвержденными данными рентгенографии и (или) магнитно-резонансной томографии. Исследование качества жизни осуществлялось с применением анкеты SF-36, в рамках которой рассматриваются физические и психологические составляющие. Характеристики физического здоровья определялись следующими шкалами: 1) физическое функционирование – уровень выполнения физиологических нагрузок; 2) ролевые ограничения физического состояния – ролевое функционирование, зависимое от физического статуса; 3) физическая боль – выраженность боли и ее влияние на повседневную деятельность; 4) общее здоровье – соматическое состояние в текущее время, субъективно оцененное пациентом.

Составляющая психического здоровья оценивалась также по четырем критериям: 1) витальность – субъективная оценка степени жизненной деятельности; 2) социальное функционирование – степень ограничения общественной активности; 3) ролевые ограничения эмоционального состояния – функционирование, зависимое от

темперамента респондента; 4) психологическое здоровье – самооценка, характеризующаяся степенью проявлений позитивных и тревожно-депрессивных переживаний. Значения шкал варьировали от низкого показателя качества жизни (0–20%) до высокого (81–100%).

Тип исследования – поперечное, одномоментное.

Проверка гипотезы о соответствии выборочных распределений нормальному распределению Гаусса – Лапласа проводилась с помощью сравнения средних с использованием критериев Колмогорова – Смирнова (K–S) и Лиллиефорса (Lilliefors). Результаты проверки продемонстрировали, что статическое распределение изучаемых параметров не соответствует нормальному закону распределения, поэтому значения измеренных показателей приведены в формате  $Me [Q_1; Q_3]$ , где  $Me$  – медиана,  $Q_1$  – первый (нижний) квартиль и  $Q_3$  – третий (верхний) квартиль. Сравнительный анализ проводился с использованием

критерия Манна – Уитни, пороговое значение достигнутого уровня значимости  $p$  было принято равным 0,05. Обработка данных проводилась с помощью статистического программного пакета Statistica v. 10.0 (StatSoft Inc., США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка критериев качества жизни выявила достоверно значимую депрессию большинства показателей у пациентов с ЦД по сравнению с контрольной группой лиц с цервикалгиями.

Анализируя критерии шкалы физического функционирования (табл.), нами были выявлены существенные снижения параметров этого показателя у мужчин и женщин из группы ЦД в сравнении с пациентами из группы контроля ( $p = 0,0006$  и  $p = 0,0048$  соответственно). Данная шкала отражает степень ограничения выполнения физических нагрузок, таких как ходьба пешком по лестнице и на определенные расстояния, поднятие и перенос тяжестей, самообслуживание.

Т а б л и ц а

Качество жизни пациентов с ЦД и цервикалгией по опроснику SF-36						
Шкала SF-36	Пол	Контроль (цервикалгии), $n = 16/34$		Цервикальная дистония, $n = 31/89$		$p$
		$Me [Q_1; Q_3]$	$p$ муж.-жен.	$Me [Q_1; Q_3]$	$p$ муж.-жен.	
Физическое функционирование	муж.	95,0 [82,5;95,0]	0,0099	70,0 [50,0;95,0]	0,0042	0,0048
	жен.	75,0 [50,0;95,0]		50,0 [35,0;65,0]		0,0006
Рольевые ограничения, связанные с физическим состоянием	муж.	50,0 [12,5;87,5]	0,8679	25,0 [0,0;50,0]	0,0903	0,0839
	жен.	50,0 [25,0;100,0]		0,0 [0,0;25,0]		<0,0001
Физическая боль	муж.	79,0 [51,0;92,0]	0,2984	41,0 [31,0;61,0]	0,3038	0,0001
	жен.	72,0 [61,0;84,0]		41,0 [31,0;42,0]		<0,0001
Общее здоровье	муж.	58,5 [55,0;74,5]	0,3824	40,0 [35,0;50,0]	0,1241	0,0009
	жен.	56,0 [40,0;70,0]		35,0 [30,0;45,0]		<0,0001
Витальность	муж.	67,5 [52,5;80,0]	0,0055	50,0 [35,0;60,0]	0,0007	0,0131
	жен.	50,0 [35,0;60,0]		35,0 [25,0;45,0]		0,0019
Социальное функционирование	муж.	87,5 [75,0;87,5]	0,0261	62,5 [50,0;75,0]	0,0383	0,0014
	жен.	75,0 [50,0;75,0]		50,0 [37,5;62,5]		<0,0001
Рольевые ограничения, связанные с эмоциональным состоянием	муж.	66,7 [0,0; 00,0]	0,7081	33,3 [0,0;100,0]	0,1370	0,6214
	жен.	66,7 [0,0;66,7]		33,3 [0,0;66,7]		0,0357
Психическое здоровье	муж.	74,0 [58,0; 80,0]	0,0112	60,0 [44,0;68,0]	0,0115	0,0422
	жен.	56,0 [52,0;68,0]		44,0 [36,0;56,0]		0,0008

При сравнении результатов шкалы, характеризующую рольевые ограничения, связанные с физическим состоянием, оказалось, что у пациенток с наличием дистонического гиперкинеза достоверно значимо лимитировано рольевое функци-

онирование, т.е. занятость в настоящее время в работе или другая повседневная деятельность, по сравнению с женщинами из группы цервикалгий ( $p < 0,0001$ ). Тогда как у мужчин с ЦД, в сравнении с мужчинами с цервикалгиями, рольевых

ограничений достоверно не выявлено. Обращает внимание, что между мужчинами и женщинами основной группы достоверных различий в полученных результатах не получено, как и между мужчинами и женщинами контрольной группы.

Особое значимое влияние на качество жизни, по мнению обследуемых из группы с ЦД, являлось наличие болевого синдрома при выполнении работы по дому и вне его. Так, женщины с ЦД достоверно чаще указывали на боль как отрицательный и важный фактор, влияющий на их жизнь, чем женщины из контрольной группы ( $p < 0,0001$ ). Аналогичные данные были получены и у мужчин из основной группы по сравнению с мужчинами из группы цервикалгий ( $p = 0,0001$ ). Оценка межполовых различий внутри каждой исследуемой группы: ЦД и цервикалгий показала отсутствие достоверных расхождений в показателях.

При анализе шкалы общего здоровья выявлено, что присутствие дистонического гиперкинеза также является важным фактором для больных ЦД, влияющим на соматическое благополучие. Результат субъективной оценки своего состояния как у женщин, так и мужчин с ЦД был более низкий, чем у респондентов с цервикалгиями ( $p < 0,0001$  и  $p = 0,0009$  соответственно). Интересно, что гендерные достоверные различия в основной и контрольной группах также не установлены.

Оценивая показатели шкал, отражающих психологический аспект качества жизни, нами были выявлены выраженные межгрупповые отличия у больных с ЦД по сравнению с контрольной группой цервикалгий.

Шкала витальности показывает, насколько респондент чувствует себя бодрым или уставшим, или измученным. Так, параметры жизненного тонуса были наиболее низкие как у женщин, так и у мужчин с ЦД по сравнению с женщинами и мужчинами из группы цервикалгий ( $p = 0,0019$  и  $p = 0,0131$  соответственно).

Шкала социального функционирования демонстрирует низкую степень удовлетворенности больными ЦД своей общественной активностью, в которую входит общение с членами семьи, друзьями, коллегами. Так, ограничение общественных контактов достоверно выражено в группе женщин и мужчин с ЦД, по сравнению с респондентами женского и мужского пола из группы контроля ( $p < 0,0001$  и  $p = 0,0014$  соответственно).

Влияние эмоционального фона респондентов на качество и объем выполняемой ими работы

оценивали при помощи шкалы ролевого ограничения эмоционального состояния. Снижение значений до 33,3% (от 100%) у женщин и мужчин с ЦД показали, что повседневная деятельность была значительно сокращена и напрямую зависела от их эмоционального благополучия. Однако полученные результаты подлинно значимы только у пациенток с ЦД по сравнению с женщинами из группы цервикалгий ( $p = 0,0357$ ). Тогда как у мужчин с ЦД достоверные ролевые ограничения не выявлены по отношению к мужчинам из контрольной группы. Таким образом, женщины с ЦД имеют более низкий эмоциональный фон, влияющий на качество и объем привычной, рутинной работы. При этом достоверные различия полученных данных между женщинами и мужчинами как внутри основной, так и контрольной групп не установлены.

Ментальное благополучие, влияющее на качество жизни обследуемых, оценивали по шкале психического здоровья. При анализе показателей нами была выявлена депривация положительных эмоций на фоне тревожно-депрессивных состояний как у женщин, так и мужчин с ЦД, по сравнению с женщинами и мужчинами из группы контроля ( $p = 0,0008$  и  $p = 0,422$  соответственно).

Достоверные расхождения результатов между мужчинами и женщинами внутри основной и контрольной групп были определены в показателях физического функционирования, витальности, социального функционирования и психологического здоровья. Так, анализ физического функционирования показывает, что женщины с ЦД ( $p = 0,0042$ ) и женщины с цервикалгиями ( $p = 0,0099$ ) в большей степени, чем мужчины из этих же групп, считают, что состояние их здоровья снижает толерантность к физическим нагрузкам. Данные по шкале витальности также демонстрируют, что женщины из обеих исследуемых групп достоверно в большей степени чувствуют себя утомленными и обессиленными, чем мужчины из этих же групп. Оценка критериев социального функционирования выявила низкую удовлетворенность уровнем общения с родными и сослуживцами у лиц женского пола как в группе с ЦД, так и с цервикалгиями, по сравнению с мужчинами в соответствующих группах ( $p = 0,0383$  и  $p = 0,0261$  соответственно). Психологическое неблагополучие, вызванное ограничением благоприятных эмоций, было достоверно значимо так же у пациенток с ЦД и цервикалгиями, в сравнении с респондентами мужского пола ( $p = 0,0115$  и  $p = 0,0112$  соответственно).

## ВЫВОДЫ

1. Цервикальная дистония приводит к инверсиям физических показателей качества жизни у мужчин и женщин в виде достоверного снижения параметров соматического функционирования, выраженного влияния болевого синдрома. Рольевые ограничения, связанные с физическим состоянием при выполнении повседневной работы, выявлены только у женщин с ЦД.

2. Цервикальная дистония приводит к изменениям психологических показателей качества жизни у мужчин и женщин в виде снижения психического здоровья, социальной активности и жизнедеятельности. Достоверное влияние эмоционального состояния на повседневную работу в виде ролевых ограничений установлено только у лиц женского пола ЦД.

3. Выявлены различия в степени снижения физиологического функционирования между мужчинами и женщинами внутри обеих групп: ЦД и цервикалгий. У женщин из этих групп более низкая устойчивость к физическим нагрузкам по сравнению с респондентами мужского пола.

4. Наибольшие гендерные различия внутри группы ЦД и группы цервикалгий выявлены в психологических характеристиках качества жизни: витальности, социальном функционировании и психическом благополучии. Эти показатели более низкие у женщин как в основной группе – ЦД, так и в группе контроля – цервикалгий, чем у мужчин из этих же групп.

5. ЦД как хроническое заболевание приводит к психофизиологическому напряжению, существенно снижая качество жизни больного.

6. Определение качества жизни у пациентов с ЦД дает возможность более детально оценить течение заболевания у конкретного больного, выявить степень адаптации пациента к функциональным нарушениям, проанализировать проблемы, связанные с реакцией на болезнь, что при персонализированном подходе позволяет составить план лечения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Brin M. Fundamentals of dystonia. Handbook of botulinum toxin treatment. 2nd ed. / eds. P. Moore, M. Naumann. John Wiley & Sons, 2003: 101–118.
2. Singer C., Velickovic M. Cervical dystonia. Etiology and pathophysiology. *Neurologic Clinics*. 2008; 26 (1): 9–22. DOI: 10.1016/S0733-8619(08)80002-3.
3. Jinnah H.A., Berardelli A., Comella C., Defazio G., DeLong M.R., Factor S., Galpern W.R., Hallett M., Ludlow C.L., Perlmutter J.S., Rosen A.R. The focal dystonias current views and challenges for future research. *Movement Disorders*. 2013; 28 (7): 926–943. DOI: 10.1002/mds.25567.
4. Albanese A., Sorbo F.D. Dystonia and tremor: the clinical syndromes with isolated tremor. *Tremor Other Hyperkinetic Movements*. 2016; 6: 319. DOI: 10.7916/D8X34XBM.
5. Charles P.D., Adler C.H., Stacy M., Comella C., Jankovic J., Manack Adams A., Brin M.F., Schwartz M. Cervical dystonia and pain: characteristics and treatment patterns from CD PROBE (Cervical dystonia patient registry for observation of onabotulinumtoxin a efficacy). *Journal of Neurology*. 2014; 261: 1309–1319. DOI: 10.1007/s00415-014-7343-6.
6. Hertenstein E., Tang N.K., Bernstein C.J., Nissen C., Underwood M.R., Sandhu H.K. Sleep in patients with primary dystonia: a systematic review on the state of research and perspectives. *Sleep Medicine Reviews*. 2016; 26: 95–107. DOI: 10.1016/j.smrv.2015.04.004.
7. Pekmezovic T., Svetel M., Ivanovic N., Dragasevic N., Petrovic I., Tepavcevic D.K., Kostic V.S. Quality of life in patients with focal dystonia. *Clin. Neurol. Neurosurg*. 2009; 111 (2): 161–164. DOI: 10.1016/j.clineuro.2008.09.023.
8. Bezerra M.E., Rocha-Filho P.A. Headache. Headache attributed to craniocervical dystonia – a little known headache. *Headache*. 2017; 57 (2): 336–343. DOI: 10.1111/head.12996.
9. Reichel G., Stenner A., Jahn A. The phenomenology of cervical dystonia. *Fortschr. Neurol. Psychiatr.* 2009; 77 (5): 272–277. DOI: 10.1055/s-0028-1109416.
10. Орлова О.Р., Тимербаева С.А., Хатькова С.Е., Котляров В.В., Коренко Л.А., Залялова З.А., Фальковский И.В., Шперлинг Л.П., Антипова Л.Н., Антипенко Е.А., Мингазова А.Р., Сойхер М.И., Красавина Д.А. Фокальные дистонии и их лечение препаратом диспорт (ботулинический токсин типа А). *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова*. 2012; 112 (5): 81–89.
11. Новик А.А., Ионова Т.И. Руководство по исследованию качества жизни в медицине. 2-е изд. / под ред. акад. РАМН Ю.А. Шевченко. М.: Олма Медиа Групп, 2007: 313.
12. Официальный сайт Президента РФ. URL: <http://www.kremlin.ru/text/appears/2005/09/93296.shtml>.
13. Schipper H., Clinch J.J., Olweny C.L. Quality of life studies: definitions and conceptual issues / ed. B. Spilker. Quality of life and pharmacoeconomics in clinical trials. Lippincott-Raven Publishers: Philadelphia, 1996: 11–23.
14. Farivar S.S., Cunningham W.E., Hays R.D. Correlated physical and mental health summary scores for the SF-36 and SF-12 Health Survey, V.I. *Health Quality Life Outcomes*. 2007; 5: 54. DOI: 10.1186/1477-7525-5-54.
15. Клинические рекомендации по диагностике и лечению дистонии / под ред. Е.И. Гусева. Всероссийское общество неврологов. Президиум. М., 2014: 20–24.

16. Albanese A., Asmus F., Berardelli A., Bhatia K., Elia A.E., Elibol B., Filippini G., Gasser T., Krauss J.K., Nardocci N., Newton A., Valls-Solé J., Vidailhet M. EFNS guide-

lines on diagnosis and treatment of primary dystonias. *European Journal of Neurology*. 2011; 18: 5–18. DOI: 10.1111/j.1468-1331.2010.03042.x.

### Вклад авторов

Дружинина О.А. – разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация данных. Жукова Н.Г. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Шперлинг Л.П. – разработка концепции и дизайна исследования.

### Сведения об авторах

Дружинина Оксана Аркадьевна, аспирант, кафедра неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск; врач-невролог ГКП № 1, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-5293-330X.

Жукова Наталья Григорьевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-6547-6622.

Шперлинг Лариса Павловна, канд. мед. наук, врач-невролог, Областной центр экстрапирамидных заболеваний с кабинетом ботулинотерапии, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-6799-7613.

(✉) Дружинина Оксана Аркадьевна, e-mail: oxi-novosib@mail.ru.

Поступила в редакцию 23.01.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Различные популяции опухолевых клеток в асцитической жидкости больных раком яичников

Кайгородова Е.В.<sup>1,2</sup>, Федулова Н.В.<sup>2</sup>, Очиров М.О.<sup>1</sup>, Дьяков Д.А.<sup>2</sup>,  
Молчанов С.В.<sup>1</sup>, Часовских Н.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** Рак яичников (РЯ) является одним из самых агрессивных и тяжело поддающихся лечению онкологических заболеваний. Около 75% случаев РЯ выявляется на поздних стадиях заболевания. Асцитическая жидкость является перспективным биологическим материалом для получения информации о характере опухолевого процесса при РЯ. Перитонеальная диссеминация считается одним из наиболее неблагоприятных факторов прогрессирования злокачественных опухолей. Однако прогностические факторы, связанные со злокачественным асцитом, изучены недостаточно.

**Целью** данного исследования явилась оценка различных популяций опухолевых клеток в асцитической жидкости больных РЯ методом многоцветной проточной лазерной цитометрии на основе молекулярной панели маркеров EpCam, CD45, CD44, CD24, CD133 и N-cadherin. В проспективное исследование включены 16 больных с впервые диагностированным РЯ, стадии Iс–IV по системе FIGO, возраст 36–76 лет, поступившие на лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ. Материалом для исследования служила асцитическая жидкость, стабилизированная ЭДТА, взятая во время лапароскопии. Различные популяции асцитических опухолевых клеток (с признаками стволовости, с признаком EMT (epithelial-mesenchymal transition), без признаков стволовости и EMT, с сочетанием этих признаков, а также атипичные / гибридные популяции клеток определяли методом многоцветной проточной лазерной цитометрии на аппарате BDFACSCanto (США) с помощью меченных различными флуорохромами моноклональных антител к EpCam, CD45, CD44, CD24, CD133 и N-cadherin и программного обеспечения BD FACSDiva. В результате исследования в асцитической жидкости больных РЯ было выявлено 12 популяций EpCam-положительных клеток. Клеточный состав асцитической жидкости больных РЯ представляет собой гетерогенную популяцию. Большую концентрацию асцитических опухолевых клеток представляют собой атипичные / гибридные формы опухолевых клеток с признаком стволовости, а также стволовые опухолевые клетки EpCam+CD45-CD44+CD24+CD133+/- как с признаком EMT, так и без него.

**Ключевые слова:** рак яичников, асцитические опухолевые клетки, стволовые опухолевые клетки, многоцветная проточная цитометрия, жидкостная биопсия.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Президента РФ МД-544.2018.7.

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ (протокол № 4 от 02.04.2018).

✉ Кайгородова Евгения Викторовна, e-mail: zlobinae@mail.ru.

Для цитирования: Кайгородова Е.В., Федулова Н.В., Очиров М.О., Дьяков Д.А., Молчанов С.В., Часовских Н.Ю. Различные популяции опухолевых клеток в асцитической жидкости больных раком яичников. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 50–58. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-50-58>.

## Dissimilar tumor cell populations in ascitic fluid of ovarian cancer patients

Kaigorodova E.V.<sup>1,2</sup>, Fedulova N.V.<sup>2</sup>, Ochirov M.O.<sup>1</sup>, Dyakov D.A.<sup>2</sup>,  
Molchanov S.V.<sup>1</sup>, Chasovskikh N.Yu.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC) of the Russian Academy of Sciences 5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

<sup>2</sup> Siberian State Medical University (SSMU) 2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

### ABSTRACT

Ovarian cancer is one of the most aggressive and hard-to-treat cancers. About 75% of ovarian cancer cases are detected at later stages of the disease. Ascitic fluid is promising biological material to get information about the tumor nature in ovarian cancer. Peritoneal dissemination is one of the most unfavorable factors of malignant tumor progression. However, prognostic factors associated with malignant ascites are not well understood.

The aim of the study was to evaluate various tumor cell populations in ascitic fluid of ovarian cancer patients by laser multicolor flow cytometry using a molecular panel of EpCam, CD45, CD44, CD24, CD133, and N-cadherin markers. The prospective study included 16 patients aged 36 to 76 years with newly diagnosed FIGO stage Ic–IV ovarian cancer, who were admitted for treatment to the Cancer Research Institute of Tomsk National Research Medical Center. The study material included EDTA-stabilized ascitic fluid sampled during laparoscopy. Various populations of ascitic tumor cells (with stemness features, with epithelial mesenchymal transition (EMT) features, without stemness and EMT features, with a combination of these features, as well as atypical / hybrid cell populations) were identified by multicolor flow cytometry on a BDFACSCanto apparatus (USA) using fluorochrome-labeled EpCam, CD45, CD44, CD24, CD133, and N-cadherin monoclonal antibodies and the BD FACSDiva software. The study revealed twelve populations of Epcam-positive cells in ascitic fluid of ovarian cancer patients. The cell composition of ascitic fluid in ovarian cancer patients is represented by a heterogeneous population. A large fraction of ascitic tumor cells are atypical / hybrid tumor cells with stemness features as well as Epcam+CD45–CD44+CD24+CD133+/-cancer stem cells, both with and without EMT features.

**Key words:** ovarian cancer, ascitic tumor cells, cancer stem cells, multicolor flow cytometry, liquid biopsy.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was carried out with the financial support of the grant of the President of the Russian Federation MD-544.2018.7.

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the local Ethics Committee at Research Institute of Oncology, Tomsk NRMC (Protocol No. 4 of 02.04.2018).

**For citation:** Kaigorodova E.V., Fedulova N.V., Ochirov M.O., Dyakov D.A., Molchanov S.V., Chasovskikh N.Yu. Dissimilar tumor cell populations in ascitic fluid of ovarian cancer patients. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 50–58. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-50-58>.

## ВВЕДЕНИЕ

Рак яичников (РЯ) является одним из самых агрессивных и тяжело поддающихся лечению онкологических заболеваний. Ежегодно в мире регистрируется более 225 тыс. новых случаев РЯ, более 140 тыс. женщин умирают от этого заболевания. Несмотря на достигнутые успехи в диагностике, около 75% случаев РЯ выявляется на поздних стадиях заболевания. Лечение больных распространенным опухолевым процессом является трудным и не всегда приводит к должным результатам. Пятилетняя выживаемость больных при III стадии составляет 23,8%, а при IV – 11,6%. Бессимптомный характер заболевания приводит к поздней диагностике пациентов и, как следствие, к 60%-й смертности в течение 5 лет.

В отличие от других опухолей, рак яичников характеризуется уникальным метастатическим процессом. Самый ранний и наиболее распространенный путь метастазирования – имплантационный. Он часто сопровождается накоплением жидкости в брюшной полости, называемой асцитом. До 38% случаев асцитов, ассоциированных со злокачественными опухолями у женщин, приходится на рак яичников. Асцитическая жидкость является перспективным биологическим материалом для получения информации о характере опухолевого процесса. В отличие от сыворотки, она более информативна, особенно на ранней стадии злокачественного процесса. В целом асцит – это многокомпонентная, динамическая система, где все элементы в совокупности способствуют формированию провоспалительной и иммуносупрессивной среды. Он состоит из сложной смеси клеточных популяций и богатого цитокинового профиля. Разнообразие клеток обусловлено несколькими факторами, во-первых, фенотипической пластичностью, возникающей под влиянием сигналов микроокружения от иммунных, стромальных клеток, а также растворимых факторов. Во-вторых, гетерогенность появляется под действием гидродинамических сил, которые значительно изменяют морфологию клеток [1]. В-третьих, источником опухолевых клеток в асцитической жидкости является опухоль, в частности РЯ, который сам представляет собой гетерогенную популяцию клеток.

В настоящее время гетерогенность опухолевых клеток определяют по их антигенным свойствам, спектру различных маркеров клеточной поверхности, по активности ключевых сигнальных путей. При обнаружении циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) в качестве специфиче-

ского биомаркера широко используют молекулу адгезии эпителиальных клеток (ЕpСAM), так как она сверхэкспрессируется в более чем 70% случаев РЯ, и ее уровень тесно связан со злокачественным асцитом, химиорезистентностью и снижением выживаемости у пациентов. Роль ЕpСAM не ограничивается клеточной адгезией, есть многочисленные данные об ее участии в эпителиально-мезенхимальном переходе (ЕМТ). Известно, что ЕМТ позволяет клеткам разделяться, терять свою апико-базальную полярность, типичную для эпителиальных клеток, демонстрировать повышенную устойчивость к апоптозу и возвращаться к более подвижному мезенхимальному фенотипу, способствующему перитонеальной диссеминации. Эту молекулу также используют в качестве маркера стволовых опухолевых клеток (CSCs) [2].

В дополнение к ЕpСAM для идентификации ЦОК используется рецептор CD44, широко представленный на поверхности опухолевых клеток. Он опосредует прикрепление опухолевых клеток яичника к перитонеальному мезотелию за счет связывания с гиалуроновой кислотой. CD44 как биомаркер имеет несколько преимуществ. Во-первых, нормальные клетки имеют низкий уровень экспрессии CD44 и плохую адгезию к гиалуроновой кислоте. Во-вторых, гиалуроновая кислота является одним из основных компонентов внеклеточного матрикса опухоли, который помимо связывания с ЦОК поддерживает целостность клеток [3].

Еще одним маркером ЦОК в асцитической жидкости выступает CD24, который экспрессируется в 70,1% случаев рака яичников и является независимым предиктором выживания. CD24 увеличивает метастатический потенциал опухолевых клеток, так как является лигандом для Р-селектина, рецептора адгезии на активированных эндотелиальных клетках. Кроме того, CD24 индуцирует ЕМТ, который приводит к формированию высокопролиферативного фенотипа, устойчивости к химиотерапии посредством активации PI3K / Akt, NF-κB и ERK сигнальных каскадов [4].

Лейкоциты в асцитической жидкости морфологически напоминают циркулирующие опухолевые клетки, поэтому для аффинного связывания с лейкоцитами целесообразно использовать дифференцировочный антиген CD45.

Общей чертой ЕМТ является уменьшение экспрессии эпителиального кадгерина (Е-кадгерина) и сопутствующее увеличение или экспрессия *de novo* нейронного кадгерина (N-кадгерина). Это так называемое переключение кадгерина связано с усилением миграционного и инвазивно-

го поведения опухолевых клеток. Повышенная экспрессия N-кадгерина в солидных опухолях способствует «коллективной» миграции клеток, усилению передачи сигналов фактора роста фибробластов и модулирует канонический путь Wnt, что приводит к формированию агрессивного фенотипа [5].

CD133 – наиболее часто используемый антиген клеточной поверхности для обнаружения и выделения CSC при различных злокачественных заболеваниях, включая рак яичников. Высокая экспрессия CD133 в опухолях считается прогностическим маркером прогрессирования заболевания. Несмотря на то, что функциональная роль CD133 при злокачественных новообразованиях до конца не раскрыта, большинство исследований предполагают, что CD133 обладает значительной прогностической ценностью для оценки общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования при различных видах рака [6].

Полная картина различных популяций опухолевых клеток при РЯ может позволить предсказать течение заболевания, общую и безрецидивную выживаемость, ответ на химиотерапию. Обусловленная асцитом перитонеальная диссеминация является одним из наиболее неблагоприятных факторов прогрессирования злокачественных опухолей. Однако прогностические факторы, связанные со злокачественным асцитом, изучены недостаточно. В связи с этим исследование различных популяций опухолевых клеток в асцитической жидкости представляется актуальным.

Целью данного исследования явилась оценка популяций опухолевых клеток в асцитической жидкости больных РЯ методом многоцветной проточной лазерной цитометрии на основе молекулярной панели маркеров EpCam, CD45, CD44, CD24, CD133 и N-cadherin.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективное исследование включены 16 больных с впервые диагностированным раком яичников, стадии Ic–IV по системе FIGO, возраст 36–76 лет, поступившие на лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ.

Материалом для исследования служила асцитическая жидкость, стабилизированная ЭДТА, взятая во время лапароскопии. На основе молекулярной панели маркеров к EpCam, CD45, CD44, CD24, CD133 и N-cadherin методом многоцветной проточной лазерной цитометрии на аппарате BDFACSCanto (США) с помощью программного

обеспечения BD FACSDiva определяли различные популяции асцитических опухолевых клеток (с признаками стволовости, с признаком EMT (epithelial-mesenchymal transition), без признаков стволовости и EMT, с сочетанием этих признаков), а также атипичные / гибридные популяции опухолевых клеток.

Для этого асцитическую жидкость инкубировали с мечеными различными флюорохромами моноклональными антителами к CD45 клон HI30 (APC/Cy7) (Biolegend, США), EpCAM клон 9C4 (PE) (Biolegend, США), CD44 клон VJ18 (FITC) (Biolegend, США), CD24 клон ML5 (PE/Cy7) (Biolegend, США), N-Cadherin клон 8C11 (PerCP/Cy5.5) (Biolegend, США), CD133 клон AC-133 (APC) (Miltenyi Biotec, США). После чего эритроциты, находящиеся в образце, лизировали раствором BD FACS lysing solution и дважды отмывали CellWash буфером, затем к клеточному осадку добавляли 1 мл BD Flow. Все образцы хранили в темноте при 4 °C и проанализировали на проточном цитофлуориметре в течение часа. Уровень клеток выражали в количестве клеток в 1 мкл асцитической жидкости.

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики. Статистическую значимость различий оценивали с помощью непараметрического критерия Вилкоксона для зависимых выборок с поправкой Бонферрони в программном пакете для статистического анализа Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США). Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей  $Me [Q_1-Q_3]$ . Различия считались статистически значимыми при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате исследования с помощью многоцветной проточной цитометрии в асцитической жидкости было выявлено 12 популяций EpCam-положительных клеток. Асцитические опухолевые клетки с признаком стволовости без признаков EMT с фенотипами EpCam+CD45-CD44+CD24-CD133+Ncadherin-; EpCam+CD45-CD44+CD24-CD133-Ncadherin-; EpCam+CD45-CD44+CD24+CD133+Ncadherin-, асцитические опухолевые клетки без признаков стволовости и без признаков EMT – EpCam+CD45-CD44-CD24-CD133-Ncadherin-; асцитические опухолевые клетки без признаков стволовости с признаком EMT – EpCam+CD45-CD44-CD24-CD133-Ncadherin+; асцитические опухолевые клетки с признаками стволовости и с EMT – EpCam+CD45-CD44+CD24-CD133+Ncadherin+; EpCam+CD45-CD44+CD24-CD133-Ncadherin+;

Ерсam+CD45-CD44+CD24+CD133+/-Ncadherin+/-;  
 Ерсam+CD45-CD44-CD24+CD133+/- Ncadherin+/-;  
 Ерсam+CD45-CD44+CD24+CD133+Ncadherin+, а  
 также атипичные / гибридные формы клеток без  
 признаком стволовости – Ерсam+CD45+CD44-  
 CD24-CD133-Ncadh+/- и атипичные / гибри-

дые формы клеток с признаками стволовости –  
 Ерсam+CD45+CD44+CD24+/-CD133+/-Ncadh+/-.  
 На рисунке представлен протокол результата  
 многоцветной проточной цитометрии при оценке  
 различных популяций Ерсam+ клеток в асцити-  
 ческой жидкости.

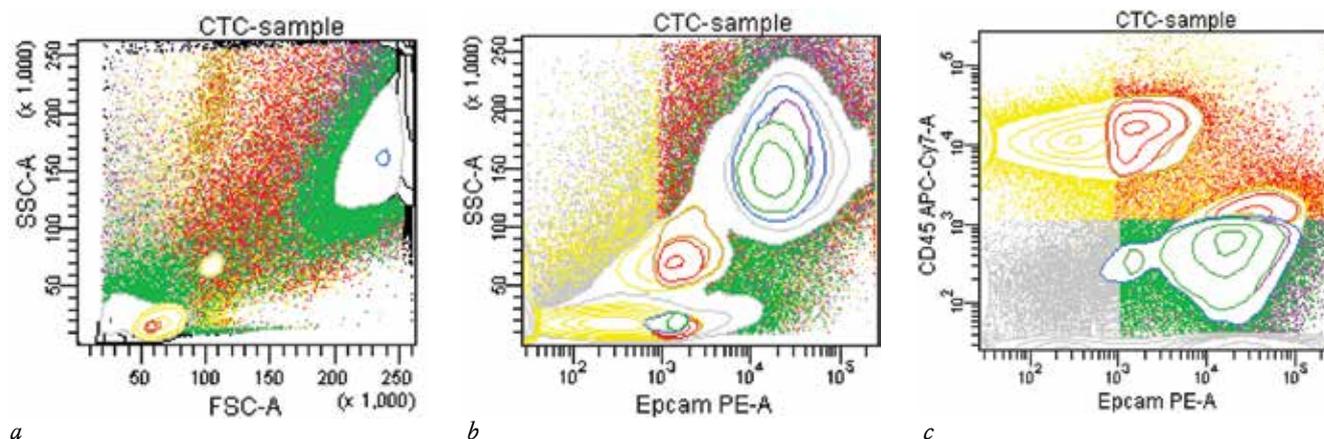


Рисунок. Различные популяции клеток в асцитической жидкости, определенные многоцветной проточной цитометрией у больной раком яичников: *a* – популяции асцитических клеток в проекциях прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеяния; *b* – популяции Ерсam-положительных и Ерсam-отрицательных клеток в асцитической жидкости; *c* – популяции CD45+Ерсam-; CD45+Ерсam+; CD45-Ерсam-; CD45-Ерсam+ клеток

Статистический анализ данных при использо-  
 вании непараметрического критерия Фридмана и  
 Кендалла, а также попарное сравнение Вилкоксона  
 показали статистически значимые различия  
 между уровнями данных популяций. Наиболее  
 высокая концентрация асцитических опухолевых  
 клеток наблюдалась у атипичных / гибридных  
 форм с признаками стволовости. Так, уровень  
 Ерсam+CD45+CD44+CD24+/-CD133+/-Ncadh+/-  
 клеток составил 240,97 (80,54–383,5) клеток/мкл  
 против асцитических опухолевых клеток без  
 признаков стволовости и EMT (Ерсam+CD45-  
 CD44-CD24-CD133-Ncadh-) – 0,28 (0,11–4,27) кле-  
 ток/мкл ( $p = 0,0009$ ) и атипичных / гибридных

опухолевых клеток без признаков стволовости  
 (Ерсam+CD45+CD44-CD24-CD133-Ncadh+/-) –  
 2,07 (0,29–7,16) клеток/мкл ( $p = 0,00098$ ).

Количество стволовых опухолевых клеток  
 с положительной экспрессией CD24 как с при-  
 знаком EMT, так и без него (Ерсam+CD45-  
 CD44+CD24+CD133+/-Ncadherin+/-) значи-  
 мо не отличалось от количества опухолевых клеток  
 без признаков стволовости и EMT (Ерсam+CD45-  
 CD44-CD24-CD133-Ncadherin-) и превышало уро-  
 вень клеток без признаков стволовости в со-  
 стоянии EMT (Ерсam+CD45-CD44-CD24-CD133-  
 Ncadherin+) на уровне тенденции ( $p = 0,073$ ) (та-  
 блица).

Таблица

Уровень различных популяций опухолевых клеток в асцитической жидкости больных раком яичников, клеток/мкл, $Me [Q_1-Q_3]$		
АОК	Фенотип асцитических опухолевых клеток	Кол-во клеток/мкл
АОК-1	Ерсam+CD45-CD44-CD24-CD133-Ncadherin-	0,28 [0,11–4,27]
АОК-2	Ерсam+CD45-CD44-CD24-CD133-Ncadherin+	0,09 [0,00–1,22] $p_{1-2} = 0,054$
АОК-3	Ерсam+CD45-CD44+CD24-CD133+/-Ncadherin-	0,02 [0,00–0,52] $p_{1-3} = 0,021, p_{2-2} = 0,91$
АОК-4	Ерсam+CD45-CD44+CD24-CD133+/-Ncadherin+	0,29 [0,03–0,72] $p_{1-4} = 0,035, p_{2-4} = 0,27, p_{3-4} = 1,00$
АОК-5	Ерсam+CD45-CD44+CD24+CD133+/-Ncadherin+	0,34 [0,21–0,53] $p_{1-5} = 0,085, p_{2-5} = 0,31, p_{3-5} = 0,77, p_{4-5} = 0,37$

АОК	Фенотип асцитических опухолевых клеток	Кол-во клеток/мкл
АОК-6	Еpcam+CD45-CD44+CD24+CD133+/-Ncadherin-	0,09 [0,00–1,45] $p_{1-6} = 0,21$ $p_{2-6} = 0,76$ $p_{3-6} = 0,91$ $p_{4-6} = 0,76$ $p_{5-6} = 0,88$
АОК-7	Еpcam+CD45-CD44-CD24+CD133+/-Ncadherin+	0,09 [0,04–0,78] $p_{1-7} = 0,26$ $p_{2-7} = 0,32$ $p_{3-7} = 0,95$ $p_{4-7} = 0,85$ $p_{5-7} = 0,76$ $p_{6-7} = 0,85$
АОК-8	Еpcam+CD45-CD44-CD24+CD133+/-Ncadherin-	0,17 [0,00–0,74] $p_{1-8} = 0,068$ $p_{2-8} = 0,39$ $p_{3-8} = 0,77$ $p_{4-8} = 0,85$ $p_{5-8} = 0,85$ $p_{6-8} = 0,95$ $p_{7-8} = 0,39$
АОК-9	Еpcam+CD45-CD44+CD24+CD133+/-Ncadherin+/-	2,07 [0,53–11,42] $p_{1-9} = 0,36$ $p_{2-9} = 0,073$ $p_{3-9} = 0,039$ $p_{4-9} = 0,030$ $p_{5-9} = 0,043$ $p_{6-9} = 0,011$ $p_{7-9} = 0,31$ $p_{8-9} = 0,21$
АОК-10	Еpcam+CD45-CD44-CD24+CD133+/-Ncadherin+/-	1,58 [0,22–3,87] $p_{1-10} = 0,36$ $p_{2-10} = 0,086$ $p_{3-10} = 0,084$ $p_{4-10} = 0,047$ $p_{5-10} = 0,514$ $p_{6-10} = 0,374$ $p_{7-10} = 0,027$ $p_{8-10} = 0,017$ $p_{9-10} = 0,27$
Атипичные / гибридные клетки без признаков стволовости	Еpcam+CD45+CD44-CD24-CD133-Ncadherin+/-	2,07 [0,29–7,16] $p_{1-11} = 0,55$ $p_{2-11} = 0,0029$ $p_{3-11} = 0,177$ $p_{4-11} = 0,013$ $p_{5-11} = 0,015$ $p_{6-11} = 0,0506$ $p_{7-11} = 0,011$ $p_{8-11} = 0,011$ $p_{9-11} = 0,68$ $p_{10-11} = 0,506$
Атипичные / гибридные клетки с признаками стволовости	Еpcam+CD45+CD44+CD24+/-CD133+/-Ncadherin+/-	240,97 [80,54–383,50] $p_{1-12} = 0,0009$ $p_{2-12} = 0,0009$ $p_{3-12} = 0,0009$ $p_{4-12} = 0,0009$ $p_{7-12} = 0,0076$ $p_{8-12} = 0,0076$ $p_{9-12} = 0,0076$ $p_{10-12} = 0,0009$ $p_{11-12} = 0,0009$

Примечание. АОК – асцитические опухолевые клетки;  $p < 0,05$ .

При этом количество стволовых опухолевых клеток с положительной экспрессией CD24 (Epcam+CD45-CD44+CD24+CD133+/-Ncadherin+/-) значительно превышало количество стволовых опухолевых клеток с отрицательной экспрессией CD24 как с признаком EMT, так и без него (Epcam+CD45-CD44+CD24-CD133+/-Ncadh+ и Epcam+CD45-CD44+CD24-CD133+/-Ncadh-) и составляло 2,07 (0,53–11,42) клеток/мкл против 0,29 (0,03–0,72) клеток/мкл и 0,02 (0,00–0,52) клеток/мкл соответственно. Уровень стволовых опухолевых клеток с положительной экспрессией CD24 с фенотипом Epcam+CD45-CD44-CD24+CD133+/-Ncadherin+/- составлял 1,58 (0,22–3,87) клеток/мкл и был значимо выше стволовых опухолевых клеток с фенотипом Epcam+CD45-CD44+CD24-CD133+/-Ncadherin+.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В основном метастатическое распространение рака яичников происходит в результате отделения клеток от первичной опухоли в брюшную полость, заполненную злокачественным асцитом. С током жидкости клетки широко распространяются и становятся причиной вторичного роста опухоли. На всех этапах этого уникального процесса опухолевые клетки изменяют свой фенотип, коэволюционируют вместе с окружающими их фибробластами, макрофагами, адипоцитами, эндотелиальными и другими клетками.

В процессе метастазирования опухолевые клетки яичников демонстрируют тропизм к сальнику. Их взаимодействие приводит к формированию высокоактивного фенотипа адипоцитов (САА), продуцирующего большую часть метаболического микроокружения опухоли [7]. Кроме того, жировая ткань является источником мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (MSC), способных самообновляться и дифференцироваться в другие проонкогенные клетки (CAF-опухоль-ассоциированные фибробласты и САА), а также поддерживать популяцию опухолевых стволовых клеток (CSC) [8].

В результате проведенного исследования в асцитической жидкости были обнаружены различные популяции опухолевых клеток: атипичные формы / гибридные клетки как с признаками стволовости, так и без них, с признаками EMT, с сочетанием этих признаков, стромальные и иммунные клеточные популяции, идентификация и характеристика которых может стать полезным инструментом в прогнозировании течения заболевания и ответа на химиотерапию.

Самая многочисленная группа клеток в асцитической жидкости больных РЯ имеет атипичный фенотип и представлена гибридными клетками с признаками стволовости (Epcam+CD45+CD44+CD24+/-CD133+/-Ncadherin+/-). Можно предположить, что образование гибридных клеток способствует карциноматозу РЯ и препятствует запуску апоптоза и аноиксиса опухолевых клеток в асците. Данное предположение и обнаруженные нами клетки требуют дальнейших исследований.

Литературные данные показывают, что из 150 различных комбинаций маркеров наиболее распространена панель из трех – CD44, CD24 и Epcam. Экспрессия этих молекул в линиях OVCAR-5, SKOV-3 и IGROV-1 соответствовала клеткам с большей колониеобразующей способностью. Эти клетки продемонстрировали короткий безрецидивный интервал *in vivo* после ксенотрансплантации и большую миграционную способность в исследовании инвазии *in vitro*, по сравнению с CD44-CD24-Epcam-клетками. Кроме того, доксорубин, цисплатин и паклитаксел способствовали увеличению этой популяции, что говорит о лекарственной устойчивости, но антимюллеров гормон (MIS) эффективно подавлял ее рост [9].

Можно предположить, что наличие в асцитической жидкости опухолевых клеток с фенотипом Epcam+CD45-CD44+CD24+CD133+/-Ncadherin+/- связано с агрессивным характером течения рака яичников. Многочисленные исследования показали, что популяция Epcam+CD44+CD24+CD133+CD117+ обладает повышенной способностью инициировать рак и (или) стимулировать метастазирование *in vivo* [10]. На модели мышей (NOD/Shi-scid/IL-2R $\gamma$  null mice) продемонстрировано, что клетки CD24+ и CD133+ обладают большей способностью к сферообразованию, распространению и инициации опухоли *in vivo*. Кроме того, CD24+ клетки демонстрировали более «мезенхимальный» фенотип с более высокой экспрессией Twist1, Snail и Vimentin, что связывает маркер CD24 с фенотипом EMT. Интересно, что CD24-клетки также способны инициировать опухолевый рост, хотя и в меньшей степени, чем CD24+. Вероятно, это связано с тем, что подмножество CD24-клеток со стволовыми свойствами имеют более низкую скорость пролиферации, чем клетки CD24+ [11].

По данным E. Meng и соавт., опухолевые клетки яичников с фенотипом CD44+/CD24- обладают большим потенциалом к внутрибрюшному распространению благодаря свойствам, подобным CSC. По сравнению с другими фенотипами, они

демонстрируют 60-кратное увеличение инвазии матригеля клеточной линией SKOV3 ( $p < 0,001$ ) и характеризуются агрессивным клиническим течением заболевания [12].

Наличие CD44 указывает на большой потенциал к образованию клеточных сфероидов, которые, как известно, способствуют метастазированию и развитию устойчивости к химиотерапии. Это подтверждается исследованием, демонстрирующим образование крупных, полых сфероидов из популяции CD44high /CD166high, полученной от опухолевой линии РЯ (SKOV3, OV90), по сравнению с CD44low/CD166low аналогами [13].

Таким образом, полученные результаты показывают большую гетерогенность опухолевых клеток в асцитической жидкости больных раком яичников. Обнаруженный факт наличия атипичных / гибридных форм Ерсат-положительных клеток, а также различных популяций опухолевых клеток с признаками стволовости в асцитической жидкости представляет большой интерес для дальнейших исследований в области персонализированной медицины.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Клеточный состав асцитической жидкости больных раком яичников является гетерогенным. Большую концентрацию асцитических опухолевых клеток представляют собой атипичные / гибридные формы клеток с признаком стволовости, а также стволовые опухолевые клетки Ерсат+CD45-CD44+CD24+CD133+/- как с признаком ЕМТ, так и без него. Дальнейшее исследование различных популяций опухолевых клеток в асцитической жидкости, их связь с клиническим течением и эффективностью химиотерапии больных раком яичников является весьма целесообразным и открывает большие перспективы для практических разработок в области жидкостной биопсии.

## ЛИТЕРАТУРА

- Hyler A.R., Baudoin N.C., Brown M.S., Stremler M.A., Cimini D., Davalos R.V., Schmelz E.M. Fluid shear stress impacts ovarian cancer cell viability, subcellular organization, and promotes genomic instability. *PLoS One*. 2018; 13 (3): e0194170. DOI: 10.1371/journal.pone.0194170.
- Tayama S., Motohara T., Narrantuya D., Li C., Fujimoto K., Sakaguchi I., Tashiro H., Saya H., Nagano O., Katabuchi H. The impact of EpCAM expression on response to chemotherapy and clinical outcomes in patients with epithelial ovarian cancer. *Oncotarget*. 2017; 8 (27): 44312–44325. DOI: 10.18632/oncotarget.17871.
- Zheng J., Zhao S., Yu X., Huang S., Liu H.Y. Simultaneous targeting of CD44 and EpCAM with a bispecific aptamer effectively inhibits intraperitoneal ovarian cancer growth. *Theranostics*. 2017; 7 (5): 1373–1388. DOI: 10.7150/thno.17826.
- Nakamura K., Terai Y., Tanabe A., Ono Y.J., Hayashi M., Maeda K., Fujiwara S., Ashihara K., Nakamura M., Tanaka Y., Tanaka T., Tsunetoh S., Sasaki H., Ohmichi M. CD24 expression is a marker for predicting clinical outcome and regulates the epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer via both the Akt and ERK pathways. *Oncol. Rep.* 2017; 37 (6): 3189–3200. DOI: 10.3892/or.2017.5583.
- Mrozik K.M., Blaschuk O.W., Cheong C.M., Zannettino A.C.W., Vandyke K. N-cadherin in cancer metastasis, its emerging role in haematological malignancies and potential as a therapeutic target in cancer. *BMC Cancer*. 2018; 18 (1): 939. DOI: 10.1186/s12885-018-4845-0.
- Glumac P.M., LeBeau A.M. The role of CD133 in cancer: a concise review. *Clin. Transl. Med.* 2018; 7 (1): 18. DOI: 10.1186/s40169-018-0198-1.
- Schild T., Low V., Blenis J., Gomes A.P. Unique metabolic adaptations dictate distal organ-specific metastatic colonization. *Cancer Cell*. 2018; 33: 347–354. DOI: 10.1016/j.ccell.2018.02.001.
- Cuiffo B.G., Karnoub A.E. Mesenchymal stem cells in tumor development: emerging roles and concepts. *Cell Adh. Migr.* 2012; 6 (3): 220–230. DOI: 10.4161/cam.20875.
- Wei X., Dombkowski D., Meirelles K., Pieretti-Vanmarcke R., Szotek P.P., Chang H.L., Preffer F.I., Mueller P.R., Teixeira J., MacLaughlin D.T., Donahoe P.K. Mullerian inhibiting substance preferentially inhibits stem/progenitors in human ovarian cancer cell lines compared with chemotherapeutics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010; 107 (44): 18874–18879. DOI: 10.1073/pnas.1012667107.
- Burgos-Ojeda D., Rueda B.R., Buckanovich R.J. Ovarian cancer stem cell markers: prognostic and therapeutic implications. *Cancer Lett.* 2012; 322 (1): 1–7. DOI: 10.1016/j.canlet.2012.02.002.
- Burgos-Ojeda D., Wu R., McLean K., Chen Y.C., Talpaz M., Yoon E., Cho K.R., Buckanovich R.J. CD24+ ovarian cancer cells are enriched for cancer-initiating cells and dependent on JAK2 signaling for growth and metastasis. *Mol. Cancer Ther.* 2015; 14 (7): 1717–1727. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0607.
- Meng E., Long B., Sullivan P., McClellan S., Finan M.A., Reed E., Shevde L., Rocconi R.P. CD44+/CD24- ovarian cancer cells demonstrate cancer stem cell properties and correlate to survival. *Clin. Exp. Metastasis*. 2012; 29 (8): 939–948. DOI: 10.1007/s10585-012-9482-4.
- Witt A.E., Lee C.W., Lee T.I., Azzam D.J., Wang B., Caslini C., Petrocca F., Grosso J., Jones M., Cohick E.B., Gropper A.B., Wahlestedt C., Richardson A.L., Shiekhatar R., Young R.A., Ince T.A. Identification of a cancer stem cell-specific function for the histone deacetylases, HDAC1 and HDAC7, in breast and ovarian cancer. *Oncogene*. 2017; 36 (12): 1707–1720. DOI: 10.1038/onc.2016.337.

## Благодарности

Авторы выражают благодарность руководителю отделения патологической анатомии и цитологии НИИ онкологии Томского НИМЦ проф. В.М. Перельмутеру и заведующему гинекологическим отделением НИИ онкологии Томского НИМЦ проф. Л.А. Коломиец за консультацию в подборе пациенток для исследования.

## Вклад авторов

Кайгородова Е.В., Федулова Н.В., Дьяков Д.А. – проведение исследований, анализ и интерпретация данных. Очиров М.О., Молчанов С.В. – выполнение диагностики и лечение больных раком яичников. Часовских Н.Ю. – статистическая обработка данных, информационный поиск по теме исследования с помощью биоинформационных ресурсов. Кайгородова Е.В. – разработка концепции и дизайна исследования, написание рукописи статьи.

## Сведения об авторах

Кайгородова Евгения Викторовна, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ; профессор, кафедра биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-4378-6915.

Федулова Наталья Владимировна, студент, 6-й курс, СибГМУ, г. Томск.

Очиров Максим Олегович, аспирант, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-6628-2918.

Дьяков Денис Александрович, студент, 6-й курс, СибГМУ, г. Томск.

Молчанов Сергей Валериевич, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение гинекологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-0522-1772.

Часовских Наталия Юрьевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-6077-0347.

✉ Кайгородова Евгения Викторовна, e-mail: zlobinae@mail.ru.

Поступила в редакцию 12.04.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## **Эозинофильный катионный белок как неинвазивный маркер характера воспалительного ответа у больных хронической обструктивной болезнью легких**

**Карнаушкина М.А.<sup>1</sup>, Федосенко С.В.<sup>2</sup>, Данилов Р.С.<sup>3</sup>, Комарова И.С.<sup>1</sup>, Петров В.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)*

*Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2*

<sup>2</sup> *Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)*

*Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2*

<sup>3</sup> *Лечебно-реабилитационный центр*

*Россия, 119192, г. Москва, Ломоносовский пр., 43*

### **РЕЗЮМЕ**

**Цель исследования.** Установить ценность измерения уровня эозинофильного катионного протеина в плазме крови у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) как потенциального биомаркера для определения активности эозинофильного воспаления в сравнении с определением количества эозинофилов крови и прогнозирования тяжести ее течения на основании таких клинических характеристик, как функция внешнего дыхания, частота обострений и индекс BODE.

**Материалы и методы.** В исследовании приняли участие больные ХОБЛ ( $n = 161$ ), для которых предусмотрено два визита, включающих сбор анамнестических данных и выполнение основных процедур исследования (функция внешнего дыхания, 6-минутный шаговый тест, оценка одышки по опроснику Medical Research Council Scale, исследование мокроты и крови с определением уровня эозинофилов и эозинофильного катионного белка). Второй визит проводился через 12 мес после первого для оценки динамики заболевания. Особое внимание уделялось наличию аллергии в анамнезе, частоте обострений, количеству курсов терапии антибактериальными препаратами и приему ингаляционных и системных глюкокортикостероидов.

**Результаты.** Исследование продемонстрировало, что высокий уровень эозинофильного катионного белка в плазме крови у больных ХОБЛ ассоциирован с более тяжелым течением и развитием более частых инфекционно-зависимых обострений заболевания, требующих назначения ингаляционных глюкокортикостероидов и антибиотиков. Нами была продемонстрирована обратная связь между уровнем эозинофильного катионного белка ЕСР и ОФВ1, что позволяет использовать данный показатель как предиктор тяжести течения ХОБЛ.

**Заключение.** Учитывая полученные нами данные, измерение эозинофильного катионного белка плазмы крови, являющееся неинвазивным и относительно легко выполнимым методом исследования, можно рекомендовать использовать в качестве клинического маркера при прогнозе ХОБЛ и персонализированном подборе терапии.

**Ключевые слова:** ХОБЛ, эозинофилы, эозинофильный катионный белок, фенотип, степень тяжести, глюкокортикостероиды.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

✉ Карнаушкина Мария Александровна, e-mail: kar3745@yandex.ru.

**Источники финансирования.** Исследование поддержано «Проектом повышения конкурентоспособности ведущих российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров».

**Соответствие принципам этики.** Все лица, участвующие в исследовании подписали информированное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом СибГМУ.

**Для цитирования:** Карнаушкина М.А., Федосенко С.В., Данилов Р.С., Комарова И.С., Петров В.А. Эозинофильный катионный белок как неинвазивный маркер характера воспалительного ответа у больных хронической обструктивной болезнью легких. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 59–66. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-59-66>.

## Eosinophilic cationic protein as a non-invasive marker of the nature of inflammatory response in patients with chronic obstructive pulmonary disease

Karnaushkina M.A.<sup>1</sup>, Fedosenko S.V.<sup>2</sup>, Danilov R.S.<sup>3</sup>, Komarova I.S.<sup>1</sup>, Petrov V.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)  
8/2, Trubetskaya Str., Moscow, 119991, Russian Federation

<sup>2</sup> Siberian State Medical University (SSMU)  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>3</sup> Medical Rehabilitation Centre of the Ministry of Economic Development of Russia  
Moscow, 43, Lomonosov Av., Moscow, 119192, Russian Federation

### ABSTRACT

**Objective.** To estimate the value of measuring plasma eosinophilic cationic protein (ECP) levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) as a potential biomarker for determining the activity of eosinophilic inflammation. To compare it to determining the number of blood eosinophils and predicting the severity of COPD by determining such clinical characteristics as respiratory function, exacerbation frequency and the BODE index.

**Materials and methods.** Based on the protocol, 161 patients with COPD participated in the study. They made 2 visits for the collection of anamnestic data and the performance of the main study procedures: respiratory function test, 6-minute step test, dyspnea assessment according to the Medical Research Council Scale questionnaire and sputum and blood analysis in order to determine the level of eosinophils and ECP. The second visit was conducted 12 months after the first to assess the dynamics of the disease. We paid particular attention to the presence of allergies in the case history, the frequency of exacerbations, the number of courses of treatment with antibacterial drugs and inhalants, and systemic glucocorticoids.

**Results.** The study has demonstrated that high plasma levels of ECP in patients with COPD are associated with a more severe course of disease and the development of more frequent infection-related exacerbations of the disease, which require the administration of inhaled glucocorticoids and antibiotics. We have demonstrated an inverse relationship between the ECP level and forced expiratory volume in 1 second (FEV1). This allows the use of this indicator as a predictor of the severity of COPD in patients.

**Conclusion.** According to the obtained data, measuring the ECP level of blood plasma can be recommended for use as a clinical marker in the prognosis of COPD and selection of personalized therapy. It is a non-invasive and a relatively easily accomplished research method.

**Key words:** COPD, eosinophils, eosinophilic cationic protein, phenotype, severity, glucocorticoids.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was supported by the Russian Academic Excellence Project.

Conformity with the principles of ethics. All patients participating in the study signed an informed consent. The study was approved by the local Ethics Committee at SSMU.

**For citation:** Karnauskhina M.A., Fedosenko S.V., Danilov R.S., Komarova I.S., Petrov V.A. Eosinophilic cationic protein as a non-invasive marker of the nature of inflammatory response in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 59–66. [https://doi.org: 10.20538/1682-0363-2020-1-59-66](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-59-66).

## ВВЕДЕНИЕ

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – это хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, формирование которого связано с воздействием различных факторов окружающей среды. ХОБЛ является многокомпонентным заболеванием, характеризующимся целым рядом патологических изменений в респираторной системе, таких как гиперсекреция слизи, обструкция дыхательных путей, бронхиолит и ремоделирование легочной ткани [1]. По данным опубликованных исследований известно, что в зависимости от преобладания тех или иных изменений в легочной ткани и скорости их прогрессирования формируются различные фенотипы ХОБЛ.

В последнее время ученые выделяют все новые и новые фенотипы данного заболевания. Так, данные опубликованных в последние годы исследований позволили выделить фенотип, характеризующийся бронхиальной гиперреактивностью и наличием эозинофильного воспаления в дыхательных путях [1]. Тогда как при других фенотипах ХОБЛ воспалительный инфильтрат в дыхательных путях главным образом представлен нейтрофилами и цитотоксическими Т-клетками, а ведущим функциональным критерием постановки диагноза является отрицательная бронхолитическая проба при значении постбронходилатационного соотношении ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ < 0,7 [1–3].

Ученые предположили, что в патогенезе фенотипа ХОБЛ, характеризующегося наличием бронхиальной гиперреактивности, в дыхательных путях превалирует Т2-зависимый механизм развития воспаления, более характерный для больных бронхиальной астмой с эозинофильным типом воспаления [2, 3]. Ключевыми эффекторными клетками, участвующими в повреждении слизистой оболочки дыхательных путей при данном механизме воспалительного процесса, считаются эозинофилы. Одним из основных белков, отражающих активность эозинофильного воспаления, является эозинофильный катионный белок ЕСР. Он легко определяется как в бронхи-

альном секрете, так и в периферической крови, его уровень коррелирует с тяжестью астмы и частотой обострений [4].

М. Saetta и соавт. установили, что количество тканевых эозинофилов и уровень эозинофильного катионного белка повышен не только у пациентов с бронхиальной астмой, но и у части пациентов с ХОБЛ [5]. Такое повышение чаще всего наблюдалось при выраженном обострении заболевания в мокроте и бронхиальном лаваже. Полученные данные с патогенетической точки зрения были объяснены тем, что ЕСР является мощным хемоаттрактантом для эозинофилов, нейтрофилов и базофилов, участвующих в вирусном и бактериальном воспалительном процессах в дыхательных путях. В ряде недавно опубликованных исследований обсуждается вопрос о том, что, с одной стороны, увеличение содержания ЕСР в дыхательных путях отражает активность эозинофильного воспаления. С другой стороны, он сам по себе выступает в роли мощного хемоаттрактанта, привлекая в очаг воспаления эозинофилы, нейтрофилы и базофилы – клетки-эффекторы, участвующие в вирусном и бактериальном воспалительных процессах в бронхолегочном регионе [6].

Уже сегодня в глобальном руководстве GOLD и рекомендациях Российского респираторного общества по лечению ХОБЛ предлагается учитывать уровень эозинофилов в крови у пациентов с повторными обострениями на фоне адекватной одно- или двухкомпонентной бронходилатационной терапии для оценки целесообразности назначения ингаляционных глюкокортикостероидов (ИГКС) [1]. Поскольку количество ЕСР в крови у пациентов с ХОБЛ значительно больше коррелирует со степенью активности воспаления, чем количество эозинофилов крови и мокроты [6], представляется целесообразным определять уровень данного белка и использовать его как маркер активности воспаления в дыхательных путях при тяжелом течении ХОБЛ и предиктор эффективности ИГКС у больных ХОБЛ эозинофильного фенотипа [7–9].

Цель исследования – установить ценность измерения уровня эозинофильного катионного

протеина в плазме крови у больных ХОБЛ как потенциального биомаркера для определения активности эозинофильного воспаления в сравнении с определением количества эозинофилов крови и прогнозирования тяжести течения ХОБЛ на основании определения таких клинических характеристик, как функция внешнего дыхания, частота обострений и индекс BODE.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для реализации поставленной цели спланировано и проведено проспективное неинтервенционное исследование. В исследовании принимал участие 161 пациент с ХОБЛ (средний возраст 63 [55; 70] года, индекс курения 40 [25; 60] пачка/лет). Все больные характеризовались наличием подтвержденного, согласно критериям GOLD, диагноза ХОБЛ [1], установленного не менее чем за 12 мес перед включением в исследование, и индекс курения более 10 пачка/лет.

Работа соответствует этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации, утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. В ходе исследования предусматривалось два визита больных ХОБЛ. Во время первого визита всем больным проводилось клиническое обследование со сбором анамнеза. Толерантность к физической нагрузке определялась при проведении 6-минутного шагового теста. Степень одышки оценивалась по модифицированной шкале MRC (Medical Research Council Dyspnea Scale) в баллах. Всем пациентам проводилось исследование функции внешнего дыхания (ФВД) с бронхолитической пробой. Исследование проводили на оборудовании MasterScreen Body (Erich Jaeger, Германия). Полученные данные сопоставляли с должными величинами, рассчитанными по формулам, рекомендованным Европейским респираторным и Американским торакальным обществами [10]. У всех пациентов проведено клиническое исследование крови и индуцированной мокроты с определением количества эозинофилов. В качестве критерия эозинофильного воспаления вне обострения заболевания использовался уровень эозинофилии  $\geq 300$  клеток/мкл в периферической крови и  $\geq 3\%$  эозинофилов в индуцированной мокроте [6, 7, 11].

Всем пациентам также проводилось определение уровня эозинофильного катионного белка

(ЕСР) в периферической крови. В качестве критерия повышения ЕСР вне обострения заболевания использовался уровень ЕСР  $> 24$  нг/мл в периферической крови [4]. Второй визит проводился через 12 мес после первого для оценки динамики заболевания.

На основании клинико-функциональных и лабораторных критериев, полученных в ходе проведенного обследования, пациенты были стратифицированы по уровню эозинофилов и эозинофильного катионного белка в периферической крови в период ремиссии заболевания. Сформированные группы были сопоставимы по возрасту и стажу курения. Данные представлены в табл. 1, 2.

Таблица 1

Характеристика групп больных ХОБЛ с разным уровнем эозинофилов в периферической крови в период ремиссии заболевания, $n = 161$ , $Me [Q_{25}; Q_{75}]$		
Уровень эозинофилов в периферической крови	Средний возраст, лет	Индекс курения, пачка/лет
$\geq 300$ клеток/мкл	62 [54; 69]	40 [24,5; 53,3]
$< 300$ клеток/мкл	64 [56; 72]	45 [40,0; 52,2]

Таблица 2

Характеристика групп больных ХОБЛ с разным уровнем эозинофильного катионного белка в периферической крови в период ремиссии заболевания, $n = 161$ , $Me [Q_{25}; Q_{75}]$		
Уровень ЕСР в периферической крови	Средний возраст, лет	Индекс курения, пачка/лет
$> 24$ нг/мл	63 [53; 72]	42 [26,0; 54,5]
$\leq 24$ нг/мл	65 [55; 70]	44 [38,5; 52,0]

Средний возраст в группе ХОБЛ с повышенным уровнем эозинофилов составил 62,0 [54,0; 69,25], индекс курения 40,0 [24,5; 53,25]. Средний возраст в группе ХОБЛ с нормальными показателями эозинофилов составил 64,0 [56,0; 72,0], индекс курения 45,0 [40,0; 52,5].

Для статистической обработки данных анамнеза, клинико-функциональных и лабораторных параметров использован пакет программ Statistica 10.0 (StalSoft Inc., США). При сравнении частот качественных признаков использовался критерий  $\chi^2$ . Для оценки различия средних в попарно несвязанных выборках использован  $U$ -критерий Манна – Уитни. Качественные данные представлены в виде абсолютных или относительных (%) частот, количественные – в виде  $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ . Статистически значимой считали разницу значений при  $p < 0,05$ . При проведении корреляционного анализа использован коэффициент Спирмена. Сила корреляционной связи оценивалась следующим

образом: сильная:  $\pm 0,7$  до  $\pm 1$ ; средняя:  $\pm 0,3$  до  $\pm 0,699$ ; слабая: 0 до  $\pm 0,299$ .

Для выявления взаимосвязи уровня эозинофильного катионного белка и клинико-функциональных особенностей течения ХОБЛ был выполнен регрессионный анализ. При его проведении в качестве зависимой переменной использовали содержание эозинофильного катионного белка, в качестве независимых интегрировали клинико-функциональные параметры. Значения  $r$  приведены после поправки по Бенджамини – Хохбергу. Пороговый уровень значимости принят менее 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе проведенного обследования у пациентов ХОБЛ с разными уровнями эозинофилов и катионного эозинофильного белка в периферической крови в период ремиссии заболевания выполнен сравнительный анализ основных клинико-функциональных показателей степени тяжести и фенотипических особенностей течения болезни. При сравнении клинико-функциональных показателей пациентов ХОБЛ с повышенным и нормальным уровнем эозинофилов в периферической крови и индуцированной мокроте значимых различий не выявлено.

Основываясь на данных опубликованных исследований, продемонстрировавших значимое повышение уровня эозинофилов у пациентов ХОБЛ в период обострения заболевания [12, 13], мы провели анализ полученных нами данных. Отметим, что в группе пациентов с нормальными показателями эозинофилов в периферической крови в период ремиссии заболевания встречались пациенты с транзиторным повышением уровня эозинофилов в периоды обострения ХОБЛ. При проведении дальнейшего анализа данных архива историй болезни, мы обратили внимание, что у одного и того же пациента повышение эозинофилов в периферической крови с достижением уровня  $\geq 300$  клеток/мкл выявлялось не при каждом обострении. Это не позволило нам корректно выделить группу с транзиторным повышением эозинофилов в периферической крови и провести сравнительный анализ.

В качестве маркера активности эозинофильного воспаления мы использовали определение уровня эозинофильного катионного белка периферической крови. Средний уровень эозинофильного катионного белка у пациентов в исследовании составил 15 [9; 23] мг/л. При проведении сравнительного анализа были установлены достоверные уровни различия в содержании эози-

нофильного катионного белка между группами пациентов, стратифицированных по уровню эозинофилов в периферической крови  $\geq 300$  клеток/мкл и  $< 300$  клеток/мкл ( $p = 0,029$ ). Однако при проведении корреляционного анализа получены значимые положительные корреляционные связи средней силы уровня ЕСР только с частотой обострения ХОБЛ ( $p = 0,035$ ;  $r = +0,06$ ).

Поскольку при сравнении клинико-функциональных показателей пациентов ХОБЛ с повышенным и нормальным уровнем эозинофилов в индуцированной мокроте значимых различий не выявлено, на следующем этапе исследования пациенты ХОБЛ были разделены на две группы в зависимости от наличия повышения ЕСР в периферической крови.

Для проведения оценки различий выполнена сравнительная оценка клинико-функциональных показателей в группах пациентов с ХОБЛ с повышенным уровнем эозинофильного катионного белка и группы с его нормальными значениями. В табл. 3 представлена клинико-функциональная характеристика данных групп пациентов.

Таблица 3

Сравнительная характеристика клинико-функциональных параметров пациентов ХОБЛ с различным уровнем эозинофильного катионного белка (ЕСР) в периферической крови, Me [ $Q_{25}$ ; $Q_{75}$ ]			
Параметр	Больные ХОБЛ, $n = 161$		$p$
	с повышенным уровнем ЕСР ( $> 24$ нг/мл) $n = 38$	с нормальным уровнем ЕСР ( $\leq 24$ нг/мл) $n = 123$	
Обострения за 12 мес	3,00 [2,00; 3,75]	1 [1; 2]	0,024
Терапия ИГКС + ДДБА + ДДАХП 12 мес, $n$ (% больных)	14 [36; 84]	14 [11; 38]	–
ИГКС 12 мес, $n$ (% больных)	20 [52; 63]	24 [19; 51]	–
Частота курсовой АБТ 12 мес, $n$	1,5 [1,0; 3,0]	1 [0; 1]	0,042
Индекс курения, пачка/лет	46,50 [26,75; 75,00]	40,0 [25,5; 60,0]	0,34
Индекс BODE, баллы	3 [2; 4]	1 [0; 2]	0,031
mMRC, баллы	3 [2; 4]	1 [0,5; 2,0]	0,046
6-минутный шаговый тест, м	450,0 [302,5; 637,5]	540 [372; 670]	0,23
Продукция мокроты, баллы	1,5 [1,0; 2,0]	1 [1; 2]	0,83
Пневмонии за 12 мес, %	50	22	–

Окончание табл. 3

Параметр	Больные ХОБА, <i>n</i> = 161		<i>p</i>
	с повышенным уровнем ЕСР (>24 нг/мл) <i>n</i> = 38	с нормальным уровнем ЕСР (≤24 нг/мл) <i>n</i> = 123	
ОФВ1, % от должного (после пробы с бронхолитиком)	69,0 [53,75; 75,00]	67,0 [57,0; 76,5]	0,34
Уровень эозинофилов крови (вне обострения), × 10 <sup>9</sup> /л	0,35 [0,34; 0,41]	0,17 [0,11; 0,25]	0,026

Примечание. ИГКС – глюкокортикостероиды; АБТ – антибактериальная терапия; ДДАХ – длительно действующие антихолинергики; ДДБА – длительно действующие β2-агонисты; ОФВ1 – объем форсированного выдоха за первую секунду (здесь и в табл. 4).

При сравнительном анализе клинико-функциональных показателей больных с разным уровнем эозинофильного катионного белка в плазме крови установлено, что пациенты с повышенным его содержанием достоверно чаще получали курсы антибактериальной терапии. Они характеризовались достоверно более тяжелым течением заболевания – более высокой

частотой обострений, демонстрировали более выраженную одышку и характеризовались более высоким значением индекса BODE. Пациенты с высоким уровнем ЕСР в плазме крови отличались тенденцией к более высокому риску развития пневмоний (50% пациентов из этой группы имели в анамнезе пневмонии) и к потребности в более высоком объеме базового лечения (36% получали двойную бронхолитическую терапию в сочетании с ИГКС). В то же время указанные показатели не различались статистически значимо между группами пациентов, стратифицированными по уровню ЕСР.

Для выявления взаимосвязи уровня эозинофильного катионного белка и клинико-функциональных особенностей течения ХОБА был выполнен регрессионный анализ. С помощью метода множественной линейной регрессии доказана значимость уровня эозинофильного катионного белка для степени тяжести течения ХОБА и его связь с воспалительным генезом обострения заболевания. В качестве зависимой переменной использовали содержание эозинофильного катионного белка, в качестве независимой интегрировали остальные клинико-функциональные факторы. Полученные данные представлены в табл. 4.

Таблица 4

Уровень эозинофильного катионного белка и ассоциированные с ним клинико-функциональные показатели у больных ХОБА				
Параметр	КНП	КНП ст. откл.	<i>p</i>	adj. <i>p</i>
Продукция мокроты, баллы	5,385	2,022	0,009	0,02
Обострения за 12 мес	2,765	0,42	0,006	0,01
Уровень эозинофилов крови (вне обострения), × 10 <sup>9</sup> /л	8,64	3,232	0,008	0,022
Количество курсов АБТ за 12 мес	2,808	0,441	0,002	0,03
ИГКС 12 мес, <i>n</i> (% больных)	5,538	1,428	0,0002	0,0007
ДДБА ± ДДАХ 12 мес, <i>n</i> (% больных)	3,573	1,375	0,01	0,03
Терапия ИГКС + ДДБА + ДДАХП 12 мес, <i>n</i> (% больных)	6,169	1,687	0,0003	0,001
ОФВ1, % от должного (после пробы с бронхолитиком)	4,782	1,421	0,003	0,02

Примечание. КНП – коэффициент наклона прямой; adj. *p* – значение после поправки по Бенджамини – Хохбергу.

Из табл. 4 видно, что клинико-функциональные показатели у больных ХОБА с более высоким уровнем эозинофильного катионного белка в периферической крови характеризовались большей частотой обострения заболевания, более высокой продукцией мокроты, более частыми

курсами антибактериальной терапии. При проведении регрессионного анализа выявлена связь повышения ЕСР с увеличением объема проводимого лечения. Пациенты ХОБА с повышенным уровнем эозинофильного катионного белка в периферической крови значимо чаще получали

постоянную трехкомпонентную ингаляционную терапию, включающую ингаляционные пролонгированные  $\beta_2$ -агонист и М3-холиноблокатор в сочетании с ИГКС, что свидетельствует о более тяжелом течении заболевания. Обращает на себя внимание то, что поддерживающая терапия пациентов данной группы включала ингаляционные кортикостероиды, потребность в назначении которых была ассоциирована с уровнем ЕСР и носила достоверный характер ( $p = 0,0002$ ; adj.  $p = 0,0007$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Выполненная работа подтверждает, что высокий уровень эозинофильного катионного белка в плазме крови у больных ХОБЛ ассоциирован с более тяжелым течением ХОБЛ и развитием более частых инфекционно-зависимых обострений заболевания, требующих назначения ИГКС и антибиотиков. Нами была продемонстрирована обратная связь между уровнем ЕСР и ОФВ1, что позволяет использовать данный показатель как предиктор тяжести течения ХОБЛ. Отсутствие в нашем исследовании взаимосвязи между уровнем эозинофилов в индуцированной мокроте и периферической крови с клинико-функциональными особенностями течения ХОБЛ в период ремиссии заболевания, выявленной в ходе других исследований [14–16], можно объяснить небольшим количеством в выборке больных крайне тяжелого течения (GOLD 3-4). Наше исследование будет продолжено для подтверждения полученных данных о том, что ЕСР является более точным по сравнению с уровнем эозинофилов крови и мокроты маркером характера воспаления при ХОБЛ, прогностическим критерием тяжести течения заболевания и одним из ведущих критериев необходимости назначения больным ХОБЛ глюкокортикостероидов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая полученные нами данные, измерение эозинофильного катионного белка плазмы крови, являющееся неинвазивным и относительно легко выполнимым методом исследования, можно рекомендовать в качестве клинического маркера при прогнозе ХОБЛ и персонализированном подборе терапии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global strategy for the diagnosis, management and prevention of COPD. 2018. Report. URL: <http://www.goldcopd>.
2. Barnes P.J. Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016; 138 (1): 16–27. DOI:10.1016/j.jaci.2016.05.011.
3. Barnes P.J. Cellular and molecular mechanisms of chronic obstructive pulmonary disease. *Clin. Chest. Med.* 2014; 35 (1): 71–86. DOI: 10.1016/j.ccm.2013.10.004.
4. Jahnz-Rozyk K., Plusa T., Mierzejewska J. Eotaxin in serum of patients with asthma or chronic obstructive pulmonary disease: relationship with eosinophil cationic protein and lung function. *Mediators of Inflammation.* 2000; 9 (3–4): 175–179. DOI: 10.1080/09629350020008691.
5. Saetta M., Di Stefano A., Maestrelli P., Turato G., Ruggeri M.P., Roggeri A., Calcagni P., Mapp C.E., Ciaccia A., Fabbri L.M. Airway eosinophilia in chronic bronchitis during exacerbations. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994; 150 (6): 1646–1652. DOI: 10.1164/ajrcm.150.6.7952628.
6. Paone G., Leone V., Conti V., Marchis L., Ialeni E., Graziani C., Salducci M., Ramaccia M., Munafò G. Blood and sputum biomarkers in COPD and asthma: a review. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 2016; 20 (4): 698–708.
7. Singh D., Kolsum U., Brightling C.E., Locantore N., Agusti A., Tal-Singer R. Eosinophilic inflammation in COPD: prevalence and clinical characteristics. *Eur. Respir. J.* 2014; 44 (6): 1697–1700. DOI: 10.1183/09031936.00162414
8. Leigh R., Pizzichini M.M., Morris M.M., Maltais F., Hargreave F.E., Pizzichini E. Stable COPD: predicting benefit from high-dose inhaled corticosteroid treatment. *Eur. Respir. J.* 2006; 27 (5): 964–971. DOI: 10.1183/09031936.06.00072105.
9. Bafadhel M., McKenna S., Terry S., Mistry V., Venge M.P.P., Lomas D.A., Barer M.R., Johnston S.L., Pavord I.D., Brightling C.E. Blood eosinophils to direct corticosteroid treatment of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: a randomized placebo-controlled trial. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012; 186 (1): 48–55. DOI: 10.1164/rccm.201108-1553oc.
10. Pellegrino R., Viegi G., Brusasco V. et al. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur. Respir. J.* 2005; 26 (5): 948–968. DOI: 10.1183/18106838.0201.9.
11. Schleich F., Corhay J.L., Louis R. Blood eosinophil count to predict bronchial eosinophilic inflammation in COPD. *Eur. Respir. J.* 2016; 47 (5): 1562–1564. DOI: 10.1183/13993003.01659-2015.
12. Papi A., Luppi F., Franco F., Fabbri L.M. Pathophysiology of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2006; 3 (3): 245–251. DOI: 10.1513/pats.200512-125sf.
13. Bafadhel M., McKenna S., Terry S. et al. Acute exacerbations of COPD: identification of biological clusters and their biomarkers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 184 (6): 662–671. DOI: 10.1164/rccm.201104-0597oc/
14. Rutgers S.R., Timens W., Kaufmann H.F., van der Mark T.W., Koëter G.H., Postma D.S. Comparison of

- induced sputum with bronchial wash, bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies in COPD. *Eur. Respir. J.* 2000; 15 (1): 109–115. DOI: 10.1183/09031936.00.15110900.
15. Hastie A.T., Martinez F.J., Curtis J.L. et al. Association of sputum and blood eosinophil concentrations with clinical measures of COPD severity: an analysis of the SPIROMICS cohort. *Lancet Respir. Med.* 2017; 5 (12): 956–967. DOI: 10.1016/s2213-2600(17)30432-0.
16. Siva R., Green R.H., Brightling C.E., Shelley M., Hargadon B., McKenna S., Monteiro W., Berry M., Parker D., Wardlaw A.J., Pavord I.D. Eosinophilic airway inflammation and exacerbations of COPD: a randomised controlled trial. *Eur. Respir. J.* 2007; 29 (5): 906–913. DOI: 10.1183/09031936.00146306.

## Вклад авторов

Карнаушкина М.С. – разработка концепции и дизайна. Федосенко С.В. – анализ и интерпретация данных. Данилов Р.С. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Комарова И.С. – обоснование рукописи. Петров В.А. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

## Сведения об авторах

Карнаушкина Мария Александровна, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии № 2, Сеченовский Университет, г. Москва. ORCID 0000-0002-8791-2920.

Федосенко Сергей Вячеславович, д-р мед. наук, доцент, кафедра общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-6655-3300.

Данилов Руслан Станиславович, врач-пульмонолог, терапевтическое отделение, Лечебно-реабилитационный центр, г. Москва.

Комарова Ирина Севастьяновна, канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной терапии № 2, Сеченовский Университет, г. Москва. ORCID 0000-0001-6425-0621.

Петров Вячеслав Алексеевич, мл. науч. сотрудник, Центр биологических исследований и биоинженерии, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-5205-9739.

(✉) Карнаушкина Мария Александровна, e-mail: kar3745@yandex.ru.

Поступила в редакцию 16.05.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Макрофаги как регуляторы гомеостаза миокарда после его ишемического повреждения в условиях применения аллогенного биоматериала

Лебедева А.И.<sup>1</sup>, Муслимов С.А.<sup>1</sup>, Гареев Е.М.<sup>1</sup>, Афанасьев С.А.<sup>2</sup>,  
Кондратьева Д.С.<sup>2</sup>, Попов С.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Всероссийский центр глазной и пластической хирургии  
Россия, 450075, г. Уфа, ул. Р. Зорге, 67/1*

<sup>2</sup> *Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский  
медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а*

### РЕЗЮМЕ

**Ведение.** Макрофаги как клетки-эффекторы играют ключевую роль в инициации воспалительного процесса, определяют выраженность постинфарктного кардиосклероза. Популяция этих клеток является гетерогенной и представлена преимущественно М1 и М2 фенотипами. Аллогенный биоматериал аллоплант (БМА) резорбируется макрофагами, продукты резорбции влияют на их способность регулировать клеточные взаимодействия.

**Цель.** Раскрыть особенности постинфарктного заживления миокарда после введения БМА. Оценить динамику изменения численности макрофагов и c-kit<sup>+</sup>-клеток.

**Материалы и методы.** Экспериментальные исследования были проведены на 100 самцах крыс линии Вистар массой 0,18–0,25 кг. Всем животным была проведена коронароокклюзия верхней трети левой нисходящей коронарной артерии. В опытной группе сразу после стенозирования артерии в ее бассейн интрамиокардиально вводили суспензию, содержащую 12 мг БМА. Использовали гистологические, электронно-микроскопические, иммуногистохимические (CD 68, c-kit, Timp-2), морфометрические и статистические методы исследования. Забор сердец проводили через 3, 7, 14, 30, 45 сут.

**Результаты.** В опытной группе течение воспалительного процесса характеризовалось наступлением ранней пролиферативной стадии, в то время как в контрольной развивался колликвационный некроз. Группы характеризовались различной степенью выраженности макрофагальной реакции. Число CD68<sup>+</sup>-клеток в реактивной зоне в контрольной группе было больше, чем у опытной группы. Напротив, в опытной группе выявлены БМА-индуцированные макрофаги мезенхимного происхождения, а численность c-kit<sup>+</sup>-клеток была значительно больше, чем в контроле. Спустя 45 сут индекс площади рубца в опытной группе был статистически значимо меньше, чем в контроле.

**Заключение.** БМА в условиях острого ишемического поражения миокарда оказывал гистопротекторный эффект за счет ингибирования миграции макрофагов и индукции клеточного кардиомиогенеза.

**Ключевые слова:** биоматериал аллоплант, площадь рубца, миокард.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания: регистрационный номер НИОКР 115040870057 от 8.04.2015 г.

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом Всероссийского центра глазной и пластической хирургии (протокол № 31 от 12.10.2015).

✉ Лебедева Анна Ивановна, e-mail: Jeol02@mail.ru.

Для цитирования: Лебедева А.И., Муслимов С.А., Гареев Е.М., Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С., Попов С.В. Макрофаги как регуляторы гомеостаза миокарда после его ишемического повреждения в условиях применения аллогенного биоматериала. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 67–75. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-67-75>.

## Macrophages as homeostatic regulators in the ischemically damaged myocardium after use of allogenic biomaterial

Lebedeva A.I.<sup>1</sup>, Muslimov S.A.<sup>1</sup>, Gareev E.M.<sup>1</sup>, Afanasiev S.A.<sup>2</sup>, Condratyeva D.S.<sup>2</sup>, Popov S.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Russian Eye and Plastic Surgery Centre  
67/1, R. Zorge Str., 450075, Ufa, Russian Federation

<sup>2</sup> Research Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Centre  
Kievskaya Str., 111a, Tomsk, 634012, Russian Federation

### ABSTRACT

Macrophages as the effector cells play a key role in initiating the inflammatory process and predetermine the manifestation of the postinfarction cardiosclerosis. The population of these cells is heterogenous and is mainly represented by M1 and M2 phenotypes. Alloplant biomaterial (ABM) is resorbed by the macrophages which became the regulators of the cellular interaction in tissues.

**The aim** of the investigation was to reveal the peculiarities of the postinfarction healing of the myocardium following the ABM insertion and to assess the population change in the dynamics of macrophages and c-kit<sup>+</sup> cells.

**Materials and methods.** The experimental investigations were carried out on 100 male Wistar's rats weighing 0.18–0.25 kg. All the animals had coronary occlusion by way of ligating the arteries. In the experimental group, the ABM (12 mg) suspension was intramyocardially administered simultaneously with the vessel stricture formation. The harvesting of hearts was carried out at 3, 7, 14, 30, 45 days.

**Results.** In the experimental group the course of the inflammatory process was characterized by the onset of the early proliferative stage, whereas in the control group colliquative necrosis was developing. It was caused by different degrees of the macrophage reaction expression. The number of CD68<sup>+</sup> cells in the rat reactive zone of the control group was bigger than in the experimental one. In the experimental group the ABM-induced macrophages of mesenchyme origin were revealed and c-kit<sup>+</sup> cells were considerably more in number than in the control one. After 45 days, the scar area index in the experimental group was significantly less than in the control group.

**Conclusion.** ABM had a histoprotective effect under the conditions of the acute myocardial ischemia due to the inhibition of macrophage migration and induction of cellular cardiomyogenesis.

**Key words:** alloplant biomaterial, scar area, myocardium.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The work was performed within the state assignment: R&D registration number 115040870057 dated 08.04.15.

**Conformity with the principles of ethics.** The study was supported by the local Ethics Committee at the Russian Eye and Plastic Surgery Centre (Protocol No. 31 of 12.10.2015).

**For citation:** Lebedeva A.I., Muslimov S.A., Gareev E.M., Afanasiev S.A., Condratyeva D.S., Popov S.V. Macrophages as the homeostasis regulators in the ischemically damaged myocardium in condition of the use of allogenic biomaterial. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 67–75. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-67-75>.

## ВВЕДЕНИЕ

Установлено, что при использовании аллогенного биоматериала «Аллоплант» (БМА) ключевыми клетками гистиона при регенерации волокнистой соединительной и скелетной мышечной ткани являются макрофаги с фенотипом M1, доля которых значительно превышает численность данных клеток в контрольных группах, где нанесение дефекта не сопровождалось применением биоматериала [1, 2]. Показано, что использование БМА оказывает положительное влияние на состояние сердечной мышцы и улучшает ее структуру после ишемического повреждения [3]. БМА биодеградирует в ткани, а его продукты резорбции являются хемоаттрактантом стволовых прогениторных клеток, которые индуцируют процесс регенерации [4, 5]. Существуют противоположные точки зрения о негативной роли M1 макрофагов в процессе заживления ишемически поврежденного миокарда как ключевых клеток-промоторов повреждения кардиомиоцитов, манифестации воспаления и прогрессирования фиброза [6]. В связи с изложенными данными, исследование вовлеченности макрофагов в воспалительно-дегенеративные процессы, развивающиеся в сердечной мышце после экспериментальной коронароокклюзии и на фоне использования БМА, представляются актуальными.

Цель исследования – раскрыть особенности постинфарктного заживления миокарда при введении БМА и оценить динамику изменения численности макрофагов и c-kit<sup>+</sup>-клеток.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте было использовано 100 самцах крыс породы Вистар массой 0,18–0,25 кг. Животные были разделены на две экспериментальные группы. В контрольной группе ( $n = 50$ ) моделирование инфаркта миокарда осуществляли следующим образом: у животных, находящихся под общим наркозом (внутримышечная инъекция золетила), выполняли левостороннюю торакотомию с последующим наложением лигатуры в верхней трети *r. interventricularis paraconalis a. coronarii sin.* левого желудочка. Крысам основной группы ( $n = 50$ ) сразу после лигирования коронарной артерии в сердечную мышцу в зоне ее бассейна вводили 12 мг БМА, суспендированного в физиологическом растворе. Доза БМА была выбрана произвольно. Крыс в обеих группах выводили из эксперимента путем передозировки летальной дозы паров эфира спустя 3, 7, 14, 30, 45 сут.

Экспериментальные исследования выполнялись в соответствии с Правилами лабораторной

практики в Российской Федерации, согласно правилам, принятым Европейской конвенцией по защите животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Strasbourg, 1986), а также согласно утвержденному письменному документу, в соответствии со стандартными процедурами исследователя и руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в медицинских исследованиях [7]. Аллогенный биоматериал аллоплант разработан в ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» МЗ РФ г. Уфы. Указанный трансплантат изготавливается согласно ТУ 42-2-537-87, сертифицирован и разрешен к использованию в клинической практике приказом МЗ СССР № 87 901-87 от 22.07.1987 г. Для настоящего исследования аллогенный биоматериал изготавливали из сухожилий крыс и измельчали до размера частиц 50–80 мкм.

Для гистологического исследования сердца фиксировали в 10%-м растворе формалина нейтрального, обезжизивали в серии растворов спиртов возрастающей концентрации и заливали в парафин по традиционной методике. Срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия), затем окрашивали гематоксилином и эозином по Маллори. Для определения зоны постинфарктного рубца, каждое сердце иссекали поперек на пять секторов. Индекс площади рубца (ИПР) измеряли на препаратах поперечных срезов органов, используя программы ИТЕМ, таким образом: отношение площади рубца к площади стенки левого желудочка умножали на 100%.

Для иммуногистохимического исследования срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали при помощи иммуногистостейнера Leica Microsystems Bond (Германия). В качестве первичных антител использовали: CD 68, c-kit, Timp-2 в разведении 1 : 300 (Santa Cruz Biotechnology, США). Проводили одиночное и двойное иммуномечение клеток к исследуемым антителам. Для демаскировки применили непрямую стрептавидин-биотиновую систему детекции Leica BOND (Novocastra, Германия). Определение специфичности реакции производили при окрашивании срезов без первичных антител. Подсчет положительно окрашенных клеток производили в 20 полях зрения каждого образца ( $n = 6$ ),  $\times 400$ . Исследование и визуализацию препаратов анализировали с использованием светоптического микроскопа Leica DMD 108 (Германия) со специальным программным обеспечением управления настройками и захвата изображения.

Для ультрамикроскопического исследования иссекали кусочки миокарда размером 1–2 мм<sup>3</sup>, которые для фиксации погружали в 2,5%-й

раствор глутаральдегида, изготовленного на какодилатном буфере (рН 7,2–7,4) с дополнительной фиксацией в 1%-м растворе OsO<sub>4</sub> на том же буфере. Материал обезжировали в растворах спиртов возрастающей концентрации и заливали в эпон-812. На ультратоме EM UC 7 (Leica, Германия) изготавливали полутонкие срезы и обрабатывали их раствором толудинового синего на 2,5%-м растворе безводной соды. На срезах находили участки для ультрамикроскопического исследования. Электронно-микроскопические срезы контрастировали 2%-м водным раствором уранилацетата, цитратом свинца по Рейнольдсу и исследовали в просвечивающем микроскопе JEM-1011 (Jeol, Япония).

Анализ данных ИПР осуществляли с использованием непараметрических методов – однофакторного дисперсионного анализа по Краскелу – Уоллису и методом Манна – Уитни [8]. Построение диаграммы производили в программе Statistica 6,0 (StatSoft Inc., США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Процесс заживления ишемически поврежденного миокарда в контрольной группе и при использовании БМА (основная группа) имел существенные различия (рис. 1). Данные ИПР в опытной группе незначимо зависели от сроков

наблюдения ( $\chi^2 = 5,7, p > 0,12$ ). Однако значения этого показателя со временем имели тенденцию к постепенному снижению по отношению к начальному уровню. Медиана распределения к 7-м сут составляла 22,7% (0%, 43,3%) и значимо ( $p = 0,03$ ) снижалась на 14-е сут до 13,4% (0%, 22,2%). В период 30–45 сут наблюдалось снижение ИПР до 16% (0%, 32,1%) и 5,2% (0%, 33,8%) ( $p = 0,14$  и  $p = 0,02$  соответственно). Между 14-, 30- и 45-ми сут различия оказались статистически незначимыми ( $p = 0,23 \div p = 0,75$ ). Как видно, нулевые значения ИПР (отсутствие рубца миокарда) имели место уже спустя 7 сут после коронароокклюзии. При этом на 7-е сут это было единственное значение (6%), а в последующие сроки таковых стало три (19÷23%). В контрольной группе зависимость ИПР от сроков наблюдения также оказалась статистически незначимой ( $\chi^2 = 6,3, p = 0,10$ ). Отличия уровня ИПР от исходного (7-е сут) оказались статистически значимыми лишь на 30-е сут ( $p = 0,01$ ). На рис. 1 видно, что на протяжении всего периода наблюдения в контрольной группе не было случаев нулевых значений ИПР. Сравнение обеих экспериментальных групп в различные сроки исследования показало, что при имплантации БМА на всех сроках наблюдения ИПР был статистически значимо меньше, чем в контроле ( $p = 0,01 \div p < 0,0001$ ).



Рис. 1. Индекс площади рубца в опытной и контрольной группах (а): по оси абсцисс – сроки наблюдения (сут), по оси ординат – ИПР (%). Поперечный срез миокарда через 45 сут в контрольной группе (b); опытной группе (с), ×40. Окраска по Маллори

Большое значение в прогрессировании фиброза и манифестации рубца отводится макрофагальным клеткам [6]. В контрольной группе в реактивной зоне ишемически поврежденной сердечной мышцы численность макрофагов CD68<sup>+</sup> превышала значения опытной группы практически на всем протяжении эксперимента (рис. 2).

В контрольной и опытной группах тенденция к подъему и последующему спаду численности клеток была высоко значима ( $\chi^2 = 76,3, p << 0,0001$  и  $\chi^2 = 45,2, p << 0,0001$  соответственно). Количество клеток CD68<sup>+</sup> в контрольной группе статистически значимо превышало их численность в опытной группе в период наблюдения, 3–14-е сут

( $p = 0,003$  и менее). В период 30–45 сут происходило затухание процессов ремоделирования миокарда и формирование рубца, что обуславливало снижение численности макрофагов в обеих

группах вплоть до отсутствия значимых различий ( $p = 0,12$ ) на 45-е сут и трансформацию экссудативно-пролиферативной фазы воспаления в стадию заживления.

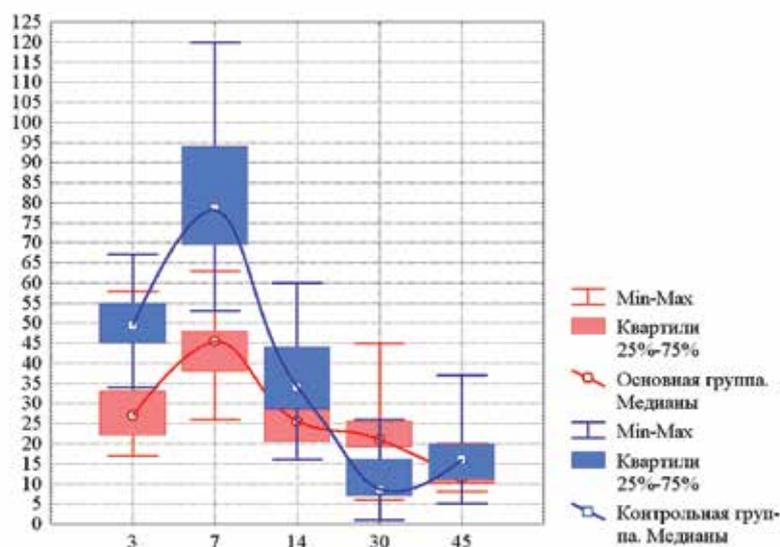
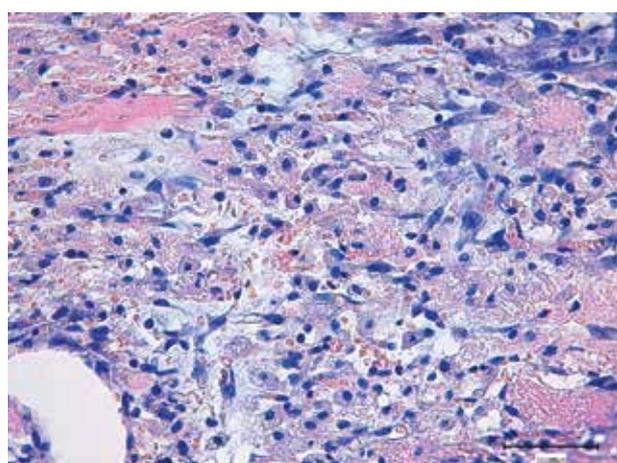


Рис. 2. Численность CD68<sup>+</sup>-макрофагов в миокарде крысы в опытной и контрольной группах: по оси абсцисс – срок наблюдения, сут, по оси ординат – число клеток

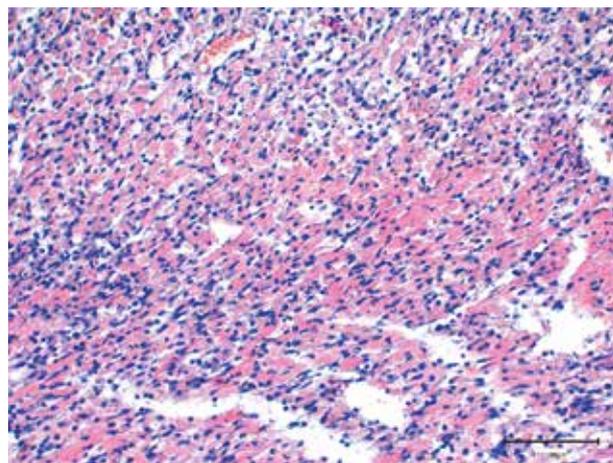
Оценивая динамику патоморфологических изменений, выявлено, что в перифокальной зоне ишемически поврежденного миокарда опытной группы начальная стадия воспаления (3-е сут) характеризовалась ранним наступлением пролиферативной фазы и формированием грануляционной ткани. Здесь определялись тонкие коллагеновые волокна, мезенхимная и макрофагально-фибро-

бластическая инфильтрация (рис. 3, *a*). В контрольной группе на месте разрушающихся кардиомиоцитов формировался широкий клеточный вал, состоящий из макрофагов, лимфоцитов, нейтрофилов (рис. 3, *b*).

В настоящем исследовании в обеих группах с-kit<sup>+</sup>-клетки определялись преимущественно в перинфарктной и периваскулярной зонах.



*a*



*b*

Рис. 3. Морфологические изменения в миокарде крысы: *a* – формирование грануляционной ткани в перифокальной зоне, инфильтрация макрофагами, мезенхимными клетками, фибробластами через 3 сут после коронароокклюзии и введения БМА; *b* – макрофагально-лимфоцитарный клеточный вал в зоне некротически измененных кардиомиоцитов через 3 сут после коронароокклюзии. Окраска гематоксилином и эозином

При этом, несмотря на аутогенное происхождение стволовых клеток  $c-kit^+$  и отсутствие факторов антигенности, они подвергались фагоцитозу макрофагами (рис. 4, *a*). Также на электронно-микроскопическом уровне были зафиксированы многочисленные макрофаги, фагоцитирующие недифференцированные клетки. В фагоцитарных вакуолях определялись фрагменты цитоплазмы и пикнотичных ядер. При этом макрофагальные клетки проявляли признаки ак-

тивации. Ядра овальные с большим содержанием эухроматина, в расширенной ободке цитоплазмы определялись множественные округлые крупные митохондрии с затемненным матриксом и параллельно ориентированными ламеллярными кристами. Цитолемма образовывала глубокие инвагинации. Был хорошо развит аппарат Гольджи с удлинненными уплощенными цистернами, сложенными в стопки, от которых отшнуровывались везикулы (рис. 4, *b*).

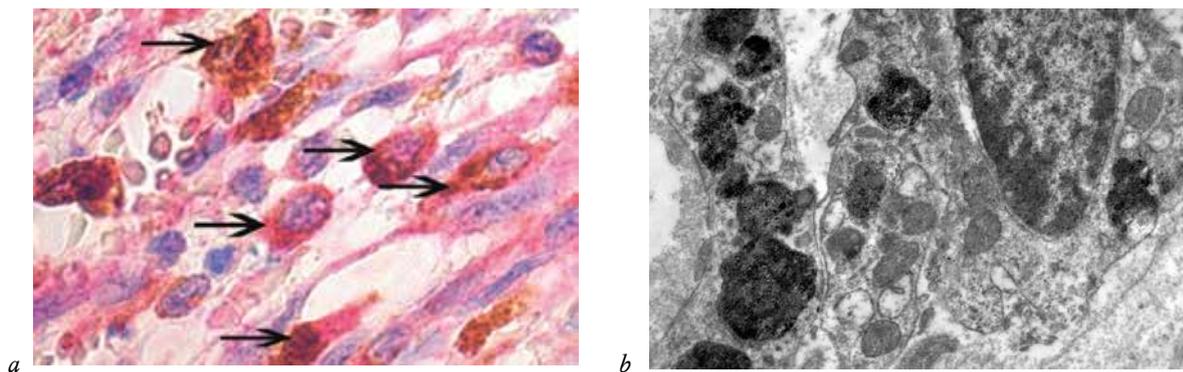


Рис. 4. Электронограмма фагоцитирующих макрофагов через 7 сут после коронароокклюзии: *a* – CD68 (коричневый цвет),  $c-kit$  (красный цвет). Гранулы хромогена выявляются в цитоплазме макрофагов. Непрямой двойной метод иммунопероксидазного выявления антигена с докраской гематоксилином,  $\times 600$ ; *b* – макрофаг фагоцитарного типа с вакуолями клеточного детрита,  $\times 10\ 000$

При исследовании свободных  $c-kit^+$ -клеток, которые не подвергались резорбции макрофагами, было выявлено, что их численность как в контрольной, так в основной группе статистически значимо снижалась ( $\chi^2 = 92,6$ ,  $p << 0,0001$  и  $\chi^2 = 40,4$ ,  $p << 0,0001$  соответственно). При этом в контрольной группе число таких клеток с 14 сут падало до 0–1–2. В основной группе их

число также значимо снижалось, но оставалось достоверно ( $p < 0,0001$ ) выше, чем в контрольной группе, на всем протяжении периода наблюдений (рис. 5).

В зоне имплантации БМА в субэпикардальном пространстве обнаруживались макрофаги, окрашивающиеся позитивно при окраске по Хейлу и экспрессирующие  $Timp-2$  (рис. 6).

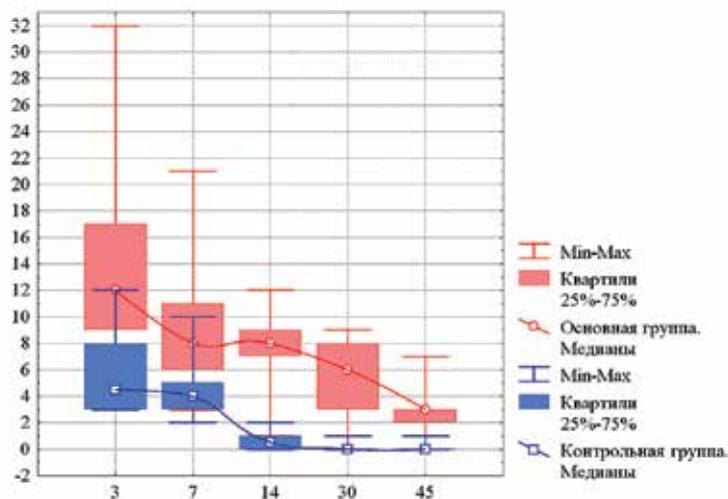


Рис. 5. Численность свободных  $c-kit^+$ -клеток в миокарде крысы в основной и контрольной группе: по оси абсцисс – сут, по оси ординат – количество клеток

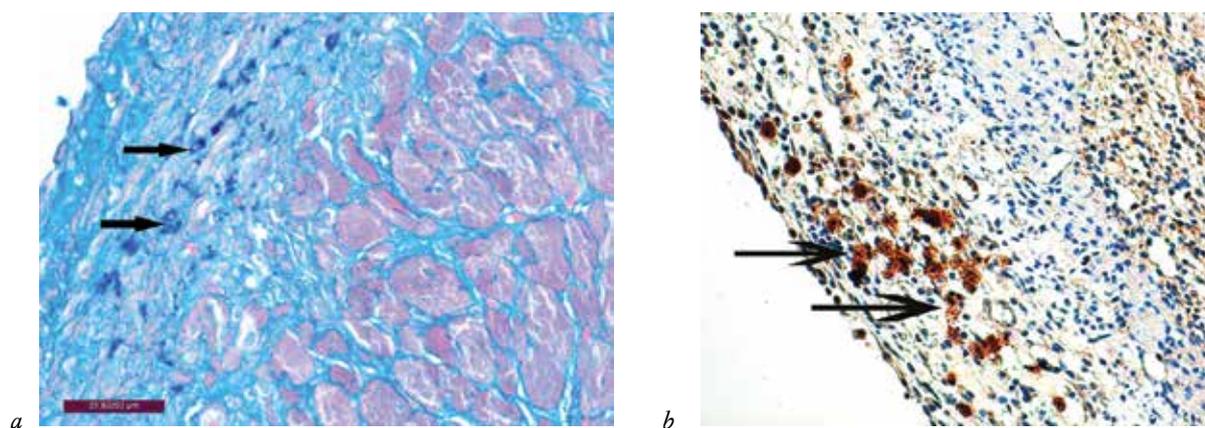


Рис. 6. Макрофаги в субэпикардальном пространстве после имплантации БМА через 7 сут: *a* – ГАГ-позитивные макрофаги (↑). Окраска по Хейлу; *b* –  $\text{Timp-2}^+$ -макрофаги (↑). Метод непрямого иммунопероксидазного выявления  $\text{Timp-2}$  с докраской гематоксилином,  $\times 400$

## ОБСУЖДЕНИЕ

Более благополучному течению процесса заживления инфарктированного миокарда опытной группы способствуют многочисленные факторы, одним из которых является реакция макрофагов, индуцированная БМА. Ранее установлено, что при заживлении соединительной ткани с воспалительно-деструктивным процессом и после нанесения дефектов, продукты биодеградации БМА становились хемоаттрактантами моноцитов и макрофагов [2]. Макрофагальные клетки обуславливали эффективность регенерации за счет полноценного фагоцитоза и регулирования пролиферативной фазы воспаления. Они ингибировали фибробластическую активность при помощи стимуляции  $\text{M1}$  макрофагов и пролонгирования цитотоксической фазы [9, 10]. В настоящем исследовании при остром инфаркте миокарда нами был получен противоположный результат. В течение 3 сут частицы БМА были резорбированы и в ткани не определялись. Можно предположить, что после резорбции биоматериала БМА-индуцированные макрофаги становились регуляторами межклеточных взаимодействий и стимулировали наступление ранней пролиферативной фазы воспаления, активируя фибробластические клетки.

В контрольной группе ишемически поврежденные кардиомиоциты инициировали каскад воспалительно-клеточных реакций, приведших к прогрессированию воспаления, расширению зоны повреждения и манифестации рубца. Это подтверждается данными других исследователей, которые демонстрировали, что пиковые уровни соответствующего семейства провоспалительных

( $\text{CD14}^+$ ) макрофагов и (или) моноцитов отрицательно коррелировали с восстановлением функции левого желудочка после острого инфаркта миокарда [11]. Дисрегулированная инфильтрация приводит к расширению инфаркта, расширению левого желудочка и сердечной недостаточности. Моноцитоз усиливает и удлиняет стадию альтерации и экссудации за счет экспрессии спектра воспалительных монокинов ( $\text{TNF}\alpha$ ,  $\text{IL-1}$ ,  $\text{IL-6}$  и т.д.), которые, в свою очередь, индуцируют оксидативный стресс, распространяющийся на близлежащие кардиомиоциты, тем самым расширяют зону некроза. Следовательно, за счет воспаления при ишемических повреждениях миокарда усиливается ремоделирование левого желудочка [12].

Макрофаги известны как полиморфная клеточная популяция, их фенотип определяется сигналами микроокружения. После применения БМА в опытной группе продукты его биодеградации кроме антифиброгенного эффекта [9] создают определенное уникальное микроокружение, которое индуцирует экспрессию  $\text{TIMP-2}$  клетками. Это помогает значительно уменьшить воспалительную нагрузку при острой ишемии [13]. Подход к модуляции макрофагов заключается в изменении их окружения. Обнаружено, что фенотипы и функции макрофагов формируются микроокружением органа проживания [14]. Например, трансплантация дифференцированных перитонеальных макрофагов в легочную среду индуцировала перепрограммирование транскрипционного ландшафта этих клеток и приобретение ими новых тканеспецифических функций [11, 12]. Следовательно, БМА при остром ишемическом повреждении миокарда оказывает противос-

палительный эффект и является фактором переключения фенотипа макрофагов с М1 на М2. В то время как разрушающиеся кардиомиоциты в контрольной группе стимулировали каскад воспалительных реакций, в том числе за счет выраженной экспрессии металлопротеиназ ММР-9 [13]. Известно, что участниками регенерационного процесса в миокарде выступают не только эффекторные, фибробластические клетки, но и кардиомиогенные прогениторные клетки. Считается, что источниками стволовых клеток могут быть стволовые ниши, клетки эпикарда, гемопоэтические стромальные стволовые клетки и т.д. [15, 16]. Направление дифференцировки прогениторных стволовых клеток часто мало предсказуемо, и с этим связывают высокую вероятность образования тератом [17]. БМА стимулировали миграцию малодифференцированных клеток  $c\text{-kit}^+$ . Фагоцитоз макрофагами  $c\text{-kit}^+$ -клеток, вероятно, связан с генетически запрограммированным механизмом антитуморогенности. Несмотря на это, уровень прогениторных клеток в опытной группе оставался достаточно высоким, что способствовало более полноценной регенерации миокарда и подавлению развития рубцовой ткани.

Макрофаги являются гетерогенной клеточной популяцией. В условиях применения БМА ранее были зафиксированы макрофаги мезенхимного происхождения, условно названные матриксформирующими [1, 18, 19]. Они обладали фенотипом  $Vimentin^+/Хейл^+/CD68^+/PCNA^+$  и секретировали ГАГ, что характерно для фибробластических клеток. Макрофаги имели мезенхимное происхождение. В настоящем исследовании выявлено, что они экспрессируют тканевый ингибитор металлопротеиназ  $Timp-2$ . Предположительно, данные клетки играют структурно-информативную роль для клеточных коопераций и создают гомеостаз в очаге воспаления. Их наличие связано с синтезом углеводного компонента в зоне регенерации, а  $Timp-2$  оказывает гистопротекторный эффект за счет противовоспалительного механизма в миокарде [20], что также может обуславливать начало ранней пролиферативной фазы воспаления и регуляции гомеостаза. Выявление макрофагов данного фенотипа согласуется с наблюдением о том, что сердце взрослого человека содержит популяции макрофагов эмбрионального происхождения, обладающие способностью к восстановлению тканей. Примечательно, что эти семейства хотя и присутствуют в покоящемся взрослом сердце, резидентные макрофаги теряются после травмы сердца у взрослых и вместо этого заменяются воспалительными моноцитарными макрофагами

костномозгового происхождения [14].

Следовательно, БМА в условиях острой ишемии миокарда оказывал гистопротекторный эффект. Различия в количестве, составе и функции макрофагов способствуют различным моделям восстановления и ремоделирования левого желудочка, наблюдаемым в данном эксперименте.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование БМА при экспериментальном инфаркте миокарда способствует значительному уменьшению площади рубца.

Использование аллогенного биоматериала снижает инфильтрацию миокарда макрофагальными клетками.

В процессе восстановления миокарда после ишемического повреждения, макрофаги способны активно фагоцитировать аутогенные стволовые клетки.

В зоне имплантации БМА присутствует популяция ГАГ-позитивных макрофагов.

Использование БМА обеспечивает значительное преобладание численности  $c\text{-kit}^+$ .

## ЛИТЕРАТУРА

1. Muldashev E.R., Muslimov S.A., Musina L.A., Nigmatullin R.T., Lebedeva A.I., Shangina O.R., Khasanov R.A. The role of macrophages in the tissues regeneration stimulated by the biomaterials. *Cell Tissue Bank*. 2005; 6 (2): 99–107. DOI: 10.1007/S10561-004-5805-2.
2. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Гареев Е.М., Щербakov Д.А. Морфологические особенности макрофагов и их цитокинового профиля в регенерации скелетной мышечной ткани при пластике аллогенным губчатым биоматериалом. *Цитокины и воспаление*. 2015; 14 (1): 27–33.
3. Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С., Лебедева А.И., Муслимов С.А., Попов С.В. Функциональное состояние миокарда после использования аллогенного бесклеточного материала для стимуляции его регенеративных возможностей при экспериментальном инфаркте. *Российский кардиологический журнал*. 2018; 23 (3): 71–75.
4. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Мусина Л.А. Морфологические аспекты регенеративного потенциала ишемически поврежденного миокарда после применения аллогенного биоматериала. *Биомедицина*. 2016; 2: 32–44.
5. Лебедева А.И. Аллогенный губчатый биоматериал – индуктор миосателлитоцитов в поврежденной скелетной мышце. *Успехи современной биологии*. 2016; 136 (3): 276–284.
6. Гомбожапова А.Э., Роговская Ю.В., Ребенкова М.С., Кжышковская Ю.Г., Рябов В.В. CD68 и стабиллин-1 позитивные макрофаги в постинфарктной регенерации миокарда. *Российский кардиологический журнал*. 2017. 11 (151): 56–61.

7. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль-2с; 2010: 358.
8. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиа Сфера; 2002: 312.
9. Лебедева А.И. Аллогенный губчатый биоматериал – ингибитор фиброза поврежденной скелетной мышечной ткани. *Российский биотерапевтический журнал*. 2014; 13 (4): 37–44.
10. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Мусина Л.А., Гареев Е.М. Роль резидентных макрофагов в регенерации скелетной мышечной ткани, индуцированной биоматериалом Аллоплант. *Биомедицина*. 2014; 2: 43–50.
11. Tsujioka H., Imanishi T., Ikejima H., Kuroi A., Takarada S., Tanimoto T., Kitabata H., Okochi K., Arita Y., Ishibashi K., Komukai K., Kataiwa H., Nakamura N., Hirata K., Tanaka A., Akasaka T. Impact of heterogeneity of human peripheral blood monocyte subsets on myocardial salvage in patients with primary acute myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009; 54 (2): 130–138. DOI: 10.1016/j.jacc.2009.04.021.
12. Panizzi P., Swirski F.K., Figueiredo J.L., Waterman P., Sosnovik D.E., Aikawa E. et al. Impaired infarct healing in atherosclerotic mice with Ly-6C(hi) monocytes. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2010; 55 (1): 1629–1638. DOI: 10.1016/j.jacc.2009.08.089.
13. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Гареев Е.М., Попов С.В., Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С. Экспрессия металлопротеиназ и их ингибиторов в ишемизированном миокарде после применения аллогенного биоматериала. *Российский кардиологический журнал*. 2018; 23 (7): 73–79.
14. Lavine K.J., Epelman S., Uchida K., Weber K.J., Nichols C.G., Schilling J.D., Ornitz D.M., Randolph G.J., Mann D.L. Distinct macrophage lineages contribute to disparate patterns of cardiac recovery and remodeling in the neonatal and adult heart. *PNAS*. 2014; 111 (45): 16029–16034. DOI: 10.1073/pnas.1406508111.
15. Beltrami A.P., Barlucchi L., Torella D., Baker M., Limana F., Chimenti S., Kasahara H., Rota M., Musso E., Urbanek K., Leri A., Kajsutra J., Nadal-Ginard B., Anversa P. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 2003; 114 (6): 763–776. DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00687-1.
16. Orlic D. BM stem cells and cardiac repair: where do we stand in 2004? *Cytotherapy*. 2005; 7 (1): 3–15. DOI: 10.1080/14653240510018028.
17. Barisella M., Andreola S., Rosai J. CD117 in soft tissue sarcomas. *Am. J. Clin. Pathol.* 2002; 118 (3): 470–471.
18. Мусина Л.А., Муслимов С.А., Лебедева А.И., Волгарева Е.А. Ультраструктура макрофагов, выявляемых при имплантации аллогенного биоматериала Аллоплант. *Морфология*. 2006; 129 (1): 53–56.
19. Лебедева А.И. Биоматериал Аллоплант при регенерации миокарда рога матки экспериментальных животных – стимулятор макрофагов мезенхимного происхождения. *Биомедицина*. 2016; 2: 45–53.
20. Baker A.B., Edwards D., Murphy G. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities. *J. Cell Science*. 2002; 115 (19): 3719–3727. DOI: 10.1242/jcs.00063.

## Вклад авторов

Лебедева А.И. – сбор и обработка материала, проведение морфологических исследований, написание статьи. Афанасьев С.А. – анализ и интерпретация данных; окончательное утверждение для публикации рукописи. Муслимов С.А., Попов С.В. – разработка концепции и дизайна исследования. Гареев Е.М. – проведение статистической обработки полученных данных. Кондратьева Д.С. – проведение основных этапов эксперимента.

## Сведения об авторах

Лебедева Анна Ивановна, д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник, отдел морфологии, Всероссийский центр глазной и пластической хирургии, г. Уфа. ORCID 0000-0002-9170-2600.

Муслимов Сагит Асхатович, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, зав. отделом морфологии, Всероссийский центр глазной и пластической хирургии, г. Уфа. ORCID 0000-0002-9076-0251.

Гареев Евгений Мусинович, канд. биол. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория нейрофизиологии, Всероссийский центр глазной и пластической хирургии, г. Уфа. ORCID 0000-0002-6561-0892.

Афанасьев Сергей Александрович, д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-6066-3998.

Кондратьева Дина Степановна, канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-4004-2497.

Попов Сергей Валентинович, д-р мед. наук, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, директор НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-9050-4493.

✉ Лебедева Анна Ивановна, e-mail: Jeol02@mail.ru

Поступила в редакцию 22.02.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Половозрастные особенности распространенности метаболически здорового фенотипа ожирения

Мустафина С.В., Винтер Д.А., Щербакова Л.В., Малютина С.К., Рагино Ю.И., Рымар О.Д.

*Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины (НИИТПМ) – филиал Федерального исследовательского центра «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук (ФИЦ ИЦиГ СО РАН)  
Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1*

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Изучить половозрастные особенности метаболически здорового фенотипа ожирения (МЗФО).

**Материалы и методы.** Использованы материалы кросс-секционного исследования популяционной когорты (проект НАРИЕЕ, г. Новосибирск) ( $n = 3\,197$  человек, среди них 857 (26,8%) мужчин и 2 340 (73,2%) женщин, с индексом массы тела (ИМТ)  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>). МЗФО определен в соответствии с различными классификациями: 1) IDF (2005) – окружность талии (ОТ)  $\geq 94$  см у мужчин и  $\geq 80$  см у женщин и любой компонент метаболического синдрома (МС) по IDF или без него; 2) NCEP ATP III (2001) при наличии 2 и (или) менее компонентов МС; 3) критерии РКО (2017) – индекс окружность талии / окружность бедер (ОТ / ОБ)  $\leq 0,9$  у мужчин и ОТ / ОБ  $\leq 0,85$  у женщин.

**Результаты.** Среди лиц с ожирением частота МЗФО по критериям IDF – 23,2%; NCEP ATP III – 41,8%; РКО – 27,1%. Частота МЗФО выше у женщин, чем у мужчин, и она значимо снижается с возрастом в женской популяции. Для лиц с МЗФО по всем классификациям характерно повышенное среднее значение артериального давления при нормальных средних значениях уровня триглицеридов и холестерина липопротеидов высокой плотности. Обследованные с МЗФО по критериям РКО демонстрируют более высокие показатели частоты всех изучаемых кардиометаболических факторов риска, чем при использовании других критериев МЗФО.

**Выводы.** Частота МЗФО варьирует в зависимости от используемой классификации. У женщин частота МЗФО достоверно выше, чем у мужчин. С возрастом отмечается значимое снижение частоты МЗФО у женщин. Частота артериальной гипертензии, абдоминального ожирения, уровень глюкозы крови натощак, холестерина липопротеидов низкой плотности и гипертриглицеридемия выше у лиц с наличием МЗФО по критериям РКО.

**Ключевые слова:** ожирение, распространенность, половые различия, метаболически здоровый фенотип ожирения.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках бюджетной темы НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН ГЗ № 0324-2018-0001, № АААА-А17-117112850280-2, проект НАРИЕЕ частично поддержан грантами Wellcome Trust, UK064947/Z/01/Z; 081081/Z/06/Z; National Institute of Aging, USA (1R01 AG23522).

**Соответствие принципам этики.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИТПМ (протокол № 1 от 14.03.2002).

✉ Винтер Дарья Алексеевна, e-mail: daryavinter@mail.ru.

Для цитирования: Мустафина С.В., Винтер Д.А., Щербакова Л.В., Мalyutina С.К., Рагино Ю.И., Рымар О.Д. Половозрастные особенности распространенности метаболически здорового фенотипа ожирения. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 76–84. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-76-84>.

## Gender and age related features of metabolically healthy obesity phenotype prevalence

Mustafina S.V., Vinter D.A., Shcherbakova L.V., Malyutina S.K., Ragino Y.I., Rymar O.D.

*Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics  
175/1 Boris Bogatkov Str., 630089, Novosibirsk, Russian Federation*

### ABSTRACT

**Aim.** The study objective was to assess the age and gender characteristics of the metabolically healthy obesity phenotype (MHO) prevalence, taking into account various classifications.

**Materials and methods.** The materials used are the cross-sectional studies of the population cohort (Health, Alcohol and Psychosocial factors in Eastern Europe (HAPIEE) project, Novosibirsk), with the total of 3,197 people, among them 857 men (26.8%) and 2,340 women (73.2%), with BMI  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>. The MHO is defined according to different classifications: 1. IDF (International Diabetes Federation, 2005) – Waist circumference (WC)  $\geq 94$  cm in men and  $\geq 80$  cm in women and one or none of the components of metabolic syndrome (MS); 2. NCEP ATP III (the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III, 2001) in the presence of 2 and / or less components of the metabolic syndrome and 3. RSC (The Royal Society of Chemistry) – the index of waist circumference / hip circumference (WC / HC)  $\leq 0.9$  in men and  $\leq 0.85$  in women.

**Results.** According to IDF the frequency of MHO in the group was 23.2%; NCEP ATP III – 41.8; RSC criteria – 27.1%. The frequency of MHO was higher in women than in men, and it significantly decreased with the age in women population. In all classifications, increased average blood pressure (BP) level, with normal average values of the level of triglycerides (TG) and high-density lipoprotein (HDL) is typical for persons with MHO. The surveyed according to the RSC criteria people with MHO demonstrate higher frequency levels of all cardio metabolic risk factors than those surveyed with the use of other criteria of MHO.

**Conclusion.** The frequency of MHO varies depending on the used classification. In women, the frequency of MHO is reliably higher than in men. With the age, a significant reduction of the frequency of MHO in women is manifested. The frequency of arterial hypertension and abdominal obesity, the level of fasting blood glucose and LDL (low density lipoprotein), hypertriglyceridemia is higher in persons with MHO according to the criteria RSC.

**Key words:** obesity, prevalence, sex differences, metabolically healthy obesity phenotype.

**Conflict of interests.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of funding.** The work was completed within the budget theme of Institution of Internal and Preventive Medicine (IIPM), Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ICG SB RAS), State Assignment 0324-2018-0001 and Reg. No. AAAA-A17-117112850280-2, the HAPIEE project is partially supported by the Wellcome Trust grants, UK064947/Z / 01/Z; 081081/Z/06/Z; National Institute of Aging, USA (1R01 AG23522).

**Conformity with the principles of ethics.** All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at IIPM (Protocol No. 1 of 03.14.2002).

**For citation:** Mustafina S.V., Vinter D.A., Shcherbakova L.V., Malyutina S.K., Ragino Y.I., Rymar O.D. The gender-specific features prevalence of the metabolic healthy obesity phenotype. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 76–84. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-76-84>.

## ВВЕДЕНИЕ

Современная эпидемия ожирения является одной из самых серьезных проблем общественного здравоохранения нашего столетия. Обычно ожирение сопровождается неблагоприятным метаболическим профилем, таким как нарушения углеводного обмена, измененный липидный профиль, повышенный уровень артериального давления (АД), системное воспаление, измененные печеночные ферменты и т.д. [1]. Кластер изменений, вызванных ожирением, также известен как метаболический синдром (МС).

Однако последние данные указывают на то, что ожирение не всегда приводит к неблагоприятным метаболическим эффектам и все более широко признается, что оно не является однородным состоянием [2]. Приблизительно 10–30% людей с ожирением метаболически здоровы, несмотря на чрезмерное накопление жира в организме. Это явление упоминается в современной литературе как метаболически здоровый фенотип ожирения (МЗФО) [3]. Тем не менее основным препятствием на пути понимания эпидемиологии МЗФО и его долгосрочной перспективы является противоречивое определение в различных исследованиях [4–6].

Так, некоторые исследования показывают, что распространенность МЗФО варьирует в зависимости от используемого определения. Данное обстоятельство способствует несоответствию между этим фенотипом и последствиями для здоровья. J.P. Rey-Lopez и соавт. провели системный обзор по распространенности МЗФО и сообщили, что частота этого фенотипа варьирует от 6 до 75%. Они также предположили, что распространенность может различаться в зависимости от нескольких социально-демографических факторов, таких как пол, возраст и этническая принадлежность. Затем авторы стратифицировали анализ по полу и возрасту и обнаружили, что распространенность МЗФО была выше у женщин и у лиц более молодого возраста [7].

Таким образом, важно понимать, что исследователи могут вкладывать в это понятие избыточную массу тела и (или) ожирение, и (или) различные критерии МС. Таким образом, под определение метаболически здоровых лиц могут попадать участники с отсутствием метаболических изменений, либо с наличием одного или двух компонентов МС в зависимости от дефиниций последнего [6].

Несмотря на различный дизайн исследований и различия в популяции, вариабельность в частоте МЗФО, о которой сообщалось как в сравнитель-

ных исследованиях, так и в метаанализах, создает необходимость проведения более масштабных репрезентативных исследований среди населения и глобального консенсуса по стандартному определению МЗФО.

Цель – оценить половозрастные особенности распространенности метаболически здорового фенотипа ожирения и его метаболических характеристик с учетом различных классификаций.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследование репрезентативной выборки жителей г. Новосибирска проведено в 2003–2005 гг. в рамках международного проекта НАРПЕЕ (Health, Alcohol and Psychosocial Factors in Eastern Europe), который представляет собой проспективное когортное исследование. Предназначено для изучения влияния классических и нетрадиционных факторов риска, а также социальных и психосоциальных факторов на сердечно-сосудистые и другие неинфекционные заболевания в Восточной Европе и странах СНГ [8]. В анализ включены лица с индексом массы тела (ИМТ)  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup> – 3 197 человек, среди них 857 (26,8%) мужчин и 2 340 (73,2%) женщин. Средний возраст на момент включения в наблюдение составил ( $58,2 \pm 6,8$ ) лет у мужчин, ( $58,7 \pm 7,0$ ) лет у женщин. При первичном обследовании анализировались следующие данные: возраст, антропометрия, показатели АД, уровень общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП), холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС-ЛПНП), глюкозы плазмы крови натощак (ГК) (табл. 1).

Таблица 1

Основные характеристики изучаемой выборки 45–69 лет, $M \pm \sigma$				
Параметр	Мужчины, $n = 857$	Женщины, $n = 2\ 340$	Оба пола, $n = 3\ 197$	$p_{м/ж}$
Систолическое АД, мм рт. ст.	$151,6 \pm 23,3$	$151 \pm 26,5$	$151,2 \pm 25,7$	0,573
Диастолическое АД, мм рт. ст.	$96,5 \pm 13,1$	$94,6 \pm 13,1$	$95,1 \pm 13,1$	<0,001
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	$33,1 \pm 3,0$	$34,9 \pm 4,2$	$34,4 \pm 4,0$	<0,001
ГК, ммоль/л	$6,8 \pm 2,3$	$6,3 \pm 1,8$	$6,4 \pm 2,0$	<0,001
ОХС, ммоль/л	$6,2 \pm 1,1$	$6,6 \pm 1,3$	$6,5 \pm 1,2$	<0,001
ХС-ЛПНП, ммоль/л	$4,0 \pm 1,0$	$4,3 \pm 1,1$	$4,2 \pm 1,1$	<0,001
ХС-ЛПВП, ммоль/л	$1,4 \pm 0,3$	$1,5 \pm 0,3$	$1,4 \pm 0,3$	<0,001
ТГ, ммоль/л	$1,9 \pm 1,0$	$1,8 \pm 0,9$	$1,8 \pm 0,9$	<0,001

Артериальное давление измеряли трижды с интервалом 2 мин на правой руке в положении сидя после 5-минутного отдыха с помощью автоматического тонометра Omron M5-I (Япония) с регистрацией среднего значения трех измерений. Выясняли информированность участников скрининга о наличии у них ранее повышенного АД и приеме гипотензивных препаратов в течение последних 2 нед. Лица с диагностированной ранее артериальной гипертензией (АГ), но с нормотонией на скрининге в случаях приема препаратов, снижающих АД, были также учтены как больные с АГ.

Рост измеряли стоя, без верхней одежды и обуви, на стандартном ростомере. Массу тела определяли без верхней одежды и обуви на стандартных рычажных весах, прошедших метрологический контроль. Точность измерения составляла 0,1 кг. Индекс массы тела вычисляли по формуле:  $ИМТ (кг/м^2) = \text{вес (кг)} / \text{рост (м)}^2$  (ВОЗ, 1997).

Кровь для биохимических исследований получали путем венепункции с помощью вакутейнеров натощак после 12-часового воздержания от приема пищи. Содержание триглицеридов и холестерина липопротеидов высокой плотности, глюкозы определяли энзиматическими методами на автоматическом биохимическом анализаторе Konelab 300 (Thermo Scientific, США). Пересчет содержания глюкозы сыворотки крови натощак в показатели плазмы крови проводили по формуле, предложенной экспертами Европейской ассоциации по изучению диабета (2007). Концентрация глюкозы в плазме крови (ммоль/л) =  $-0,137 + 1,047 \times \text{концентрация глюкозы в сыворотке крови (ммоль/л)}$ .

Для выделения метаболически здорового фенотипа ожирения были использованы три варианта критериев:

1.  $ИМТ \geq 30 \text{ кг/м}^2$  и IDF (2005).  $ОТ \geq 94 \text{ см}$  у мужчин и  $ОТ \geq 80 \text{ см}$  у женщин и при наличии или отсутствии одного из следующих компонентов МС ( $ТГ \geq 1,7 \text{ ммоль/л}$  или предшествующее лечение (гиперТГ);  $ХС-ЛПВП < 1,0 \text{ ммоль/л}$  у мужчин и  $ХС-ЛПВП < 1,3 \text{ ммоль/л}$  у женщин или предшествующее лечение (гипоХС-ЛПВП);  $АД \geq 130/85 \text{ мм рт. ст.}$  или предшествующая антигипертензивная терапия;  $ГК \geq 5,6 \text{ ммоль/л}$  или наличие сахарного диабета 2-го типа).

2. NCEP АТР III (2001). Наличие одного или двух из следующих компонентов МС ( $ОТ > 102 \text{ см}$  у мужчин и  $ОТ > 88 \text{ см}$  у женщин;  $ТГ \geq 1,7 \text{ ммоль/л}$ ;  $ХС-ЛПВП < 1,0 \text{ ммоль/л}$  у мужчин и  $ХС-ЛПВП < 1,3 \text{ ммоль/л}$  у женщин;  $АД \geq 130/85 \text{ мм рт. ст.}$ ;  $ГК \geq 6,1 \text{ ммоль/л}$  или предшествующее лечение).

3. РКО (2017).  $Индекс ОТ / ОБ \leq 0,9$  у мужчин и  $ОТ / ОБ \leq 0,85$  у женщин.

Статистический анализ проведен с помощью пакета статистических программ SPSS 13.0 for Windows (2004). Уровень статистической значимости различий оценивали по *t*-критерию Стьюдента при наличии двух групп. Распределение признаков подчинялось нормальному распределению (для оценки нормальности распределения использовался критерий Колмогорова – Смирнова). В случае распределения, отличного от нормального, для анализа с применением параметрических критериев проводилась трансформация показателей с использованием натурального логарифмирования. Полученные данные в таблицах и тексте представлены как абсолютные и относительные величины (*n*, %), а также как  $M \pm \sigma$ , где *M* – среднее арифметическое значение;  $\sigma$  – стандартное отклонение. Различия рассматривали как статистически значимые при  $p < 0,05$ ;  $p \leq 0,01$  – очень значимое,  $p \leq 0,001$  – высокозначимое.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Выборка лиц с ожирением ( $ИМТ \geq 30 \text{ кг/м}^2$ ) составила 3 197 человек, среди них 857 мужчин (26,8%) и 2 340 женщин (73,2%). Частота метаболически здорового фенотипа ожирения существенно различается в зависимости от используемых критериев (рис. 1). Частота МЗФО по критериям IDF (2005) составила 23,2% ( $n = 743$  человека), NCEP АТР III (2001) – 41,8% ( $n = 1 338$  человек), РКО (2017) – 27,1% ( $n = 867$  человек),  $p < 0,001$ . При этом по критериям РКО (2017) отмечена следующая особенность – у мужчин частота МЗФО составляет 3%, что говорит о высокой распространенности абдоминального ожирения (АО).



Рис. 1. Распространенность метаболически здорового фенотипа ожирения по различным классификациям: \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  – статистическая значимость различий между мужчинами и женщинами

У женщин МЗФО встречается чаще, чем у мужчин (см. рис. 1). Поскольку возраст и пол являются важными факторами в развитии МЗФО, мы оценили его частоту в разных возрастных группах (рис. 2, 3).

У женщин наибольшая частота МЗФО определена в возрастном диапазоне 45–49 лет – 34,1% (IDF, 2005), 54,0% (NCEP АТР III, 2001), 52,9% (РКО, 2017). В возрасте старше 55 лет у женщин

значимо реже по сравнению с возрастом 45–49 лет встречается МЗФО,  $p < 0,001$ . У мужчин не получено статистической значимости различий в частоте МЗФО во всех возрастных группах,  $p > 0,05$ .

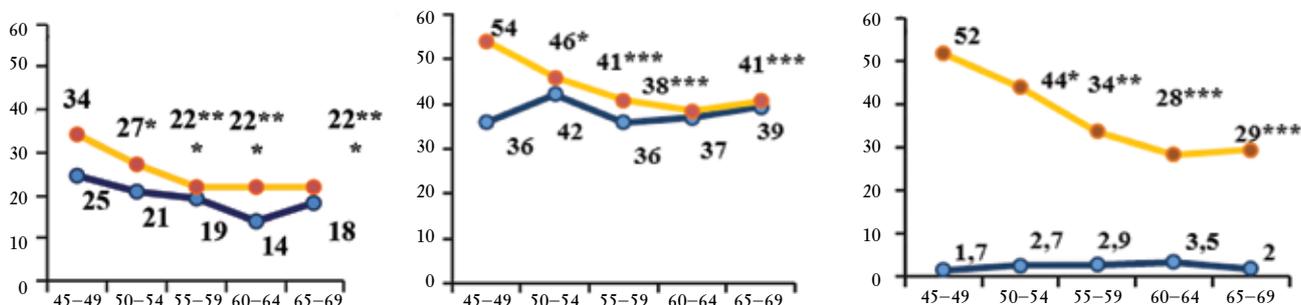


Рис. 2. Возрастная характеристика и гендерные особенности распространенности МЗФО:  
 \*  $p < 0,05$ , \*\*\*  $p < 0,001$  – статистическая значимость различий возрастных диапазонов по сравнению с возрастом 45–49 лет

Таким образом, наши результаты указывают на более высокую частоту МЗФО у женщин, чем у мужчин, а также на ее снижение среди женщин старше 55 лет.

Проведен анализ основных компонентов у лиц с МЗФО по разным классификациям, где выявлено, что средние значения систолического и диастолического АД, представленные в табл. 2, выше, чем установлено современными рекомендациями для диагностики и лечения гипертонической болезни [9].

анализ компонентов липидного спектра показал нормальные значения уровня ТГ и ХС-ЛПВП по всем анализируемым классификациям в отличие от уровня ОХС и ХС-ЛПНП, которые превышают референсные значения для общей популяции у лиц с низким сердечно-сосудистым риском [10]. Наиболее высокие показатели факторов кардиометаболического риска определены у лиц с МЗФО по критериям, предложенным РКО (2017), несмотря на более низкие средние значения ОТ.

Таблица 2

Основные характеристики компонентов у лиц с МЗФО, $M \pm \sigma$			
Параметр	IDF $n = 743$	NCEP АТР III $n = 1338$	РКО $n = 867$
Систолическое АД, мм рт. ст.	142,9 ± 25,5	145,4 ± 26,1	146,7 ± 25,3
Диастолическое АД, мм рт. ст.	90,8 ± 13,0	92,0 ± 13,5	92,5 ± 12,5
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	33,7 ± 3,6	33,7 ± 3,6	34,1 ± 4,1
ГК, ммоль/л	101,0 ± 9,6	101,3 ± 9,6	96,1 ± 7,9
ОХС, ммоль/л	5,3 ± 0,7	5,5 ± 0,7	5,8 ± 1,2
ХС-ЛПНП, ммоль/л	6,0 ± 1,0	6,1 ± 1,1	6,4 ± 1,2
ХС-ЛПВП, ммоль/л	3,9 ± 0,9	4,0 ± 1,0	4,2 ± 1,1
ТГ, ммоль/л	1,5 ± 0,2	1,5 ± 0,2	1,5 ± 0,3
Систолическое АД, мм рт. ст.	1,1 ± 0,3	1,2 ± 0,3	1,5 ± 0,8

Анализ частоты факторов риска у лиц с МЗФО показал высокую распространенность абдоминального ожирения как у мужчин, так и у женщин. При этом сравнительный анализ гендерных особенностей выявил, что у женщин АО встречается чаще, чем у мужчин: NCEP АТР III – 90 и 71% соответственно,  $p < 0,001$ , IDF – 99 и 97% соответственно,

$p < 0,001$  и РКО – 99 и 86% соответственно,  $p < 0,001$  (рис. 3).

Частота АГ в группе NCEP АТР III у мужчин и женщин одинакова,  $p > 0,01$ . Нами выявлена более высокая распространенность АГ у мужчин (91%), чем у женщин (84%) по критериям РКО,  $p < 0,001$ . В группе IDF АГ чаще определяется у женщин, чем у мужчин: 70 и 67% соответственно,  $p < 0,05$ .

Нарушения углеводного обмена имеют низкую частоту у лиц с МЗФО по критериям NCEP АТР III и IDF. Однако по критериям РКО распространенность гипергликемии у мужчин составила 36%, у женщин – 26%,  $p < 0,001$ . Различные нарушения липидного спектра, такие как гиперТГ и гипоХС-ЛПВП, имеют невысокую частоту при МЗФО по критериям IDF и NCEP

АТР III. Не получено статистической значимости различий между мужчинами и женщинами,  $p > 0,05$ . Однако по критериям РКО распространенность гиперТГ и гипоХС-ЛПВП у женщин достаточно высока: 39 и 31% соответственно, в то время как у мужчин частота гиперТГ ниже и составляет 27%, а гипоХС-ЛПВП – 9%,  $p < 0,001$ .

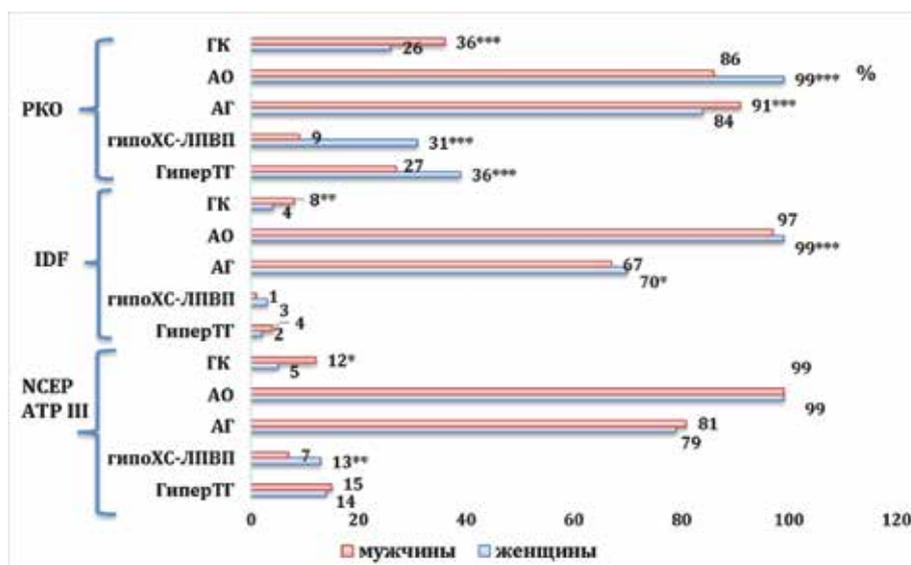


Рис. 3. Частота компонентов МС у лиц с МЗФО в соответствии с критериями IDF и NCEP АТР III: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  (статистическая значимость различий между мужчинами и женщинами в пределах одной классификации)

Исходя из вышесказанного, у лиц с МЗФО выявлена высокая частота таких компонентов метаболического синдрома, как АО и АГ, по всем изучаемым классификациям. При этом МЗФО в соответствии с критериями РКО демонстрирует более высокие показатели частоты всех кардио-метаболических факторов риска.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В последнее время отсутствие стандартного подхода к использованию одних и тех же наборов критериев и предельных значений для определения метаболических нарушений является основным источником высокой вариабельности в распространенности МЗФО ожирения, о которой сообщалось ранее [3].

Как во всем мире, так и в РФ специалистами ведется поиск критериев МЗФО, в 2017 г. Российским кардиологическим обществом опубликован проект рекомендаций, касающихся вопросов ожирения. В данном документе активно обсуждаются вопросы целесообразности выделения группы пациентов с «метаболически здоровым фенотипом ожирения». Авторы предлагают

определять данный фенотип ожирения в каждой категории ИМТ на основании индекса ОТ / ОБ [11]. Возможно, это связано с тем, что ряд данных свидетельствует о том, что распределение жира в организме является сильным метаболическим и сердечно-сосудистым фактором риска [12, 13]. В исследовании HUNT-II было высказано предположение, что показатели абдоминального ожирения, такие как индекс ОТ / ОБ, могут быть лучшими предикторами ишемической болезни сердца, чем ИМТ [14]. Аналогичные данные были получены в Австралийском национальном репрезентативном перекрестном исследовании (AusDiab). Среди 11 247 тыс. участников в возрасте 25 лет и старше выявлено, что у лиц с большей окружностью талии и небольшой окружностью бедер распространенность недиагностированного диабета была самой высокой. Аналогичная картина была показана для распространенности недиагностированной гипертонии и недиагностированной дислипидемии [15].

В нашем исследовании при анализе распространенности выявлено, что частота МЗФО по

критериям IDF (2005) – 23,2%, по NCEP АТР III – 41,8%. У женщин частота МЗФО определяется значимо чаще, чем у мужчин. Тем не менее результаты исследователей BioSHaRE, которые проанализировали данные нескольких эпидемиологических исследований с помощью одних стандартных критериев, также демонстрируют значительное разнообразие распространенности МЗФО в Европе. Самая высокая доля МЗФО у мужчин была обнаружена в исследованиях CHRIS и KORA, у женщин – в NCDS, LifeLines, KORA и CHRIS, тогда как наименьшая распространенность – в финских когортах и HUNT2 [16].

По данным Е.В. Островской, при анализе 389 историй болезни пациенток 18–60 лет с ожирением частота МЗФО с учетом критериев IDF (2005) составила 38,6%. Возможно, данная разница в частоте связана с более молодым средним возрастом участниц проведенного исследования [9]. Группа отечественных авторов (О. Rotar и соавт.) изучила распространенность МЗФО в 12 регионах России (Волгоград, Вологда, Воронеж, Владивосток, Иваново, Кемерово, Красноярск, Оренбург, Томск, Тюмень, Санкт-Петербург и Северная Осетия – Алания) с участием 1 600 человек в возрасте 25–65 лет. Максимальная распространенность МЗФО с учетом критериев МС по IDF (2005) была отмечена в Тюмени (52,2%), минимальная – в Воронеже (25,7%) при общей распространенности 41% и отсутствии существенных гендерных различий [10].

В другом отечественном исследовании коллег из г. Санкт-Петербурга показатель распространенности МЗФО был существенно ниже – всего 8,7% [17]. Более низкие показатели были предопределены тем, что в данной работе к критериям МЗФО была отнесена комбинация минимального количества проявлений метаболического синдрома в сочетании с нормальной чувствительностью тканей к инсулину.

По полученным нами данным, выявлены половые различия в частоте МЗФО в различных возрастных группах. Так, у женщин старше 55 лет с возрастом отмечается значимое снижение частоты МЗФО в отличие от мужчин. Полученные данные могут быть объяснены тем, что в этом возрасте у женщин наступает менопауза. По литературным данным, женщины в менопаузе демонстрируют большую частоту МС и увеличение распространенности компонентов МС: АД, АО, гиперХС-ЛПНП, гипоХС-ЛПВП, гиперТГ, высокий уровень глюкозы [18].

У мужчин отмечается незначимое снижение частоты МЗФО в старших возрастных группах.

Возможно, это связано со средней продолжительностью жизни мужчин, которая в РФ, по данным 2016 г., составляет 66,5 лет, что меньше, чем у женщин (77,1 лет) [19].

По полученным нами данным, у лиц с МЗФО средние значения систолического диастолического АД, представленные в табл. 2, выше, чем уровни компенсации, указанные современными рекомендациями для диагностики и лечения гипертонической болезни, но средние значения уровня ТГ и ХС-ЛПВП находятся в референсных значениях [20].

Стоит также отметить, что МЗФО является переходным состоянием [6], и далее могут присоединяться компоненты метаболического синдрома. По полученным нами данным, по частоте кардиометаболических факторов риска лица с МЗФО по критериям РКО имеют наиболее высокую частоту всех факторов риска как у мужчин, так и у женщин (см. рис. 3). Традиционно считается, что показатель ОТ / ОБ должен отражать наличие АО, но наши данные показывают достаточно высокую частоту АО, несмотря на нормальные значения индекса ОТ / ОБ при МЗФО. И в общей популяции г. Новосибирска 45–69 лет наиболее распространенными компонентами среди лиц с МС по критериям NCEP-АТР III (2001) являются АГ (95%) и АО (85%) [21].

Таким образом, данные о вариабельности в распространенности МЗФО, а также более высокая распространенность в более молодом возрасте соответствуют мировым источникам. Данная ситуация вносит неясность в отношении дальнейших перспектив этого состояния, поэтому необходима единая классификация метаболически здорового фенотипа ожирения с целью определения таких исходов, как инфаркт миокарда, нарушение мозгового кровообращения, сахарный диабет 2-го типа и т.д. И остается неясным вопрос, на каком этапе необходимо проводить медицинское вмешательство по изменению образа жизни для получения выгоды для здоровья пациента, что требует дальнейшего всестороннего изучения данной проблемы.

## ВЫВОДЫ

1. Частота МЗФО варьирует в зависимости от используемой классификации: IDF (2005) – 23,2%, РКО (2017) – 27,1%, по критериям NCEP АТР III (2001) – 41,8%.

2. В женской выборке частота МЗФО статистически значимо выше, чем у мужчин по всем классификациям.

У женщин в возрасте старше 55 лет отмечается статистически значимое снижение частоты МЗФО.

Женщины в соответствии с критериями РКО демонстрируют более высокие показатели частоты всех кардиометаболических факторов риска, чем при использовании других критериев МЗФО.

Для лиц с МЗФО характерны повышенные средние значения систолического и диастолического АД при нормальных средних значениях уровня триглицеридов и холестерина липопротеидов высокой плотности.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Мустафина С.В., Малютина С.К., Рымар О.Д., Щербакова Л.В., Bobak M., Воевода М.И. Эпидемиология ожирения и развитие нарушений углеводного обмена по данным проспективного исследования в Сибири. *Ожирение и метаболизм*. 2015; 12 (4): 14–28. DOI: 10.14341/ОМЕТ2015424-28.
2. Li L., Chen K., Wang A.P., Gao J.Q., Zhao K., Wang H.B., Dou J.T., Lv Z.H., Wang B.A., Yan W.H., Yang L.L., Mu Y.M. Cardiovascular disease outcomes in metabolically healthy obesity in communities of Beijing cohort study. *Int. J. Clin. Pract.* 2018; Oct. 1: e13279. DOI: 10.1111/ijcp.13279.
3. Remor J.M., Lopes W.A., Locateli J.C., Oliveira R.P., Simxes C.F., Barrero C.A.L., Nardo N. Jr. Prevalence of metabolically healthy obese phenotype and associated factors in South American overweight adolescents: A cross-sectional study. *Nutrition*. 2019; 60: 19–24. DOI: 10.1016/j.nut.2018.08.017.
4. Hansen L., Netterstrøm M.K., Johansen N.B., Rønn P.F., Vistisen D., Husemoen L.L.N., Jørgensen M.E., Rod N.H., Færch K. Metabolically healthy obesity and ischemic heart disease: a 10-year follow-up of the Inter99 Study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2017; 102 (6): 1934–1942. DOI: 10.1210/jc.2016-3346.
5. Caleyachetty R., Thomas G.N., Toulis K.A., Mohamed N., Gokhale K.M., Balachandran K., Nirantharakumar K. Metabolically healthy obese and incident cardiovascular disease events among 3.5 million men and women. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2017; 70 (12): 1429–1437. DOI: 10.1016/j.jacc.2017.07.763.
6. Echouffo-Tcheugui J.B., Short M.I., Xanthakis V., Field P., Sponholtz T.R., Larson M.G., Vasan R.S. Natural history of obesity subphenotypes: dynamic changes over two decades and prognosis in the Framingham Heart Study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2019; 104 (3): 738–752. DOI: 10.1210/jc.2018-01321.
7. Rey-Lopez J.P., de Rezende L.F., Pastor-Valero M., Tess B.H. The prevalence of metabolically healthy obesity: a systematic review and critical evaluation of the definitions used. *Obes. Rev.* 2014; 15 (10): 781–790. DOI: 10.1111/obr.12198.
8. Peasey A., Bobak M., Kubinova R., Maljutina S., Pajak A., Tamosiunas A., Pikhart H., Nicholson A., Marmot M. Determinants of cardiovascular disease and other non-communicable diseases in Central and Eastern Europe: rationale and design of the HAPIEE study. *BMC Public Health*. 2006; 6: 255. DOI: 10.1186/1471-2458-6-255.
9. Островская Е.В., Романцова Т.И., Герасимов А.Н., Новоселова Т.Е. Распространенность метаболически здорового ожирения по данным выборки Московского региона. *Ожирение и метаболизм*. 2017; 14 (4): 51–56. DOI: 10.14341/ОМЕТ2017451-56
10. Rotar O., Konradi A., Shalnov S., Balanova Y., Deev A., Oschepkova E., Karpov Y., Chazova I., Boytsov S., Shlyakhto E. Metabolically healthy obesity and metabolically obese normal weight in Russian population. *J. Hypertens.* 2016; 34: e16. DOI: 10.1097/01.hjh.0000491368.63715.51.
11. Шляхто Е.В., Недогода С.В., Конради А.О. Арутюнов Г.П., Бабак С.А., Васюк Ю.А. и др. Диагностика, лечение, профилактика ожирения и ассоциированных с ним заболеваний (национальные клинические рекомендации). М., 2017: 164. [http://www.scardio.ru/content/Guidelines/project/Ozhirenie\\_klin\\_rek\\_proekt.pdf](http://www.scardio.ru/content/Guidelines/project/Ozhirenie_klin_rek_proekt.pdf)
12. Бровин Д.А., Беляева О.Д., Пчелина С.Н., Березина А.В., Каронова Т.Л., Баженова Е.А. и др. Толщина комплекса интима-медиа общих сонных артерий, уровень общего и высокомолекулярного адипонектина у женщин с абдоминальным ожирением. *Кардиология*. 2018; 58 (6): 29–36.
13. Glicksman A., Hadjiyannakis S., Barrowman N., Walker S., oey L., Katz S.L. Body fat distribution ratios and obstructive sleep apnea severity in youth with obesity. *Journal of Clinical Sleep Medicine*. 2017; 13 (4): 545–550. DOI: 10.5664/jcsm.6538.
14. Mørkedal B., Romundstad P.R., Vatten L.J. Informativeness of indices of blood pressure, obesity and serum lipids in relation to ischaemic heart disease mortality: the HUNT-II study. *European Journal of Epidemiology*. 2011; 26 (6): 457–461. DOI: 10.1007/s10654-011-9572-7.
15. Williams E.D., Rawal L., Oldenburg B.F., Renwick C., Shaw J.E., Tapp R.J. Risk of cardiovascular and all-cause mortality: impact of impaired health-related functioning and diabetes: the Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle (AusDiab) study. *Diabetes Care*. 2012; 35 (5): 1067–1073. DOI: 10.2337/dc11-1288.
16. Van Vliet-Ostaptchouk J.V., Nuotio M.L., Slagter S.N., Doiron D., Fischer K., Foco L., Gaye A., Gögele M., Heier M., Hiekkalinna T., Joensuu A., Newby C., Pang C., Partinen E., Reischl E., Schwienbacher C., Tammesoo M.L., Swertz M.A., Burton P., Ferretti V., Fortier I., Giepmans L., Harris J.R., Hillege H.L., Holmen J., Jula A., Kootstra-Ros J.E., Kvaløy K., Holmen T.L., Männistö S., Metspalu A., Midthjell K., Murtagh M.J., Peters A., Pramstaller P.P., Saaristo T., Salomaa V., Stolk R.P., Uusitupa M., van der Harst P., van der Klauw M.M., Waldenberger M., Perola M., Wolffenbuttel B.H. The

- prevalence of metabolic syndrome and metabolically healthy obesity in Europe: a collaborative analysis of ten large cohort studies. *BMC Endocrine Disorders*. 2014; 14: 19. DOI: 10.1186/1472-6823-14-9.
17. Berezina A., Belyaeva O., Berkovich O., Baranova E., Karonova T., Vazhenova E., Brovin D., Grineva E., Shlyakhto E. Prevalence, risk factors, and genetic traits in metabolically healthy and unhealthy obese individuals. *BioMed Research International*. 2015; 2015: 548734. DOI: 10.1155/2015/548734.
18. Marchi R., Dell'Agnolo C.M., Lopes T.C.R. Prevalence of metabolic syndrome in pre- and postmenopausal woman. *Archives of Endocrinology and Metabolism*. 2017; 61 (2): 160–166. DOI: 10.1590/2359-3997000000253.
19. Лайкам К.Э., Агеева Л.И., Забатурина М.А., Коновка Н.В., Любова Г.А., Мельникова Т.А. и др. Женщины и мужчины России 2016: статистический сборник. М., 2016: 208.
20. Меморандум экспертов Российского кардиологического общества по рекомендациям Европейского кардиологического общества / Европейского общества по артериальной гипертензии по лечению артериальной гипертензии, М., 2018. URL: <http://scardio.ru/content/Guidelines/3074-8973-1-PB.pdf>.
21. Симонова Г.И., Мустафина С.В., Печенкина Е.А. Распространенность метаболического синдрома в Сибири: популяционное исследование в г. Новосибирске. *Бюллетень СО РАМН*. 2011; 31 (5): 100–106.

## Вклад авторов

Мустафина С.В. – разработка концепции и дизайна; обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи. Винтер Д.А. – разработка концепции и дизайна; анализ и интерпретация данных. Щербакова Л.В. – разработка концепции и дизайна; обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания; Малютина С.К. – разработка концепции и дизайна. Рагино Ю.И. – разработка концепции и дизайна. Рымар О.Д. – разработка концепции и дизайна; обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи.

## Сведения об авторах

Мустафина Светлана Владимировна, д-р мед наук, ст. науч. сотрудник, НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск. ORCID 0000-0003-4716-876X.

Винтер Дарья Алексеевна, аспирант, НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск. ORCID 0000-0001-7977-2705.

Щербакова Лилия Валерьевна, ст. науч. сотрудник, НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск. ORCID 0000-0001-9270-9188.

Малютина Софья Константиновна, д-р мед наук, профессор, зав. лабораторией, НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск. ORCID 0000-0001-6539-0466.

Рагино Юлия Игоревна, д-р мед наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-4936-8362.

Рымар Оксана Дмитриевна, д-р мед наук, профессор, зав. лабораторией, НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск. ORCID 0000-0003-4095-016.

(✉) Винтер Дарья Алексеевна, e-mail: [daryavinter@mail.ru](mailto:daryavinter@mail.ru).

Поступила в редакцию 23.04.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Ассоциация полиморфизма rs10507391 с развитием острого нарушения мозгового кровообращения у пациентов с сердечно-сосудистой патологией

Никулина С.Ю.<sup>1</sup>, Шульман В.А.<sup>1</sup>, Чернова А.А.<sup>1</sup>, Прокопенко С.В.<sup>1</sup>, Никулин Д.А.<sup>1,3</sup>,  
Платунова И.М.<sup>4</sup>, Третьякова С.С.<sup>1</sup>, Чернов В.Н.<sup>1</sup>, Мариловцева О.В.<sup>1</sup>, Келеменова А.Н.<sup>1</sup>,  
Максимов В.Н.<sup>2</sup>, Гуражева А.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого)  
Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины (НИИТПМ) – филиал Федерального исследовательского центра «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук (ФИЦ ИЦиГ СО РАН)  
Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

<sup>3</sup> Федеральный Сибирский научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства (ФСНКЦ ФМБА России)  
Россия, 660037, г. Красноярск, ул. Коломенская, 26

<sup>4</sup> Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 им. И.С. Берзона  
Россия, 660123, г. Красноярск, ул. Инструментальная, 12А

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Изучить ассоциацию однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) rs10507391 (A>T) с развитием острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) у пациентов с сердечно-сосудистой патологией и факторами риска ее развития, являющихся представителями восточносибирской популяции.

**Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 260 пациентов с ОНМК (возраст [57,0; 51,0–62,0]) и 272 пациента контрольной группы (возраст [55,0; 51,0–62,0]). Среди пациентов, перенесших ОНМК, – 157 мужчин и 103 женщины. Контрольная группа – 170 мужчин и 102 женщины. Обследование основной группы включало: сбор жалоб, анамнеза, клинический осмотр, компьютерную томографию головного мозга, электрокардиографию, эхокардиоскопию, ультразвуковое дуплексное сканирование экстракраниальных брахиоцефальных артерий, суточное мониторирование артериального давления и сердечного ритма, анализ свертывающей системы крови. У пациентов основной группы присутствовала следующая сердечно-сосудистая патология и факторы риска: артериальная гипертензия, пароксизмальные наджелудочковые тахикардии, дислипидемия, атеросклероз брахиоцефальных артерий, нарушения системы гемостаза. Контрольная группа обследована в рамках международного проекта HAPIEE. Молекулярно-генетическое исследование проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Статистическая обработка материала проводилась с применением набора прикладных программ Statistica for Windows 7.0, Excel и SPSS 22.

**Результаты.** При изучении ассоциации ОНП rs10507391 (A>T) с развитием ОНМК во всех анализируемых группах и подгруппах пациентов установлена связь между редким генотипом ТТ и аллелем Т и повышенным риском ОНМК.

✉ Третьякова Светлана Сергеевна, e-mail: tretyakova-svet@mail.ru.

**Заключение.** Генотип ТТ и аллель Т ОНП rs10507391 (А>Т) повышают риск развития острого нарушения мозгового кровообращения у пациентов вне зависимости от предшествующей сердечно-сосудистой патологии и факторов риска, в том числе у пациентов с артериальной гипертензией, наджелудочковыми тахикардиями, атеросклерозом брахиоцефальных артерий, нарушением липидного обмена и системы гемостаза.

**Ключевые слова:** ОНМК, наджелудочковая тахикардия, артериальная гипертензия, дислипидемия, атеросклероз, гемостаз, rs10507391.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа поддержана грантом президента Российской Федерации № МД-58887.2018.7.

**Соответствие принципам этики.** Все участники исследования подписали письменное информированное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом КрасГМУ (протокол № 29 от 18.01.2011).

**Для цитирования:** Никулина С.Ю., Шульман В.А., Чернова А.А., Прокопенко С.В., Никулин Д.А., Платунова И.М., Третьякова С.С., Чернов В.Н., Марилотцева О.В., Келеменова А.Н., Максимов В.Н., Гуражева А.А. Ассоциация полиморфизма rs10507391 с развитием острого нарушения мозгового кровообращения у пациентов с сердечно-сосудистой патологией. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 85–93. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-85-93>.

## Association of rs10507391 polymorphism with the development of acute cerebrovascular accident in patients with cardiovascular pathology

Nikulina S.Yu.<sup>1</sup>, Shulman V.A.<sup>1</sup>, Chernova A.A.<sup>1</sup>, Prokopenko S.V.<sup>1</sup>, Nikulin D.A.<sup>1,3</sup>, Platunova I.M.<sup>4</sup>, Tretyakova S.S.<sup>1</sup>, Chernov V.N.<sup>1</sup>, Marilovtseva O.V.<sup>1</sup>, Kelemeneva A.N.<sup>1</sup>, Maksimov V.N.<sup>2</sup>, Gurazheva A.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Krasnoyarsk State Medical University n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky

<sup>2</sup> Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics 175/1 Boris Bogatkov Str., 630089, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>3</sup> Federal Siberian Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency of Russia 26, Kolomenskaya Str., Krasnoyarsk, 660037, Russian Federation

<sup>4</sup> Krasnoyarsk Interdistrict Clinical Hospital № 20 named after I.S. Berzona 12, Instrumental Str., Krasnoyarsk, 660123, Russian Federation

### ABSTRACT

The aim of the study was to investigate the association of single-nucleotide polymorphism (SNP) rs10507391 (A>T) with the acute cerebrovascular accident (CVA) development in patients of the East Siberian population with cardiovascular pathology and its risk factors.

**Material and methods.** The study involved 260 patients with acute CVA (age [57.0; 51.0–62.0]) and 272 patients of the control group (age [55.0; 51.0–62.0]). Among the patients who had acute CVA there were 157 men and 103 women. The control group included 170 men and 102 women. The examination of the experimental group included: collection of complaints, anamnesis, clinical examination, computed tomography of the brain, electrocardiography, echocardiography, ultrasound duplex scanning of extracranial brachiocephalic arteries, daily blood pressure and heart rate monitoring, and analysis of the blood coagulation system. In patients of the experimental group, the following cardiovascular pathology and risk factors were present: arterial hypertension, paroxysmal supraventricular tachycardias, dyslipidemia, atherosclerosis of the brachiocephalic arteries, and disorders of the hemostatic system. The control group was surveyed in the framework of the international “HAPIEE” project. Molecular genetic research was performed by real-time PCR. Statistical processing of the material was carried out using the following software: Statistica for Windows 7.0, Excel and SPSS 22.

**Results.** When studying the association of SNP rs10507391 (A>T) with the acute CVA development in all the analyzed groups and subgroups of patients, a link was established between the rare TT genotype and the T allele and an increased risk of acute CVA.

**Conclusion.** TT genotype and T allele of the SNP rs10507391 (A>T) increase the risk of acute CVA in patients regardless of previous cardiovascular pathology and its risk factors, including patients with arterial hypertension, supraventricular tachyarrhythmias, atherosclerosis of brachiocephalic arteries, impaired lipid metabolism and hemostasis system.

**Key words:** acute CVA, supraventricular tachycardia, arterial hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, hemostasis, rs10507391.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** This work was supported by the grant from the President of the Russian Federation MD-58887.2018.7.

**Conformity with the principles of ethics.** All study participants signed a written informed consent. The study was approved by the local Ethics Committee at KrasSMU n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky (Protocol No. 29 of 18.01.2011).

**For citation:** Nikulina S.Yu., Shulman V.A., Chernova A.A., Prokopenko S.V., Nikulin D.A., Platunova I.M., Tretyakova S.S., Chernov V.N., Marilovtseva O.V., Kelemenova A.N., Maksimov V.N., Gurazheva A.A. Association of rs10507391 polymorphism with the development of acute cerebrovascular accident in patients with cardiovascular pathology. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 85–93. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-85-93>.

## ВВЕДЕНИЕ

Однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) rs10507391 (A>T) расположен на хромосоме 13, позиция 30737959, в локусе гена *ALOX5AP*, кодирующего белок, необходимый для синтеза лейкотриенов, являющихся метаболитами арахидоновой кислоты и участвующих в различных типах воспалительных реакций. Генотипы *ALOX5AP* ассоциированы с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний, таких как инфаркт миокарда и ишемический инсульт [1].

Связь ОНП rs10507391 гена *ALOX5AP* и еще пять полиморфизмов (*ALOX5* rs12762303 и rs12264801, *LTA4H* rs2072512, rs2540487 и rs2540477) с инфарктом миокарда и факторами риска его развития (дислипидемия, употребление алкоголя, курение) была изучена среди населения Китая. По указанным полиморфизмам был прогенотипирован 401 пациент, перенесший инфаркт миокарда, и 409 человек контрольной группы. ОНП rs10507391 был достоверно связан с уровнями липидов у пациентов с ИМ ( $p < 0,006-0,008$ ) [2].

Ассоциации полиморфизмов гена *ALOX5AP* с субклиническим атеросклерозом в семьях больных сахарным диабетом 2-го типа (СД2) исследовались К.Р. Burdon с соавт. (2010 г., США). В исследовании приняли участие 998 пациентов, из них 828 страдали СД2, 170 не имели СД2. В ре-

зультате исследования были выявлены ассоциации ОНП гена *ALOX5AP* (rs9506352 и rs4769060) с субклиническим атеросклерозом коронарных и сонных артерий. В отношении полиморфизма rs10507391 статистически значимых результатов получено не было [3].

Рядом исследований подтверждена ассоциация полиморфизмов гена *ALOX5AP* с инсультом среди населения Китая.

В китайской популяции была оценена связь между полиморфизмами *ALOX5AP*-SG13S114A/T (rs10507391), *COX-2*-765G/C и *COX-1*-50C/T с острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК). В исследование было включено 411 пациентов с ОНМК и такое же количество лиц контрольной группы. Ни один из генов при изолированном анализе не показал значимых ассоциаций с ОНМК, однако у носителей генотипа АА rs10507391 гена *ALOX5AP* и генотипа СС полиморфизма *COX-2*-765СС риск ОНМК увеличился в 2,84 раза (95%-й доверительный интервал (ДИ) 1,324–6,543). Полученные результаты подтверждают полигенную этиологию ОНМК [4].

Влияние генных взаимодействий на риск ОНМК в китайской популяции подтверждено L.F. Chi с соавт. (2014). У 292 пациентов с ОНМК и 259 здоровых людей авторами проведено исследование восьми ОНП в пяти генах-кандидатах. Многофакторный анализ показал выраженное

взаимодействие rs10507391 гена *ALOX5AP* и rs776746 гена *CYP3A5* ( $p = 0,0107$ ). Данное взаимодействие ассоциировалось с повышенным риском ОНМК у пациентов (с учетом возраста, гипертонии и СД; отношение шансов (ОШ) 1,804; 95%-й ДИ 1,180–2,759;  $p = 0,006$ ) [5].

Ассоциации шести полиморфизмов гена *ALOX5A* с ОНМК изучены в северо-восточной популяции Китая. Генотипирование по полиморфизмам исследуемых генов проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени и методом секвенирования ДНК. Результаты показали, что только аллель G полиморфизма rs9579646 достоверно связан с повышенным риском ОНМК. Статистически значимых различий частот генотипов полиморфизмов rs9551963, rs9315050, rs4769874, rs10507391 и rs4147064 в основной и контрольной группах получено не было. Однако анализ ассоциаций полиморфизмов rs9579646 и rs10507391 показал, что повышенный риск ОНМК был достоверно связан с гаплотипом GT и GA [6].

Связь полиморфизмов гена *ALOX5AP* с инсультом была изучена в популяции жителей Восточного Китая. Методом ПЦР прогенотипированы 507 пациентов с инсультом и 510 здоровых лиц. Основанный на гаплотипе анализ ассоциации rs10507391 и rs12429692 показал, что сниженный риск инсульта был достоверно связан с гаплотипом AA (ОШ 0,66; 95%-й ДИ 0,46–0,95) [7].

Однонуклеотидные полиморфизмы гена *ALOX5AP* были изучены у лиц тайваньской популяции, перенесших атеротромботический инсульт. Результаты исследования показали, что комбинация редких аллелей трех полиморфизмов – rs4293222, rs10507391 и rs12429692 на 44% снижает риск развития атеротромботического инсульта (ОШ 0,56; 95%-й ДИ 0,37–0,84;  $p = 0,005$ ) [8].

Исследование ОНП rs10507391 в качестве генетического маркера риска инсульта было проведено в исландской популяции. В исследовании приняли участие 639 пациентов с ОНМК и 736 пациентов контрольной группы. Были проанализированы 22 ОНП гена *ALOX5AP*, наиболее сильную статистически значимую связь с ОНМК продемонстрировал ОНП rs10507391 (ОШ 1,24; 95%-й ДИ 1,04–1,55;  $p = 0,017$ ). При этом в подгруппе мужчин с ОНМК ассоциации были более выражены, чем в подгруппе женщин [9].

Таким образом, большинство исследований подтверждают ассоциацию гена *ALOX5AP* с ОНМК, однако только в европейской популяции доказано самостоятельное влияние ОНП rs10507391 на риск инсульта, что делает данный

полиморфизм привлекательным для дальнейших исследований в различных популяциях.

Цель исследования – изучить ассоциацию ОНП rs556621 (G>T) с развитием ОНМК у пациентов с сердечно-сосудистой патологией и факторами риска ее развития, являющихся представителями восточносибирской популяции.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 260 пациентов с ОНМК (основная группа) и 272 пациента контрольной группы. Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие. Возраст лиц основной группы составил от 32 до 69 лет [57,0; 51,0–62,0], возраст пациентов контрольной группы – от 37 до 68 лет [55,0; 51,0–62,0]. Среди пациентов, перенесших ОНМК, 157 мужчин (возраст [56,5; 51,0–62,0]) и 103 женщины (возраст [57,0; 51,0–62,0]). Контрольная группа включала 170 мужчин (возраст [55,0; 51,0–62,0]) и 102 женщины (возраст [55,0; 51,0–62,0]).

Пациенты основной группы находились на стационарном лечении и обследовании в КГБУЗ КМКБ № 20 им. И.С. Берзона г. Красноярск. Обследование лиц основной группы включало: сбор жалоб, анамнеза, клинический осмотр, компьютерную томографию головного мозга, электрокардиографию, эхокардиоскопию, ультразвуковое дуплексное сканирование экстракраниальных брахиоцефальных артерий (БЦА), суточное мониторирование артериального давления и сердечного ритма, анализ свертывающей системы крови. Клинико-инструментальное обследование пациентов основной группы было направлено на верификацию диагноза, выявление сопутствующей сердечно-сосудистой патологии и факторов риска развития ОНМК. У 199 пациентов (123 мужчины и 76 женщин) основной группы наблюдался ишемический инсульт, у 51 пациента (28 мужчин и 23 женщины) был диагностирован геморрагический инсульт, у 10 пациентов (6 мужчин и 4 женщины) выявлен смешанный тип ОНМК. Из 260 пациентов у 19 (13 мужчин и 6 женщин) имел место повторный ОНМК. Никто из обследуемых пациентов не имел клинических, анамнестических и инструментальных данных, свидетельствующих о наличии ишемической болезни сердца. Наиболее часто встречающейся сердечно-сосудистой патологией, предшествующей ОНМК, была артериальная гипертония (АГ) (249 человек, из них 153 мужчи-

ны и 96 женщин). Нарушения сердечного ритма (НРС) по типу пароксизмальных наджелудочковых тахикардий, в том числе фибрилляции предсердий, были выявлены у 31 пациента (20 мужчин и 11 женщин). Среди факторов риска ОНМК в обследуемой группе пациентов наблюдались: дислипидемия (159 пациентов, из них 95 мужчин и 64 женщины), атеросклероз БЦА (160 пациентов, из них 94 мужчины и 66 женщин), нарушения системы гемостаза в сторону гиперкоагуляции (90 пациентов, из них 53 мужчины и 37 женщин), 28 пациентов (19 мужчин и 9 женщин) имели отягощенный наследственный анамнез по ОНМК.

Контрольная группа представлена популяционной выборкой жителей г. Новосибирска, обследованных в рамках международного проекта НАРИЕЕ [3]. Обследование лиц контрольной группы включало: анкетирование (социально-экономические условия жизни, хронические заболевания, уровень физической активности, состояние психического здоровья), антропометрию (рост, масса тела, объем талии, бедер), опрос о курении, потреблении алкоголя (частота и типичная доза), измерение артериального давления, оценку липидного профиля опрос на выявление стенокардии напряжения (Rose), электрокардиографию покоя в 12 отведениях, исследование респираторных и когнитивных функций. В группе контроля АГ имела место у 177 пациентов, из них 98 мужчин и 79 женщин. Другие сердечно-сосудистые заболевания и факторы риска их развития на момент обследования в контрольной группе отсутствовали.

Молекулярно-генетическое исследование лиц сновной и контрольной групп проводили в НИИ терапии и профилактической медицины СО РАМН г. Новосибирска методом ПЦР в реальном времени.

Статистическая обработка материала проводилась с применением набора прикладных программ Statistica for Windows 7.0, Excel и SPSS 22.

При выполнении статистического анализа полученного материала использовался типовой порядок проведения статистических процедур, при этом способы статистической обработки были использованы в соответствии с характером учетных признаков и числа групп сравнения. Точный критерий Фишера применялся в том случае, когда желаемые частоты имели значение менее 5. Относительный риск вероятности заболевания по конкретному аллелю или генотипу рассчитывался как отношение шансов. Показатель критического уровня значимости ( $p$ ) при проведении проверки статистических гипотез обозначался равным 0,05 [10–12].

Соответствие распределения наблюдаемых частот генотипов исследуемых генов, теоретически ожидаемого по равновесию Харди – Вайнберга, проверяли с использованием критерия  $\chi^2$ . Вычисления проводили с помощью калькулятора для расчета статистики в исследованиях «случай – контроль» на сайте «Ген Эксперт» (Россия, <http://www.oege.org/software/hwe-mr-calc.shtml>).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение частот генотипов и аллелей ОНП rs10507391 (A>T) среди пациентов с ОНМК и лиц контрольной группы представлено в таблице. Установлено статистически значимое преобладание числа носителей редкого генотипа ТТ и аллеля Т среди пациентов с ОНМК по сравнению с контролем, а также статистически значимое снижение числа носителей генотипа АА и аллеля А в группе пациентов, перенесших ОНМК, по сравнению с контрольной группой. Различия частот гетерозиготного генотипа АТ в сравниваемых группах не были статистически значимы.

При анализе распределения частот генотипов и аллелей ОНП rs10507391 (A>T) в подгруппе мужчин с ОНМК и в контрольной группе мужчин были получены результаты, аналогичные основной группе. Генотип ТТ статистически значимо чаще встречался среди мужчин с ОНМК ( $50,6 \pm 7,9\%$ ), чем среди мужчин контрольной группы ( $11,2 \pm 4,74\%$ ;  $p = 0,000$ ; ОШ 8,1; 95%-й ДИ 4,60–14,45). Частота генотипа АА в подгруппе мужчин с ОНМК была достоверно ниже ( $7,1 \pm 4,07\%$ ), чем в группе контроля ( $46,5 \pm 7,5\%$ ;  $p = 0,000$ ; ОШ 11,2; 95%-й ДИ 5,71–22,22). Частоты генотипа АТ были сопоставимы в подгруппе мужчин с ОНМК ( $42,2 \pm 7,8\%$ ) и среди мужчин контрольной группы ( $42,4 \pm 7,43\%$ ;  $p = 0,98$ ). Частота аллеля А в подгруппе мужчин с ОНМК составила  $28,2 \pm 5,03\%$ , в контрольной группе мужчин –  $67,6 \pm 4,97\%$ . Аллель Т в подгруппе мужчин с ОНМК встречался с частотой  $71,8 \pm 5,03\%$ , в контрольной группе – с частотой  $32,4 \pm 4,97\%$ . Различия по аллелям также статистически значимы ( $p = 0,000$ ; ОШ 5,34; 95%-й ДИ 3,79–7,46).

При анализе распределения частот генотипов и аллелей ОНП rs10507391 (A>T) в подгруппе женщин с ОНМК и в контрольной группе женщин были получены результаты, аналогичные результатам в основной группе и в подгруппе мужчин с ОНМК. Частота генотипа АА среди женщин с ОНМК составила  $6,8 \pm 4,86\%$ , среди женщин контрольной группы –  $56,9 \pm 9,1\%$  ( $p = 0,000$ ; ОШ 18,18; 95%-й ДИ 7,63–43,48). Генотип АТ

в подгруппе женщин с ОНМК встречался с частотой  $34,0 \pm 9,15\%$ , в контрольной группе женщин – с частотой  $35,3 \pm 9,27\%$  ( $p = 0,84$ ). Генотип ТТ был выявлен у  $59,2 \pm 9,49\%$  женщин с ОНМК и у  $7,8 \pm 5\%$  женщин группы контроля ( $p = 0,000$ ; ОШ 17,06; 95%-й ДИ 7,50–38,82). В подгруппе

женщин с ОНМК  $23,8 \pm 5,81\%$  пациентов являлись носителями аллеля А,  $76,2 \pm 5,81\%$  пациентов – носителями аллеля Т. В группе контроля  $74,5 \pm 5,98\%$  женщин являлись носителями аллеля А,  $25,5 \pm 5,98\%$  женщин – носителями аллеля Т ( $p = 0,000$ ; ОШ 9,34; 95%-й ДИ 5,98–14,70).

Т а б л и ц а

Распределение частот генотипов и аллелей ОНП rs10507391 (А&gt;Т) среди пациентов с ОНМК и лиц контрольной группы

Генотипы и аллели	Пациенты с ОНМК (n = 257)			Контроль (n = 272)			p
	абс.	%	m	абс.	%	m	
Генотипы							
АА	18	7,0	3,12	137	50,4	5,94	$p = 0,000$
АТ	100	38,9	5,96	108	39,7	5,81	$p = 0,85$
ТТ	139	54,1	6,09	27	9,9	3,55	$p = 0,000$
Аллели							
А	136	26,5	3,81	382	70,2	3,84	$p = 0,000$
Т	378	73,5	3,81	162	29,8	3,84	
ОШ А/Т; 95%-й ДИ	6,53; 5,00–8,55						
Суммарные аллели							
АА	18	7,0	3,12	137	50,4	5,94	$p = 0,000$
АТ + ТТ	239	93,0	3,12	135	49,6	5,94	
ОШ; 95%-й ДИ	13,5; 7,87–23,25						
ТТ	139	54,1	6,09	27	9,9	3,55	$p = 0,000$
АА + АТ	118	45,9	6,09	245	90,1	3,55	
ОШ; 95%-й ДИ	10,7; 6,70–17,05						

Примечание. ОШ – отношение шансов; 95%-й ДИ – 95-й доверительный интервал; p – уровень значимости при сравнении распределения генотипов с показателями группы контроля.

Нами были проанализированы частоты генотипов и аллелей ОНП rs10507391 (А>Т) в подгруппах пациентов, перенесших ОНМК, с различной сердечно-сосудистой патологией и факторами риска. Результаты анализа распределения частот и аллелей во всех подгруппах соответствовали распределению в основной группе пациентов с ОНМК.

В подгруппе пациентов с АГ, перенесших ОНМК, генотипы распределились следующим образом: генотип АА –  $7,3 \pm 3,25\%$ , генотип АТ –  $39,0 \pm 6,10\%$ , генотип ТТ –  $53,7 \pm 6,23\%$ . В контрольной группе пациентов без АГ и ОНМК генотип АА был выявлен у  $46,3 \pm 10,03\%$  пациентов, генотип АТ – у  $44,2 \pm 9,99\%$ , генотип ТТ – у  $9,5 \pm 5,89\%$  пациентов. Среди пациентов с АГ и ОНМК по сравнению с контролем установлено статистически значимое преобладание числа носителей генотипа ТТ ( $p = 0,000$ ; ОШ 11,06; 95%-й ДИ 5,33–22,98) и статистически значимое снижение числа носителей генотипа АА ( $p = 0,000$ ; ОШ 10,87; 95%-й ДИ 5,85–20,41). Различия по генотипу АТ статистически незначимы ( $p = 0,38$ )

(рис. 1). Частота аллеля А в подгруппе пациентов с АГ и ОНМК составила  $26,8 \pm 3,92\%$ , в группе контроля –  $68,4 \pm 6,61\%$ . Аллель Т в подгруппе пациентов с АГ и ОНМК встречался с частотой  $73,2 \pm 3,92\%$ , в контрольной группе – с частотой  $31,6 \pm 6,61\%$ . Различия статистически значимы ( $p = 0,000$ ; ОШ 5,92; 95%-й ДИ 4,09–8,55).

В подгруппе пациентов с нарушениями сердечного ритма, перенесших ОНМК, частота генотипа АА составила  $3,3 \pm 6,42\%$ , частота генотипа АТ –  $30,0 \pm 16,4\%$ , частота генотипа ТТ –  $66,6 \pm 16,87\%$ . Частоты генотипов и аллелей ОНП rs10507391 (А>Т) в контрольной группе представлены в табл. 1. Среди пациентов с НРС и ОНМК по сравнению с контролем установлено статистически значимое преобладание числа носителей генотипа ТТ ( $p = 0,000$ ; ОШ 18,15; 95%-й ДИ 7,70–42,75) и статистически значимое снижение числа носителей генотипа АА ( $p = 0,000$ ; ОШ 29,41; 95%-й ДИ 3,95–200,0). Различия по генотипу АТ статистически незначимы ( $p = 0,30$ ). Также установлено статистически значимое преобладание числа носителей аллеля Т и

снижение числа носителей аллеля А в подгруппе пациентов с НРС и ОНМК по сравнению с контролем ( $p = 0,000$ ; ОШ 11,11; 95%-й ДИ 5,32–20,83) (рис. 2).

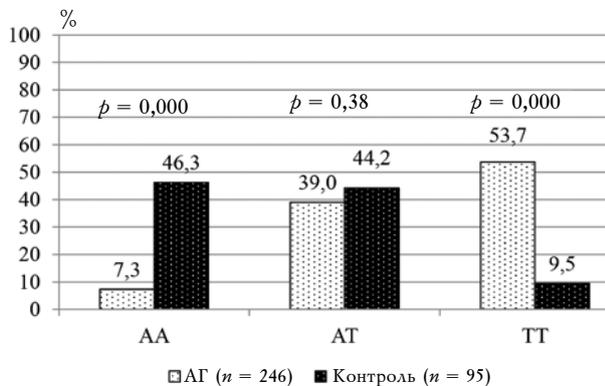


Рис. 1. Распределение частот генотипов и аллелей ОНП rs10507391 (A>T) среди пациентов с АГ, перенесших ОНМК, и лиц контрольной группы без АГ и ОНМК

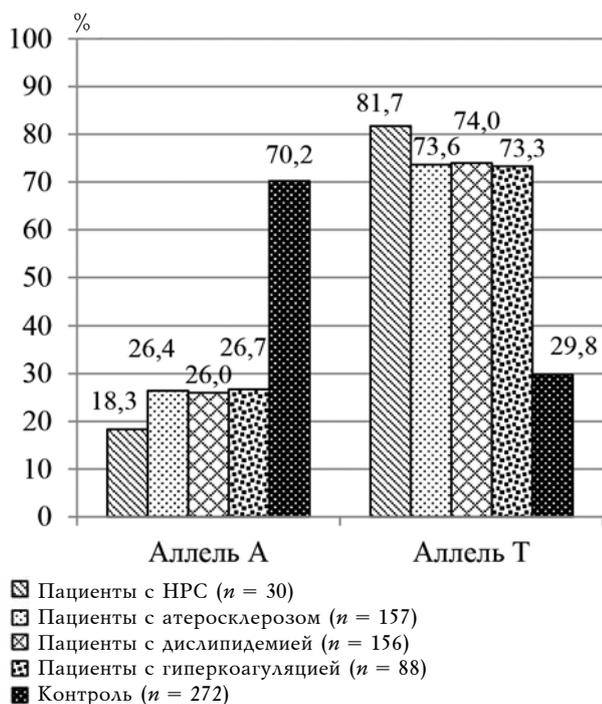


Рис. 2. Распределение частот аллелей ОНП rs10507391 (A>T) среди пациентов с сердечно-сосудистой патологией и факторами риска, перенесших ОНМК, и лиц контрольной группы

В подгруппе пациентов с атеросклерозом БЦА, перенесших ОНМК, частоты генотипов и аллелей распределились следующим образом: генотип AA –  $5,7 \pm 3,64\%$ , генотип AT –  $41,4 \pm 7,70\%$ , генотип TT –  $52,9 \pm 7,81\%$ , аллель А –  $26,4 \pm 4,88\%$ , аллель Т –  $73,6 \pm 4,88\%$ . Частоты

генотипов и аллелей ОНП rs10507391 (A>T) в контрольной группе представлены в таблице. В подгруппе пациентов с атеросклерозом БЦА и ОНМК по сравнению с контролем статистически значимо чаще встречался генотип TT ( $p = 0,000$ ; ОШ 10,18; 95%-й ДИ 6,13–16,88) и статистически значимо реже встречался генотип AA ( $p = 0,000$ ; ОШ 16,67; 95%-й ДИ 8,19–34,48). Частоты генотипа AT были сопоставимы в сравниваемых группах ( $p = 0,73$ ). Аллель Т достоверно преобладал среди пациентов с атеросклерозом БЦА и ОНМК по сравнению с контролем ( $p = 0,000$ ; ОШ 6,58; 95%-й ДИ 4,81–8,93) (см. рис. 2).

В подгруппе пациентов с дислипидемией, перенесших ОНМК, частоты генотипов и аллелей распределились следующим образом: генотип AA –  $5,1 \pm 3,46\%$ , генотип AT –  $41,7 \pm 7,74\%$ , генотип TT –  $53,2 \pm 7,83\%$ , аллель А –  $26,0 \pm 4,86\%$ , аллель Т –  $74,0 \pm 4,86\%$ . Частоты генотипов и аллелей ОНП rs10507391 (A>T) в контрольной группе представлены в таблице. В подгруппе пациентов с НРС и ОНМК по сравнению с контролем статистически значимо чаще встречался генотип TT ( $p = 0,000$ ; ОШ 10,32; 95%-й ДИ 6,21–17,13) и статистически значимо реже встречался генотип AA ( $p = 0,000$ ; ОШ 18,87; 95%-й ДИ 8,85–40,0). Частоты генотипа AT были сопоставимы в сравниваемых группах ( $p = 0,69$ ). Аллель Т достоверно преобладал среди пациентов с дислипидемией и ОНМК по сравнению с контролем ( $p = 0,000$ ; ОШ 6,571; 95%-й ДИ 4,93–9,17) (см. рис. 2).

В подгруппе пациентов с нарушением системы гемостаза, перенесших ОНМК, частота генотипа AA составила  $6,8 \pm 5,27\%$ , частота генотипа AT –  $39,8 \pm 10,23\%$ , частота генотипа TT –  $53,4 \pm 10,42\%$ . Частоты генотипов и аллелей ОНП rs10507391 (A>T) в контрольной группе представлены в таблице. Установлено статистически значимое преобладание числа носителей генотипа TT ( $p = 0,000$ ; ОШ 10,40; 95%-й ДИ 5,84–18,53) и статистически значимое снижение числа носителей генотипа AA ( $p = 0,000$ ; ОШ 13,89; 95%-й ДИ 5,85–33,33) в подгруппе пациентов с гиперкоагуляцией и ОНМК по сравнению с контролем. Значимых различий при сравнении частот генотипа AT не выявлено ( $p = 0,99$ ). Аллель Т достоверно преобладал среди пациентов с гиперкоагуляцией и ОНМК, чем в группе контроля ( $p = 0,000$ ; ОШ 6,45; 95%-й ДИ 4,42–9,43) (см. рис. 2).

## ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении ассоциации ОНП rs10507391 (A>T) с развитием ОНМК во всех анализируемых группах и подгруппах пациентов установлена

связь между редким генотипом ТТ и аллелем Т и повышенным риском ОНМК. Полученные результаты согласуются с литературными данными и обусловлены механизмом реализации действия полиморфизма – участием в большинстве типов воспалительных реакций. Уникальностью данного исследования является подтверждение роли генотипа ТТ ОНП rs10507391 (А>Т) в качестве самостоятельного предиктора ОНМК у лиц восточносибирской популяции, что ранее было установлено только среди пациентов европейского происхождения [9].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Генотип ТТ и аллель Т ОНП rs10507391 (А>Т) повышают риск развития острого нарушения мозгового кровообращения у пациентов вне зависимости от предшествующей сердечно-сосудистой патологии и факторов риска, в том числе у пациентов с артериальной гипертензией, наджелудочковыми тахикардиями, атеросклерозом брахиоцефальных артерий, нарушением липидного обмена и системы гемостаза.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ferguson A.D., McKeever B.M., Xu S. et al. Crystal structure of inhibitor-bound human 5-lipoxygenase-activating protein. *Science*. 2007; 317 (5837): 510–512. DOI: 10.1126/science.1144346.
2. Li Y., Xu X., Zhang D. et al. Genetic variation in the leukotriene pathway is associated with myocardial infarction in the Chinese population. *Lipids Health Dis.* 2019; 18 (1): 25. DOI: 10.1186/s12944-019-0968-9.
3. Burdon K.P., Rudock M.E., Lehtinen A.B. et al. Human lipoxygenase pathway gene variation and association with markers of subclinical atherosclerosis in the diabetes heart study. *Mediators Inflamm.* 2010; 2010: 170153. DOI: 10.1155/2010/170153.
4. Yi X.Y., Zhou Q., Lin J. et al. Interaction between ALOX5AP-SG13S114A/T and COX-2-765G/C increases susceptibility to cerebral infarction in a Chinese population. *Genet. Mol. Res.* 2013; 12 (2): 1660–1669. DOI: 10.4238/2013.
5. Chi L.F., Yi X.Y., Shao M.J. et al. Interaction between ALOX5AP and CYP3A5 gene variants significantly increases the risk for cerebral infarctions in Chinese. *Neuroreport*. 2014; 25 (7): 452–457. DOI: 10.1097/WNR.0000000000000114.
6. Qu Z., Su F., Zhu Y., et al. A tagging ALOX5AP polymorphism and risk of ischemic stroke in a northeastern Chinese Han population. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2015; 8 (11): 21343–21350.
7. Sun H., Wu H., Zhang J. et al. A tagging SNP in ALOX5AP and risk of stroke: a haplotype-based analysis among eastern Chinese Han population. *Mol. Biol. Rep.* 2011; 38 (7): 4731–4738. DOI: 10.1007/s11033-010-0610-4.
8. Lee J.D., Lee T.H., Huang Y.C. et al. ALOX5AP genetic variants and risk of atherothrombotic stroke in the Taiwanese population. *J. Clin. Neurosci.* 2011; 18 (12): 1634–1638. DOI: 10.1016/j.jocn.2011.03.035.
9. Lxhmussaer E., Gschwendtner A., Mueller J.C. et al. ALOX5AP gene and the PDE4D gene in a central European population of stroke patient. *Stroke*. 2005; 36 (4): 731–736. DOI: 10.1161/01.STR.0000157587.59821.87.
10. Li Y., Xu X., Zhang D. et al. Genetic variation in the leukotriene pathway is associated with myocardial infarction in the Chinese population. *Lipids Health Dis.* 2019; 18 (1): 25. DOI: 10.1186/s12944-019-0968-9.
11. Peasey A., Bobak M., Kubinova R. et al. Determinants of cardiovascular disease and other non-communicable diseases in Central and Eastern Europe: rationale and design of the HAPIEE study. *BMC Public Health*. 2006; 6: 255. DOI: 10.1186/1471-2458-6-255.
12. Боровиков В.П. СТАТИСТИКА: искусство анализа данных на компьютере. СПб.: Питер, 2001: 650.
13. Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика: учебное пособие / пер. с англ.; под ред. В.П. Леонова; 3-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015: 216.

## Вклад авторов

Третьякова С.С., Чернов В.Н., Келеменова А.Н., Гуражева А.А. – разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация данных. Никулин Д.А., Платунова И.М., Марилонцева О.В., Максимов В.Н. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Никулина С.Ю., Шульман В.А., Чернова А.А., Прокопенко С.В. – окончательное утверждение рукописи:

## Сведения об авторах

Никулина Светлана Юрьевна, д-р мед. наук, профессор, и.о. ректора, проректор по учебной работе, зав. кафедрой внутренних болезней № 1, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-6968-7627.

Шульман Владимир Абрамович, д-р мед. наук, профессор, кафедра внутренних болезней № 1, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; председатель Красноярского отделения Всероссийского научного общества кардиологов, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-1968-3476.

**Чернова Анна Александровна**, д-р мед. наук, доцент, кафедра внутренних болезней № 1, ст. науч. сотрудник, Российско-итальянская лаборатория медицинской генетики, НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; врач функциональной диагностики КМКБ № 20 им И.С. Берзона, г. Красноярск. ORCID 0000-0003-2977-1792.

**Прокопенко Семен Владимирович**, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой нервных болезней с курсом медицинской реабилитации, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-4778-2586.

**Никулин Дмитрий Александрович**, канд. мед. наук, ассистент, кафедра нервных болезней с курсом медицинской реабилитации, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; врач-терапевт, ФСНКЦ ФМБА России, г. Красноярск. ORCID 0000-0003-1591-035X.

**Платунова Ирина Михайловна**, канд. мед. наук, врач-невролог, КМКБ № 20 им. И.С. Берзона, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-7688-3079.

**Третьякова Светлана Сергеевна**, канд. мед. наук, лаборант, Российско-итальянская лаборатория медицинской генетики, НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID 0000-0003-0529-3001.

**Чернов Владимир Николаевич**, канд. мед. наук, доцент, кафедра-клиника ортопедической стоматологии, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск.

**Мариловцева Ольга Валерьевна**, канд. мед. наук, лаборант, Российско-итальянская лаборатория медицинской генетики, НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-1323-2367.

**Келеменова Алина Николаевна**, студент, 4-й курс, лечебный факультет, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск.

**Максимов Владимир Николаевич**, д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-3157-7019.

**Гуражева Анна Александровна**, мл. науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск. ORCID 0000-0003-1547-624X.

(✉) Третьякова Светлана Сергеевна, e-mail: tretyakova-svet@mail.ru.

Поступила в редакцию 14.05.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Экспериментальная оценка влияния экзогенного монооксида углерода на клетки крови

Петрова И.В.<sup>1</sup>, Бирулина Ю.Г.<sup>1</sup>, Трубачева О.А.<sup>2</sup>, Беляева С.Н.<sup>1</sup>, Шнайдер О.Л.<sup>2</sup>,  
Носарев А.В.<sup>1</sup>, Гусакова С.В.<sup>1</sup>, Васильев В.Н.<sup>1</sup>, Суханова Г.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский  
медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования** – изучить влияние донора монооксида углерода (СО) на Ca<sup>2+</sup>-зависимую калиевую проницаемость мембраны эритроцитов и агрегационную способность тромбоцитов.

**Материалы и методы.** Обследованы здоровые добровольцы ( $n = 27$ ) и пациенты с хронической ишемической болезнью сердца (ИБС) ( $n = 32$ ) обоего пола. Материалом исследования являлись упакованные эритроциты и обогащенная тромбоцитами плазма, полученные из венозной крови. Потенциометрическим методом изучали изменение Ca<sup>2+</sup>-зависимой калиевой проводимости мембраны эритроцитов, турбидиметрическим методом – агрегационную активность тромбоцитов при действии донора СО (CORM-2). Оценивали величину A23187- и редокс-индуцированного гиперполяризационного ответа (ГО) эритроцитов, скорость и степень агрегации тромбоцитов.

**Результаты.** В присутствии 10 и 100 мкМ CORM-2 амплитуда A23187- и редокс-зависимого ГО здоровых доноров, как и пациентов с хронической формой ИБС, дозозависимо уменьшалась, причем максимальное снижение отмечено в присутствии 100 мкМ донора СО. Воздействие CORM-2 в концентрациях 10 и 100 мкМ на коллаген-индуцированную агрегацию тромбоцитов приводило к снижению степени и скорости агрегации у здоровых доноров, достигая максимального эффекта при 100 мкМ донора СО. Однако столь однозначного влияния CORM-2 на параметры агрегации у пациентов с ИБС не наблюдалось.

**Заключение.** Полученные результаты указывают, что СО оказывает существенное влияние на ион-транспортную функцию мембраны эритроцитов и агрегационную активность тромбоцитов как здоровых доноров, так и пациентов с ИБС.

**Ключевые слова:** монооксид углерода, эритроциты, ион-транспортные системы, тромбоциты, агрегация.

**Конфликт интересов.** Авторы гарантируют отсутствие потенциальных и явных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-015-00395, РФФИ и Томской области в рамках научного проекта № 19-415-703015/19.

**Соответствие принципам этики.** Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 4340 от 30.11.2015).

✉ Петрова Ирина Викторовна, e-mail: ivpetrova57@yandex.ru.

Для цитирования: Петрова И.В., Бирулина Ю.Г., Трубачева О.А., Беляева С.Н., Шнайдер О.Л., Носарев А.В., Гусакова С.В., Васильев В.Н., Суханова Г.А. Экспериментальная оценка влияния экзогенного монооксида углерода на клетки крови. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 94–100. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-94-100>.

## Experimental estimation of the effects of exogenous carbon monoxide on blood cells

Petrova I.V.<sup>1</sup>, Birulina J.G.<sup>1</sup>, Trubacheva O.A.<sup>2</sup>, Belyaeva S.N.<sup>1</sup>, Shnaider O.L.<sup>2</sup>, Nosarev A.V.<sup>1</sup>, Gusakova S.V.<sup>1</sup>, Vasilev V.N.<sup>1</sup>, Suhanova G.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Siberian State Medical University  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

<sup>2</sup> *Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of Russian Academy Sciences  
111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation*

### ABSTRACT

**The aim** of the study was to investigate the effect of the carbon monoxide (CO) donor on the Ca<sup>2+</sup>-activated potassium permeability of the erythrocyte membrane and platelet aggregation ability.

**Materials and methods.** Healthy volunteers ( $n = 27$ ) and patients with chronic coronary heart disease (CHD) ( $n = 32$ ) of both sexes were examined. The material of the study was packed red blood cells and platelet-rich plasma obtained from patient's venous blood. The change of Ca<sup>2+</sup>-dependent potassium conductivity of the erythrocyte membrane was evaluated by potentiometric method, and the platelet aggregation was studied by turbidimetric method. Carbon monoxide releasing molecule-2 (CORM-2) was used as a CO donor. The amplitude of A23187- and redox-induced hyperpolarization response (HR) of erythrocytes, and the rate and degree of platelet aggregation were estimated.

**Results.** It was shown that the addition of CORM-2 (10 and 100 μM) in the erythrocyte suspension caused a dose-dependent decrease in the amplitude of A23187- and redox-dependent HR in healthy donors, as well as in patients with chronic CHD. The maximum decrease was observed in the presence of 100 μM CORM-2. The effect of CORM-2 at concentrations of 10 and 100 μM on collagen-induced platelet aggregation led to a decrease in the degree and rate of aggregation in healthy donors. The maximum effect was shown at 100 μM of CO donor. However, such an unambiguous effect of CORM-2 on the aggregation parameters in patients with CHD was not observed.

**Conclusion.** The results suggest that CO has a significant effect on the ion transport function of the erythrocyte membrane and platelet aggregation activity of both healthy donors and patients with CHD.

**Key words:** carbon monoxide, red blood cells, ion transport systems, platelets, aggregation.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was funded by RFBR research project No. 18-015-00395 and by RFBR and Tomsk Region research project No. 19-415-703015.

**Conformity with the principles of ethics.** All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at SSMU (Protocol No. 4340 of 30.11.2015).

**For citation:** petrova I.V., Birulina J.G., Trubacheva O.A., Belyaeva S.N., Shnaider O.L., Nosarev A.V., Gusakova S.V., Vasilev V.N., Suhanova G.A. Experimental estimation of the effects of exogenous carbon monoxide on blood cells. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 85–93. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-85-93>.

## ВВЕДЕНИЕ

Монооксид углерода (СО) наряду с оксидом азота (NO) и сероводородом ( $H_2S$ ) является одним из представителей нового класса газовых регуляторных молекул [1, 2]. Образование СО происходит в процессе деградации молекулы гема гемопротеинов (гемоглобин, миоглобин, каталаза и др.), который катализируется ферментом гемоксигеназой (НО), имеющей индуцибельную (НО-1) и конститутивную (НО-2) изоформы [3]. В настоящее время СО рассматривается как важный медиатор в сердечно-сосудистой системе, регулирующий тонус сосудов, обладающий противовоспалительным, антиапоптотическим, антипролиферативным действием [4]. Отмечается, что СО способен модулировать поверхностную архитектуру и энергетический метаболизм красных клеток крови [5]. В то же время изменения структурно-функционального статуса эритроцитов могут являться индикатором степени повреждения мембран при различных патологических процессах, протекающих в организме.

Нарушения реологических свойств крови имеют большое значение среди факторов, определяющих гемодинамические нарушения, обнаруженные у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) [6, 7]. Показано, что у больных, страдающих ИБС, происходит изменение фосфолипидного состава мембраны эритроцитов вследствие повышенного встраивания холестерина, а также возможной экстернализации фосфатидилсерина [8]. Структурная дезорганизация и изменение физико-химических свойств эритроцитарной мембраны способствуют нарушению ее ион-транспортной функции [9, 10], в которой значимое участие принимают Gardos-каналы –  $Ca^{2+}$ -зависимые калиевые каналы ( $K_{Ca}$ -каналы), поскольку возрастание активности последних обуславливает эриптоз, а также снижает деформируемость красных клеток крови [2, 11]. Особое место в патогенезе ИБС отводится повышению агрегации тромбоцитов и связанной с этим актуальности проблемы антиагрегантной терапии. Имеющиеся литературные данные свидетельствуют, что доноры СО способны оказывать антиагрегационное действие [12].

Таким образом, целью данной работы явилось изучение влияния СО на ионную проницаемость мембраны эритроцитов и агрегационную способность тромбоцитов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 32 пациента (20 мужчин и 12 женщин) в возрасте 40–65 лет с клинически верифицированной хронической

формой ИБС (функциональный класс II–III). Из них у 21 (65,6%) пациента имелся в анамнезе инфаркт миокарда. Коронарный стаж составлял 5 (2; 8) лет. Артериальная гипертензия (АГ) была диагностирована у 14 (43,7%) обследованных лиц. Общеклинические, лабораторные исследования проводились до назначения консервативной терапии хронической ИБС.

Группу сравнения составили 27 здоровых добровольцев (16 мужчин и 11 женщин) в возрасте 38–62 года, не имеющие в анамнезе сердечно-сосудистых, эндокринных, генетических заболеваний. Характеристика групп пациентов приведена в табл. 1. В работе соблюдались этические стандарты, разработанные в соответствии с Хельсинкской декларацией (с поправками 2000 г.) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации». Все лица, участвующие в исследовании, подписали информированное согласие.

Материалом исследования являлась венозная кровь, которую забирали из локтевой вены пациентов утром натощак в пробирки типа BD Vacutainer® с антикоагулянтом для выполнения гематологических (анализатор XN-1000, Sysmex, Япония), биохимических (анализатор Konelab 60i, Thermo Scientific, США) и гемостазиологических исследований (коагулометр ACL TOP 700, Instrumentation Laboratory Company, США).

Суспензию эритроцитов получали путем центрифугирования (5 мин, 1 000 g, 4 °C) цельной гепаринизированной крови (17 ME/мл), удаляли плазму и клетки белой крови, затем эритроциты дважды отмывали 150 mM раствором NaCl, содержащем PBS (5 mM, pH 7,4), при тех же условиях центрифугирования. Полученный осадок эритроцитов промывали изотонической средой (320 мОсм/л), содержащей 150 mM NaCl, 10 mM глюкозы, 1 mM KCl, 1 mM  $MgCl_2$ . После этого эритроциты переносили на лед и хранили не более 12 ч. Для исследования упакованные эритроциты разводили в среде их инкубации в соотношении 1 : 5. Для выделения обогащенной тромбоцитами плазмы забранную кровь с цитратом натрия (кровь : цитрат в соотношении 9 : 1) центрифугировали при 800 g в течение 7 мин.

Изучение  $Ca^{2+}$ -зависимой калиевой проницаемости мембраны эритроцитов проводили потенциометрическим методом непрерывной регистрации мембранного потенциала. Оценивали величину гиперполяризационного ответа (ГО) эритроцитов в ответ на добавление 0,5 мкМ  $Ca^{2+}$ -ионофора A23187 или системы «аскорбат

(10 мМ) – феназинметосульфат (ФМС, 0,1 мМ)». Квазистационарный уровень рН определяли при гемолизе клеток в присутствии детергента тритона X-100 (0,2%).

Агрегационную способность тромбоцитов исследовали турбидиметрическим методом при помощи лазерного анализатора 220 LA (НПФ «Биола», Россия). Индуктором агрегации являлся коллаген в конечной концентрации 2 мг/мл. Оценивали степень и скорость агрегации по кривой среднего размера агрегатов.

Статистический анализ данных выполняли в программе SPSS Statistics 17.0 при помощи непараметрического  $U$ -критерия Манна – Уитни. Для оценки статистической значимости различий использовали критерий  $\chi^2$  Пирсона. Количественные показатели представлены в виде медианы и межквартильного интервала  $Me (Q_1; Q_3)$ , качественные – в виде  $n$  (%), где  $n$  – абсолютная величина, % – относительная величина. Различия между выборками считали статистически значимыми при значении вероятности  $p < 0,05$ .

Таблица 1

Клинико-лабораторная характеристика обследованных лиц			
Параметр	Группа		$p$
	Здоровые доноры, $n = 27$	Пациенты с хронической ИБС, $n = 32$	
Возраст, лет, $Me (Q_1; Q_3)$	53 (42,5; 58)	56 (53,5; 62)	0,272
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup> , $Me (Q_1; Q_3)$	24 (23; 25)	30 (28; 32)	0,028
Курение, $n$ (%)	9 (33,3)	13 (40,6)	0,041
Эритроциты, $10^{12}/л$ , $Me (Q_1; Q_3)$	4,6 (4,4; 4,8)	4,5 (4,3; 4,9)	0,361
Гемоглобин, г/л, $Me (Q_1; Q_3)$	147 (135; 155)	144 (131; 154)	0,118
Лейкоциты, $10^9/л$ , $Me (Q_1; Q_3)$	6,7 (5,1; 8,2)	7 (5,5; 8,4)	0,16
Тромбоциты, $10^9/л$ , $Me (Q_1; Q_3)$	240 (217; 264)	232 (205; 255)	0,121
МНО, отн. ед., $Me (Q_1; Q_3)$	1,1 (1,07; 1,14)	1 (0,95; 1,1)	0,224
АЧТВ, с, $Me (Q_1; Q_3)$	30,7 (27; 34,6)	28,9 (26,8; 33)	0,183
Фибриноген, г/л, $Me (Q_1; Q_3)$	3,1 (2,7; 5)	2,8 (2,5; 4,8)	0,11
Холестерин, ммоль/л, $Me (Q_1; Q_3)$	4,2 (3,6; 5)	5,5 (4,9; 6,4)	0,018
Триглицериды, ммоль/л, $Me (Q_1; Q_3)$	1,1 (0,6; 1,5)	2,3 (1,6; 2,7)	0,015

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Увеличение цитозольной концентрации ионов  $Ca^{2+}$  в красных клетках крови, индуцированное  $Ca^{2+}$ -ионофором A23187, равно как и воздействие искусственной редокс-системы «аскорбат – ФМС» приводит к развитию ГО. Амплитуда ГО является интегральной характеристикой, отражающей проводимость  $K_{Ca}$ -каналов мембраны эритроцитов [11, 13].

Для изучения роли СО в механизмах регуляции Gardos-каналов эритроцитов использовали его донор tricarbonyldichlororuthenium(II)-dimer (CORM-2), представляющий собой карбонил рутения. Несмотря на высвобождение СО, который связывается с гемоглобином эритроцитов с образованием карбоксигемоглобина (HbCO), отмечается, что содержание HbCO составляет менее 5%, а эффективная концентрация СО находится в диапазоне тех, которые наблюдаются *in vivo* [1].

В ходе исследования было установлено, что в присутствии 10 и 100 мкМ CORM-2 амплитуда A23187- и редокс-зависимого ГО здоровых доноров, как и пациентов с хронической формой ИБС, дозозависимо уменьшалась, причем максимальное снижение отмечено в присутствии

100 мкМ донора СО. При действии 10 мкМ CORM-2 амплитуда индуцированного  $Ca^{2+}$ -ионофором ГО эритроцитов больных снижалась более значительно по сравнению с ГО здоровых доноров. В отношении аскорбат – ФМС-вызванного ГО подобная зависимость была выявлена только в присутствии 100 мкМ донора СО (табл. 2).

Агрегацию тромбоцитов вызывали коллагеном, который, взаимодействуя с гликопротеином VI (GPVI) и интегрином  $\alpha_2\beta_1$  кровяных пластинок, запускает сложный каскад процессов, включающий активацию фосфолипаз C и A2, протеинкиназы C (PKC), MAP-киназ (MAPKs), повышение цитозольной концентрации ионов  $Ca^{2+}$ , синтез тромбоксана A2, секрецию гранул [14, 15].

Воздействие CORM-2 в концентрациях 10 и 100 мкМ на процессы, вызываемые коллагеном в тромбоцитах, приводило к дозозависимому снижению степени и скорости агрегации у здоровых доноров, достигая максимального эффекта при 100 мкМ донора СО. Однако столь однозначного влияния CORM-2 на параметры агрегации у пациентов с ИБС не наблюдалось, хотя исходные значения не отличались для больных и здоровых волонтеров (табл. 3).

Таблица 2

Влияние CORM-2 на гиперполяризационный ответ эритроцитов здоровых доноров и пациентов с хронической ИБС, $Me (Q_1; Q_3)$				
Параметр	Здоровые доноры, $n = 27$		Пациенты с хронической ИБС, $n = 32$	
	Амплитуда гиперполяризационного ответа (ГО), мВ			
	A23187-индуцированный	Редокс-индуцированный	A23187-индуцированный	Редокс-индуцированный
Контроль	-25,4 (-26,3; -23,2)	-48,6 (-50,1; -47,5)	-34,7 (-37,1; -31,5) $p_3 = 0,02$	-49,5 (-53,7; -45,5)
+CORM-2 (10 мкМ)	-18,3 (-21,1; -16,9) $p_1 = 0,004$	-38,8 (-43,4; -34,2) $p_1 = 0,003$	-25,2 (-28,5; -21,4) $p_1 < 0,001$ ; $p_3 = 0,004$	-35,6 (-38,9; -31,2) $p_1 < 0,001$
+CORM-2 (100 мкМ)	-10,2 (-12,5; -8,4) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 = 0,01$	-28,3 (-31,4; -22,7) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 = 0,003$	-17,7 (-22; -13,5) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 = 0,011$ ; $p_3 = 0,02$	-20,6 (-25,5; -17) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 = 0,004$ ; $p_3 = 0,005$

Примечание. Уровень статистической значимости различий по сравнению с контролем для данного ГО ( $p_1$ ); CORM-2 (10 мкМ) для данного ГО ( $p_2$ ); сходным показателем для здоровых доноров ( $p_3$ ).

Таблица 3

Влияние CORM-2 на коллаген-индуцированную агрегацию тромбоцитов здоровых доноров и пациентов с хронической ИБС, $Me (Q_1; Q_3)$				
Параметр	Здоровые доноры, $n = 27$		Пациенты с хронической ИБС, $n = 32$	
	Степень агрегации, отн. ед.	Скорость агрегации, отн. ед./мин	Степень агрегации, отн. ед.	Скорость агрегации, отн. ед./мин
Контроль	10,2 (8,5; 13,2)	32,5 (29,2; 37,1)	11,8 (9,7; 13)	31,7 (26,5; 36,8)
+CORM-2 (10 мкМ)	5,4 (4,1; 8,2) $p_1 = 0,001$	22,1 (18,6; 24,5) $p_1 < 0,001$	10,6 (8,8; 12,1) $p_3 = 0,003$	22,8 (20,3; 24,4) $p_1 < 0,001$
+CORM-2 (100 мкМ)	2,3 (1,8; 3,6) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 = 0,003$	10,4 (8,8; 14,3) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$	6,1 (2,4; 5,5) $p_1 = 0,008$ ; $p_2 = 0,001$ ; $p_3 = 0,015$	15,6 (-21,5; -17) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 = 0,001$ ; $p_3 = 0,01$

Примечание. Уровень статистической значимости различий по сравнению с контролем для данного параметра ( $p_1$ ); CORM-2 (10 мкМ) для данного параметра ( $p_2$ ); сходным показателем для здоровых доноров ( $p_3$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В течение последних трех десятилетий электрофизиологические исследования показали, что мембрана эритроцитов человека наделена большим разнообразием ион-транспортных систем, которые участвуют в гомеостазе катионной и, в меньшей степени, анионной проводимости клеток [10]. Известно, что активация Gardos-каналов, способствуя массивной утечке калия наружу, вызывает смещение мембранного потенциала в сторону гиперполяризации и создает движущую силу для вытеснения хлора из эритроцитов. Выход наружу катионов и анионов сопровождается потерей воды, что приводит к значительному обезвоживанию и сжатию клеток [2].

Наблюдаемое снижение амплитуды ГО в ответ на действие различных концентраций донора CO,

в свою очередь, свидетельствует о подавлении  $Ca^{2+}$ -зависимой калиевой проводимости мембраны и утечки ионов калия из клетки, вероятно, вследствие взаимодействия CO с белками канала или его регуляторными протеинкиназами [16]. В то же время более значимый эффект CO у пациентов с хронической ИБС в отличие от здоровых доноров может быть связан не только с особенностями структурной перестройки мембраны эритроцитов, повышенной липидной перекисидацией [9], но и с его антиоксидантными свойствами и увеличением уровня глутатиона (GSH) в клетках крови [17]. К тому же установлено, что электронно-донорная система «аскорбат – ФМС» способствует образованию редокс-агентов, которые опосредовано через окисление и восстановление SH-групп оказывают свое влияние на Gardos-каналы мембраны эритроцитов [18].

Тромбоциты играют важную роль в поддержании гемостаза. Тем не менее функциональная реакция тромбоцитов может быть изменена либо за счет увеличения проагрегатных стимулов, либо за счет уменьшения количества антиагрегационных веществ. Эти факторы способствуют повышенной агрегации тромбоцитов и часто возникают при сердечно-сосудистых заболеваниях. Показано, что ИБС связана с системным дисбалансом в гемостазе, вызванным наличием гиперкоагулянтного состояния и снижением фибринолиза [19]. У пациентов с хронической ИБС увеличивается доля крупных метаболически и ферментативно более активных тромбоцитов [20], а также тромбоцитов, неспособных к экспрессии Р-селектина и имеющих значительно большую склонность к образованию микроагрегатов в цитратном антикоагулянте [21].

В нашем исследовании показано, что донор СО приводил к уменьшению степени и скорости коллаген-индуцированной агрегации у здоровых доноров и пациентов с ИБС, причем для последних понадобилась большая концентрация СО. Полученные нами данные согласуются с результатами S. Chlopicki и соавт., подтверждающая антиагрегационное действие экзогенных доноров СО [12]. Кроме того, в присутствии ингибитора гуанилатциклазы (ODQ) снижение вызванной коллагеном агрегации с использованием CORM-3 не блокировалось, а увеличивалось, что указывает на дополнительные эффекторные мишени СО в тромбоцитах. Отмечается также, что СО, по сути, не являясь мощным ингибитором активации тромбоцитов, приобретает это значение, когда имеется недостаток других антиагрегантов (NO и простаглицина). Известно, что антиагрегантная терапия, как правило, аспирином, может быть неэффективна, поскольку существуют другие важные пути активации тромбоцитов, на которые не влияет блокада циклооксигеназы [22]. В связи с этим доноры СО выступают весьма перспективными агентами в качестве антиагрегантов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании установлено, что СО оказывает существенное влияние на ион-транспортную функцию мембраны эритроцитов и агрегационную активность тромбоцитов как здоровых доноров, так и пациентов с ИБС. СО-зависимое уменьшение амплитуды  $Ca^{2+}$ - и редокс-вызванного ГО может иметь положительное значение в механизмах регуляции деформируемости эритроцитов. Снижение агрегации тромбоцитов под действием СО создает предпосылки

для разработки подходов к оптимизации антиагрегантной терапии у пациентов с ИБС с участием этого газомедиатора.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Garcia-Gallego S., Bernardes G. Carbon-monoxide-releasing molecules for the delivery of therapeutic CO *in vivo*. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2014; 53 (37): 9712–9721. DOI: 10.1002/anie.201311225.
2. Lang E., Qadri S.M., Jilani K., Zelenak C., Lupescu A., Schleicher E., Lang F. Carbon monoxide-sensitive apoptotic death of erythrocytes. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2012; 111 (5): 348–355. DOI: 10.1111/j.1742-7843.2012.00915.x.
3. Ryter S.W., Choi A.M. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from metabolism to molecular therapy. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2009; 41 (3): 251–260.
4. Motterlini R., Otterbein L.E. The therapeutic potential of carbon monoxide. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2010; 9 (9): 728–743. DOI: 10.1038/nrd3228.
5. Tyunina O.I., Artyukhov V.G. Carbon monoxide (CO) modulates surface architectonics and energy metabolism of human blood erythrocytes. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2018; 165 (6): 803–807. DOI: 10.1007/s10517-018-4269-5.
6. Revin V.V., Ushakova A.A., Gromova N.V., Balykova L.A., Revina E.S., Stolyarova V.V., Stolbova T.A., Solomadin I.N., Tychkov A.Yu., Revina N.V., Imarova O.G. Study of erythrocyte indices, erythrocyte morphometric indicators, and oxygen-binding properties of hemoglobin hematorporphyrin patients with cardiovascular diseases. *Adv. Hematol.* 2017; 2017: 8964587. DOI: 10.1155/2017/8964587.
7. Upadhyay R.K. Emerging risk biomarkers in cardiovascular diseases and disorders. *J. Lipids.* 2015; 2015: 971453. DOI: 10.1155/2015/971453.
8. Tziakas D.N., Kaski J.C., Chalikiaris G.K., Romero C., Fredericks S., Tentes I.K., Kortsaris A.X., Hatseras D.I., Holt D.W. Total cholesterol content of erythrocyte membranes is increased in patients with acute coronary syndrome: a new marker of clinical instability? *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007; 49 (21): 2081–2089. DOI: 10.1016/j.jacc.2006.08.069.
9. Namazi G., Jamshidi R.S., Attar A.M., Sarrafzadegan N., Sadeghi M., Naderi G., Pourfarzad M. Increased membrane lipid peroxidation and decreased  $Na^{+}/K^{+}$ -ATPase activity in erythrocytes of patients with stable coronary artery disease. *Coron. Artery Dis.* 2015; 26 (3): 239–244. DOI: 10.1097/MCA.000000000000196.
10. Thomas S.L., Bouyer G., Cuffe A., Egee S., Glogowska E., Ollivau C. Ion channels in human red blood cell membrane: Actors or relics? *Blood Cells, Molecules & Diseases.* 2011; 46 (4): 261–265. DOI: 10.1016/j.bcmd.2011.02.007.
11. Maher A.D., Kuchel P.W. The Gardos channel: a review of the  $Ca^{2+}$ -activated  $K^{+}$  channel in human erythrocytes. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2003; 35 (8): 1182–1197. DOI: 10.1016/S1357-2725(02)00310-2.

12. Chlopicki S., Lomnicka M., Fedorowicz A., Grochal E., Kramkowski K., Mogielnicki A., Buczek W., Motterlini R. Inhibition of platelet aggregation by carbon monoxide-releasing molecules (CO-RMs): comparison with NO donors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2012; 385 (6): 641–650. DOI: 10.1007/s00210-012-0732-4.
13. Gusakova S.V., Kovalev I.V., Birulina Y.G., Smagliy L.V., Petrova I.V., Nosarev A.V., Orlov S.N., Aleinyk A.N. The effects of carbon monoxide and hydrogen sulfide on transmembrane ion transport. *Biophysics.* 2017; 62 (2): 220–226. DOI: 10.1134/S0006350917020099.
14. Yun S.H., Sim E.H., Goh R.Y., Park J.I., Han J.Y. Platelet Activation: The Mechanisms and potential biomarkers. *Biomed. Res. Int.* 2016; 2016: 9060143. DOI: 10.1155/2016/9060143.
15. Шатурный В.И., Шахиджанов С.С., Свешникова А.Н., Пантелеев М.А. Активаторы, рецепторы и пути внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах крови. *Биомедицинская химия.* 2014; 60 (2): 182–200.
16. Del Carlo B., Pellegrini M., Pellegrino M. Modulation of Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels of human erythrocytes by endogenous protein kinase C. *Biochim. Biophys. Acta.* 2003; 1612 (1): 107–116. DOI: 10.1016/S0005-2736(03)00111-1.
17. Metere A., Iorio E., Scorza G., Camerini S., Casella M., Crescenzi M., Minetti M., Pietraforte D. Carbon monoxide signaling in human red blood cells: evidence for pentose phosphate pathway activation and protein de-glutathionylation. *Antioxid Redox Signal.* 2014; 20 (3): 403–416.
18. Петрова И.В., Бирулина Ю.Г., Трубачева О.А., Розенбаум Ю.А., Смаглий Л.В., Рыдченко В.С., Гусакова С.В. Участие SH-групп в регуляции Ca<sup>2+</sup>-зависимой калиевой проницаемости мембраны эритроцитов при сердечно-сосудистой патологии. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2018; 104 (7): 827–834. DOI: 10.7868/S0869813918070080.
19. Bratseth V., Pettersen A.A., Opstad T.B., Arnesen H., Seljeflot I. Markers of hypercoagulability in CAD patients. Effects of single aspirin and clopidogrel treatment. *Thromb. J.* 2012; 10 (1): 12. DOI: 10.1186/1477-9560-10-12.
20. Sharma D., Pandey M., Rishi J.P. A Study of platelet volume indices in patients of coronary artery diseases. *Journal of Scientific and Innovative Research.* 2016; 5 (5): 161–164.
21. McBane R.D., Karnicki K., Tahirkheli N., Miller R.S., Owen W.G. Platelet characteristics associated with coronary artery disease. *J. Thromb Haemost.* 2003; 1 (6): 1296–1303. DOI: 10.1046/j.1538-7836.2003.00183.x.
22. Schwartz K.A. Aspirin resistance: a clinical review focused on the most common cause, noncompliance. *Neurohospitalist.* 2011; 1 (2): 94–103. DOI: 10.1177/1941875210395776.

## Вклад авторов

Петрова И.В., Гусакова С.В. – проверка интеллектуального содержания, утверждение рукописи для публикации. Бирулина Ю.Г., Трубачева О.А. – разработка концепции и дизайна, интерпретация и анализ данных, написание рукописи. Носарев А.В., Шнайдер О.Л. – обоснование рукописи. Беляева С.Н. – выполнение экспериментальной части исследования. Васильев В.Н., Суханова Г.А. – разработка концепции и дизайна исследования.

## Сведения об авторах

Петрова Ирина Викторовна, д-р биол. наук, профессор, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9034-4226.

Бирулина Юлия Георгиевна, канд. биол. наук, ассистент, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-1237-9786.

Трубачева Оксана Александровна, канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение функциональной и лабораторной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-1253-3352.

Беляева Софья Николаевна, студент, медико-биологический факультет, СибГМУ, г. Томск.

Шнайдер Ольга Леонидовна, врач-кардиолог, отделение атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск.

Носарев Алексей Валерьевич, д-р мед. наук, доцент, профессор, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-0119-9707.

Гусакова Светлана Валерьевна, д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-5047-8668.

Васильев Владимир Николаевич, д-р биол. наук, профессор, кафедра физической культуры и здоровья, СибГМУ, г. Томск.

Суханова Галина Алексеевна, д-р биол. наук, профессор, кафедра биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Петрова Ирина Викторовна, e-mail: ivpetrova57@yandex.ru.

Поступила в редакцию 24.02.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Решающее правило для стратификации больных хронической сердечной недостаточностью II и III функционального класса

Самойлова Е.В.<sup>1</sup>, Фатова М.А.<sup>2</sup>, Миндзаев Д.Р.<sup>1</sup>, Житарева И.В.<sup>2</sup>, Насонова С.Н.<sup>1</sup>,  
Жиров И.В.<sup>1</sup>, Терещенко С.Н.<sup>1</sup>, Коротаева А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) кардиологии  
Россия, 121552, г. Москва, ул. 3-я Черепковская, 15А

<sup>2</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет (РНИМУ) имени Н.И. Пирогова  
Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Разработать решающее правило отнесения пациентов ко II и III функциональным классам (ФК) хронической сердечной недостаточности (ХСН) методом дискриминантного анализа с включением маркеров воспаления.

**Материалы и методы.** Исследование включало 61 пациента обоего пола с ХСН. В зависимости от выраженности симптомов ХСН пациенты были отнесены ко II ( $n = 20$ ) и III ( $n = 41$ ) ФК. В работе помимо общепринятых клинических и биохимических показателей, оценивающих состояние пациентов, дополнительно исследовались параметры, отражающие течение воспалительного процесса (IL-6, растворимый рецептор IL-6, sgp130). Для выявления статистически значимо различающихся переменных в группах использовали  $U$ -критерий Манна – Уитни,  $t$ -критерий Стьюдента,  $\chi^2$  Пирсона, точный критерий Фишера. Для построения решающего правила применялся метод дискриминантного анализа. Для оценки качества разработанного диагностического теста использовали ROC-анализ. Статистически значимыми считались результаты при уровне  $p < 0,05$ .

**Результаты.** В дискриминантный анализ были включены выявленные при сравнении групп II и III ФК ХСН значимо различающиеся переменные – возраст, мозговой натрийуретический пептид, sgp130, этиология ХСН, ишемическая болезнь сердца, а также дополнительные переменные, имеющие существенное значение в клинике (артериальное давление (АД) систолическое, АД диастолическое, IL-6). На основании данных показателей было построено решающее правило для отнесения пациентов к различным функциональным классам ХСН. При оценке качества полученного решающего правила было найдено оптимальное значение точки отсечения с использованием ROC-кривой, которой соответствует чувствительность – 75,6%, специфичность – 85%.

**Заключение.** С помощью метода дискриминантного анализа разработано решающее правило разделения больных на II и III ФК ХСН. Наряду с общепринятыми клиническими показателями ХСН в модель включены новые параметры, отражающие степень воспалительного процесса (IL-6 и sgp130). ROC-анализ выявил очень хорошее качество полученной модели.

**Ключевые слова:** хроническая сердечная недостаточность, интерлейкин 6, sgp130, решающее правило, дискриминантный анализ.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках субсидии, выделенной на реализацию Государственного задания, НИОКР АААА-А18-118021690089-5.

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено независимым этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России (протокол № 240 от 29.10.2018).

✉ Самойлова Елена Виленовна, e-mail: erihter@mail.ru.

Для цитирования: Самойлова Е.В., Фатова М.А., Миндзаев Д.Р., Житарева И.В., Насонова С.Н., Жиров И.В., Терещенко С.Н., Коротаева А.А. Решающее правило для стратификации больных хронической сердечной недостаточностью II и III функционального класса. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 101–107. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-101-107>.

## Decision rule for stratification of patients with chronic heart failure of functional class II and III

Samoilova E.V.<sup>1</sup>, Fatova M.A.<sup>2</sup>, Mindzaev D.R.<sup>1</sup>, Zhitareva I.V.<sup>2</sup>, Nasonova C.N.<sup>1</sup>, Zhiron I.V.<sup>1</sup>, Tereschenko C.N.<sup>1</sup>, Korotaeva A.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Medical Research Center of Cardiology  
15A, 3<sup>rd</sup> Cherepkovskaya Str., Moscow, 121552, Russian Federation

<sup>2</sup> Pirogov Russian National Research Medical University  
1, Ostrovitianov Str., Moscow, 117997, Russian Federation

### ABSTRACT

**The aim of the study** was focused on the development of a decision rule for classifying patients as functional class (FC) II or III of chronic heart failure (CHF) by discriminant analysis with inflammatory markers.

**Materials and methods.** The study included CHF patients ( $n = 61$ ) of both sexes. According to symptom severity, they were assigned to FC II ( $n = 20$ ) and III ( $n = 41$ ). In addition to conventional clinical and biochemical parameters to evaluate a patient's state, parameters characterizing inflammation (IL-6, soluble IL-6 receptor, sgp130) were used. Statistically significant differences were revealed with the use of Mann – Whitney U test, Student's t-test, Pearson's  $\chi^2$  test and Fisher's exact test. Discriminant analysis was employed to formulate the decision rule. Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis was used to evaluate the quality of the developed diagnostic test. The results were considered statistically significant at  $p < 0.05$ .

**Results.** Discriminant analysis included significantly different variables (age, brain natriuretic peptide, sgp130, CHF etiology, ischemic heart disease) and additional clinically important variables (diastolic and systolic arterial blood pressure (BP), IL-6). The decision rule for assigning patients to different CHF FC was developed. The optimum cut-off value was found with the use of the ROC curve with a sensitivity of 75.6% and specificity of 85%.

**Conclusion.** The decision rule for assigning CHF patients to FC II or III was developed using discriminant analysis. In addition to conventional clinical parameters, the model included the ones reflecting inflammatory processes (IL-6 and sgp130). ROC analysis revealed high quality of the model.

**Key words:** chronic heart failure, interleukin 6, sgp130, decision rule, discriminant analysis.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to publication of this manuscript.

**Source of funding.** The study was carried out as a part of the government contract of National Medical Research Center of Cardiology of the Ministry of Health (R&D No. AAAA-A18-118021690089-5).

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the local Ethics Committee at National Medical Research Center of Cardiology of the Ministry of Health of the Russian Federation (protocol № 240 of 29.10.2018).

**For citation:** Samoilova E.V., Fatova M.A., Mindzaev D.R., Zhitareva I.V., Nasonova C.N., Zhiron I.V., Tereschenko C.N., Korotaeva A.A. Decision rule for stratification of patients with chronic heart failure of functional class II and III. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 101–107. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-101-107>.

## ВВЕДЕНИЕ

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) остается актуальной проблемой кардиологии, являясь одним из наиболее неблагоприятных и прогрессирующих сердечно-сосудистых заболеваний во всем мире. По данным многочисленных эпидемиологических исследований, заболеваемость ХСН среди взрослого населения Западной Европы и США постоянно увеличивается, особенно среди лиц пожилого возраста [1–3].

Эпидемиологические исследования, проведенные в Российской Федерации, свидетельствуют о том, что заболеваемость ХСН в нашей стране также неуклонно возрастает [4]. При этом значительно увеличивается число пациентов с наиболее тяжелыми формами ХСН. Поэтому выявление ранних стадий заболевания является основным стратегическим направлением в эффективном лечении больных с ХСН. Эффективность лечения ХСН также во многом зависит от выбора схемы терапии, которая устанавливается исходя из оценки симптомов заболевания. Для описания выраженности симптомов сердечной недостаточности используют функциональную классификацию NYHA, разработанную Нью-Йоркской кардиологической ассоциацией [1]. Однако оценка степени тяжести ХСН и отнесение пациентов к соответствующему функциональному

классу часто вызывают определенные трудности у практических врачей. Для построения классификаторов широко используются решающие правила, которые позволяют относить больных к тому или иному классу. Использование большего количества показателей, характеризующих состояние больных, может способствовать более точной стратификации пациентов и минимизации ошибок при разделении на функциональные классы (ФК). В диагностике ХСН помимо клинических показателей используют биохимические маркеры, отражающие органические поражения сердца и повышение гемодинамической нагрузки [5]. При этом показателям воспалительного процесса, который усиливается в процессе развития сердечной недостаточности, уделяется недостаточно внимания.

Целью настоящей работы являлась разработка решающего правила с включением маркеров воспаления (IL-6 и sgp130), позволяющего относить пациентов ко II и III ФК ХСН.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данной работе были проанализированы показатели, характеризующие состояние 61 пациента с ХСН II–III функциональных классов по NYHA со сниженной фракцией выброса левого желудочка, в возрасте от 31 до 83 лет (табл. 1).

Таблица 1

Характеристики пациентов			
Параметр	II ФК (n = 20)	III ФК (n = 41)	p
Возраст, лет, Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	50,5 (42,75–58,25)	62 (53–67)	0,003
Мужчины/женщины, абс. (%)	19/1 (95/5)	35/6 (85/15)	0,409
Этиология ХСН (ИБС, АГ, ДКМП), абс. (%)	5/6/9 (25/30/45)	24/13/4 (58,5/31,7/9,8)	0,004
ФВЛЖ, %, Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	27,5 (25–31,75)	30 (23,5–35)	0,595
АД систолическое, мм рт. ст., Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	120 (105,25–140)	120 (110–140)	0,871
АД диастолическое, мм рт. ст., Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	80 (70–88,75)	80 (70–85)	0,374
ЧСС уд./мин, Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	70 (68,50–92,75)	85 (70–96)	0,725
Степень митральной регургитации (1, 2, 3), абс. (%)	4/11/5 (20/55/25)	5/20/16 (12,2/48,8/39)	0,490
Застой Ro, абс. (%)	15 (75)	36 (87,8)	0,205
АГ, абс. %	12 (60)	34 (83)	0,064
ИБС, абс. (%)	5 (25)	25 (61)	0,008
NT-proBNP, пг/мл, Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	395,5 (224,5–825)	793 (408,5–1746,5)	0,009
Креатинин, мкмоль/л, Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	88 (74–130)	101 (72,5–112,25)	0,432
IL-6, пг/мл, Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	3,48 (2,34–6,66)	3,95 (2,57–8,35)	0,249
pIL-6P, нг/мл, Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	36,25 (32,46–3,26)	40,48 (35,22–48,77)	0,167
Sgp130, нг/мл, Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	333 (309,5–359,5)	415 (355–469)	0,001

Примечание. ХСН – хроническая сердечная недостаточность; ИБС – ишемическая болезнь сердца; АГ – артериальная гипертензия; ДКМП – дилатационная кардиомиопатия; ФВЛЖ – фракция выброса левого желудочка; АД – артериальное давление; ЧСС – частота сердечных сокращений; застой Ro – застой в легких по данным рентгенограммы; NT-proBNP – N-терминальный пропептид мозгового натрийуретического гормона; IL-6 – интерлейкин 6; pIL-6P – растворимый рецептор IL-6.

Постановка диагноза ХСН и отнесение его к тому или иному функциональному классу проводились на основании современных национальных рекомендаций. Для целей исследования этиология ХСН была определена как основное заболевание, которое, по мнению исследователей и после результатов обследования, являлось основной причиной формирования клинического симптомокомплекса сердечной недостаточности. Критериями исключения пациентов из исследования являлись: острое сердечно-сосудистое событие в предшествующие 30 дней, острые и хронические воспалительные заболевания, требовавшие проведения специфической противовоспалительной терапии, потенциально влияющей на изучаемые параметры, выраженные нарушения функции печени и (или) почек, наличие злокачественных новообразований, иные значимые хронические заболевания внутренних органов, а также наличие обструкции выносящего тракта левого желудочка. Все пациенты, включенные в исследование, подписывали информированное согласие.

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета статистических программ IBMSPSS Statistics 23. Для выявления статистически значимо различающихся переменных использовали следующие методы математической статистики: *U*-критерий Манна – Уитни, *t*-критерий Стьюдента,  $\chi^2$  Пирсона, точный критерий Фишера. Для построения решающего правила отнесения пациентов к различным функциональным классам применяли дискриминантный анализ. Для оценки качества диагностического теста использовали ROC-анализ. Статистически значимыми считались результаты при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для разработки решающего правила было проведено сравнение исследуемых переменных, которое выявило в группах II ФК ХСН и III ФК ХСН статистически значимо различающиеся переменные, такие как возраст ( $p = 0,003$ ), N-терминальный пропептид мозгового натрийуретического гормона (NT-proBNP) ( $p = 0,009$ ), sgr130 ( $p = 0,001$ ), этиология ХСН ( $p = 0,004$ ) и ИБС ( $p = 0,008$ ). Дополнительно в дискриминантный анализ были включены переменные, которые имеют существенное значение в клинике (АД систолическое, АД диастолическое, IL-6).

Классификация ХСН по функциональным классам заболевания (NYHA) основывается на оценке тяжести состояния пациентов по клиническим проявлениям болезни. Показатели АД

используются в клинической практике для назначения необходимой фармакотерапии и контроля за ее эффективностью. Кроме того, отклонения данного показателя в ту или иную сторону являются факторами риска декомпенсации клинического состояния больного [5]. Именно поэтому в дискриминантный анализ были включены такие переменные, как АД систолическое и АД диастолическое.

IL-6 – это еще одна переменная, которая была отобрана в качестве клинически значимой. В настоящее время IL-6 рассматривается в качестве одного из наиболее активных цитокинов, участвующих в реализации иммунного ответа и воспалительной реакции. Показано, что высокий уровень IL-6 коррелирует с более тяжелым течением ХСН и смертностью пациентов [6–9]. Провоспалительные эффекты IL-6 реализуются трансигнальным путем. Ингибитором трансигнального пути IL-6, циркулирующим в плазме крови, является sgr130. Показано, что повышение или понижение sgr130 зависит от степени воспалительного процесса [10–12]. Данный показатель также был включен в дискриминантный анализ для разработки решающего правила.

В настоящем исследовании при разработке решающего правила разделения больных ХСН на ФК получены следующие линейные дискриминантные функции (ЛДФ):

Для группы больных, относящихся к III ФК ХСН ЛДФ:

$$Z_1 = 0,907 * X_1 + 27,645 * X_2 + 33,546 * X_3 - 0,001 * X_4 + 0,102 * X_5 + 0,285 * X_6 + 0,464 * X_7 + 0,002 * X_8 - 115,749 \quad (1.1)$$

Для группы больных, относящихся ко II ФК ХСН ЛДФ:

$$Z_2 = 0,828 * X_1 + 28,609 * X_2 + 33,643 * X_3 - 0,001 * X_4 + 0,088 * X_5 + 0,245 * X_6 + 0,558 * X_7 - 0,011 * X_8 - 109,853 \quad (1.2)$$

где  $X_1 - X_8$  – переменные, расшифровка которых представлена в табл. 2;  $Z_1$  – первая дискриминантная функция;  $Z_2$  – вторая дискриминантная функция.

Таблица 2

Коэффициенты линейных дискриминантных функций для больных ХСН II и III ФК			
Наименование переменной		ФК	
Используемое в ЛДФ	Расшифровка	II	III
$X_1$	Возраст	0,828	0,907
$X_2$	Этиология ХСН	28,609	27,645
$X_3$	ИБС	33,643	33,546

Окончание табл. 2

Наименование переменной		ФК	
Используемое в ЛДФ	Расшифровка	II	III
X <sub>4</sub>	NT-proBNP	-,001	-,001
X <sub>5</sub>	sgp130	0,088	0,102
X <sub>6</sub>	АД систолическое	0,245	0,285
X <sub>7</sub>	АД диастолическое	0,558	0,464
X <sub>8</sub>	IL-6	-,011	0,002
C	Константа	-109,853	-115,749

Примечание. ЛДФ – линейные дискриминантные функции; ХСН – хроническая сердечная недостаточность; ИБС – ишемическая болезнь сердца; NT-proBNP – N-терминальный пропептид мозгового натрийуретического гормона; АД – артериальное давление; IL-6 – интерлейкин 6.

Качество дискриминантной функции было проверено на обучающей выборке и методом скользящего экзамена. Результаты представлены в табл. 3, 4.

Таблица 3

Результаты классификации на обучающей выборке				
Показатель	ФК	Предсказанная принадлежность к группе		Итого
		II	III	
Количество, абс.	II	15	5	20
	III	9	32	41
Количество, %	II	75,0	25,0	100
	III	22,0	78,0	100

Примечание. 77% исходных сгруппированных наблюдений правильно классифицировано; здесь и в табл. 4 ФК – функциональный класс.

Таблица 4

Результаты классификации методом скользящего экзамена				
Показатель	ФК	Предсказанная принадлежность к группе		Итого
		II	III	
Количество, абс.	II	14	6	20
	III	11	30	41
Количество, %	II	70,0	30,0	100
	III	26,8	73,2	100

Примечание. 72,1% перекрестно проверенных сгруппированных наблюдений правильно классифицировано.

Принцип работы полученного решающего правила следующий: предикторные переменные пациента подставляются в функцию  $Z_1$  и  $Z_2$  ((1.1) и (1.2)). Далее полученные значения  $Z_1$  и  $Z_2$  сравниваются. Если  $Z_1 \geq Z_2$ , то пациента следует относить к III ФК ХСН, если  $Z_1 < Z_2$ , то – ко II ФК ХСН.

Следует отметить, что для оценки надежности диагностического теста применяют такие показатели, как чувствительность и специфичность.

Так как в задачи данного теста не входила классификация пациентов на больных и здоровых, то за «больных» мы приняли пациентов, относящихся к III ФК ХСН, а за «здоровых» – пациентов со II ФК ХСН. Таким образом, при использовании обучающей выборки чувствительность данной модели составляла  $Se = (32/(32+9)) \times 100\% = 78\%$ , а специфичность –  $Sr = (15/(15+5)) \times 100\% = 75\%$ . При использовании метода скользящего экзамена чувствительность составляла  $Se = (30/(30+11)) \times 100\% = 73,2\%$ , а специфичность –  $Sr = (14/(14+6)) \times 100\% = 70\%$ .

Для оценки качества полученной модели по разделению двух классов была построена ROC-кривая (рис.) – график зависимости количества верно классифицированных положительных примеров от количества неверно классифицированных отрицательных примеров [13]. Для построения ROC-кривой была создана новая переменная  $Z = Z_1 - Z_2$ .

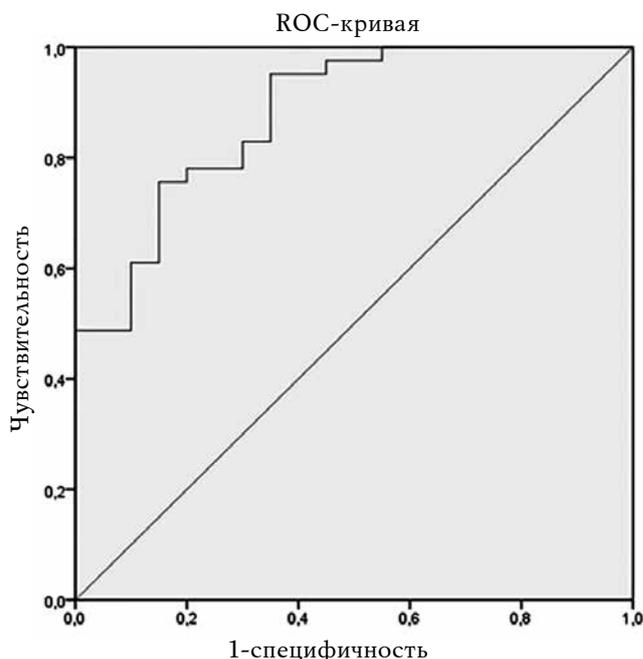


Рисунок. График ROC-кривой для оценки качества разработанной модели по разделению больных на II и III ФК

Известно, что если модель идеальна, то ее чувствительность и специфичность будут соответствовать 100%. Поскольку на практике добиться таких результатов сложно, используют порог отсека (cut-off value) – наиболее адекватную точку отсека одной диагностируемой группы от другой.

Для определения точки отсечения было выбрано требование максимальной суммарной чувствительности и специфичности. Cut-off = 0,07438, которой соответствует чувствительность, равная 0,756 (75,6%), и специфичность – 0,85 (85%). Таким образом, если  $Z \geq 0,07438$ , то данного пациента следует относить к III ФК ХСН, если же  $Z < 0,07438$ , то ко II ФК ХСН.

Кроме того, для оценки качества модели используют такой показатель, как площадь под ROC-кривой, и чем больше ее значение, тем лучше качество модели. Так, в данном исследовании ROC-кривая =  $0,879 \pm 0,045$ , что соответствует очень хорошему (0,8–0,9) качеству полученной модели [13].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для разработки решающего правила разделения больных ХСН проведено сравнение групп пациентов II и III ФК. Выявлены статистически значимо различающиеся переменные, такие как возраст, NT-proBNP, sgr130, этиология ХСН и ИБС. В решающее правило помимо данных показателей включили клинически значимые параметры (АД систолическое, АД диастолическое, IL-6). Полученные результаты позволили разработать решающее правило отнесения пациентов ко II и III ФК. Оценка качества модели по разделению двух классов, полученная на основании площади под ROC-кривой, соответствовала очень хорошему качеству (0,8–0,9). В данной модели наряду с общепринятыми клиническими показателями ХСН использованы новые дополнительные параметры, отражающие степень воспалительного процесса (IL-6 и sgr130).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ponikowski P., Voors A.A., Anker S.D., Bueno H., Cleland G.F. J., Coats J.S.A., Falk V., González-Juanatey J., Harjola V., Jankowska A.E., Jessup M., Linde C., Nihoyannopoulos P., Parissis T.J., Pieske B., Riley P.J., Rosano M.C.G., Ruilope M.L., Ruschitzka F., Rutten H., van der Meer P. Рекомендации ESC по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности 2016. *Российский кардиологический журнал*. 2017; (1): 7–81. DOI: 10.15829/1560-4071-2017-1-7-81.
2. Mosterd A., Hoes A.W. Clinical epidemiology of heart failure. *Heart*. 2007; 93 (9): 1137–1146. DOI: 10.1136/hrt.2003.025270.
3. Benjamin E.J., Virani S.S., Callaway C.W., Chamberlain A.M., Chang A.R., Cheng S., Chiuve S.E., Cushman M., Delling F.N., Deo R., de Ferranti S.D., Ferguson J.F., Fornage M., Gillespie C., Isasi C.R., Jiménez M.C., Jordan L.C., Judd S.E., Lackland D., Lichtman J.H., Lisabeth L., Liu S., Longenecker C.T., Lutsey P.L., Mackey J.S., Matchar D.B., Matsushita K., Mussolino M.E., Nasir K., O'Flaherty M., Palaniappan L.P., Pandey A., Pandey D.K., Reeves M.J., Ritchey M.D., Rodriguez C.J., Roth G.A., Rosamond W.D., Sampson U.K.A., Satou G.M., Shah S.H., Spartano N.L., Tirschwell D.L., Tsao C.W., Voeks J.H., Willey J.Z., Wilkins J.T., Wu J.H., Alger H.M., Wong S.S., Muntner P. Heart disease and stroke statistics-2018 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2018; 137 (12): e67–492. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000558.
4. Фомин И.В. Хроническая сердечная недостаточность в Российской Федерации: что сегодня мы знаем и что должны делать. *Российский кардиологический журнал*. 2016; 8: 7–13. DOI: 10.15829/1560-4071-2016-8-7-13.
5. Терещенко С.Н., Жиров И.В., Нарусов О.Ю., Марев Ю.В., Затеищikov Д.А., Осмоловская Ю.Ф., Овчинников А.Г., Самко А.Н., Насонова С.Н., Стукалова О.В., Саидова М.А., Скворцов А.А., Шария М.А., Явелов И.С. Диагностика и лечение хронической и острой сердечной недостаточности. *Кардиологический вестник*. 2016; 2: 3–33.
6. Cainzos-Achirica M., Enjuanes C., Greenland P., McEvoy J.W., Cushman M., Dardari Z., Nasir K., Budoff M.J., Al-Mallah M.H., Yeboah J., Miedema M.D., Blumenthal R.S., Comin-Colet J., Blaha M.J. The prognostic value of interleukin 6 in multiple chronic diseases and all-cause death: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis*. 2018; 278: 217–225. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.09.024.
7. Yan A.T., Yan R.T., Cushman M., Redheuil A., Tracy R.P., Arnett D.K., Rosen B.D., McClelland R.L., Bluemke D.A., Lima J.A. Relationship of interleukin-6 with regional and global left-ventricular function in asymptomatic individuals without clinical cardiovascular disease: insights from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Eur. Heart J.* 2010; 31 (7): 875–882. DOI: 10.1093/eurheartj/ehp454.
8. Shirazi L.F., Bissett J., Romeo F., Mehta J.L. Role of Inflammation in heart failure. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2017; 19 (6): 27. DOI: 10.1007/s11883-017-0660-3.
9. Осипова О.А., Суязова С.Б., Власенко М.А., Годлевская О.М. Роль провоспалительных цитокинов в развитии хронической сердечной недостаточности. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. 2013; 21 (2): 130–135. DOI: 10.17816/PAVLOVJ20132130-135.
10. Чепурнова Д.А., Самойлова Е.В., Анисимов А.А., Верин А.Д., Коротаева А.А. Компоненты рецепторного комплекса интерлейкина 6 при остром повреждении легких. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2017; 164 (11): 561–563. DOI: 10.1007/s10517-018-4042-9.
11. Korotaeva A.A., Samoilova E.V., Chepurnova D.A., Zhitarova I.V., Shuvalova Y.A., Prokazova N.V. Soluble glycoprotein 130 is inversely related to severity of coronary atherosclerosis. *Biomarkers*. 2018; 23 (6): 527–532. DOI: 10.1080/1354750X.2018.1458151.
12. Askevold E.T., Nymo S., Ueland T., Gravning J., Wergeland R., Kjekshus J., Yndestad A., Cleland J.G., McMurray J.J., Aukrust P., Gullestad L. Soluble glycoprotein

130 predicts fatal outcomes in chronic heart failure: analysis from the controlled rosuvastatin multinational trial in heart failure (CORONA). *Circ. Heart Fail.* 2013; 6 (1): 91–98. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.112.972653.

13. Григорьев С.Г., Лобзин Ю.В., Скрипченко Н.В. Роль и место логистической регрессии и ROC-анализа в решении медицинских диагностических задач. *Журнал инфектологии.* 2016; 8 (4): 36–45. DOI: 10.22625/2072-6732-2016-8-4-36-45.

## Вклад авторов

Самойлова Е.В. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, написание текста статьи. Фатова М.А. – анализ и статистическая обработка данных, графическое представление данных, написание текста статьи. Миндзаев Д.Р. – подбор и обследование пациентов, создание базы данных. Житарева И.В. – разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания, написание текста статьи. Насонова С.Н. – подбор и обследование пациентов, проведение лечения, контроль забора материала для исследования. Жиров И.В. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания, написание текста статьи. Терещенко С.Н. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания, написание текста статьи. Коротаева А.А. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания, написание текста статьи.

## Сведения об авторах

Самойлова Елена Виленовна, канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория биохимии воспалительных процессов атерогенеза, НМИЦ кардиологии, г. Москва.

Фатова Марина Александровна, аналитик, отдел инновационных электронных образовательных ресурсов, РГИМУ имени Н.И. Пирогова, г. Москва.

Миндзаев Дзамболат Роланович, аспирант, отдел сердечной недостаточности и заболеваний миокарда, НМИЦ кардиологии, г. Москва.

Житарева Ирина Викторовна, канд. мед. наук, доцент, кафедра медицинской кибернетики и информатики, РГИМУ имени Н.И. Пирогова, г. Москва.

Насонова Светлана Николаевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, отдел сердечной недостаточности и заболеваний миокарда, НМИЦ кардиологии, г. Москва.

Жиров Игорь Витальевич, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отдел сердечной недостаточности и заболеваний миокарда, НМИЦ кардиологии, г. Москва.

Терещенко Сергей Николаевич, д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, руководитель отдела сердечной недостаточности и заболеваний миокарда, НМИЦ кардиологии, г. Москва.

Коротаева Александра Алексеевна, д-р биол. наук, руководитель лаборатории биохимии воспалительных процессов атерогенеза, НМИЦ кардиологии, г. Москва.

(✉) Самойлова Елена Виленовна, e-mail: erihter@mail.ru.

Поступила в редакцию 31.07.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Функциональная аннотация и анализ обогащения сигнальных путей генов, ассоциированных с болезнью Альцгеймера и болезнью Паркинсона

Часовских Н.Ю., Гречишникова А.Ю., Смирнов Д.В.

Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования.** Охарактеризовать *in silico* функции генов предрасположенности и провести анализ обогащения сигнальных путей при болезни Паркинсона и болезни Альцгеймера.

**Материалы и методы.** Гены, ассоциированные с болезнью Паркинсона и болезнью Альцгеймера, были получены на основе анализа информации из каталога GWAS (каталог ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов с заболеваниями). Оценка принадлежности генов к биологическому процессу, молекулярным функциям, к иммунной системе в терминах генной онтологии осуществлялась с помощью алгоритма, реализованного в плагине ClueGO Cytoscape version 3.2.1. Анализ обогащения путей был выполнен при помощи плагина ClueGO Cytoscape с использованием KEGG и REACTOME и с применением гипергеометрического теста.

**Результаты.** Выявленные гены предрасположенности к болезни Паркинсона и болезни Альцгеймера участвуют в регуляции синтеза и накопления токсичных белков  $\beta$ -амилоида и  $\alpha$ -синуклеина, приводя к апоптозу нейронов. Установлено наличие 14 общих функций (процесс катаболизма коллагена, клеточный ответ на ретиноевую кислоту, регуляция кальций-опосредованного сигналинга, негативная регуляция защиты клеточной организации, негативная регуляция развития нейронов, активация глиальных клеток, активация микроглиальных клеток, активация макрофагов, регуляция метаболизма холестерина, клатрин-зависимый эндоцитоз, регуляция олигомеризации белка, регуляция развития дендритного отростка, связывание кинезина, связывание клатрина) и три общих сигнальных пути (везикуло-опосредованный транспорт, клатрин-производное почкование везикул, обеспечение продукции иммуноглобулина А), в которые вовлечены гены предрасположенности к болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона.

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют об участии метаболических (гены *MMP12*, *COL13A1*, *APOE*, *DGKQ*), нейрональных (гены *CLU*, *MAPT*, *SNCA*, *STAP1*, *RNF6*, *GAK*, *INPP5F*, *MAP4K4*) и иммунологических факторов (гены *LA-DQB1*, *HLA-DRA*, *AICDA*) в механизмах развития болезни Паркинсона и болезни Альцгеймера.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, GWAS, ClueGO Cytoscape, гены предрасположенности.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Для цитирования:** Часовских Н.Ю., Гречишникова А.Ю., Смирнов Д.В. Функциональная аннотация и анализ обогащения сигнальных путей генов, ассоциированных с болезнью Альцгеймера и болезнью Паркинсона. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 108–113. <https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2020-1-108–113>.

## Functional analysis and signaling pathway enrichment analysis of genes associated with Alzheimer's disease and Parkinson's disease

Chasovskikh N.Yu., Grechishnikova A.Yu., Smirnov D.V.

*Siberian State Medical University  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

### ABSTRACT

We identified significant functions of susceptibility-genes and performed an analysis of pathway enrichment for Alzheimer's disease, Parkinson's disease and for both of them. Genes were extracted from a Catalog of Published Genome-Wide Association Studies (GWAS). We uploaded genes into Cytoscape version 3.2.1. ClueGO plugin was used for functional and pathway enrichment analysis of genes based on the hypergeometric test. Two databases, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway and REACTOME, were selected for analysis.

The identified susceptibility genes are involved in the synthesis regulation and accumulation of toxic proteins,  $\beta$ -amyloid and  $\alpha$ -synuclein, and lead to apoptosis of neurons. We have defined 14 shared functions: collagen catabolic process, cellular response to retinoic acid, regulation of calcium-mediated signaling, negative regulation of cell projection organization, negative regulation of neuron projection development, glial cell activation, microglial cell activation, macrophage activation, regulation of cholesterol metabolism, clathrin-mediated endocytosis, regulation of protein oligomerization, regulation of dendritic spine development, kinesin binding and clathrin binding. Also, we have defined 3 shared signaling pathways: trans-Golgi Network Vesicle Budding, Clathrin derived vesicle budding, Intestinal immune network for IgA production. These pathways contain genes susceptible to Alzheimer's disease and Parkinson's disease. The results suggest the metabolic, neuronal and immunological factors participate in the development of Parkinson's disease and Alzheimer's disease.

**Key words:** Parkinson's disease, Alzheimer's disease, GWAS, ClueGO Cytoscape, functional annotation of genes.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors received no specific funding for this work.

**For citation:** Chasovskikh N.Yu., Grechishnikova A.Yu., Smirnov D.V. Analysis of functions and enriched signaling pathways of genes associated with Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 108–113. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-108-113>.

## ВВЕДЕНИЕ

Неврологические заболевания уверенно входят в тройку наиболее распространенных заболеваний в мире. Болезнь Паркинсона является вторым по распространенности нейродегенеративным заболеванием после болезни Альцгеймера, которая, в свою очередь, поражает 1–2% населения в возрасте старше 65 лет [1].

Несмотря на достигнутый в последние годы прогресс в понимании биохимических и молекулярных механизмов как болезни Паркинсона, так и болезни Альцгеймера, вопросы их совместного проявления требуют детального изучения. Важное значение имеют как генетическая предрасположенность, так и факторы внешней среды.

Пациенты с болезнью Альцгеймера и болезнью Паркинсона часто имеют перекрытие в клиническом представлении и невропатологии мозга. При болезни Паркинсона происходит накопление амилоид- $\beta$  и  $\alpha$ -синуклеин белков в так называемой черной субстанции мозга, а при болезни Альцгеймера – в гиппокампе. Из-за этого мозг не в состоянии в достаточном количестве вырабатывать гормон дофамин [2, 3].

Для исследования молекулярных механизмов неврологических заболеваний используют подходы, включающие идентификацию не только «больных» генов, ответственных за те или иные патологии, но и генов, определяющих предрасположенность ко многим заболеваниям человека. Она может выразиться в изменении

генов, вовлеченных в важнейшие биологические процессы и молекулярные функции, а также сигнальные и метаболические пути. При этом возникающие нарушения клеточного гомеостаза приводят к запуску механизмов патологического процесса [4].

В изучении совместного проявления заболеваний особенно интересным является поиск функций генов и биологических путей, позволяющих охарактеризовать общие молекулярно-генетические механизмы. Существующие биоинформационные инструменты позволяют (в том числе с использованием терминологии GeneOntology - генная онтология) комплексно охарактеризовать участие исследуемых генов в развитии патологического процесса, оценить их роль в регуляции внутриклеточного сигналинга, клеточного гомеостаза [5].

Цель настоящей работы – охарактеризовать *in silico* функции генов предрасположенности и провести анализ обогащения сигнальных путей при болезни Паркинсона и болезни Альцгеймера.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Используемые для исследования гены предрасположенности к данным заболеваниям были получены с помощью каталога GWAS (Catalog of Published Genome-Wide Association Studies) – курируемого ресурса, содержащего результаты полногеномного поиска ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов с заболеваниями [6]. Оценка принадлежности генов к биологическому процессу, молекулярным функциям, к иммунной системе в терминах генной онтологии осуществлялась с помощью алгоритма, реализованного в плагине ClueGO Cytoscape version 3.2.1 [7].

Минимальное количество генов для формирования функциональных групп соответствовало 2. Для оценки функциональных связей между генами использовался гипергеометрический тест с  $p < 0,05$  и значением каппа-статистики  $K = 0,4$  [8].

Анализ обогащения путей был выполнен при помощи плагина ClueGO Cytoscape с использованием KEGG и REACTOME и с применением гипергеометрического теста с  $p < 0,05$ . При этом был выбран уровень специфичности 60%, показывающий, что для отнесения к определенному заболеванию обогащенный путь должен включать в себя более 60% соответствующих генов предрасположенности. Дополнительно обогащенные пути объединялись в группы со сходным биологическим значением и составом генов предрасположенности.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для каждого заболевания был сформирован список генов предрасположенности. Для болезни Паркинсона – из 119 генов: *CLRN3, CTC1, CCDC82, TMC3-AS1, TMC3, COL13A1, LRRK2, SPPL2C, MAPT, MCCC1, FAM47E-STBD1, TMEM175, SREBF1, SLC41A1, RIT2, WNT3, MGC57346-CRHR1, ASS1P14, HLA-DRB1, GBA, SYT10, GAK, GCH1, MCCC1, RAB29, NUCKS1, RAD1P1, FAM47E, BST1, RIT2, CCDC62, OR5AZ1P, SH3GL2, SYT17, NDUFAF2, CA8, HSD17B1P1, OR5BD1P, WNT9A, COL5A2, IGSF11, RN7SL383P, RPA2P1, MDGA2, UNC13B, HLA-DRA, GAK, RAB25, ACMSD, LAMTOR2, MCCC1, TMEM175, BST1, MGC57346-CRHR1, CCDC62, MGC57346, DLG2, STAP1, RPL9P21, SEMA5A, EIF2AP4, BST1, SLC2A13, PLEKHM1, SNCA, PAX7, BRINP1, DGKQ, TAS1R2, LHFPL2, TRPS1, KLHDC1, TPM1, DSG3, PRRG4, ATF6, QSER1, AAK1, AGAP1, SPTSSB, PINK1, ZNF165, GBF1, CAB39L, RPL13AP3, MED13, ITGA2B, POLRMTP1, HMGN2P18, RAB29, NUCKS1, SIPA1L2, VDACC2P4, KTN1, MCCC1, TMEM175, BST1, KRTCAP2, HLA-DQB1, MTCO3P1, GPNMB, INPP5F, DLG2, CCDC62, GCH1, GPHN, TMEM229B, BCKDK, RIT2, TMPRSS9, DDRGK1, ITPKB, MAP4K4, SCN2A, SPPL2B, IP6K2, ITIH1, CAMK2D, NDUFAF2.*

Для болезни Альцгеймера – из 57 генов: *DSTNP5, WDR1, SLC2A9, PCDH7, RNF6, ATP8A2P3, DCHS2, SEPT5, TST, TEX33, RANP7, SALL4P5, CLDN18, HSPA8P9, STK32B, ZCCHC10, EN2, CIR1P1, TOMM40, PINK1, MTATP6P30, PVRL2, EXOC4, PARVB, PHF14, RPL26P32, ST18, AICDA, RPL5P26, MS4A2, SLC24A4, BCAM, CHRNA2, ZFP3, ZNF232, ACE, FBXL7, IGSF23, MS4A3, YWHAZP9, IGSF23, CEACAM19, BLOC1S3, EXOC3L2, BCL3, PPP1R37, APOC1, APOE, CLU, MMP3, GBA, PICALM, LRRK2, RELN, DISC1, TREM2, PAX2.*

При анализе полученных списков генов, ассоциированных с исследуемыми заболеваниями, было установлено, что продукты таких генов, как *SNCA* и *MAPT*, *PINK1*, при взаимодействии друг с другом могут способствовать сочетанному проявлению болезни Паркинсона и болезни Альцгеймера. А именно амилоидный  $\beta$ -пептид ( $A\beta$ ), изменения которого лежат в основе протеинопатии болезни Альцгеймера, способствует агрегации белка  $\alpha$ -синуклеина, кодируемого геном *SNCA*. Более того, ген *MAPT* способствует образованию олигомеров и фибрилл  $\alpha$ -синуклеина, а уровень

экспрессии  $\alpha$ -синуклеина влияет на проявление болезни Паркинсона. Таким образом, MAPT-опосредованное взаимодействие между A $\beta$  и  $\alpha$ -синуклеином может иметь отношение к пациентам с сочетанной патологией болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона [9].

В свою очередь, ген *PINK1* кодирует протеинкиназу, которая локализуется в митохондриях, мутации в *PINK1* приводят к дисфункции митохондрий, что обуславливает раннее развитие болезни Паркинсона [10]. Обнаружено, что при болезни Альцгеймера *PINK1* ассоциируется с классическими сенильными бляшками и отложениями сосудистых амилоидов, а также с реактивными астроцитами, связанными с характерными поражениями при данном заболевании [11].

Рассмотрение функций генов предрасположенности к болезни Паркинсона позволило выделить две основные группы. Первая группа генов (*GPNMB*, *MAP4K4*, *NDUFAF2*, *SREBF1*) отвечает за процессы, связанные с отрицательной регуляцией высвобождения инсулина из клетки,

в частности на уменьшение скорости, частоты, степени его высвобождения из секреторных гранул (GO:0090278; GO:0046676). Гены следующей группы – *GAK*, *LRRK2*, *SH3GL2*, *SNCA*, *SYT10*, *SYT17*, *UNC13B* – влияют на транспорт и секрецию нейротрансмиттеров, которые осуществляют передачу импульсов между нейронами (GO:0099504, GO:0051588).

В ходе проведенного исследования выявлено, что гены, ассоциированные с болезнью Альцгеймера, объединены в одну основную группу (*ABCA7*, *APOE*, *CLU*, *PICALM*), которая отвечает за образование, регуляцию и метаболизм белка-предшественника амилоида, являющегося основным составляющим амилоидных бляшек при болезни Альцгеймера (GO:1900221, GO:0042987, GO:1902993).

По результатам функционального анализа было установлено наличие 14 общих функций генов, которые характеризуют биологические процессы и молекулярные функции при общих заболеваниях (табл. 1).

Таблица 1

Функции, ассоциированные с обоими заболеваниями		
Показатель	Гены, входящие в функциональную группу	
	Болезнь Альцгеймера	Болезнь Паркинсона
Процесс катаболизма коллагена [GO:0030574]	<i>MMP12</i> , <i>MMP3</i>	<i>COL13A1</i> , <i>COL5A2</i> , <i>CTSB</i>
Клеточный ответ на ретиноевую кислоту [GO: 0071300]	<i>PAX2</i>	<i>BRINP1</i> , <i>LTK</i> , <i>SREBF1</i> , <i>WNT3</i> , <i>WNT9A</i>
Регуляция кальций-опосредованного сигналинга [GO: 0050848]	<i>TREM2</i>	<i>BST1</i> , <i>CAMK2D</i> , <i>LRRK2</i> , <i>RIT2</i>
Негативная регуляция защиты клеточной организации [GO: 0031345]	<i>APOE</i> , <i>RNF6</i>	<i>GAK</i> , <i>INPP5F</i> , <i>MAP4K4</i> , <i>RAB29</i> , <i>RIT2</i> , <i>SEMA5A</i> , <i>STAP1</i> , <i>WNT3</i>
Негативная регуляция развития нейронов [GO: 0010977]	<i>APOE</i> , <i>RNF6</i>	<i>GAK</i> , <i>INPP5F</i> , <i>MAP4K4</i> , <i>RAB29</i> , <i>RIT2</i> , <i>SEMA5A</i> , <i>WNT3</i>
Активация глиальных клеток [GO: 0061900]	<i>CLU</i>	<i>MAPT</i> , <i>SNCA</i> , <i>STAP1</i>
Активация микроглиальных клеток [GO: 001774]	<i>CLU</i>	<i>MAPT</i> , <i>SNCA</i> , <i>STAP1</i>
Активация макрофагов [GO: 0042116]	<i>CLU</i> , <i>MAPT</i>	<i>MAPT</i> , <i>SNCA</i> , <i>STAP1</i>
Регуляция метаболизма холестерина [GO: 0090181]	<i>APOE</i>	<i>DGKQ</i> , <i>FDFT1</i> , <i>SREBF1</i>
Клатрин-зависимый эндоцитоз [GO: 0072583]	<i>PICALM</i>	<i>GAK</i> , <i>INPP5F</i> , <i>SH3GL2</i> , <i>SNCA</i>
Регуляция олигомеризации белка [GO: 0032459]	<i>APOE</i> , <i>CLU</i> , <i>GBA</i> , <i>MMP3</i>	<i>GBA</i>
Регуляция развития дендритного отростка [GO: 0060998]	<i>APOE</i> , <i>DISC1</i> , <i>LRRK2</i> , <i>RELN</i>	<i>LRRK2</i>
Связывание кинезина [GO: 0019894]	<i>DISC1</i>	<i>KTN1</i> , <i>RAB29</i> , <i>SNCA</i>
Связывание клатрина [GO: 0030276]	<i>PICALM</i>	<i>LRRK2</i> , <i>SYT10</i> , <i>SYT17</i>

Результаты проведенного функционального анализа демонстрируют, что общие функции генов предрасположенности к болезни Паркинсона и болезни Альцгеймера связаны с влиянием на

состояние нервных клеток и функции нервной системы. Так, микроглиальная активация является отличительным признаком нейровоспаления, характерного как для болезни Альцгеймера, так

и для болезни Паркинсона. Изменение регуляции развития нейронов может увеличить или уменьшить их чувствительность, что приводит к нарушению ответной реакции на воздействие раздражителя [12].

Продукты исследуемых генов усиливают процессы разрушения коллагена во внеклеточном матриксе, что способствует нарушению функционирования нервных клеток [13, 14]. Изменение клеточного ответа на ретиноевую кислоту может нарушить регуляцию пролиферации и дифференцировки, привести к изменению состояния или активности клетки. В частности, ретиноевая кислота оказывает нейропротекторное действие на дофаминергические нейроны при болезни Паркинсона [15].

Влияние на кальций-опосредованный сигналинг обуславливает изменения уровня кальция в эндоплазматической сети. Повышенное содержание  $Ca^{2+}$  может вызывать синаптический дефицит и способствовать накоплению амилоидных бляшек при болезни Альцгеймера [16].

Проведенный далее анализ обогащения сигнальных и метаболических путей показал, что гены предрасположенности к болезни Паркинсона специфически вовлечены в пути R-HSA:202165, R-HSA:202291, R-HSA:202427 и R-HSA:2130378, связанные с транспортировкой комплекса гистосовместимости (МНС) класса II, активацией Lck (lymphocytokinase), которая, благодаря своей киназной активности, фосфорилирует иммунорецептор тирозин-ингибирующий мотив (ITAM) в семействе T-клеточного рецептора (TCR zeta). Благодаря TCR происходит распознавание специфического связанного антигена и запуск соответствующего клеточного ответа [17].

Гены, ассоциированные с болезнью Альцгеймера, специфически обогащают пути, связанные с регуляцией метаболизма холестерина. В свою очередь, холестерин участвует в регуляции продукции  $\beta$ -амилоида (KEGG:04979; R-HSA:174824; R-HSA:8963898) [18].

Проведенный анализ обогащения путей также выявил наличие общих значимых путей для болезни Паркинсона и болезни Альцгеймера ( $p < 0,05$ ), ответственных за следующие процессы (табл. 2):

- везикуло-опосредованный транспорт (R-HSA:199992), обеспечивающий направленное движение веществ от комплекса Гольджи к другим частям клетки, включая органеллы и плазматическую мембрану;

- клатрин-производное почкование везикул (R-HSA:421837) – образование транспортных везикул под действием клатрина и адапторных белков на мембране Гольджи;

- обеспечение продукции иммуноглобулина А (IgA) с помощью иммунной сети кишечника (KEGG:04672) – генерирование большого количества невоспалительных антител к иммуноглобулину А (IgA).

Таблица 2

Обогащенные пути, специфичные для болезни Паркинсона и болезни Альцгеймера		
Показатель	Гены, входящие в биологический путь	
	болезнь Паркинсона	болезнь Альцгеймера
Везикуло-опосредованный транспорт	<i>GAK, GBF1, SH3GL2</i>	<i>BLOC1S3</i>
Клатрин-производное почкование везикул	<i>GAK, GBF1, SH3GL2</i>	<i>BLOC1S3</i>
Обеспечение продукции иммуноглобулина А (IgA) с помощью иммунной сети кишечника	<i>HLA-DQB1, HLA-DRA, HLA-DRB1</i>	<i>AICDA</i>

Проведенное исследование сигнальных и метаболических путей демонстрирует, что гены, ассоциированные с болезнью Паркинсона и болезнью Альцгеймера, специфически обогащают пути, способствующие синтезу и накоплению токсичных белков при данных заболеваниях, а именно  $\beta$ -амилоида и  $\alpha$ -синуклеина, приводящих к апоптозу нейронов. Исследуемые гены также оказывают влияние на продукцию невоспалительных антител к иммуноглобулину А (IgA) (за счет участия в пролиферации В клеток), что обеспечивает активность защиты от микроорганизмов и токсинов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя результаты участия генов предрасположенности к болезням Паркинсона и Альцгеймера в молекулярных функциях и сигнальных, метаболических путях, можно выделить три составляющие, влияющие на механизмы развития данных заболеваний:

- 1) метаболическая, включающая катаболизм коллагена, метаболизм холестерина, клатрин-зависимый эндоцитоз (MMP12, COL13A1, APOE, DGKQ);

- 2) нейрональные реакции, такие как активация глиальных клеток, негативная регуляция нейронов, везикуло-опосредованный транспорт в синапсах и кальций-опосредованный сигналинг (CLU, MAPT, SNCA, STAP1, RNF6, GAK, INPP5F, MAP4K4);

- 3) иммунологическая, заключающаяся в активации макрофагов (в том числе микроглии) и влиянии на продукцию иммуноглобулина А (LA-DQB1, HLA-DRA, AICDA).

Дальнейшее использование полученных данных может способствовать выявлению (как *in silico*, так и экспериментально) ключевых молекулярно-генетических механизмов развития и возможных путей терапевтической коррекции данных заболеваний.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Coskuner-Weber O., Uversky V.N. Insights into the molecular mechanisms of Alzheimer's and Parkinson's diseases with molecular simulations: understanding the roles of artificial and pathological missense mutations in intrinsically disordered proteins related to pathology. *Int. J. Mol.* 2018; 19 (2): 336. DOI: 10.3390/ijms19020336.
- Zhentaо Z., Liu X., Eun Hee Ahn et al. Asparagine endopeptidase cleaves  $\alpha$ -synuclein and mediates pathologic activities in Parkinson's disease. *Nature Structural & Molecular Biology.* 2017; 24 (8): 632–642. DOI: 10.1038/nsmb.3433.
- Ping L., Duong D.M., Yin L. et al. Global quantitative analysis of the human brain proteome in Alzheimer's and Parkinson's Disease. *Sci. Data.* 2018; 5: 180036. DOI: 10.1038/sdata.2018.36.
- Liu G., Bao X., Jiang Y., Feng R. et al. Identifying the Association Between Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease Using Genome-Wide Association Studies and Protein-Protein Interaction Network. *Mol. Neurobiol.* 2015; 52 (3): 1629–1636. DOI: 10.1007/s12035-014-8946-8.
- Huang D.W., Sherman B.T., Lempicki R.A. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. *Nucleic Acids Research.* 2009; 37 (1): 1–13. DOI: 10.1093/nar/gkn923.
- Welter D., MacArthur J., Morales J. et al. The NHGRI GWAS Catalog, a curated resource of SNP trait associations. *Nucleic Acids Research.* 2014; 42: D1001–1006. DOI: 10.1093/nar/gkt1229.
- Blake A., Christie K.R., Dolan M.E. et al. Gene Ontology Consortium: going forward. *Nucleic Acids Research.* 2015; 43: D1049–1056. DOI: 10.1093/nar/gku1179.
- Sim J., Wright C.C. The Kappa Statistic in Reliability Studies: Use, Interpretation, and Sample Size Requirements. *Physical Therapy.* 2005; 85 (3): 257–268.
- Martin I., Dawson V.L., Dawson T.M. Recent advances in the genetics of Parkinson's disease. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2011; 12: 301–325. DOI: 10.1146/annurev-genom-082410-101440.
- Wilhelmus M.M., Jansen Q., Witte M.E. et al. Association of Parkinson disease-related protein PINK1 with Alzheimer disease and multiple sclerosis brain lesions. *Free Radic Biol. Med.* 2011; 50 (3): 469–476. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.11.033.
- McKenzie J.A., Spielman L.J., Pointer C.B., Lowry J.R., Bajwa E., Lee C.W., Klegeris A. Neuroinflammation as a common mechanism associated with the modifiable risk factors for Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Curr. Aging Sci.* 2017; 10 (3): 158–176. DOI: 10.2174/1874609810666170315113244.
- Wilhelmus M.M., van der Pol S.M., Jansen Q., Witte M.E., van der Valk P., Rozemuller A.J., Drukarch B., de Vries H.E., van Horsen J. Association of Parkinson disease-related protein PINK1 with Alzheimer disease and multiple sclerosis brain lesions. *Free Radic Biol. Med.* 2011; 50 (3): 469–476. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.11.033.
- Esteves M., Cristyvä A.C., Saraiva T. et al. Retinoic acid-loaded polymeric nanoparticles induce neuroprotection in a mouse model for Parkinson's disease. *Front Aging Neurosci.* 2015; 7: 20. DOI: 10.3389/fnagi.2015.00020.
- Tong B.C., Wu A.J., Li M., Cheung K.H. Calcium signaling in Alzheimer's disease & therapies. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* 2018; 1865 (11): 1745–1760. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2018.07.018.
- Wilkinson B., Downey J.S., Rudd C.E. T-cell signalling and immune system disorders. *Expert Rev. Mol. Med.* 2005; 7 (29): 1–29. DOI: 10.1017/S1462399405010264
- Paththinige C.S., Sirisena N.D., Dissanayake V. Genetic determinants of inherited susceptibility to hypercholesterolemia – a comprehensive literature review. *Lipids Health Dis.* 2017; 16 (1): 103. DOI: 10.1186/s12944-017-0488-4.
- Majd S., Power J.H., Grantham H.J.. Neuronal response in Alzheimer's and Parkinson's disease: the effect of toxic proteins on intracellular pathways. *BMC Neurosci.* 2015; 16: 69. DOI: 10.1186/s12868-015-0211-1.
- Hu Y.-S., Xin J., Zhang L., Wang J. Analyzing the genes related to Alzheimer's disease via a network and pathway-based approach. *Alzheimer's Research & Therapy.* 2017; 9 (1): 29. DOI: 10.1186/s13195-017-0252-z .

#### Сведения об авторах

Часовских Наталия Юрьевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-6077-0347.

Гречишниковая Александра Юрьевна, ассистент, кафедра медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск.

Смирнов Дмитрий Васильевич, студент, медико-биологический факультет, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Гречишниковая Александра Юрьевна, e-mail: grechishnikova.al@mail.ru.

Поступила в редакцию 19.04.2019

Подписана в печать 25.12.2019

УДК 618.16-002

[https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2020-1-114–124](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-114-124)

## Вульводиния – мультидисциплинарная проблема

Бахтияров К.Р.<sup>1,2</sup>, Буданов П.В.<sup>1,2</sup>, Пронина В.А.<sup>1</sup>, Виривская Е.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Первый МГМУ им. И.М. Сеченова)*

*Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2*

<sup>2</sup> *Сеть семейных медицинских центров (ССМЦ)*

*Россия, 107120, г. Москва, ул. Сергея Радонежского, 5/2, стр. 1*

### РЕЗЮМЕ

Обзор литературы посвящен проблеме вульводинии как мультидисциплинарной проблеме. В статье обобщены сведения об этиологии и патогенетических факторах развития заболевания, затронуты аспекты диагностики и лечения данной формы хронической генитальной боли. Несмотря на распространенность патологии, женщины с болью в области вульвы нередко остаются не диагностированными и не получают адекватную терапевтическую и психоэмоциональную поддержку. В настоящее время актуальность представляет поиск определения, классификации, распространенности, патофизиологических факторов возникновения и адекватной персонализированной терапии данной нозологии.

**Ключевые слова:** вестибулодиния, диспареуния, сексуальная дисфункция, спровоцированная вульводиния, неспровоцированная вульводиния, генерализованная вульводиния, клитородиния.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

**Для цитирования:** Бахтияров К.Р., Буданов П.В., Пронина В.А., Виривская Е.В. Вульводиния – мультидисциплинарная проблема. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 114–124. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2020-1-114–124](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-114-124).

## Vulvodynia – a multidisciplinary problem

Bakhtiyarov K.R.<sup>1,2</sup>, Budanov P.V.<sup>1,2</sup>, Pronina V.A.<sup>1</sup>, Virivskaia E.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *I.M. Sechenov First Moscow State Medical University*

*Build. 2, 8, Trubetskaya Str., Moscow, 119991, Russian Federation*

<sup>2</sup> *Network of Family Medical Centers*

*Build. 1, 5/2, Sergius Radonezhsky Str., Moscow, 107120, Russian Federation*

### ABSTRACT

This literature review is devoted to the problem of vulvodynia. The article summarizes information about the etiology and pathogenetic factors of this syndrome, touches the aspects of diagnosis and treatment of this form of chronic genital pain. Despite the prevalence of this pathology, women with pain in the

✉ Бахтияров Камилль Рафаэльевич, e-mail: doctorbah@mail.ru.

vulva often remain undiagnosed and do not receive adequate therapeutic and psycho-emotional support. Currently, the focus is in searching of the definition, classification, prevalence, pathophysiological factors of occurrence and adequate personalized therapy of this nosology.

**Key words:** vestibulodynia, dyspareunia, sexual dysfunction, provoked vulvodynia, unprovoked vulvodynia, generalized vulvodynia, clitorodynia.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that there is no funding for the study.

**For citation:** Bakhtiyarov K.R., Budanov P.V., Pronina V.A., Virivskaia E.V. Vulvodynia – multidisciplinary problem. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 114–124. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-114-124>.

## ВВЕДЕНИЕ

Вульводиния – это хроническое состояние дискомфорта в области вульвы, продолжающееся более 3 мес и проявляющееся преимущественно такими симптомами, как чувство жжения и зуда, а также болевым синдромом. В настоящее время вульводиния является распространенной, но все еще не до конца изученной проблемой с мультифакторной этиологией. По данным литературы, с каждым годом все большее количество пациенток обращается к врачу с симптомами данного заболевания, при этом установить точную причину возникшего патологического состояния достаточно сложно. Проблема лечения вульводинии является чрезвычайно актуальной вследствие хронического течения данного процесса и трудности в достижении эффекта от терапии ввиду наличия психоэмоционального компонента. Данная патология была впервые упомянута в литературе в 1880-х гг. как «чрезмерная чувствительность нервов, иннервирующих слизистую оболочку вульвы» [1] или «сверхчувствительность вульвы» [2].

По типу состояния вульводиния подразделяется на генерализованную или локализованную форму, каждая из которых, в свою очередь, делится на спровоцированный, неспровоцированный, не зависящий от наличия раздражителя, и смешанный типы. Локализованная форма включает в себя вестибулодинию и клитородинию [3]. Португальские ученые предложили классификацию вульводинии на основании трех основных групп триггерных факторов: 1) местные воспалительные факторы (инфекции мочеполовых путей, кандидоз, герпетическая инфекция); 2) общая болевая восприимчивость (фибромиалгия, синдром раздраженного мочевого пузыря и др.); и 3) защемление / повреждение тазового нерва (сколиоз, хирургические вмешательства в области

малого таза). Предполагается, что такая систематизация могла бы объяснить различия между генерализованной и локализованной вульводинией, а также различие реакций на лечение [4]. В последние годы в отечественной медицине все чаще используется термин «вульводиния». Под ним подразумевают хронический болевой синдром или неприятные ощущения различного характера, такие как жжение или зуд, возникающие в области вульвы и входа во влагалище [5].

Согласно классификации хронических болевых синдромов, выделяют так называемую гинекологическую боль, к которой относится синдром боли, связанный с эндометриозом, синдромом влагалищной, преддверной, генерализованной и локализованной вульварной боли и синдромом боли в области клитора [6]. Вульводинию же в данной классификации определяют как «синдром необъяснимых болей в области вульвы, сексуальной дисфункции и психической нестабильности». Существуют сходные термины, такие как дискинезия вульвы, провоцируемая вестибулодиния и диспареуния. Однако все они имеют нюансы и не характеризуют в целом понятие вульводинии [7].

## РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ

Долгое время вульводиния считалась редким заболеванием, однако последние крупные эпидемиологические исследования говорят о большой частоте возникновения (17%) и распространенности (7%) данной патологии в популяции [8, 9]. Вульводинией страдают женщины всех возрастных групп – от подросткового возраста до менопаузы [10], например в США – от 8,3 до 16% женщин. По оценкам Национального института здравоохранения, около 13 млн женщин испытывают симптомы заболевания в какой-то момент своей жизни и у 6% женщин симптомы заболе-

вания возникают в возрасте до 25 лет. Данные показатели считаются существенно заниженными в связи с отсутствием видимых патологий вульвы [9, 11]. В Португалии, по данным исследований Р. Vieira-Baptista [4], показатель распространенности составляет 16%. Испанские исследователи говорят о распространенности вульводинии у 7–8% женщин к 40-летнему возрасту, при этом от 30 до 48% из них никогда не обращались за помощью к врачу [12]. Исследование в Мичигане выявило показатель заболеваемости среди женщин в 4,2%, при этом процент встречаемости варьировался от 3,3% у женщин старше 60 лет до 7,6% у девушек моложе 20 лет; болевой синдром, не соответствующий критериям вульводинии, наблюдался у 11,5% женщин [13]. По данным В.Д. Reed и соавт. [9], распространенность вульводинии отличается в зависимости от этнической принадлежности: симптомы отмечены у 4,3% чернокожих женщин, у 9,3% белых и 15,6% – латиноамериканских женщин. Другие источники говорят об эквивалентном риске развития вульводинии у белых и афроамериканских женщин [8]. Трудности диагностики вульводинии, в целом, связаны с возможными этническими различиями в уровне болевой порога, восприятии боли и описании симптомов, а также с возможным более низким уровнем доступа к медицинской помощи [14].

## ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ

Вульводиния имеет мультифакторную этиологию, однако не все причины возникновения известны на сегодняшний день. Можно предположить, что в развитии вульводинии играют роль соматические, психоэмоциональные и психосексуальные аспекты (высокий уровень тревожности, депрессивные состояния, нарушения эмоциональных и сексуальных отношений с партнером и т.д.), а также их совокупность [15]. Несмотря на многокомпонентность состояния, акцент делается именно на соматических причинах возникновения данной патологии, среди которых выделяют хроническое воспаление в области вульвы и влагалища, атрофические процессы, хронические контактные дерматиты вульвы, дерматозы вульвы (склерозирующий и плоский лишай) [16]. В качестве первопричины возникновения вульводинии выделяют также ошибки закладки в эмбриогенезе [17, 18], иммунные генетические факторы [19, 20], аномалии развития женских половых органов и нервных путей, иннервирующих их [21–24]. Не исключается влияние факторов внешней среды: инфекций (вирус папилломы человека, хронический кандидозный процесс), раздражающих ве-

ществ (оксалатов и продуктов его метаболизма), травм и микротравм в области малого таза. В настоящее время большинство вульвологов не разделяют данную точку зрения. Однако в рамках кросс-секционного исследования в Португалии были получены данные, указывающие на прямую положительную корреляцию между приемом оральных контрацептивов, наличием хронического кандидоза, генитального герпеса, инфекций мочевыводящих путей, депрессии, предменструального синдрома и развитии вульводинии. Беременность и роды с данной патологией ассоциированы не были [4]. Патологические изменения слизистых оболочек при вульводинии проявляются в усилении чувствительной иннервации, увеличении локального кровотока, что позволяет предположить наличие нейрогенного воспалительного процесса [25].

Триггерными механизмами в развитии хронического воспалительного процесса нервов, иннервирующих вульву, являются контактные раздражители, рецидивирующие вульвовагинальные инфекции, гормональные изменения и хронические заболевания кожи. В исходе хронического воспаления нормальные ощущения воспринимаются как ненормальные, что приводит к возникновению гиперчувствительности и болевого синдрома [21, 22]. При гистологическом исследовании биоптатов из области вульвы обнаруживали увеличение числа тучных клеток и гиперпролиферацию нервных рецепторов [26]. Полагают также, что аномалии развития тазового дна, в частности слабость мышечного каркаса, может вызвать напряжение нервов, которые проходят через данную область. Вследствие давления или трения раздраженных мышц может происходить иррадиация боли в область вульвы [27]. Дисфункция мышц тазового дна почти всегда присутствует у женщин с вульводинией. Роль этих нарушений в возникновении боли при вульводинии подтверждается также улучшением симптоматики вместе с нормализацией функции тазового дна через физиотерапию. Качество боли и ее реакция на медикаментозное лечение указывают на связь с нейропатической болью. Является ли боль по происхождению периферической или центральной – неизвестно.

## НЕЙРОПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ФАКТОРЫ (ВУЛЬВАРНЫЕ)

Несмотря на то, что гиперчувствительность преддверия вульвы является одной из определяющих характеристик вульводинии, в частности

провоцированной вульводиинии, механизм, лежащий в основе данной аллодинии, не был выяснен до 1998 г. В своем исследовании Н. Bohm-Starke и соавт. [21] использовали иммуногистохимическое окрашивание для визуализации увеличения плотности нервных окончаний в эндодерме преддверия у женщин с провоцированной вульводиинией, которым была выполнена вестибулэктомия, по сравнению с контрольной группой. Дополнительно исследовалась нейропролиферация ноцицепторов, что объяснило возникновение аллодинии. Количественное сенсорное тестирование, проведенное С.Ф. Pukall и соавт. [28], показало, что женщины с провоцированной вульводиинией более чувствительны к тактильным и болевым раздражителям пунктата по сравнению с женщинами контрольной группы. Аналогичная картина результатов наблюдается и в ответ на другие формы стимуляции, например термическая боль и боль под давлением. Повышенная чувствительность не ограничивается статическими раздражителями или преддверием.

## ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ И ВРОЖДЕННЫЕ ФАКТОРЫ

Вульводииния была описана у молодых девушек как с сопутствующим интерстициальным циститом, так и без него, а также с синдромом раздраженного мочевого пузыря. Одним из возможных объяснений сосуществования вульводиинии и интерстициального цистита является то, что эти два расстройства представляют собой врожденное нарушение эндотелия урогенитального синуса. Некоторые случаи спровоцированной вульводиинии могут быть связаны с врожденным дефектом гиперплазии нейронов ткани вульвы. У женщин с вульводиинией достоверно больше нервных волокон в преддверие влагалища по сравнению с контрольной группой [23]. Была также выдвинута гипотеза о наличии корреляции между количеством ванилоидных рецепторов (VR1) и дальнейшим развитием вульводиинии [29].

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

В нескольких исследованиях было выдвинуто предположение о наличии генетической предрасположенности к развитию спровоцированной вульводиинии (например, D.C. Foster и соавт. [26], O. Babula и соавт. [30], A. Lev-Sagie и соавт. [31], S. Gerber и соавт. [32], A.T. Goldstein и соавт. [33]). Генетические исследования были сосредоточены на трех возможных (но потенциально перекрывающихся) механизмах: генетические по-

лиморфизмы, увеличивающие риск развития хронической кандидозной и других инфекций [31], генетические изменения, влияющие на характер воспаления [32], и повышенная восприимчивость к гормональным изменениям, вызванная оральными контрацептивами. Доказана генетическая предрасположенность к вульводиинии, связанная с полиморфизмом генов интерлейкина (IL)-1 $\beta$ , влияющего на характер воспалительной реакции. Женщины с вульводиинией чаще гомозиготны по 2-й аллели гена *IL1 $\beta$*  и 2-й аллели гена антагониста рецептора *IL1 $\beta$*  в сравнении с женщинами без вульводиинии [32, 34].

## ГОРМОНАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ

Десятилетиями полагалось, что ткани вульвы и влагалища реагируют на стероидные гормоны и зависят от них для обеспечения надлежащего здоровья и функционирования. Также считалось, что дефицит циркулирующего эстрогена приводит к анатомическим и физиологическим изменениям во влагалище. Есть много причин снижения половых стероидов, естественной и ятрогенной природы, которые приводят к физиологическим изменениям и появлению симптомов заболевания.

Наиболее частой причиной снижения половых стероидов у женщин является климакс. К другим естественным причинам ановуляции относят период лактации или анорексию, гипоталамическую аменорею вследствие действия биологических стрессовых факторов, таких как чрезмерная физическая активность или физиологический стресс и гиперпролактинемия [35]. Ятрогенные причины снижения циркулирующих половых стероидов включают хирургические факторы, такие как овариэктомии и гистерэктомии [36], прием комбинированных оральных контрацептивов (КОК) (пероральные контрацептивы, содержащие эстроген и прогестин), которые использовали 82% женщин Северной Америки в определенный период их жизни [37].

Показано, что КОК индуцируют морфологические изменения в слизистой оболочке преддверия, повышая ее уязвимость к механическим деформациям [38]. Кроме того, использование КОК ассоциировано со снижением болевого порога, уменьшением размера клитора, толщины половых губ и интроитального диаметра. Последнее проспективное рандомизированное экспериментальное исследование С. Battaglia и соавт. [39] показало снижение оргазма, продукции смазки и учащение диспареунии, связанное с приемом КОК. В контролируемом исследовании S. Bazin и соавт. [40] показано, что женщины, начавшие

прием КОК до 17 лет, имели относительный риск развития спровоцированной вульводинии. Кроме того, С. Bouchard и соавт. [41] и В.L. Harlow и соавт. [42] подтвердили, что раннее применение КОК значительно повышает риск возникновения вульводинии. В своей работе А. Greenstein и соавт. [43] сообщили, что применение КОК, содержащих этинилэстрадиол в дозе не выше 20 мг, значительно повышает риск развития провоцируемой вульводинии. Полиморфизм в рецепторах андрогенов, значительно повышающий риск развития КОК-индуцированной провоцируемой вестибулодинии, выявили L.J. Goldstein и соавт. [44].

Многие практикующие врачи считают, что на вульводирию влияют гормональные изменения. Симптомы часто вспыхивают непосредственно перед менструацией, и есть доказательства того, что раннее использование гормональной контрацепции может предрасполагать к вульводинии. Однако другие исследования и клинический опыт не подтверждают эту гипотезу [45]. Начало или прекращение приема оральных контрацептивов, а также увеличение содержания эстрогенов обычно не улучшают симптоматику. Исследование В.D. Reed также опровергло гипотезу о связи приема оральных контрацептивов и дальнейшим развитием вульводинии у женщин моложе 50 лет [46].

## ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ

Сознательно пациенты не связывают вульводирию со своими психоэмоциональными проблемами. Существует несколько патогенетических вариантов в зависимости от соотношения соматических и психических факторов:

1. Вульводиния как соматоформное расстройство – преобладание психогенных механизмов при отсутствии органических изменений вульвы или их несущественности. В данном варианте часто наблюдается наличие сопутствующих болевых синдромов, таких как фибромиалгии, синдром раздраженного мочевого пузыря, синдром раздраженной толстой кишки.

2. Вульводиния как психогенная реакция вследствие влияния на психический статус пациента гинекологических заболеваний и связанных с ними симптомов. Неэффективная терапия, рецидивы заболевания, тревоги нередко становятся триггерными факторами для ухудшения психоэмоционального статуса пациента и, как следствие, развития вульводинии.

3. Вульводиния как ятрогения. Часто подобное состояние развивается на фоне наличия у пациентов заболеваний, передающихся половым путем.

4. Вульводиния как психосоматическое расстройство – наличие симптомокомплекса, включающего наличие как психической, так и соматической патологии [47].

## КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА

Вульводиния характеризуется наличием жжения, зуда, пульсации, болевых ощущений в области вульвы. Боль может быть постоянной или прерывистой, локализованной или диффузной. Симптоматика возникает как при трении белья или физической нагрузке, так и в положении сидя или во время отдыха [48]. Классификация вульводинии основана на месте возникновения боли: локализованная и генерализованная. Локализованная форма вульводинии и вестибулодинии возникает при контакте с чувствительным участком вульвы. Обычно такая форма проецируется в области вестибулярных желез в преддверии влагалища, возможны иррадиация в клитор (клитородиния) и односторонний характер локализации (гемивульводиния). Боль описывается как чувство жжения, пульсации, разрыва, «лезвия бритвы». Нередко женщины с локализованной формой вульводинии жалуются на диспареунию и избегают половых контактов, боль может длиться от нескольких часов до суток после полового акта, во время него и при вводе полового члена во влагалище. Причинять дискомфорт может использование тампонов, занятия спортом или другой активной деятельностью, ношение обтягивающей одежды.

Локализованная вульводиния подразделяется на первичную, когда боль возникает после первого проникновения во влагалище, и вторичную, возникающую спустя время [49]. Генерализованная вульводиния характеризуется локализацией болевого синдрома в области вульвы или вокруг нее, включая область лобка, больших и малых половых губ, преддверия и промежности. Боль может носить постоянный или периодический характер и варьироваться от ощущения легкого дискомфорта до нестерпимых болей, сильно снижающих качество жизни. Симптомы могут носить диффузный характер или локализоваться сразу в нескольких областях, возникать попеременно, затухать и обостряться, а также не зависеть от внешнего раздражения. По характеру болевые ощущения не отличаются от таковых при локализованной форме. Часто наблюдается диспареуния, болезненное мочеиспускание, изменение характера выделений [50].

Исследование L.A. Sadownik и соавт. [51] выявило, что у 71% женщин наблюдается диспареу-

ния, у 64% – рецидивирующий кандидоз, у 57 и 46% – жжение и зуд в области вульвы, у 33% – сексуальная дисфункция. Результаты исследования C.S. Brown и соавт. [52] свидетельствуют о том, что белые женщины описывают симптоматику жгучей боли в 19 раз чаще, чем афроамериканские. Последние описывали болевой синдром как «ноющую боль», что в меньшей степени соответствует классическому проявлению вульводинии. Исследуя группу женщин с фибромиалгией, S.A. Gansky и соавт. [53] выяснили, что белые женщины имеют более низкий болевой порог и преимущественно локализованный характер распространения боли, по сравнению с афроамериканскими, которые в основном жалуются на генерализованный характер болевого синдрома.

Наряду с вульводинией, нередко наблюдается наличие и других болевых синдромов. В исследовании B.D. Reed и его коллег 24 женщины были обследованы на наличие интерстициального цистита, синдрома раздраженного кишечника, фибромиалгии и вульводинии. Показатель встречаемости составил от 7,5 до 11,8%, у 27% пациентов наличие вульводинии было достоверно ассоциировано с другими болевыми синдромами [54]. Хронический характер вульводинии может негативно влиять на самооценку женщины и приводить к депрессии и тревожным расстройствам. Вульводиния не считается психопатологическим состоянием.

Однако в исследовании M.J. Trigo и соавт. [55] более чем 50% женщин сообщили о наличии тревожного синдрома. Дальнейшие исследования показали, что вероятность возникновения вульводинии в 4 раза выше у женщин с тревожными расстройствами. Помимо этого, женщины могут испытывать значительные сексуальные и психологические проблемы в их отношениях с партнером. Многие из них пользуются психологической поддержкой, секс-терапией и (или) консультациями психотерапевта или сексолога. Боль, вызванная вульводинией, в конечном счете может привести к снижению сексуальной активности; страх боли и ожидание боли во время полового акта – к сексуальной дисфункции: расстройствам сексуального возбуждения, снижению либидо, проблемам с оргазмом / аноргазмии, фобическому избеганию сексуальной деятельности [56].

## ДИАГНОСТИКА

Одним из диагностических способов выявления вульводинии является Cotton swab test – тест с ватным тампоном для определения чувствительных зон в области вульвы. Тест проводится строго

последовательно, начиная от наружного края бедра к внутреннему, сверху вниз вдоль большой, а затем малой половых губ, к уздечке половых губ, перианальной области и заканчивая преддверием влагалища и областью периуретральных и бартолиновых желез. Правая и левая стороны преддверия должны рассматриваться отдельно. В ходе теста пациент оценивает каждую из исследуемых зон по 10-балльной шкале боли Лайкерта, где 0 – ее отсутствие, а 10 – очень сильные болевые ощущения. Локализованную форму вульводинии можно диагностировать, если пациент испытывает неприятные ощущения в отдельных точках, генерализованную – в обширной области. Если пациент не испытывает чувства жжения или боли не в одной из областей, вульводиния не может быть рассмотрена в качестве дифференциального диагноза [48].

E.G. Friederich предложил локальные диагностические критерии вульводинии, включающие в себя болезненность при Q-tip тесте (точечная симметричная пальпация ватным тупфером области входа во влагалище), эритему вульвы различной степени выраженности и боль при прикосновении ко входу во влагалище. Однако нередко только последний критерий оказывается положительным и является единственным диагностическим симптомом. Кроме того, важное значение в диагностике вульводинии отводят рекомендациям IMMPACT [57], по которым оцениваются критерии: боль, физическое / сексуальное функционирование, эмоциональное функционирование, эффективность проводимой терапии и удовлетворенность лечением, симптомы и нежелательные явления и комплаентность пациента.

## ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЙ ДИАГНОЗ

Вульводиния – диагноз-исключение. К основным заболеваниям дифференциальной диагностики относят атрофический вагинит, интроитальный или вагинальный плоский лишай, десквамативный воспалительный вагинит. Невралгия полового нерва по симптоматике сходна с вульварной болью, однако болевой синдром в данном случае имеет характерную клиническую картину. Пациенту становится легче в положении стоя, в то время как сидя или лежа ощущается сильный дискомфорт. Кандидозные инфекции, за исключением *Candida albicans*, в частности *Candida glabrata*, *Candida krusei* (*Issatchenkia orientalis*), способны вызвать зуд и чувство ссаждения, нежели классический зуд, однако чаще протекают бессимптомно [45]. Диагноз вульводинии требует исключения явной соматической патологии, способной вызвать болевой синдром.

Важное значение имеет выявление психогенного компонента посредством сбора анамнеза, в том числе болевого анамнеза жизни, изучается сексуальная функция, уровень стрессогенности, депрессивные эпизоды при наличии таковых. Клиническая картина в случае наличия психогенного компонента характеризуется несоответствием характера боли и клинических проявлений, нетипичность для гинекологических заболеваний динамики течения патологии – внезапность появления и исчезновение, изменения, коррелирующие с взаимоотношениями с партнером, сексуальной функцией (наличие конфликтов с партнером, отсутствие осознания собственной сексуальности, ощущение сексуальной неполноценности), уровнем настроения, и отсутствие эффекта от проводимой терапии [25]. Для дифференциальной диагностики проводят исследование мышц тазового дна путем давления пальцем в проекции мышцы, поднимающей задний проход, и внутренней запирательной мышцы на предмет наличия болезненных ощущений [58].

## ЛЕЧЕНИЕ

Терапия вульводинии требует междисциплинарного подхода и сочетает в себе индивидуально подобранное соотношение медикаментозной терапии, психофармакотерапии, психотерапии, сексологического консультирования и хирургических вмешательств. Важно понять предполагаемую первопричину возникновения симптомов и провести полную дифференциальную диагностику. В лечении вульводинии важное значение имеет информирование. Уверенность и осведомленность пациентов об их проблеме и дальнейшей терапии помогают справиться с психоэмоциональными аспектами вульводинии и ведут к выздоровлению.

Следует акцентировать внимание женщины, что вульводиния – это отдельная нозология, она не заразна и не связана с серьезными или угрожающими жизни состояниями, такими как онкология, заболевания, передающиеся половым путем, или иммунодефициты. Однако стоит заранее информировать женщину, что вульводиния обычно поддается терапии, но не излечима полностью и требует высокой комплаентности пациента. Без комплаенса эффект от проводимой терапии маловероятен. Чаще улучшения наступают медленно, методом проб и ошибок с индивидуально подобранной программой лечения. Психотерапевтические мероприятия включают в себя когнитивно-поведенческую терапию, анализ межличностных отношений и отношений с пар-

тнером. Часто хорошие результаты дают тренировки по техникам релаксации, самоисследования с изучением мышц тазового дна и техник их тренировок, консультации психотерапевта и сексолога, в том числе и парные методы сексотерапии.

## НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ

Локальный уход за пораженной областью и избегание действия потенциальных раздражителей могут повысить качество жизни. Изредка значительное улучшение состояния наступает при отказе от использования неспецифических мощных средств, излишнего мытья, приема лекарств и местной антикандиозной терапии и лубрикатов. Например, 2%-й лидокаиновый гель – безопасный и нераздражающий местный анестетик, который может избавить от дискомфорта [45]. Нефармакологическое лечение включает также физиотерапию мышц тазового дна. Расслабление мышц в последующем приводит к уменьшению болевого синдрома. Однако, по данным исследований, от 60 до 80% успешного физиотерапевтического лечения достигается только при лечении у специализированных на тазовом дне физиотерапевтов [59].

Общие методы терапии включают мобилизацию мягких тканей, ультразвук, поверхностную электромиографию, использование вагинальных расширителей. В качестве дополнительных методов могут быть использованы электрическое стимулирование, упражнения для мышц тазового дна (в том числе Кегеля), термические способы воздействия, нейромодуляции крестцового сплетения, электро-миостимуляторные устройства [60]. Гипноз был использован с некоторым ограниченным успехом [61]. В исследовании J.M. Schlaeger и соавт. [62] рассматривался вопрос акупунктурного лечения женщин с вульводинией: 36 пациенток получали иглоукалывание 2 раза в неделю в течение 5 нед. Было выявлено, что болевой синдром и явления диспареунии были значительно снижены, в то время как сексуальная активность женщин, напротив, увеличилась.

В своей работе D. Coady и соавт. [63] выдвинули гипотезу о связи вульводинии с импиджмент-синдромом тазобедренного сустава. Артроскопия тазобедренного сустава была сделана 26 пациентам с генерализованной неспровоцированной вульводинией или клитородинией. Исследование выявило значительные улучшения симптоматики у женщин моложе 30 лет спустя 3–5 лет после проведенного оперативного вмешательства. В своем обзоре Н.В. Фриго [64] сообщил об успешной терапии вульводинии кремом неоджин. Были обследованы и пролечены

кремом неоджин 24 женщины в возрасте 53–80 лет в течение 12 нед, после проведенной терапии у 60,9% пациенток значительно уменьшилось чувство дискомфорта, диспареуния, у 65,26% улучшилось качество половой жизни. Провели плацебо-контролируемое, перекрестное исследование с назначением крема 30 пациенткам с вульводиной G. Donders и соавт. [65]. Данные исследования показали уменьшение симптомов спровоцированной вестибулодинии. Наркотические обезболивающие препараты следует применять с осторожностью, комбинация трамадола и гидрокодона использовались в краткосрочной перспективе при острой боли [50].

## ХИРУРГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ

В настоящее время вестибулэктомия является золотым стандартом лечения вестибулодинии, но только в том случае, если боли локализованы в только в преддверии. Эффективность лечения колеблется от 65 до 90%. Очень часто в ходе операции происходит повреждение слизистой оболочки влагалища, удаляется зона обширнее, чем очаг боли; в постоперационном периоде возможно сохранение симптоматики из-за неполной предоперационной диагностики и неточно составленной болевой карты. Невропатические обезболивающие препараты обычно продолжают после операции, чтобы максимизировать качество жизни и способствовать возвращению сексуального функционирования. Новокаиновые блокады актуальны для снятия болевого синдрома и улучшения качества жизни пациента в случае, когда другие методы лечения не дали положительной динамики [66].

## МОДУЛЯТОРЫ БОЛИ

Использование трициклических антидепрессантов, таких как amitriptilin или desipramin, может способствовать уменьшению невропатической хронической боли благодаря механизму центрального действия, изменяющие передачу болевых импульсов в головной мозг через спинной мозг. Влияние amitriptilina C с триамцинолоном и без него изучали S.C. Brown и соавт. [67], эффективность данного метода не была доказана. Рандомизированное контролируемое исследование D.C. Foster и соавт. [68] показало, что эффекты от перорального приема десипрамина не превосходят результаты в плацебо-группе. Эффективность других антидепрессантов, таких как дулоксетин и венлафаксин, также не была доказана. Рандомизированное контролируемое

исследование габапентина – препарата, помогающего контролировать эпилептические припадки, показало провоцирование симптомов вестибулодинии. Однако исследование противосудорожного препарата прегабалина показало улучшение симптомов, а использование ламотриджина уменьшало боли в течение 8 нед [69]. Гидроксизин и цетиризин были использованы для уменьшения зуда. Для некоторых женщин также могут быть использованы комбинации нейропатических обезболивающих препаратов (например, amitriptilin, gabapentin, pregabalin), так как они имеют различные механизмы действия [50].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вульводина – актуальная на сегодняшний день мультидисциплинарная проблема, причиняющая женщине как физический, так и психологический дискомфорт. Данная патология снижает качество жизни не только самой пациентки, но и ее партнера, способствуя развитию широкого спектра психоэмоциональных и сексуальных проблем. Вульводина требует проведения тщательной диагностики, так как, нередко являясь симптомом ряда тяжелых заболеваний вульвы, может выступать и в качестве самостоятельной нозологии, при этом установить точную причину развития данного состояния бывает достаточно сложно. В лечении вульводинии следует придерживаться индивидуального подхода в соответствии с предполагаемыми предикторами возникновения заболевания. Очень важно не только подобрать актуальную для конкретной женщины терапию, но и обеспечить психологическую поддержку, чтобы добиться максимально возможного повышения качества жизни таких пациентов и их партнеров.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Thomas T.G. A Practical treatise upon the diseases of women. *The American Journal of the Medical Sciences*. 1879; 73 (155): 233–234. DOI: 10.1097/00000441-187907000-00038.
2. Skene A.J. Diseases of the external organs of generation. *Treatise on the diseases of women*. New York: D Appleton & Co. 1888; 77–99.
3. Moyal-Barracco M., Lynch P.J. 2003 ISSVD terminology and classification of vulvodynia: a historical perspective. *J. Reprod. Med.* 2004; 49 (10): 772–777.
4. Vieira-Baptista P., Lima-Silva J., Cavaco-Gomes J., Beires J. Prevalence of vulvodynia and risk factors for the condition in Portugal. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2014; 127 (3): 283–287. DOI: 10.1016/j.ijgo.2014.05.020.

5. Basson R. The recurrent pain and sexual sequelae of provoked vestibulodynia: A perpetuating cycle. *Sex. Med.* 2012; 9 (8): 2077–2092. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2012.02803.x.
6. Hooker A.B., Moorst B.R., Haarst E.P., Ootegheem N.A., Dijken D.K., Heres M.H. Chronic pelvic pain: evaluation of the epidemiology, baseline demographics, and clinical variables via a prospective and multidisciplinary approach. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* 2013; 40 (4): 492–498.
7. Федорова А.И. Проблемы женского полового влечения и гормональная контрацепция. *Акушерство и гинекология.* 2014; 3: 91–95.
8. Harlow B.L., Stewart E.G. A population-based assessment of chronic unexplained vulvar pain: Have we underestimated the prevalence of vulvodynia? *J. Am. Med. Womens Assoc.* 2003; 58 (2): 82–88.
9. Reed B.D., Harlow S.D., Sen A., Legocki L.J., Edwards R.M., Arato N., Haefner H.K. Prevalence and demographic characteristics of vulvodynia in a population-based sample. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2012; 206 (2): 170.e1–170.9. DOI: 10.1016/j.ajog.2011.08.012.
10. Metts J.F. Vulvodynia and vulvar vestibulitis: challenges in diagnosis and management. *Am. Fam Physician.* 1999; 59 (6): 1547–1562.
11. Nguyen R.H., Swanson D., Harlow B.L. Urogenital infections in relation to the occurrence of vulvodynia. *J. Reprod. Med.* 2009; 54 (6): 385–392.
12. Harlow B.L., Kunitz C.G., Nguyen R.H.N., Rydell S.A., Turner R.M., MacLehose R.F. Prevalence of symptoms consistent with a diagnosis of vulvodynia: population-based estimates from 2 geographic regions. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2014; 210 (1): 40.e1–40.8. DOI: 10.1016/j.ajog.2013.09.033.
12. Reed B.D., Legocki L.J., Plegue M.A., Sen A., Haefner H.K., Harlow S.D. Factors associated with vulvodynia incidence. *Obstetrics & Gynecology.* 2014; 123 (2, Pt 1): 225–231. DOI: 10.1097/AOG.0000000000000066.
13. Eastwood J., Johnson B.D., Rutledge T. et al. Anginal symptoms, coronary artery disease, and adverse outcomes in black and white women: The NHLBI-Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) Study. *J. Womens Health.* 2013; 22 (9): 724–732. DOI: 10.1089/jwh.2012.4031.
14. Groysman V. Vulvodynia: new concepts and review of the literature. *Dermatol. Clin.* 2010; 28 (4): 681–696. DOI: 10.1016/j.det.2010.07.002.
15. Gardella B., Porru D., Nappi R.E., Dacur M.D., Chiesa A., Spinillo A. Interstitial cystitis is associated with vulvodynia and sexual dysfunction – a Case Control Study. *J. Sex. Med.* 2011; 8: 1726–1734. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2011.02251.x.
16. McCormack W.M. Two urogenital sinus syndromes. Interstitial cystitis and focal vulvitis. *J. Reprod. Med.* 1990; 35 (9): 873–876.
17. Fitzpatrick C.C., DeLancey J.O., Elkins T.E. et al. Vulvar vestibulitis and interstitial cystitis; a disorder of urogenital sinus-derived epithelium. *Obstet. Gynecol.* 1993; 81 (5): 860–862.
18. Goetsch M.F. Vulvar vestibulitis: prevalence and historic features in a general gynecologic practice population. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1991; 164 (6 Pt 1): 1609–1614. DOI: 10.1016/0002-9378(91)91444-2.
19. Foster D.C., Piekarz K.H., Murant T.I., LaPoint R., Haidaris C.G., Phipps R.P. Enhanced synthesis of pro inflammatory cytokines by vulvar vestibular fibroblasts: implications for vulvar vestibulitis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2007; 196 (4): 346.e1–8. DOI: 10.1016/j.ajog.2006.12.038.
20. Bohm-Starke N., Hilliges M., Falconer C., Rylander E. Increased intraepithelial innervation in women with vulvar vestibulitis syndrome. *Gynecol. Obstet. Invest.* 1998; 46 (4): 256–260. DOI: 10.1159/000010045.
21. Tympanidis P., Terenghi G., Dowd P. Increased innervation of the vulvar vestibule in patients with vulvodynia. *Br. J. Dermatol.* 2003; 148 (5): 1021–1027. DOI: 10.1046/j.1365-2133.2003.05308.x.
22. Westrom L.V., Willern R. Vestibular nerve fiber proliferation in vulvar vestibulitis syndrome. *Obstet. Gynecol.* 1998; 91 (4): 572–576.
23. Krantz K.E. Innervation of the human vulva and vagina; a microscopic study. *Obstet. Gynecol.* 1958; 12 (4): 382–396.
24. Heddini U., Bohm-Starke N., Nilsson K.W., Johannesson U. Provoked vestibulodynia – medical factors and comorbidity associated with treatment outcome. *J. Sex. Med.* 2012; 9 (5): 1400–1406. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2012.02665.x.
25. Foster D.C., Sazenski T.M., Stodgell C.J. Impact of genital variation in interleukin-1 receptor antagonist and melanocortin-1 receptor genes on vulvar vestibulitis syndrome. *J. Reprod. Med.* 2004; 49 (7): 503–509.
26. Hampson J.P., Reed B.D., Clauw D.J., Bhavsar R., Graceley R.H., Haefner H.K., Harris R.E. Augmented central pain processing in vulvodynia. *Pain.* 2013; 14 (6): 579–589. DOI: 10.1016/j.jpain.2013.01.767.
27. Pukall C.F., Binik Y.M., Khalifé S., Amsel R., Abbott F.V. Vestibular tactile and pain thresholds in women with vulvar vestibulitis syndrome. *Pain.* 2002; 96 (1–2): 163–175. DOI: 10.1016/s0304-3959(01)00442-0.
28. Tympanidis P., Casula M.A., Yiangou Y., Terenghi G., Dowd P., Anand P. Increased vanilloid receptor VR1 innervation in vulvodynia. *Eur. J. Pain.* 2004; 8 (2): 129–133. DOI: 10.1016/S1090-3801(03)00085-5.
29. Babula O., Danielsson I., Sjoberg I., Ledger W.G. Altered distribution of mannose-binding lectin alleles at exon I codon 54 in women with vulvar vestibulitis syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2004; 191 (3): 762–766. DOI: 10.1016/j.ajog.2004.03.073.
30. Lev-Sagie A., Prus D., Linhares I.M., Nyberg F., Nilsson K.W., Johannesson U. Polymorphism in a gene coding for the inflammasome component NALP3 and recurrent vulvovaginal candidiasis in women with vulvar vestibulitis syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2009; 200 (3): 303.e1–6. DOI: 10.1016/j.ajog.2008.10.039.
31. Gerber S., Bongiovanni A.M., Ledger W.J., Witkin S.S. Interleukin-1b gene polymorphism in women with vul-

- var vestibulitis syndrome. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2003; 107 (1): 74–77. DOI: 10.1016/s0301-2115(02)00276-2.
32. Goldstein A.T., Belkin Z.R., Krapf J.M., Song W., Khera M., Jutrzonka S.L., Kim N.N., Burrows L.J., Goldstein I. Polymorphisms of the androgen receptor gene and hormonal contraceptive induced provoked vestibulodynia. *J. Sex. Med.* 2014; 11 (11): 2764–2771. DOI: 10.1111/jsm.12668.
  33. Johannesson U., de Boussard C.N., Brodda Jansen G., Bohm-Starke N. Evidence of diffuse noxious inhibitory controls (DNIC) elicited by cold noxious stimulation in patients with provoked vestibulodynia. *Pain.* 2007; 13 (1–2): 31–39. DOI: 10.1016/j.pain.2006.10.022.
  34. Meczekalski B., Podfigurna-Stopa A., Warenik-Szymankiewicz A., Genazzani A.R. Functional hypothalamic amenorrhea: Current view on neuroendocrine aberrations. *Gynecol. Endocrinol.* 2008; 24 (1): 4–11. DOI: 10.1080/09513590701807381.
  35. Siddle N., Sarrel P., Whitehead M. The effect of hysterectomy on the age at ovarian failure: Identification of a subgroup of women with premature loss of ovarian function and literature review. *Fertil. Steril.* 1987; 47 (1): 94–100. DOI: 10.1016/s0015-0282(16)49942-5.
  36. Burrows L.J., Basha M., Goldstein A.T. The effects of hormonal contraceptives on female sexuality: a review. *J. Sex. Med.* 2012; 9 (9): 2213–2223. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2012.02848.x.
  37. Bohm-Starke N., Johannesson U., Hilliges M., Rylander E., Torebjörk E. Decreased mechanical pain threshold in the vestibular mucosa of women using oral contraceptives: a contributing factor in vulvar vestibulitis? *J. Reprod. Med.* 2004; 49 (11): 888–892.
  38. Battaglia C., Morotti E., Persico N., Battaglia B., Busacchi P., Casadio P., Paradisi R., Venturoli S. Clitoral vascularization and sexual behavior in young patients treated with drospirenone-ethinyl estradiol or contraceptive vaginal ring: a prospective, randomized, pilot study. *J. Sex. Med.* 2014; 11 (2): 471–480. DOI: 10.1111/jsm.12392.
  39. Bazin S., Bouchard C., Brisson J., Morin C., Meisels A., Fortier M. Vulvar vestibulitis syndrome: an exploratory case-control study. *Obstet. Gynecol.* 1994; 83 (11): 47–50.
  40. Bouchard C., Brisson J., Fortier M., Morin C., Blanchette C. Use of oral contraceptive pills and vulvar vestibulitis: a case-control study. *Am. J. Epidemiol.* 2002; 156 (93): 254–261. DOI: 10.1093/aje/kwf037.
  41. Harlow B.L., Vitonis A.F., Stewart E.G. Influence of oral contraceptive use on the risk of adult-onset vulvodynia. *J. Reprod. Med.* 2008; 53 (2): 102–110.
  42. Greenstein A., Ben-Aroya Z., Fass O., Militscher I., Roslik Y., Chen J., Abramov L. Vulvar vestibulitis syndrome and estrogen dose of oral contraceptive pills. *J. Sex. Med.* 2007; 4 (6): 1679–1683. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2007.00621.x.
  43. Burrows L.J., Goldstein A.T. The treatment of vestibulodynia with topical estradiol and testosterone. *Sex. Med.* 2013; 1 (1): 30–33. DOI: 10.1002/sm2.4.
  44. Edwards L. Vulvodynia. *Clinical Obstetrics and Gynecology.* 2015; 58 (1): 143–152. DOI: 10.1097/GRF.000000000000093.
  45. Reed B.D., Harlow S.D., Legocki L.J., Helmuth M.E., Haefner H.K., Gillespie B.W., Sen A. Oral contraceptive use and risk of vulvodynia: a population-based longitudinal study. *BJOG.* 2013; 120 (13): 1678–1684. DOI: 10.1111/1471-0528.12407.
  46. Федорова А.И. Комплексный подход к лечению вульводинии. *Акушерство и гинекология.* 2014; 8: 112–116.
  47. Haefner H.K., Collins M.E., Davis G.D., Edwards L., Foster D.C., Hartmann E.H., Kaufman R.H., Lynch P.J., Margesson L.J., Moyal-Barracco M., Piper C.K., Reed B.D., Stewart E.G., Wilkinson E.J. The vulvodynia guideline. *J. Low Genit. Tract Dis.* 2005; 9 (1): 40–51. DOI: 10.1097/00128360-200501000-00009.
  48. LeClair C., Goetsch M., Korcheva V., Anderson R., Peters D., Morgan T.K. Differences in primary compared with secondary vestibulodynia by immunohistochemistry. *Obstet. Gynecol.* 2011; 117 (6): 1307–16313. DOI: 10.1097/AOG.0b013e31821c33dc.
  49. Shah M., Hoffstetter S. Vulvodynia. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America.* 2014; 41 (3): 453–464. DOI: 10.1016/j.ogc.2014.05.005.
  50. Sadownik L.A. Clinical profile of vulvodynia patients. A prospective study of 300 patients. *J. Reprod. Med.* 2000; 45 (8): 679–684.
  51. Brown C.S., Foster D.C., Bachour C.C., Rawlinson L.A., Wan J.Y., Bachmann G.A. Presenting symptoms among black and white women with provoked vulvodynia. *J. Womens Health (Larchmt).* 2015; 24 (10): 831–836. DOI: 10.1089/jwh.2014.5164.
  52. Gansky S.A., Plesh O. Widespread pain and fibromyalgia in a biracial cohort of young women. *J. Rheumatol.* 2007; 34 (4): 810–817.
  53. Reed B.D., Harlow S.D., Sen A., Edwards R.M., Chen D., Haefner H.K. Relationship between vulvodynia and chronic comorbid pain conditions. *Obstet. Gynecol.* 2012; 120 (1): 145–151. DOI: 10.1097/AOG.0b013e31825957cf.
  54. Tribo M.J., Andio O., Ros S., Sen A. Clinical characteristics and psychopathological profile of patients with vulvodynia: an observational and descriptive study. *Dermatology.* 2008; 216 (1): 24–30. DOI: 10.1159/000109354.
  55. Khandker M., Brady S.S., Vitonis A.F., Maclehose R.F., Stewart E.G., Harlow B.L. The influence of depression and anxiety on risk of adult onset vulvodynia. *J. Womens Health (Larchmt).* 2011; 20 (10): 1445–1451. DOI: 10.1089/jwh.2010.2661.
  56. Turk D.C., Dworkin R.H., Allen R.R., Bellamy N., Brandenburg N., Carr D.B., Cleeland C., Dionne R., Farrar J.T., Galer B.S., Hewitt D.J., Jadad A.R., Katz N.P., Kramer L.D., Manning D.C., McCormick C.G., McDermott M.P., McGrath P., Quessy S., Rappaport B.A., Rob-

- inson J.P., Royal M.A., Simon L., Stauffer J.W., Stein W., Tollett J., Witter J. Core outcome domains for chronic pain clinical trials: IMMPACT recommendations. *Pain*. 2003; 106 (3): 337–345. DOI: 10.1016/j.pain.2003.08.001.
57. Abramov L., Wolman I., David M.P. Vaginismus: an important factor in the evaluation and management of vulvar vestibulitis syndrome. *Gynecol. Obstet. Invest.* 1994; 38 (3): 194–197. DOI: 10.1159/000292478.
58. Haefner H.K. Vulvovaginal disease update vulvodynia. Durham. 2013.
59. Gentilcore-Saulnier E., McLean L., Goldfinger C., Pukall C.F., Chamberlain S. Pelvic floor muscle assessment outcomes in women with and without provoked vestibulodynia and the impact of a physical therapy program. *J. Sex. Med.* 2010; 7 (2): 1003–1022. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2009.01642. x.
60. Kandyba K., Binik Y.M. Hypnotherapy as a treatment for vulvar vestibulitis syndrome: a case report. *J. Sex. Marital. Ther.* 2003; 29 (3): 237–242. DOI: 10.1080/00926230390155122.
61. Schlaeger J.M., Xu N., Mejta C.L., Park C.G., Wilkie D.J. Acupuncture for the treatment of vulvodynia: a Randomized Wait-List Controlled Pilot Study. *J. Sex. Med.* 2015; 12 (4): 1019–1027. DOI: 10.1111/jsm.12830.
62. Coady D., Futterman S., Harris D., Coleman S.H. Vulvodynia and concomitant femoro-acetabular impingement. *Journal of Lower Genital Tract Disease.* 2015; 19 (3): 253–256. DOI: 10.1097/LGT.000000000000108.
63. Фриго Н.В., Жукова О.В., Круглова Л.С. Адьювантная терапия пациенток с дистрофическими процессами вульвы и вульвдинией. *Клиническая дерматология и венерология.* 2015; 14 (6): 28–34. DOI: 10.17116/klind-erma201514628-34.
64. Donders G.G., Bellen G. Cream with cutaneous fibroblast lysate for the treatment of provoked vestibulodynia: a Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Crossover Study. *J. Low Genital. Tract Dis.* 2012; 16 (4): 12–16. DOI: 10.1097/LGT.0b013e31825a2274.
65. Ventolini G. Measuring treatment outcomes in women with vulvodynia. *J. Clin. Med. Res.* 2011; 3 (2): 59–64. DOI: 10.4021/jocmr526w.
66. Brown C.S., Wan J., Bachmann G., Rosen R. Self-management, amitriptyline, and amitriptyline plus triamcinolone in the management of vulvodynia. *J. Womens Health (Larchmt).* 2009; 18 (2): 163–169. DOI: 10.1089/jwh.2007.0676.
67. Foster D.C., Kotok M.B., Huang L.S., Watts A., Oakes D., Howard F.M., Poleshuck E.L., Stodgell C.J., Dworkin R.H.. Oral desipramine and topical lidocaine for vulvodynia: a randomized controlled trial. *Obstet. Gynecol.* 2010; 116 (3): 583–593. DOI: 10.1097/AOG.0b013e3181e9e0ab.
68. Meltzer-Brody S.E., Zolnoun D., Steege J.F., Rinaldi K.L., Leserman J. Open-label trial of lamotrigine focusing on efficacy in vulvodynia. *J. Reprod. Med.* 2009; 54 (3): 171–178.

## Сведения об авторах

Бахтияров Камилль Рафаэльевич, д-р мед. наук, профессор, кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова; руководитель акушерско-гинекологической службы ССМЦ, г. Москва.

Буданов Павел Валерьевич, д-р мед. наук, профессор, кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова; врач акушер-гинеколог, ССМЦ, г. Москва. ORCID 0000-0002-0731-4788.

Пронина Вероника Алексеевна, студентка, 6-й курс, Институт клинической медицины, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, г. Москва.

Виривская Елена Владимировна, канд. мед. наук, врач акушер-гинеколог, ССМЦ, г. Москва.

(✉) Бахтияров Камилль Рафаэльевич, e-mail: doctorbah@mail.ru

Поступила в редакцию 14.06.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Роль длинных некодирующих РНК в биологии опухолей

Бейлерли О.А., Гареев И.Ф.

*Башкирский государственный медицинский университет (БГМУ)  
Россия, 450008, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, 3*

### РЕЗЮМЕ

Одним из наиболее значительных событий в последние годы в области молекулярно-биологических исследований стало признание биологической значимости некодирующих РНК. Оказалось, что значительная часть некодирующей части генома, которая составляет 98%, перезаписана. Помимо небольших РНК (таких как микроРНК) известно о длинных некодирующих РНК (lncRNAs), которые являются большой группой некодирующих РНК (ncRNAs) длиной более 200 нуклеотидов. Они играют роль в регуляции ряда основных молекулярных процессов (деление клеток, функция хроматина, активность микроРНК и т.д.). Многие из этих длинных некодирующих РНК были экспрессированы в опухолях по сравнению со здоровыми тканями, например H19, HOTAIR, MALAT1. Большое количество исследований выявило их роль на всех стадиях канцерогенеза и в модулировании метастазирования через регуляторные сети. Была замечена aberrantная экспрессия lncRNAs у больных раком. В этом контексте lncRNAs могут регулировать основные характеристики раковых клеток, контролируя программы экспрессии генов, связанные с их супрессивными и онкогенными функциями. Следовательно, они могут быть отличными биомаркерами и терапевтическими мишенями при лечении опухолей.

**Ключевые слова:** геном, длинная некодирующая РНК, опухоль, микроРНК.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

**Для цитирования:** Бейлерли О.А., Гареев И.Ф. Роль длинных некодирующих РНК в биологии опухолей. *Бюллетень сибирской медицины.* 2020; 19 (1): 125–133. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-125-133>.

---

## The role of long, non-coding RNA in the biology of tumors

Beylerli O.A., Gareev I.F.

*Bashkir State Medical University  
3, Lenin Str., Ufa, Republic of Bashkortostan, 450008, Russian Federation*

### ABSTRACT

One of the most significant events in recent years in the field of molecular biological research has been the recognition of the biological significance of non-coding ribonucleic acid (RNA). It turned out that a significant part of the non-coding part of the genome, which constitutes 98% of the genome, is rewritten. In addition to small RNAs (such as microRNAs (miRNA)), long non-coding RNAs (lncRNAs), which are a large

---

✉ Бейлерли Озал Арзуман оглы, e-mail: obeylerli@mail.ru.

group of non-coding RNAs (ncRNAs) over 200 nucleotides in length, have been discovered. They play a role in the regulation of a number of basic molecular processes (cell division, chromatin function, microRNA activity, etc.). Many of these long non-coding RNAs were expressed in tumors compared with healthy tissues, for example, H19, HOX antisense intergenic RNA HOX (HOTAIR), Metastasis Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1 (MALAT1). A large amount of evidence revealed their roles at all stages of carcinogenesis and in modulating metastasis through regulatory networks. Aberrant expression of lncRNAs has been observed in cancer patients. In this context, lncRNAs can regulate the main characteristics of cancer cells by controlling gene expression programs associated with their suppressive and oncogenic functions. Therefore, they can be excellent biomarkers and therapeutic targets for tumors.

**Key words:** genome, long non-coding RNA, tumor, miRNA.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that there is no funding for the study.

**For citation:** Beylerli O.A., Gareev I.F. The role of long non-coding RNA in the biology of tumors. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 125–133. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-125-133>.

## ВВЕДЕНИЕ

В последние годы мы стали свидетелями радикально новых направлений в области молекулярной биологии. Среди них большое значение имеет новая интерпретация мира рибонуклеиновых кислот (РНК), в которой новые регуляторные механизмы привели к открытию ранее неизвестных аспектов генома, клеток и организма [1, 2]. В расширении наших знаний огромное значение имеет более широкое использование методов биоинформатики. В дополнение к матричным РНК (мРНК), кодирующим белок, РНК, которые не кодируют белки, становятся все более важными. В молекулярных механизмах этих молекул первостепенную роль играют эпигенетические пути, которые не связаны с изменением нуклеотидной последовательности. Среди некодирующих РНК появляется все больше доказательств важности малых РНК, а именно микроРНК, являющихся зрелыми 18–24-нуклеотидными одноцепочечными РНК-фрагментами и важными элементами посттранскрипционной регуляции. Их различная экспрессия была описана при многих заболеваниях, и роль микроРНК в молекулярно-биологических аспектах новообразований уже доказана [3].

Известно, что помимо микроРНК ряд других малых РНК играют ключевую роль в поддержании основных молекулярных процессов, таких как сплайсинг при созревании мРНК, поддержание теломер, управление центромерой и стабильность генома. Прежняя «центральная догма» молекулярной биологии изменена в нескольких отношениях, и роль РНК в регуляции функции клетки и генома может быть показана на многих уровнях [2]. Одним из самых шокирующих

результатов методов секвенирования нового поколения, которые произвели революцию в исследованиях в области молекулярной биологии (глубокое секвенирование), было то, что значительная часть (70–90%) некодирующей части генома транскрибируется в РНК [4, 5]. Например, агрегат РНК, транскрибируемый с генома мыши (транскриптом), может состоять из 180 тыс. молекул РНК, из которых только 20 тыс. кодируют белки [1]. Функции большинства некодирующих РНК в настоящее время в значительной степени неизвестны.

Некодирующие РНК в основном можно разделить на две группы: малые РНК (микроРНК, транспортные РНК, связанные с Р1WI РНК, теломерные РНК, связанные с промотором РНК, маленькие ядрышковые РНК и т.д.) и длинные некодирующие РНК размером от 200 нуклеотидов. Хотя имеется много данных о малых РНК, особенно микроРНК, гораздо меньше известно о важности длинных некодирующих РНК [5–7]. В данной статье мы попытаемся представить это очень новое и быстро развивающееся направление. К сожалению, для большей части упомянутых терминов в настоящее время нет русского эквивалента, поэтому мы были вынуждены использовать английскую терминологию.

## ХАРАКТЕРИСТИКА lncRNAs

Описана биологическая функция нескольких lncRNAs, которые играют роль в регуляции основных молекулярно-биологических процессов. Они включают в себя регулирование экспрессии генов и функции генома, на которые могут оказывать положительное и отрицательное влияние

связывание белков, в том числе факторы транскрипции, для влияния на структуру и функцию хроматина. Регуляция соотношения транскрипционно активного эухроматина и неактивного гетерохроматина, модификация гистоновых белков (включая метилирование и фосфорилирование) – процессы, в которых lncRNAs участвуют в качестве молекулярных каркасов [5].

Кроме того, гены lncRNA экспрессируют себя слабее, чем кодирующие гены, и их экспрессия особенно специфична для определенных тканей. В зависимости от их положения относительно кодирующих генов lncRNA можно разделить на две категории: межгенные и внутригенные. Межгенные, локализованные по определению в неаннотированных областях генома, обычно называют *lincRNA*. Внутригенные lncRNAs можно разделить в зависимости от того, как они перекрывают кодирующие гены или их ориентации по отношению к ним (антисмысловые, интронные и т.д.).

Многие lncRNAs имеют антисмысловую последовательность, комплементарную другим последовательностям. Также известно, что некоторые из промоторов, регулирующих экспрессию генов, также допускают двунаправленную транскрипцию. Связывание антисмысловой lncRNA с комплементарной РНК может привести к образованию двухцепочечной РНК, являющейся фундаментальным субстратом для процесса интерференции РНК. Это влечет появление малой интерферирующей РНК (siRNA) в процессе общего созревания микроРНК. siRNAs, как и их эндогенные аналоги, имеют механизм, сходный с микроРНК для посттранскрипционной регуляции экспрессии генов [4]. У людей число lncRNAs оценивается в пределах 5–7 тыс., но ожидается, что это число будет возрастать [8]. Однако число экспериментально подтвержденных и известных функций lncRNAs составляет всего около 100 [9].

Одним из первых известных lncRNA был XIST (X inactive specific transcript), ответственный за инактивацию X-хромосомы. XIST связывается с белками, из которых следует отметить группу белков PRC (polycomb repressor complex). Модификация гистонов и хроматина приводит к инактивации X-хромосомы. Белки PRC также играют роль в регуляции структуры хроматина благодаря экспрессии lncRNAs [10].

## ФУНКЦИИ lncRNAs В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Действуют lncRNAs в основном путем модуляции экспрессии генов [11]. Эта функция может выполняться локально, когда lncRNAs действуют

в цис-положении на соседние гены, или дистально, когда их функции выполняются независимо от расположения генов-мишеней. В частности, существует класс lncRNA с энхансероподобной активностью, которые могут транскрипционно активировать соседние гены [12]. В более общем плане исследования функций lncRNAs показали, что они потенциально вовлечены в различные биологические процессы у млекопитающих [11]. Эти процессы включают, например, поддержание плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток, дифференцировку клеток, регуляцию клеточного цикла и иммунный ответ.

lncRNAs могут регулировать экспрессию генов с помощью различных механизмов. Молекулярные аспекты этих механизмов были подробно описаны в недавнем обзоре [11]. lncRNAs могут потенциально связывать ДНК, белки или другие РНК, образуя сети, и таким образом обеспечивать взаимодействие между различными функциональными молекулами. Некоторые lncRNAs могут изменять контекст хроматина вблизи своих генов-мишеней путем набора факторов транскрипции, модификации гистонов, тем самым стимулируя или подавляя транскрипцию генов-мишеней.

XIST, ген которого расположен на X-хромосоме. XIST принимает непосредственное участие в инактивации X-хромосомы у женщин. После транскрибирования XIST сохраняется в ядре и покрывает неактивную X-хромосому. Кроме того, он взаимодействует с ингибиторным комплексом Polycomb 2 (PRC2), что позволяет целенаправленно рекрутировать этот комплекс и тем самым способствовать поддержанию инактивации X-хромосомы [13]. Интересно, что XIST регулируется другими lncRNAs, такими как TSIX и XITE (X-inactivation intergenic transcription element) [13]. Другие lncRNA, такие как AIRN, H19 и KCNQ1OT1, также участвуют в инактивации экспрессии генов посредством их ассоциации с ингибиторными комплексами, связанными с хроматином.

HOTAIR lncRNA, ген которой расположен в локусе HOXC, будет служить каркасом для комплексов PRC2 и LSD1 (лизин-специфическая деметилаза 1), двух комплексов, связанных с ингибированием транскрипции, и способствовать их набору в пределах локуса HOXD [14, 15]. Напротив, lncRNAs Mistral и HOTTIP будут способствовать экспрессии генов HOXA путем набора эпигенетического комплекса WD5 / MLL [16, 17].

lncRNAs также в значительной степени участвуют в посттранскрипционных процессах, свя-

занных с биогенезом мРНК, таких как сплайсинг, транспорт, трансляция и деградация мРНК. Например, *UCHL1-as*, антисмысловая *LncRNA*, которая частично перекрывает 5'конец гена *UCHL1*, способствует трансляции мРНК гена *UCHL1* [18]. Кроме того, *lncRNAs* могут действовать как «губки» для предотвращения связывания *miRNAs* с их мРНК-мишенями. *CDR1-as / ciRS-7* (губка для *miR-7*), круговая *lncRNA*, экспрессируемая у людей, которая имеет 70 сайтов связывания для *miR-7* [19, 20].

Кроме того, некоторые некодирующие РНК, называемые энхансерными РНК (*eRNA*), образуются из дистальных цис-регуляторных элементов [12]. В настоящее время роль этих *eRNAs* в транскрипционной активности гена-мишени еще не определена, поскольку они также могут быть просто побочными продуктами активных регуляторных элементов. В этом смысле недавно было продемонстрировано, что дивергентно транскрибируемые пары *lncRNA / mRNA* отражают специализированный механизм регуляции транскрипции с участием двунаправленных промоторов.

### ***lncRNAs* В ОПУХОЛЯХ**

На многие аспекты образования опухоли могут влиять *lncRNAs*, такие как стимулирование деления клеток, устранение эффектов, ингибирующих рост клеток, индукция неограниченной способности к репликации, стимулирование инвазии и метастазирования, усиление неоваскуляризации и ингибирование апоптоза [8]. Одной из самых первых выявленных *lncRNA* с биологическим значением в опухоли был *H19*. Он представляет собой *lncRNA* размером 2,3 kb. Это высоко консервативный импринтированный ген, который экспрессируется только в материнском аллеле. Этот феномен, при котором аллели отца и матери ведут себя по-разному и экспрессируется только один аллель, называется геномным импринтингом. Другим важным геном, вовлеченным в регуляторную систему *H19*, является *IGF-2*-инсулиноподобного фактора роста тип 2, который экспрессируется только в отцовском аллеле. Повышенная экспрессия *IGF-2* была зарегистрирована в нескольких опухолях, включая рак надпочечника. При синдроме Беквита – Видемана (гемигипертрофия, гипогликемия новорожденных, омфалоцеле, рак надпочечников и т.д.) повышенная экспрессия *IGF-2* является фундаментальным показателем [21]. Повышенная экспрессия *H19* отмечается при раке мочевого пузыря, молочной железы и гепатоцеллюлярной карциноме. Было показано, что протоонкоген

*c-myc* стимулирует экспрессию *H19* [22]. На тесную связь между большими и малыми некодирующими РНК указывает тот факт, что первый экзон *H19* кодирует микроРНК-675, которая ингибирует мРНК – супрессора опухоли *Rb* (ретинобластомы) [23, 24]. Однако во многих экспериментах снижение экспрессии *H19* было связано с увеличением опухоли [6].

*SRA* (РНК-активатор стероидных рецепторов), идентифицированный как ко-активатор стероидных рецепторов (эстроген, прогестерон, глюкокортикоиды и андрогены), также является *lncRNA*. Он оказывает эффект трансактивации через свой домен *AF-1*. Было показано, что опухоли молочной железы имеют повышенную экспрессию *SRA*, которая может играть роль в процессе образования опухоли [25]. Однако последние данные свидетельствуют о том, что *SRA* может не только функционировать как *lncRNA*, но также может кодировать транскрипционный белок. Образование некодирующей и кодирующей белок РНК можно контролировать с помощью альтернативного сплайсинга [26]. В регуляции клеточного деления в процессах старения клеток большое значение имеют теломеры, расположенные в конце хромосом, и фермент теломераза, регулирующая их длину. Сам ферментный комплекс теломеразы также содержит некодирующую РНК, называемую *TERC* (*telomerase RNA component*), и обратную транскриптазу *TERT* (*telomerase reverse transcriptase*). Согласно последним данным, другая *lncRNA* также играет роль в регуляции активности теломеразы, называемая *TERRA* (*telomeric repeat-containing RNA*). Некоторые данные свидетельствуют о том, что экспрессия *TERRA* в опухолевых клетках снижается и что увеличение экспрессии *TERRA* может быть возможным методом ингибирования роста опухоли [27].

Среди *lncRNAs*, вовлеченных в метастатические процессы, следует выделить *HOTAIR* и *MALAT1*. Экспрессия *HOTAIR* (*HOX antisense intergenic RNA*) при первичном и метастатическом раке молочной железы значительно увеличивается [28]. Повышенная экспрессия *HOTAIR* может быть оценена как прогностический сигнал, связанный с метастазированием и снижением выживаемости [6, 28]. *PRC2*, уже упомянутый в случае с *XIST*, играет роль в его молекулярном способе действия. Комплекс *PRC2* ингибирует транскрипцию ряда генов, включая фундаментальные процессы клеточного деления и дифференцировки [29]. Связывание *HOTAIR* с *PRC* изменяет ингибирующий эффект *PRC*, подавляя ингибирование транскрипции нескольких генов.

Повышенная экспрессия lncRNA MALAT1 (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1) была отмечена при немелкоклеточном раке легких [30]. Помимо немелкоклеточного рака легкого, повышенная экспрессия наблюдалась при раке простаты, молочной железы, печени и матки. MALAT1 важен для регуляции инвазивности раковых клеток, но его точный механизм действия неизвестен. Некоторые данные предполагают, что созревание мРНК может играть важную роль в альтернативных процессах сплайсинга [31]. Подобно XIST и HOTAIR, ANRIL (antisense non-coding RNA in the INK4 locus) также связывается с комплексом PRC. На значимость в биологии опухолей локуса INK4b-ARF-INKa указывает его делеция в нескольких опухолях [32]. ANRIL ингибирует экспрессию нескольких генов (включая гены-супрессоры опухолей p15 и p21) через комплексы PRC1 и PRC2 [33, 34].

MEG3 была первой lncRNA, первоначально идентифицированной как опухолевый супрессор. Как и H19, MEG3 имеет только материнский аллель [35]. По аналогии с H19 MEG3 кодирует miR-770, ген которой находится в интроне на 3'-конце РНК [36]. MEG3 наиболее сильно экспрессируется в тканях гипофиза и головного мозга, а его экспрессия в аденомах гипофиза связана с повышенным метилированием регуляторной области экспрессии MEG3 [35]. Активация путей p53 является приоритетом в супрессорном эффекте MEG3. P53 и сам индуцирует экспрессию определенных lncRNAs, среди которых следует отметить опухолевый супрессор lncRNA-p21 [37].

Другим опухолевым супрессором является GAS5 (growth-arrest specific 5). Как и ранее упомянутый SRA, GAS5 также играет роль в регуляции активности глюкокортикоидных рецепторов за счет ингибирования активности глюкокортикоидов [38, 39]. Повышенная экспрессия GAS5 приводит к ингибированию пролиферации клеток в клеточных линиях рака молочной железы и простаты [40].

По-видимому, чрезвычайно интересным молекулярным механизмом является то, что lncRNAs могут связывать комплементарные микроРНК и, таким образом, ингибировать их действие («губка» микроРНК). Связывание микроРНК также тестируется на ингибирование действия микроРНК искусственными нуклеиновыми кислотами, поскольку возможно одновременное ингибирование нескольких miRNA [41]. Примером является lncRNA HULC (highly upregulated in liver cancer), которая демонстрирует повышенную экспрессию при гепатоцеллюлярной карциноме [42].

Механизм, сходный с HULC-опосредованным ингибированием микроРНК, был описан для супрессора опухолей PTEN (phosphatase and tensin homolog). PTEN – ген супрессора опухоли, имеет псевдоген PTENP1. PTENP1 и PTEN конкурируют за связывание ингибирующих микроРНК. В обычных условиях lncRNA PTENP1 позволяет экспрессировать PTEN путем связывания микроРНК [43]. Однако в опухолях сайты связывания соматической микроРНК приводят к потере способности связывать PTENP1. Следовательно, экспрессия PTEN снижается, что может привести к увеличению роста опухоли [44].

lncRNA, которая называется  $\alpha$ HIF, играет центральную роль в регуляции HIF1 $\alpha$  (hypoxia-induced factor 1 $\alpha$ ) в процессах неоваскуляризации.  $\alpha$ HIF является антисмысловой lncRNA, которая комплементарна 3'-нетранслируемой части мРНК HIF1 $\alpha$ . Повышенная экспрессия  $\alpha$ HIF приводит к ингибированию HIF1 $\alpha$  и тем самым к подавлению ангиогенеза [45]. Экспрессия  $\alpha$ HIF была описана во многих тканях и, что примечательно, ее экспрессия при раке молочной железы является плохим прогностическим фактором [46].

## МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ lncRNA ПРИ МЕТАСТАЗИРОВАНИИ ОПУХОЛЕЙ

Метастатический каскад представляет собой скоординированную последовательность клеточно-биологических событий, которая включает локальную клеточную инвазию, и позволяет раковым клеткам выходить из первичного участка, развивать новые кровеносные сосуды (ангиогенез), мигрировать и проникать через микроокружение, проводить интравазацию и экстравазацию, выживать в кровообращении и колонизировать отдаленные органы [47]. Все больше доказательств роли lncRNAs на каждом этапе метастазирования. Рассмотрим роль lncRNAs в клеточной инвазии.

## lncRNA В КЛЕТОЧНОЙ ИНВАЗИИ

Чтобы распространиться в отдаленные органы, раковые клетки должны отделиться от первичной опухоли, используя внеклеточные протеазы, чтобы разрушить внеклеточный матрикс и проникнуть в соседнюю паренхиму. Затем происходит метастазирование, когда инвазивные раковые клетки поступают в кровеносные и лимфатические сосуды, проходят через кровоток и проникают в эндотелий, в конечном итоге оседая в отдаленном органе и создавая вторичную опухоль [48].

Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) – один из важных процессов, который позволяет

клеткам эпителия приобретать миграционную способность и проникать в ткани и органы [49, 50]. ЭМП выполняется путем активации ряда транскрипционных факторов (ЭМП-ТФ), главным образом семейства ZEB, SNAIL и TWIST [51]. Многие группы исследователей сообщили, что lncRNAs являются основными регуляторами инвазии. Мы суммировали наиболее тщательно изученные lncRNAs, вовлеченные в регуляцию ЭМП-ТФ для стимуляции метастазирования. Несколько lncRNAs, включая lncRNA-ATB21 и HOTAIR, функционируют как miRNA, чтобы модулировать уровни ZEB и SNAIL при раке [52]. Другие lncRNAs также участвуют в эпигенетической регуляции экспрессии ЭМП-ТФ, такие как TRERNA1 в качестве усилителя рекрутирования SNAI1 и ZEB1-AS1p300 в промотор ZEB1 [53, 54]. LncRNAs также функционируют посредством взаимодействий «РНК – белок», чтобы регулировать метастазирование. Например, GAPLINC стимулирует экспрессию SNAI2 посредством связывания с PSF и белком NONO [55].

В дополнение к регуляции SNAIL и ZEB Р. Ну и соавт. выявили более 99 lncRNAs, которые вовлечены в индуцированные с TWIST процессы ЭМП [56]. Подробные механизмы того, как lncRNAs связываются с сигнальными путями TWIST / ЭМП, были также подтверждены другими группами ученых. TWIST связывается с lncRNA HOTTIP, который набирает и направляет WDR5 в кластер HOX и индуцирует экспрессию HOXA9 [57]. Высокий уровень HOXA9 коррелирует с агрессивным клеточным фенотипом при раке предстательной железы. Было показано, что кроме прямого связывания с TWIST, lncRNA CHRFB регулирует путь передачи сигналов TWIST / ЭМП, действуя как miR-489. CHRFB ингибирует экспрессию TWIST и дополнительно подавляет прогрессирование ЭМП в CRC [58].

## ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ lncRNAs

Роль микроРНК в диагностике опухолей подтверждается несколькими экспериментальными результатами. Их применимость значительно повышается благодаря их стабильности, поскольку их можно обнаружить не только в замороженных образцах тканей, но также и в жидкостях и выделениях организма. Несмотря на большой размер lncRNAs, они могут находиться в жидкостях организма (например, в образцах крови пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой (HULC)) [41]. Выявление PCA3 (prostate cancer gene 3) из мочи было отмечено в некоторых исследованиях как

пример более чувствительного биомаркера по сравнению с простат-специфическим антигеном [59].

Определение некоторых lncRNAs в ткани имеет прогностическое значение. Например, при гепатоцеллюлярной карциноме повышенная экспрессия MALAT1 связана с плохим прогнозом и снижением выживаемости после трансплантации печени [60]. Хотя мы только начинаем узнавать биологию lncRNAs, и есть еще много вопросов, которые необходимо прояснить, возможно, что они могут стать терапевтической мишенью в будущем, исходя из их значимости в биологии опухоли.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование длинных некодирующих РНК – это новая глава в изучении молекулярной биологии опухолей, которое способствует раскрытию процесса их развития. Выяснение функций и механизмов этих lncRNAs в биологических системах в нормальных и патологических условиях может привести к потенциальным возможностям для идентификации биомаркеров и новых терапевтических мишеней при лечении опухолей. До настоящего времени только очень небольшое количество lncRNAs было изучено на предмет их влияния на патологический процесс новообразований. Исследования в отношении lncRNAs требуют более чувствительных методов обнаружения по сравнению с белками и другими РНК из-за их более низкой экспрессии. С ростом понимания роли lncRNAs в биологии опухолей можно ожидать появления новых диагностических биомаркеров. Четкое понимание того, как lncRNAs регулируют множество механизмов при метастазировании, возможно, приведет к возникновению новой терапии пациентов с онкологией. Ожидается, что область исследований lncRNA продолжит расширяться в ближайшем будущем.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Carninci P., Kasukawa T., Katayama S., Gough J., Frith M.C., Maeda N., Oyama R., Ravasi T., Lenhard B., Wells C., Kodzius R., Shimokawa K., Bajic V.B., Brenner S.E., Batalov S., Forrest A.R., Zavolan M., Davis M.J., Wilming L.G., Aidinis V., Allen J.E., Ambesi-Impiombato A., Arweiler R., Aturaliya R.N., Bailey T.L., Bansal M., Baxter L., Beisel K.W., Bersano T., Bono H., Chalk A.M., Chiu K.P., Choudhary V., Christoffels A., Clutterbuck D.R., Crowe M.L., Dalla E., Dalrymple B.P., de Bono B., Della Gatta G., di Bernardo D., Down T., Engstrom P., Fagiolini M., Faulkner G., Fletcher C.F., Fukushima T., Furuno M., Futaki S., Gariboldi M., Georgii-Hemming P.,

- Gingeras T.R., Gojobori T., Green R.E., Gustincich S., Harbers M., Hayashi Y., Hensch T.K., Hirokawa N., Hill D., Huminiecki L., Iacono M., Ikeo K., Iwama A., Ishikawa T., Jakt M., Kanapin A., Katoh M., Kawasaki Y., Kelso J., Kitamura H., Kitano H., Kollias G., Krishnan S.P., Kruger A., Kummerfeld S.K., Kurochkin I.V., Lareau L.F., Lazarevic D., Lipovich L., Liu J., Liuni S., McWilliam S., Madan Babu M., Madera M., Marchionni L., Matsuda H., Matsuzawa S., Miki H., Mignone F., Miyake S., Morris K., Mottagui-Tabar S., Mulder N., Nakano N., Nakauchi H., Ng P., Nilsson R., Nishiguchi S., Nishikawa S., Nori F., Ohara O., Okazaki Y., Orlando V., Pang K.C., Pavan W.J., Pavesi G., Pesole G., Petrovsky N., Piazza S., Reed J., Reid J.F., Ring B.Z., Ringwald M., Rost B., Ruan Y., Salzberg S.L., Sandelin A., Schneider C., Schupbach C., Sekiguchi K., Semple C.A., Seno S., Sessa L., Sheng Y., Shibata Y., Shimada H., Shimada K., Silva D., Sinclair B., Sperling S., Stupka E., Sugiura K., Sultana R., Takenaka Y., Taki K., Tammoja K., Tan S.L., Tang S., Taylor M.S., Tegner J., Teichmann S.A., Ueda H.R., van Nimwegen E., Verardo R., Wei C.L., Yagi K., Yamanishi H., Zabarovsky E., Zhu S., Zimmer A., Hide W., Bult C., Grimmond S.M., Teasdale R.D., Liu E.T., Brusica V., Quackenbush J., Wahlestedt C., Mattick J.S., Hume D.A., Kai C., Sasaki D., Tomaru Y., Fukuda S., Kanamori-Katayama M., Suzuki M., Aoki J., Arakawa T., Iida J., Imamura K., Itoh M., Kato T., Kawaji H., Kawagashira N., Kawashima T., Kojima M., Kondo S., Konno H., Nakano K., Ninomiya N., Nishio T., Okada M., Plessy C., Shibata K., Shiraki T., Suzuki S., Tagami M., Waki K., Watahiki A., Okamura-Oho Y., Suzuki H., Kawai J., Hayashizaki Y.; FANTOM Consortium; RIKEN Genome Exploration Research Group and Genome Science Group (Genome Network Project Core Group). The transcriptional landscape of the mammalian genome. *Science*. 2005; 309 (5440): 1559–1563. DOI: 10.1126/science.1112014.
2. Molnár V., Bakos B., Hegyesi H., Falus A. Nem kydoly genom és mikroRNS-ek: új fejezet a genetika történetében. *Lege Artis Medicinae*. 2008; 18: 591–597.
  3. Tömböl Z., Szaby P., Rác K., Zsolt T. Relevance of microRNA-s in neoplastic diseases. *Orv. Hetil.* 2007; 148 (24): 1135–1141. DOI: 10.1556/OH.2007.28117.
  4. Atkinson S.R., Marguerat S., Bahler J. Exploring long non-coding RNAs through sequencing. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2012; 23 (2): 200–205. DOI: 10.1016/j.semcdb.2011.12.003.
  5. Nagano T., Fraser P. No-nonsense functions for long noncoding RNAs. *Cell*. 2011; 145 (2): 178–181. DOI: 10.1016/j.cell.2011.03.014.
  6. Gibb E.A., Brown C.J., Lam W.L. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Mol. Cancer*. 2011; 10: 38. DOI: 10.1186/1476-4598-10-38.
  7. Mitra S.A., Mitra A.P., Triche T.J. A central role for long non-coding RNA in cancer. *Front. Genet.* 2012; 3: 17. DOI: 10.3389/fgene.2012.00017.
  8. Gutschner S., Diederichs S. The hallmarks of cancer: a long non-coding RNA point of view. *RNA Biol.* 2012; 9 (6): 703–719. DOI: 10.4161/rna.20481.
  9. Knowling S., Morris K.V. Non-coding RNA and antisense RNA. Nature's trash or treasure? *Biochimie*. 2011; 93 (11): 1922–1927. DOI: 10.1016/j.biochi.2011.07.031
  10. Aguilo F., Zhou M.M., Walsh M.J. Long non coding RNA, polycomb, and the ghosts haunting LNK4b-ARF-LNK4a expression. *Cancer Res.* 2011; 71 (16): 5365–5369. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4379
  11. Yang L., Froberg J.E., Lee J.T. Long noncoding RNAs: fresh perspectives into the RNA world. *Trends Biochem. Sci.* 2014; 39 (1): 35–43. DOI: 10.1016/j.tibs.2013.10.002.
  12. Orom U.A., Shiekhattar R. Long noncoding RNAs usher in a new era in the biology of enhancers. *Cell*. 2013; 154 (6): 1190–1193. DOI: 10.1016/j.cell.2013.08.028.
  13. Lee J.T. Gracefully ageing at 50, X-chromosome inactivation becomes a paradigm for RNA and chromatin control. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2011; 12 (12): 815–826. DOI: 10.1038/nrm3231.
  14. Rinn J.L., Kertesz M., Wang J.K., Squazzo S.L., Xu X., Bruggmann S.A., Goodnough L.H., Helms J.A., Farnham P.J., Segal E., Chang H.Y. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. *Cell*. 2007; 129 (7): 1311–1323. DOI: 10.1016/j.cell.2007.05.022.
  15. Tsai M.C., Manor O., Wan Y., Mosammamaparast N., Wang J.K., Lan F., Shi Y., Segal E., Chang H.Y. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science*. 2010; 329 (5992): 689–693. DOI: 10.1126/science.1192002.
  16. Bertani S., Sauer S., Bolotin E., Sauer F. The noncoding RNA Mistral activates Hoxa6 and Hoxa7 expression and stem cell differentiation by recruiting MLL1 to chromatin. *Mol. Cell*. 2011; 43 (6): 1040–1046. DOI: 10.1016/j.molcel.2011.08.019.
  17. Wang K.C., Yang Y.W., Liu B., Sanyal A., Corces-Zimmerman R., Chen Y., Lajoie B.R., Protacio A., Flynn R.A., Gupta R.A., Wysocka J., Lei M., Dekker J., Helms J.A., Chang H.Y. A long noncoding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression. *Nature*. 2011; 472 (7341): 120–124. DOI: 10.1038/nature09819.
  18. Carrieri C., Cimatti L., Biagioli M., Beugnet A., Zucchelli S., Fedele S., Pesce E., Ferrer I., Collavin L., Santoro C., Forrest A.R., Carninci P., Biffo S., Stupka E., Gustincich S. Long non-coding antisense RNA controls Uchl1 translation through an embedded SINEB2 repeat. *Nature*. 2012; 491 (7424): 454–457. DOI: 10.1038/nature11508.
  19. Memczak S., Jens M., Elefsinioti A., Torti F., Krueger J., Rybak A., Maier L., Mackowiak S.D., Gregersen L.H., Munschauer M., Loewer A., Ziebold U., Landthaler M., Kocks C., le Noble F., Rajewsky N. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature*. 2013; 495 (744): 333–338. DOI: 10.1038/nature11928.

20. Spicuglia S., Zacarias-Cabeza J., Pekowska P., Ferrier P. Epigenetic regulation of antigen receptor gene rearrangement. *F1000 Biol. Rep.* 2010; 2: 23.
21. Szaby D., Zsippai A., Bendes M., Zsyfia T., Szabo P.M., Károly R., Igaz P. Pathogenesis of adrenocortical cancer. *Orv. Hetil.* 2010; 151 (29): 1163–1170. DOI: 10.1556/OH.2010.28931.
22. Barsyte-Lovejoy D., Lau S.K., Boutros P.C., Khosravi F., Jurisica I., Andrulis I.L., Tsao M.S., Penn L.Z. The c-Myc oncogene directly induces the H19 noncoding RNA by allele-specific binding to potentiate tumorigenesis. *Cancer Res.* 2006; 66 (10): 5330–5337. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0037.
23. Cai X., Cullen B.R. The imprinted H19 noncoding RNA is a primary microRNA precursor. *RNA.* 2007; 13 (3): 313–316. DOI: 10.1261/rna.351707.
24. Tsang W.P., Ng E.K., Ng S.S., Jin H., Yu J., Sung J.J., Kwok T.T. Oncofetal H19-derived miR-675 regulates tumor suppressor RB in human colorectal cancer. *Carcinogenesis.* 2010; 31 (3): 350–358. DOI: 10.1093/carcin/bgp181.
25. Leygue E., Dotzlaw H., Watson P.H., Murphy L.C. Expression of the steroid receptor RNA activator in human breast tumors. *Cancer Res.* 1999; 59 (17): 4190–4193.
26. Hube F., Guo J., Chooniedass-Kothari S., Cooper C., Hamedani M.K., Dibrov A.A., Blanchard A.A., Wang X., Deng G., Myal Y., Leygue E. Alternative splicing of the first intron of the steroid receptor RNA activator (SRA) participates in the generation of coding and noncoding RNA isoforms in breast cancer cell lines. *DNA Cell Biol.* 2006; 25 (7): 418–428. DOI: 10.1089/dna.2006.25.418.
27. Caslini C. Transcriptional regulation of telomeric non-coding RNA: implications on telomere biology, replicative senescence and cancer. *RNA Biol.* 2010; 7 (1): 18–22. DOI: 10.4161/rna.7.1.10257.
28. Gupta R.A., Shah N., Wang K.C., Kim J., Horlings H.M., Wong D.J., Tsai M.C., Hung T., Argani P., Rinn J.L., Wang Y., Brzoska P., Kong B., Li R., West R.B., van de Vijver M.J., Sukumar S., Chang H.Y. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature.* 2010; 464 (7291): 1071–1076. DOI: 10.1038/nature08975.
29. Morey L., Helin K. Polycomb group protein-mediated repression of transcription. *Trends Biochem. Sci.* 2010; 35 (6): 323–332. DOI: 10.1016/j.tibs.2010.02.009.
30. Ji P., Diederichs S., Wang W., Bujing S., Metzger R., Schneider P.M., Tidow N., Brandt B., Buerger H., Bulk E., Thomas M., Berdel W.E., Serve H., Müller-Tidow C. MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Oncogene.* 2003; 22 (39): 8031–8041. DOI: 10.1038/sj.onc.1206928.
31. Tripathi V., Ellis J.D., Shen Z., Song D.Y., Pan Q., Watt A.T., Freier S.M., Bennett C.F., Sharma A., Bubulya P.A., Blencowe B.J., Prasanth S.G., Prasanth K.V. The nuclear-retained non-coding RNA MALAT1 regulates alternative splicing by modulating SR splicing factor phosphorylation. *Mol. Cell.* 2010; 39 (6): 925–938. DOI: 10.1016/j.molcel.2010.08.011.
32. Popov N., Gil J. Epigenetic regulation of the INK4b-ARF-INK4a locus: in sickness and in health. *Epigenetics.* 2010; 5 (8): 685–690. DOI: 10.4161/epi.5.8.12996.
33. Yu W., Gius D., Onyango P., Muldoon-Jacobs K., Karp J., Feinberg A.P., Cui H. Epigenetic silencing of tumour suppressor gene p15 by its antisense RNA. *Nature.* 2008; 451(7175): 202–206. DOI: 10.1038/nature06468.
34. Morris K.V., Santoso S., Turner A.M., Pastori C., Hawkins P.G. Bidirectional transcription directs both transcriptional gene activation and suppression in human cells. *PLoS Genet.* 2008; 4 (11): e1000258. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000258.
35. Zhang X., Zhou Y., Mehta K.R., Danila D.C., Scolavino S., Johnson S.R., Klibanski A. A pituitary-derived MEG3 isoform functions as a growth suppressor in tumor cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; 88 (11): 5119–5126. DOI: 10.1210/jc.2003-030222.
36. Hagan J.P., O'Neill B.L., Stewart C.L., Kozlov S.V., Croce C.M. At least ten genes define the imprinted Dlk1-Dio3 cluster on mouse chromosome 12qF1. *PLoS One.* 2009; 4 (2): e4352. DOI: 10.1371/journal.pone.0004352.
37. Huarte M., Guttman M., Feldser D., Garber M., Koziol M.J., Kenzelmann-Broz D., Khalil A.M., Zuk O., Amit I., Rabani M., Attardi L.D., Regev A., Lander E.S., Jacks T., Rinn J.L. A large intergenic noncoding RNA induced by p53 mediates global gene repression in the p53 response. *Cell.* 2010; 142 (3): 409–419. DOI: 10.1016/j.cell.2010.06.040.
38. Wapinski O., Chang H.Y. Long noncoding RNAs and human disease. *Trends Cell Biol.* 2011; 21 (6): 354–361. DOI: 10.1016/j.tcb.2011.04.001.
39. Kino T., Hurt D.E., Ichijo T., Nader N., Chrousos G.P. Noncoding RNA gas5 is a growth arrest- and starvation-associated repressor of the glucocorticoid receptor. *Sci. Signal.* 2010; 3 (107): 8. DOI: 10.1126/scisignal.2000568.
40. Mourtada-Maarabouni M., Hasan A.M., Farzaneh F., Williams G.T. Inhibition of human T-cell proliferation by mammalian target of rapamycin (mTOR) antagonists requires noncoding RNA growth-arrest-specific transcript 5 (GAS5). *Mol. Pharmacol.* 2010; 78 (1): 19–28. DOI: 10.1124/mol.110.064055.
41. McDermott A.M., Heneghan H.M., Miller N., Kerin M.J. The therapeutic potential of microRNAs: disease modulators and drug targets. *Pharm. Res.* 2011; 28 (12): 3016–3029. DOI: 10.1007/s11095-011-0550-2.
42. Panzitt K., Tschernatsch M.M., Guelly C., Moustafa T., Stradner M., Strohmaier H.M., Buck C.R., Denk H., Schroeder R., Trauner M., Zatloukal K. Characterization of HULC, a novel gene with striking up-regulation in hepatocellular carcinoma, as noncoding RNA. *Gastroenterology.* 2007; 132: 330–342. DOI: 10.1053/j-gastro.2006.08.026.

43. Polisen L., Salmena L., Zhang J., Carver B., Have- man W.J., Pandolfi P.P. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature*. 2010; 465 (7301): 1033–1038. DOI: 10.1038/nature09144.
44. Alimonti A., Carracedo A., Clohessy J.G., Trotman L.C., Nardella C., Egia A., Salmena L., Sampieri K., Have- man W.J., Brogi E., Richardson A.L., Zhang J., Pandol- fi P.P. Subtle variations in Pten dose determine cancer susceptibility. *Nat. Genet.* 2010; 42 (5): 454–458. DOI: 10.1038/ng.556.
45. Rossignol F., Vaché C., Clottes E. Natural antisense tran- scripts of hypoxia-inducible factor 1 alpha are detected in different normal and tumour human tissues. *Gene*. 2002; 299 (1–2): 135–140. DOI: 10.1016/s0378-1119(02)01049-1.
46. Cayre A., Rossignol F., Clottes E., Penault-Llorca F. HIF but not HIF-1alpha transcript is a poor prognos- tic marker in human breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2003; 5 (6): R223–R230. DOI: 10.1186/bcr652.
47. Jafri M.A., Al-Qahtani M.H., Shay J.W. Role of miRNAs in human cancer metastasis: Implications for therapeu- tic intervention. *Semin. Cancer Biol.* 2017; 44: 117–131. DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.02.004.
48. Leber M.F., Efferth T. Molecular principles of cancer invasion and metastasis (review). *Int. J. Oncol.* 2009; 34 (4): 881–895. DOI: 10.3892/ijo\_00000214.
49. Tsai J.H., Yang J. Epithelial-mesenchymal plasticity in carcinoma metastasis. *Genes Dev.* 2013; 27 (20): 2192– 2206. DOI: 10.1101/gad.225334.113.
50. Lambert A.W., Pattabiraman D.R., Weinberg R.A. Emerging Biological Principles of Metastasis. *Cell*. 2017; 168 (4): 670–691. DOI: 10.1016/j.cell.2016.11.037.
51. Sanchez-Tillo E., Liu Y., de Barrios O., Siles L., Fanlo L., Cuatrecasas M., Darling D.S., Dean D.C., Castells A., Postigo A. EMT-activating transcription factors in cancer: be- yond EMT and tumor invasiveness. *Cell Mol. Life Sci.* 2012; 69 (20): 3429–3456. DOI: 10.1007/s00018-012-1122-2.
52. Liu Y.W., Zhang E., Liu X., Zhang Z., Xu T., De W., Liu B., Wang Z. LincHOTAIR epigenetically silences mi- R34a by binding to PRC2 to promote the epithelial-to-mes- enchymal transition in human gastric cancer. *Cell Death Dis.* 2015; 6: e1802. DOI: 10.1038/cddis.2015.150.
53. Wu H., Hu Y., Liu X., Song W., Gong P., Zhang K., Chen Z., Zhou M., Shen X., Qian Y., Fan H. LncRNA TRERNA1 function as an enhancer of snail promotes gastric cancer metastasis by regulating epithelial-mes- enchymal transition. *Mol. Ther. Nucleic. Acids.* 2017; 8: 291–299. DOI: 10.1016/j.omtn.2017.06.021.
54. Liu C., Lin J. Long noncoding RNA ZEB1-AS1 acts as an oncogene in osteosarcoma by epigenetically activating ZEB1. *Am. J. Transl. Res.* 2016; 8 (10): 4095–4105.
55. Yang P., Chen T., Xu Z., Zhu H., Wang J., He Z. Long noncoding RNA GAPLINC promotes invasion in col- orectal cancer by targeting SNAI2 through binding with PSF and NONO. *Oncotarget*. 2016; 7 (27): 42183–42194. DOI: 10.18632/oncotarget.9741.
56. Hu P., Yang J., Hou Y., Zhang H., Zeng Z., Zhao L., Yu T., Tang X., Tu G., Cui X., Liu M. LncRNA expression signatures of twist-induced epithelial-to-mesenchymal transition in MCF10A cells. *Cell Signal*. 2014; 26 (1): 83–93. DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.10.001.
57. Malek R., Gajula R.P., Williams R.D., Nghiem B., Simons B.W., Nugent K., Wang H., Taparra K., Lemtiri- Chlieh G., Yoon A.R., True L., An S.S., DeWeese T.L., Ross A.E., Schaeffer E.M., Pienta K.J., Hurley P.J., Morrissey C., Tran P.T. TWIST1-WDR5-Hottip reg- ulates *hoxa9* chromatin to facilitate prostate cancer metastasis. *Cancer Res.* 2017; 77 (12): 3181–3193. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2797.
58. Tao Y., Han T., Zhang T., Ma C., Sun C. LncRNA CHRFB-induced miR-489 loss promotes metastasis of colorectal cancer via TWIST1/EMT signaling pathway. *Oncotarget*. 2017; 8 (22): 36410–36422. DOI: 10.18632/oncotarget.16850.
59. Tinzl M., Marberger M., Horvath S., Chypre C. DD3P- CA3 RNA analysis in urine – a new perspective for de- tecting prostate cancer. *Eur. Urol.* 2004; 46 (2): 182–186. DOI: 10.1016/j.eururo.2004.06.004.
60. Lai M.C., Yang Z., Zhou L., Zhu Q.Q., Xie H.Y., Zhang F., Wu L.M., Chen L.M., Zheng S.S. Long non-coding RNA MALAT-1 overexpression predicts tumor recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Med. Oncol.* 2012; 29 (3): 1810–1816. DOI: 10.1007/s12032-011-0004-z.

## Сведения об авторах

Бейлерли Озал Арзуман оглы, аспирант, кафедра урологии, БГМУ, г. Уфа. ORCID 0000-0002-6149-5460.

Гареев Ильгиз Фанилевич, аспирант, кафедра нейрохирургии и медицинской реабилитации, БГМУ, г. Уфа. ORCID 0000-0002-4965-0835.

(✉) Бейлерли Озал Арзуман оглы, e-mail: obeylerli@mail.ru.

Поступила в редакцию 02.05.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Хроническая сердечная недостаточность: синдром или заболевание?

Калюжин В.В.<sup>1</sup>, Тепляков А.Т.<sup>2</sup>, Черногорюк Г.Э.<sup>1</sup>, Калюжина Е.В.<sup>1</sup>, Беспалова И.Д.<sup>1</sup>, Терентьева Н.Н.<sup>3</sup>, Лившиц И.К.<sup>1</sup>, Останко В.Л.<sup>1</sup>, Сибирева О.Ф.<sup>1</sup>, Часовских Н.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии Томского национального исследовательского  
медицинского центра (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111

<sup>3</sup> Сургутский государственный университет (СурГУ)  
Россия, 628412, г. Сургут, пр. Ленина, 1

### РЕЗЮМЕ

В лекции проанализированы различные определения хронической сердечной недостаточности (ХСН). Многоликой ХСН, несмотря на консенсус, касающийся парадигмы ее патогенеза, дают различные определения, используя как синдромальный, так и нозологический подход. Большинство авторов объединяет взгляд на ХСН как на финальную стадию (исход, осложнение) многих болезней, при которых нарушается способность желудочка наполняться кровью или изгонять ее, т.е. как на синдром, а не на самостоятельную нозологическую форму. Тем не менее в начале XXI в. ведущие российские специалисты по сердечной недостаточности представили аргументированную точку зрения на ХСН не только как на конечный этап сердечно-сосудистого континуума, осложняющий течение того или иного заболевания кардиоваскулярной системы, но и как на самостоятельную нозологическую форму. Такой подход, противоречащий стандарту правил формулировки заключительного клинического и патологоанатомического диагнозов, а также согласованным позициям Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем, стал предметом обоснованной критики. Так как идентификация причины, лежащей в основе сердечной недостаточности, принципиальна для выбора терапии, единственно правильным является взгляд на ХСН как на синдром, развернутая характеристика которого в клиническом диагнозе представляет собой важную интранозологическую характеристику, позволяющую построить наиболее эффективную дифференцированную терапию и точно определить прогноз заболевания.

**Ключевые слова:** хроническая сердечная недостаточность, дефиниция, Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем, синдром, болезнь, правила формулировки диагноза.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Для цитирования:** Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Черногорюк Г.Э., Калюжина Е.В., Беспалова И.Д., Терентьева Н.Н., Лившиц И.К., Останко В.Л., Сибирева О.Ф., Часовских Н.Ю. Хроническая сердечная недостаточность: синдром или заболевание? *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 134–139. <https://doi.org: 10.20538/1682-0363-2020-1-134–139>.

## Chronic heart failure: syndrome or disease?

Kalyuzhin V.V.<sup>1</sup>, Teplyakov A.T.<sup>2</sup>, Chernogoryuk G.E.<sup>1</sup>, Kalyuzhina E.V.<sup>1</sup>, Bespalova I.D.<sup>1</sup>, Terentyeva N.N.<sup>3</sup>, Livshits I.K.<sup>1</sup>, Ostanko V.L.<sup>1</sup>, Sibireva O.F.<sup>1</sup>, Chasovskikh N.Yu.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup> Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences

111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

<sup>3</sup> Surgut State University

1, Lenina Av., Surgut, 628412, Russian Federation

### ABSTRACT

The authors of the study analyze various definitions of chronic heart failure (CHF). CHF, having many faces, despite the consensus concerning the paradigm of its pathogenesis, is given different definitions, using both the syndromic and nosological approaches. Most authors share a view of CHF as the final stage (outcome or complication) of many diseases in which there is impairment of ventricular filling or ejection of blood, i.e. as a syndrome, and not an independent nosological form. Nevertheless, at the beginning of the XXI century leading Russian specialists in heart failure presented a reasoned point of view on CHF not only as the final stage of the cardiovascular continuum, complicating the course of a disease of the cardiovascular system, but also as an independent nosological form. This approach, which contradicts the standard rules for the formulation of the final clinical and pathological diagnoses, as well as the agreed positions of the International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, has been the subject of reasonable criticism. Since the identification of the underlying cause of heart failure is crucial for therapeutic reasons, the only correct view is that of CHF as a syndrome, the detailed description of which in clinical diagnosis is an important intranosological characteristic that allows building the most effective differentiated therapy and accurately determining the prognosis of the disease.

**Key words:** chronic heart failure, definition, International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, syndrome, disease, rules of diagnosis.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that there is no funding for the study.

**For citation:** Kalyuzhin V.V., Teplyakov A.T., Chernogoryuk G.E., Kalyuzhina E.V., Bespalova I.D., Terentyeva N.N., Livshits I.K., Ostanko V.L., Sibireva O.F., Chasovskikh N.Yu. Chronic heart failure: syndrome or disease? *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 134–139. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-134-139>.

## ВВЕДЕНИЕ

Многоликой хронической сердечной недостаточности (ХСН), несмотря на консенсус, касающийся парадигмы ее патогенеза, дают различные определения, используя как синдромальный, так и нозологический подход [1–6]. Большинство авторов объединяют взгляд на ХСН как на финальную стадию (исход, осложнение) многих болезней, которые затрагивают сердце, т.е. как на синдром, а не на самостоятельную нозологическую форму. В частности, эксперты Американской коллегии кардиологов и Американской ассоциации сердца, в лапидарном и вместе с тем емком определении, которое не пересматри-

валось с 2001 г., трактуют ХСН как «сложный клинический синдром, который может быть вызван любым структурным или функциональным заболеванием сердца, нарушающим способность желудочка наполняться кровью или изгонять ее» [7]. Аналогичные определения приводятся в так называемых европейских, канадских, британских, корейских, австралийско-новозеландских, индийских и некоторых других рекомендациях (руководствах) [8–13].

Тем не менее в начале XXI в. ведущие российские специалисты по сердечной недостаточности представили аргументированную точку зрения на ХСН не только как на конечный этап сер-

дечно-сосудистого континуума, осложняющий течение того или иного заболевания кардиоваскулярной системы, но и как на самостоятельную нозологическую форму: «...заболевание с комплексом характерных симптомов (одышка, снижение физической активности, отеки и др.), которые связаны с неадекватной перфузией органов и тканей в покое или при нагрузке и часто с задержкой жидкости в организме. Первопричиной является ухудшение способности сердца к наполнению или опорожнению, обусловленное повреждением миокарда, а также дисбалансом вазоконстрикторных и вазодилатирующих нейрогуморальных систем» [14].

Формальным основанием обозначить ХСН как самостоятельную нозологическую форму является наличие соответствующей рубрики («Сердечная недостаточность» – I50) в Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем (10-й пересмотр, МКБ-10), неформальным – разделяемое многими кардиологами представление о том, что ХСН развивается по единым законам вне зависимости от этиологии [15]. Хорошо известно, что на позднем этапе любого заболевания сердечно-сосудистой системы «синдром ремоделированного сердца» отодвигает на второй план важность этиологического фактора и может самостоятельно определять качество жизни и прогноз больного [16–18].

Признавая формальную логику представленных аргументов, мы позволим себе критику нозологического трактования ХСН. Во-первых, наличие соответствующего кода в МКБ-10 вовсе не обязательно обосновывает возможность его применения для кодирования основного заболевания. Например, легочная эмболия (I26) или острая почечная недостаточность (N17) в диагнозе указываются в рубрике «осложнения основного заболевания», так как подмена основного заболевания его осложнением или одним из проявлений не допускается стандартом правил формулировки заключительного клинического и патологоанатомического диагнозов [19]! Впрочем, врачи, которые годами совершают диагностические ошибки, игнорируя ключевые постулаты правил формулировки заключительного клинического и патологоанатомического диагнозов и называя это клиническим опытом, не являются большой редкостью [2]. Даже если вытеснить из своего сознания положения правил формулировки диагноза, клиницист должен понимать, что диагноз «сердечная недостаточность» (к слову, по МКБ-10 исключены: состояния, обусловленные артериальной гипертензией – I11.0, в том числе с

поражением почек – I13.–, последствиями операции на сердце или при наличии сердечного протеза – I97.1, а также сердечная недостаточность у новорожденного – P29.0) может быть хоть какой-то альтернативой развернутому диагнозу, скажем, «ишемическая кардиомиопатия» или «дилатационная кардиомиопатия», лишь когда он впервые формулируется у постели больного «без анамнеза» с симптомами и признаками ХСН, соответствующими III стадии по классификации Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко, т.е. в ситуации, когда обоснованное заключение о природе заболевания сделать крайне сложно и (или) это, к сожалению, уже практически лишено смысла.

Другое дело, когда речь идет о пациенте с начальными, еще обратимыми проявлениями ХСН. В этом случае разработка эффективной программы восстановительного лечения не мыслится без точного и своевременного распознавания этиологической сущности заболевания, лежащего в основе сердечной декомпенсации. Ни у кого не вызовет сомнения, что ведение больных с распространенным окклюзирующим коронарным атеросклерозом, митральным стенозом, гемохроматозом или амилоидозом в кардиологической клинике будет существенно различаться, даже если стадия и функциональный класс ХСН у них полностью совпадут, поскольку наилучшее лечение всегда этиотропное [2, 20].

Действительно, одним из главных целевых вопросов врачебной диагностики является обоснование лечения. Обратимся к разделу «Диагноз, диагностика» Большой медицинской энциклопедии, в котором В.Х. Василенко пишет: «Для возможности реального воздействия на состояние больного необходимо знание не только общего характера процесса и его начальных и конечных звеньев, но и всей цепи явлений в их последовательности и взаимозависимости (патогенез); только тогда возникает возможность разрыва цепи в наиболее доступном и решающем звене» [21]. Следовательно, клинический диагноз должен быть не только патогенетическим (содержать дополнительную интранозологическую характеристику патологического процесса), но и нозологическим (соответствовать требованиям международных классификаций и номенклатуры болезней, учитывающей особенности отечественных классификаций).

Другой задачей диагноза является унифицированное статистическое изучение заболеваемости и смертности. Вернемся вновь к актуальному на настоящий момент пересмотру Международной статистической классификации болезней

и проблем, связанных со здоровьем. По вполне понятным причинам, возможность использования кода I50.0 («Застойная сердечная недостаточность» – правожелудочковая недостаточность вторичная по отношению к левожелудочковой сердечной недостаточности), на применении которого обычно настаивают некоторые эксперты, ограничивается только клиническими случаями с далеко зашедшей стадией (IIБ–III) ХСН. Поэтому с помощью этого кода в статистических отчетах будет учитываться лишь часть (не самая большая) пациентов с ХСН.

Как бы то ни было, эксперты Общества специалистов по сердечной недостаточности, Российского кардиологического общества и Российского научного медицинского общества терапевтов в разделе «Определение сердечной недостаточности» 4-го пересмотра Национальных рекомендаций по диагностике и лечению ХСН уже не рассматривают последнюю в качестве нозологической единицы, справедливо указывая на то, что «с практической точки зрения сердечная недостаточность – это синдром, для которого характерны определенные симптомы (одышка, отеки лодыжек, утомляемость) и клинические признаки (набухание шейных вен, мелкопузырчатые хрипы в легких, смещение верхушечного толчка влево), возникшие в результате нарушения структуры или функции сердца» [22]. Но, как известно, плохой урок хорошо усваивается, и апологеты нозологического подхода к ХСН, сохраняя свои убеждения в клинической практике, продолжают формулировать диагноз «ХСН» вне связи с ее этиологией.

Подобная ригидность мышления требует образовательных усилий. Прежде всего следует напомнить принципиальную разницу между нозологической формой и синдромом, касающуюся их природы. В соответствии с отраслевым стандартом «Термины и определения системы стандартизации в здравоохранении» (ОСТ ТО № 91500.01.0005-2001, введен в действие приказом Минздрава РФ от 22.01.2001 № 12), в первом случае, пусть и с определенными оговорками, речь идет о монокаузальной патологии: «...совокупность клинических, лабораторных и инструментальных диагностических признаков, позволяющих идентифицировать заболевание... и отнести его к группе состояний с общей этиологией и патогенезом, клиническими проявлениями, едиными подходами к лечению и коррекции состояния». Тогда как синдром – это «состояние, развивающееся как следствие заболевания и определяющееся совокупностью клинических,

лабораторных, инструментальных диагностических признаков, позволяющих идентифицировать его и отнести к группе состояний с различной этиологией, но общим патогенезом, клиническими проявлениями, общими подходами к лечению, которые зависят и от заболеваний, лежащих в основе синдрома».

Упорствующие в нозологической самостоятельности ХСН пребывают в иллюзии, что причина ХСН не имеет значения или лечение во всех случаях одинаково: будь то ишемическая болезнь сердца, порок сердца или тахикардиомиопатия. При этом они забывают о том, что любое структурное или функциональное заболевание сердца, лежащее в основе ХСН, имеет свою специфику, откладывающую отпечаток на течение сердечной недостаточности и прогноз, а идентификация причины, лежащей в основе ХСН, является принципиальной для выбора терапии (например, вальвулопластика или протезирование клапана при пороке, хирургическая или эндоваскулярная реваскуляризация ишемизированного миокарда или ритмурежающая терапия при тахикардиомиопатии) [8, 23, 24].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, единственно правильным является взгляд на ХСН как на синдром, развернутое описание которого в клиническом диагнозе представляет собой важную интранозологическую характеристику, позволяющую построить наиболее эффективную дифференцированную терапию и точно определить прогноз заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Snipelisky D., Chaudhry S.P., Stewart G.C. The many faces of heart failure. *Card. Electrophysiol. Clin.* 2019; 11 (1): 11–20. DOI: 10.1016/j.ccep.2018.11.001.
2. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Калюжин О.В. Сердечная недостаточность. М.: Медицинское информационное агентство, 2018: 376.
3. Cleland J.G.F., Pellicori P., Clark A.L. Prevention or procrastination for heart failure? Why we need a universal definition of heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2019; 73 (19): 2398–2400. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.03.471.
4. Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т., Арутюнов Г.П., Коротеев А.В., Ревинский А.Ш., Беленков Ю.Н., Васюк Ю.А., Галевич А.С., Глезер М.Г., Даниелян М.О., Коц Я.И., Кузнецов В.А., Лазебник Л.Б., Лопатин Ю.М., Маколкин В.И., Мартынов А.И., Мартыненко А.В., Моисеев В.С., Соколов Е.И., Сторожаков Г.И., Сидоренко Б.А., Терещенко С.Н., Фомин И.В., Шляхто Е.В., Акчурин Р.С., Аронов Д.М., Барт Б.Я., Белоусов Ю.Б., Бойцов С.А., Волкова Э.Г., Гендлин Г.Е., Гиляревский С.Р., Голиков А.П., Голицын С.П., Гуревич М.А., Дов-

- галевский П.Я., Задионченко В.С., Карпов Р.С., Карпов Ю.А., Кобалава Ж.Д., Люсов В.А., Насонов Е.Л., Недогода С.В., Никитин Ю.П., Оганов Р.Г., Панченко Е.П., Перепеч Н.Б., Подзолков В.И., Поздняков Ю.А., Раков А.А., Руда М.Я., Рылова А.К., Симоненко В.А., Ситникова М.Ю., Староверов И.И., Сулимов В.А., Фомина И.Г., Чазова И.Е. Национальные рекомендации ВНОК и ОССН по диагностике и лечению ХСН (третий пересмотр). *Журнал сердечная недостаточность*. 2010; 11 (1): 3–62.
5. Тепляков А.Т., Калюжин В.В., Калюжина Е.В., Черногорюк Г.Э., Рачковский М.И., Беспалова И.Д., Терентьева Н.Н., Лившиц И.К., Соловцов М.А., Чернявская Г.М. Патология периферического кровообращения при хронической сердечной недостаточности. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (1): 162–178. DOI: 10.20538/1682-0363-2017-1-162-178.
6. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Вечерский Ю.Ю., Рязанцева Н.В., Хлапов А.П. Патогенез хронической сердечной недостаточности: изменение доминирующей парадигмы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2007; 6 (4): 71–79.
7. Yancy C.W., Jessup M., Bozkurt B., Butler J., Casey D.E.Jr., Drazner M.H., Fonarow G.C., Geraci S.A., Horwich T., Januzzi J.L., Johnson M.R., Kasper E.K., Levy W.C., Masoudi F.A., McBride P.E., McMurray J.J., Mitchell J.E., Peterson P.N., Riegel B., Sam F., Stevenson L.W., Tang W.H., Tsai E.J., Wilkoff B.L. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013; 62 (16): e147–239. DOI: 10.1016/j.jacc.2013.05.019.
8. Ponikowski P., Voors A.A., Anker S.D., Bueno H., Cleland J.G., Coats A.J., Falk V., Gonzalez-Juanatey J.R., Harjola V.P., Jankowska E.A., Jessup M., Linde C., Nihoyannopoulos P., Parissis J.T., Pieske B., Riley J.P., Rosano G.M., Ruilope L.M., Ruschitzka F., Rutten F.H., van der Meer P. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur. Heart J.* 2016; 37 (27): 2129–2200. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw128.
9. Ezekowitz J.A., O'Meara E., McDonald M.A., Abrams H., Chan M., Ducharme A., Giannetti N., Grzeslo A., Hamilton P.G., Heckman G.A., Howlett J.G., Koshman S.L., Lepage S., McKelvie R.S., Moe G.W., Rajda M., Swiggum E., Virani S.A., Zieroth S., Al-Hesayen A., Cohen-Solal A., D'Astous M., De S., Estrella-Holder E., Fremes S., Green L., Haddad H., Harkness K., Hernandez A.F., Kouz S., LeBlanc M.H., Masoudi F.A., Ross H.J., Roussin A., Sussex B. 2017 Comprehensive Update of the Canadian Cardiovascular Society Guidelines for the Management of Heart Failure. *Can. J. Cardiol.* 2017; 33 (11): 1342–1433. DOI: 10.1016/j.cjca.2017.08.022.
10. Real J., Cowles E., Wierzbicki A.S. and Guideline Committee. Chronic heart failure in adults: summary of updated NICE guidance. *BMJ*. 2018; 362: k3646. DOI: 10.1136/bmj.k3646.
11. Kim M.S., Lee J.H., Kim E.J., Park D.G., Park S.J., Park J.J., Shin M.S., Yoo B.S., Youn J.C., Lee S.E., Ihm S.H., Jang S.Y., Jo S.H., Cho J.Y., Cho H.J., Choi S., Choi J.O., Han S.W., Hwang K.K., Jeon E.S., Cho M.C., Chae S.C., Choi D.J. Korean Guidelines for diagnosis and management of chronic heart failure. *Korean Circ. J.* 2017; 47 (5): 555–643. DOI: 10.4070/kcj.2017.0009.
12. Atherton J.J., Sindone A., De Pasquale C.G., Driscoll A., MacDonald P.S., Hopper I., Kistler P., Briffa T.G., Wong J., Abhayaratna W.P., Thomas L., Audehm R., Newton P.J., O'Loughlin J., Connell C., Branagan M. National Heart Foundation of Australia and Cardiac Society of Australia and New Zealand: Australian clinical guidelines for the management of heart failure 2018. *Med. J. Aust.* 2018; 209 (8): 363–369. DOI: 10.5694/mja18.00647.
13. Guha S., Harikrishnan S., Ray S., Sethi R., Ramakrishnan S., Banerjee S., Bahl V.K., Goswami K.C., Banerjee A.K., Shanmugasundaram S., Kerkar P.G., Seth S., Yadav R., Kapoor A., Mahajan A.U., Mohanan P.P., Mishra S., Deb P.K., Narasimhan C., Pancholia A.K., Sinha A., Pradhan A., Alagesan R., Roy A., Vora A., Saxena A., Dasbiswas A., Srinivas B.C., Chattopadhyay B.P., Singh B.P., Balachandar J., Balakrishnan K.R., Pinto B., Manjunath C.N., Lanjewar C.P., Jain D., Sarma D., Paul G.J., Zachariah G.A., Chopra H.K., Vijayalakshmi I.B., Tharakan J.A., Dalal J.J., Sawhney J.P.S., Saha J., Christopher J., Talwar K.K., Chandra K.S., Venugopal K., Ganguly K., Hiremath M.S., Hot M., Das M.K., Bardolui N., Deshpande N.V., Yadava O.P., Bhardwaj P., Vishwakarma P., Rajput R.K., Gupta R., Somasundaram S., Routray S.N., Iyengar S.S., Sanjay G., Tewari S., G.S., Kumar S., Mookerjee S., Nair T., Mishra T., Samal U.C., Kaul U., Chopra V.K., Narain V.S., Raj V., Lokhandwala Y. CSI position statement on management of heart failure in India. *Indian Heart J.* 2018; 70 (Suppl. 1): S1–72. DOI: 10.1016/j.ihj.2018.05.003.
14. Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т., Арутюнов Г.П., Коротеев А.В., Ревшвили А.Ш., Беленков Ю.Н., Васюк Ю.А., Галевич А.С., Глезер М.Г., Даниелян М.О., Коц Я.И., Лазебник Л.Б., Лопатин Ю.М., Маколкин В.И., Мартынов А.И., Мартыненко А.В., Моисеев В.С., Ольбинская Л.И., Соколов Е.И., Сторожаков Г.И., Сидоренко Б.А., Терещенко С.Н., Фомин И.В., Шляхто Е.В., Акчурин Р.С., Аронов Д.М., Барт Б.Я., Белоусов Ю.Б., Бойцов С.А., Васюк Ю.А., Волкова Э.Г., Гендлин Г.Е., Гиляревский С.Р., Голиков А.П., Голицин С.П., Гуревич М.А., Довгалевский П.Я., Задионченко В.С., Карпов Р.С., Карпов Ю.А., Кательницкая Л.И., Кобалава Ж.Д., Люсов В.А., Насонов Е.Л., Недогода С.В., Никитин Ю.П., Оганов Р.Г., Панченко Е.П., Перепеч Н.Б., Подзолков В.И., Поздняков Ю.А., Раков А.А., Руда М.Я., Рылова А.К., Сидоренко Б.А., Симонен-

- ко В.А., Ситникова М.Ю., Староверов И.И., Сулимов В.А., Фомина И.Г., Чазова И.Е. Национальные рекомендации ВНОК И ОССН по диагностике и лечению ХСН (второй пересмотр). *Журнал Сердечная недостаточность*. 2007; 8 (1): 4–41.
15. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т. Что такое сердечная недостаточность? Как лучше ее диагностировать? *Журнал Сердечная недостаточность*. 2002; 3 (5): 209–210.
  16. Флоря В.Г. Роль ремоделирования левого желудочка в патогенезе хронической сердечной недостаточности. *Кардиология*. 1997; 37 (5): 63–67.
  17. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Соловцов М.А., Калюжина Е.В., Беспалова И.Д., Терентьева Н.Н. Ремоделирование левого желудочка: один или несколько сценариев? *Бюллетень сибирской медицины*. 2016; 15 (4): 120–139. DOI: 10.20538/1682-0363-2016-4-120-139.
  18. Azevedo P.S., Polegato V.F., Minicucci M.F., Paiva S.A., Zornoff L.A. Cardiac remodeling: concepts, clinical impact, pathophysiological mechanisms and pharmacologic treatment. *Arq. Bras. Cardiol.* 2016; 106 (1): 62–69. DOI: 10.5935/abc.20160005.
  19. Зайратьянц О.В., Кактурский Л.В. Формулировка и сопоставление клинического и патологоанатомического диагнозов: Справочник. М.: Медицинское информационное агентство, 2011: 576.
  20. Cannie D.E., Akhtar M.M., Elliott P. Hidden in heart failure. *Eur. Cardiol.* 2019; 14 (2): 89–96. DOI: 10.15420/esc.2019.19.2.
  21. Василенко В.Х. Диагноз, диагностика. В кн.: Большая медицинская энциклопедия; ред. А.Н. Бакулев. 2-е изд. М.: Сов. энциклопедия, 1960; 9: 163–194.
  22. Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т., Арутюнов Г.П., Коротева А.В., Мареев Ю.В., Овчинников А.Г. Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр). *Журнал Сердечная недостаточность*. 2013; 81 (7): 379–472.
  23. Агеев Ф.Т., Скворцов А.А., Мареев В.Ю., Беленков Ю.Н. Сердечная недостаточность на фоне ишемической болезни сердца: некоторые вопросы эпидемиологии, патогенеза и лечения. *Русский медицинский журнал*. 2000; 8 (15–16): 622–626.
  24. Чазов Е.И. Спорные вопросы в проблеме хронической сердечной недостаточности. *Терапевтический архив*. 1993; 9: 4–7.

## Сведения об авторах

**Калюжин Вадим Витальевич**, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9640-2028.

**Тепляков Александр Трофимович**, д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ РАН, г. Томск. ORCID 0000-0003-0721-0038.

**Черногорюк Георгий Эдинович**, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-5780-6660.

**Калюжина Елена Викторовна**, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-7978-5327.

**Беспалова Инна Давидовна**, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-4513-6329.

**Терентьева Надежда Николаевна**, канд. мед. наук, доцент, кафедра внутренних болезней, СурГУ, г. Сургут. ORCID 0000-0002-0462-3526.

**Лившиц Инна Климентьевна**, канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-2357-6910.

**Останко Валентина Леонидовна**, канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-9950-721X.

**Сибирева Ольга Филипповна**, д-р мед. наук, профессор, кафедра биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-5651-8875.

**Часовских Наталия Юрьевна**, д-р мед. наук, профессор, кафедра медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-6077-0347.

✉ **Калюжин Вадим Витальевич**, e-mail: kalyuzhinvv@mail.ru

Поступила в редакцию 29.08.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Виртуальные пациенты как формат симуляционного обучения в непрерывном медицинском образовании (обзор литературы)

Карась С.И.

*Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а*

*Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2*

### РЕЗЮМЕ

Использование виртуальных пациентов для обучения студентов и повышения квалификации врачей в России является определенной педагогической инновацией. Компьютерные мультимедийные интерактивные симуляции сценариев диагностики и лечения позволяют избежать риска неправильных действий в отношении реального больного, повторять клинические ситуации неограниченное количество раз, стандартизовать задания и критерии оценки их выполнения. Виртуальные пациенты являются фактологической основой проблемно-ориентированного обучения.

В обзоре рассмотрены применение этой образовательной технологии для формирования навыков принятия врачебных решений за рубежом, ее педагогическая эффективность, варианты использования линейных и разветвленных сценариев. В метаанализах показана педагогическая эффективность виртуальных пациентов и заинтересованность обучающихся. Интеграция виртуальных пациентов в образовательный процесс способствует геймификации клинической подготовки, что стимулирует студентов и врачей к интерактивности и командной работе. Весьма актуально создание репозитория или Web-сервиса мультимедийных виртуальных пациентов в традиции отечественной клинической школы для использования в системе вузовского и непрерывного медицинского образования.

**Ключевые слова:** case-технологии, проблемно-ориентированное обучение, геймификация, стандартизация, мультимедиа, Web-сервис.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Автор выражает благодарность Российскому фонду фундаментальных исследований за финансовую поддержку работы в рамках выполнения гранта № 19-013-00231 А «Информационно-коммуникационные технологии формирования и совершенствования клинико-диагностических компетенций обучающихся в системе послевузовского медицинского образования».

**Для цитирования:** Карась С.И. Виртуальные пациенты как формат симуляционного обучения в непрерывном медицинском образовании (обзор литературы). *Бюллетень сибирской медицины.* 2020; 19 (1): 140–149. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2020-1-140–149](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-140-149).

---

✉ Карась Сергей Иосифович, e-mail: [ksi@cardio-tomsk.ru](mailto:ksi@cardio-tomsk.ru).

## Virtual patients as a format for simulation learning in continuing medical education (review article)

Karas S.I.

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre  
111a, Kievskaja Str., Tomsk, 634012, Russian Federation  
Siberian State Medical University  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

### ABSTRACT

The use of virtual patients for students and for advanced training of medical doctors is a definite pedagogic innovation. The computer-based interactive multimedia simulations of scenarios for diagnosis and treatment allow for the avoidance of the risk of improper actions in regard to a real life patient, to repeat the clinical situations an unlimited number of times, and to standardize the tasks and criteria of their completion. Virtual patients represent a factual basis of problem-based learning. This review article focuses on the use of this educational technology for the development of medical decision making skills internationally, on its pedagogical effectiveness, and on the variants of the linear and branching scenarios. Meta-analyses demonstrate the pedagogical effectiveness of virtual patients and an interest of the trainees. An integration of the virtual patients into the learning contributes to clinical training gamification, which inspires the students and medical doctors to engage in interactivity and teamwork. The creation of a repository or a web-service of multimedia virtual patients in the tradition of national clinical school is of great current interest for implementation in the system of higher and continuing medical education.

**Key words:** case technologies, problem-based learning, gamification, standardization, multimedia, Web-service.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The author expresses gratitude to the Russian Foundation for Basic Research for financial support of the work under the grant No. 19-013-00231 A “Information and communication technologies for the formation and improvement of clinical and diagnostic competencies of students in the system of postgraduate medical education”.

**For citation:** Karas S.I. Virtual patients as a format for simulation learning in the continuing medical education (review article). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 140–149. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-140-149>.

### ВВЕДЕНИЕ

Одной из главных проблем современного медицинского образования является сложность формирования у специалистов навыков принятия решений – как мануальных, так и клинико-диагностических. В российском высшем медицинском образовании и за рубежом активно используются разные форматы симуляционного обучения и виртуального моделирования. Эти образовательные технологии предполагают применение различных тренажеров и симуляторов, которые позволяют обучающемуся играть роль профессионала системы здравоохранения, отрабатывать мануальные навыки и способы принятия врачебных решений в безопасной ситуации.

Основной мотивацией разработки различных симуляторов является ликвидация разрыва

между теоретическими знаниями студентов и принятием ими клинических решений без риска навредить реальным пациентам. Второй причиной внедрения этих технологий является необходимость стандартизации оценки клинико-диагностических компетенций врачей и возможность повторения клинической ситуации необходимое количество раз, исследуя различные стратегии и варианты действий [1–3]. Одним из форматов симуляционного обучения является использование виртуальных пациентов (ВП).

### ВИРТУАЛЬНЫЕ ПАЦИЕНТЫ В ВЫСШЕМ МЕДИЦИНСКОМ ОБРАЗОВАНИИ

В научной литературе можно встретить разное понимание термина «виртуальный пациент»: и компьютеризованные роботы-симуляторы, и

стандартизованные клинические случаи в исполнении актеров, и компьютерные мультимедийные имитации клинических ситуаций.

Отдельные фантомы в медицинском образовании использовались давно. Например, для отработки навыков диагностики состояния сердечно-сосудистой системы в 1968 г. сконструирован знаменитый манекен «Харви». Модель воспроизводила различные варианты дыхания, пульса, кровяного давления, шумов и тонов сердца, соответствующие 25 заболеваниям сердечно-сосудистой системы. В 1980-х гг. был создан андроид с интегрированной моделью физиологических параметров сердечно-сосудистой системы, управлявшийся одним из первых персональных компьютеров с 35 сценариями клинических ситуаций [4]. Во всем мире интенсивно развиваются центры симуляционного обучения, оснащенные манекенами разного уровня сложности, включающими информационную модель сценария клинического эпизода и обратную связь с действиями обучающегося [5]. Использование актеров вместо больных апробировано в 1963 г. в рамках программы обучения неврологов [4]. В настоящее время стандартизированные пациенты широко используются в странах Европы и США для оценки клинических компетенций врачей, в том числе как часть государственных программ лицензирования.

Областью данного обзора является в определенном смысле «полярный» формат симуляции, используемой не для отработки мануальных методик, а для формирования клинического мышления и навыков принятия врачебных решений. Результаты первых попыток применения компьютерных имитаций для обучения врачей, медицинских сестер и студентов опубликованы в 60–70-х гг. XX в. [6–8]. С той поры эти технологии применялись в разных областях медицины и для разных групп обучающихся, но систематическое использование началось в США и Западной Европе лишь в 1990-е гг.

Термин «виртуальный пациент» стал широко применяться в зарубежных научных публикациях после ряда работ [2, 9–11]. В литературном обзоре [12] рассмотрен смысл этого термина, употребленного в 536 статьях: в 37% публикаций речь шла об интерактивных имитациях на роботах лечебно-диагностического процесса, в 19% – о компьютерных симуляциях клинических ситуаций, в 16% – о «стандартизованных пациентах» в исполнении актеров. Продолжая эту работу, авторы проанализировали 185 определений ВП и построили концептную карту данной предметной области [13].

В дальнейшем под термином «виртуальный пациент» мы будем понимать образовательную технологию клинических областей знаний, а именно компьютерные мультимедийные интерактивные симуляции сценариев диагностики и лечения больных [10, 14].

Решение ситуационных задач в ходе изучения отдельных заболеваний всегда входило в процесс подготовки будущих врачей. В расширенном виде они представляют собой кейсы, которые содержат мультимедийные данные обследования пациента и служат для анализа информации при решении лечебно-диагностических задач [15, 16]. Кейс-метод обеспечивает прочность и системность знаний, процессный подход к принятию решений; важными составляющими кейс-метода являются оценка действий обучающегося и объяснение допущенных ошибок [17]. Именно этот подход чаще упоминается в отечественной научной литературе, чем виртуальный пациент как его фактологическая база. Образовательные технологии, использующие клинические случаи, рассматриваются в ряде отечественных работ как на уровне концептуальных моделей, так и практического использования [16, 18, 19].

В отчете Европейского регионального бюро ВОЗ (2016) говорится: «Учебные заведения... должны обеспечивать более широкое использование электронного обучения в медицинском образовании и повышении квалификации медицинских работников». Несмотря на бурное развитие российского электронного здравоохранения в течение последних 7–8 лет, этот процесс слабо затронул образовательное медицинское пространство. Описаны отдельные опыты разработки и использования электронной истории болезни для аудиторной работы и самостоятельной подготовки студентов по клиническим дисциплинам. В Ставропольском медицинском университете создан элективный курс «Электронная медицинская карта» [20]. Концепция разработки учебной версии медицинской информационной системы и опыт ее применения в учебном процессе описаны в ряде работ; виртуальное моделирование профессиональных задач применяется в стоматологическом образовании, преподавании терапии, подготовке врачей-хирургов [21–24]. Для этих целей могут использоваться как широко распространенные программные продукты [25], так и специально разработанные программные оболочки [26]. Способы интеграции симуляционных технологий и методик в медицинское образование рассмотрены в статье К.А. Муравьева и соавт. (2011), сделан вывод о необходимости

соответствующей учебно-методической работы и экспериментов в технологиях преподавания [27]. Однако подавляющее большинство работ по созданию виртуальных пациентов и их использованию в медицинском образовании выполнено за рубежом.

## ПЕДАГОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕХНОЛОГИИ ВИРТУАЛЬНЫХ ПАЦИЕНТОВ

Реализовать технологии e-learning в клинической медицине сложнее, чем в технических и естественно-научных областях знаний, а виртуальный пациент является основным вариантом их практической реализации [28]. Использование ВП стало одной из немногих цифровых технологий, в значительной степени изменивших образовательный процесс. Как основной компонент лекций и семинаров, ВП являются базой для обучения, основанного на анализе прецедента и проблемно-ориентированного обучения, могут частично заменить традиционные обучающие методики в клинических дисциплинах [7, 10, 29–32].

ВП обеспечивают стандартизацию, эффективность, интерактивность обучения, ссылки на доказательные источники информации, способствуя изучению редко встречающихся случаев заболевания, снижают интенсивность работы преподавателя и увеличивают автономность студентов, идеально подходят для выработки навыков клинических решений, которые в значительной степени неформализуемы [14]. Ряд обзоров, в том числе систематических, посвящены методологии и технологии разработки ВП [1, 33, 34].

В своей фундаментальной статье J. Bateman и соавт. (2013) пытаются ответить на вопрос, как влияют характеристики ВП на эффективность формирования клинических компетенций студентов [35]. Авторами разработана модель взаимодействия студента с ВП как образовательным инструментом. Модель включает три основных аспекта: клинический (контент случая), педагогический (последовательность и форма предъявления контента, способ оценки взаимодействия обучающегося с контентом), цифровой (используемое программное обеспечение, особенности пользовательского интерфейса). Образовательные эксперименты проводились в разных учреждениях, студенты имели разный клинический и образовательный опыт и навыки, разное отношение к e-learning. В ходе экспериментов оценивалось влияние использования ВП на компетенции студентов, их дальнейшие предпочтения и мотивации.

Использование ВП в медицинском образовании имеет значительную историю: уже не только

разработаны рекомендации по их созданию [9, 10], но и сформулированы конкретные предложения по развитию навыков клинического мышления на основе технологии ВП [36, 37]. Опытными педагогами в соответствии с рекомендациями консорциума MedViquitous были созданы два случая ВП, проверенные шестью врачами. Эти случаи включали анамнез жизни и заболевания, инструментальные и лабораторные исследования, результаты физикального обследования пациентов, управляемые пользователем древовидную и линейную траектории предоставления контента, различные типы вопросов, вероятностные подходы в оценивании. Дополнительно использовались демонстрация примеров, список дифференциальных диагнозов, справочная система с поиском вариантов «за – против» и другие справочные ресурсы. Оба случая после работы с ними в часовой дискуссии оценили 46 студентов второго и четвертого года обучения. Студенты были информированы об эксперименте, участвовали добровольно, без оплаты, оценка ВП проводилась согласно рекомендациям [38]. Виртуальные пациенты по сравнению с традиционными способами представления случаев бумажными историями болезни стимулировали взаимодействие между студентами, их активное вовлечение в образовательный процесс. При использовании ВП студенты хорошо выделяют ключевые характеристики проблемы, для них полезны вопросы на Байесовское обоснование решений. Ветвящаяся траектория делает ВП более реалистичным, но усложняет задачу и увеличивает частоту ошибок. Также затрудняет решение интерфейс со скроллингом, отсутствие аудио-, видеофайлов и обратной связи с ВП.

Систематический обзор и метаанализ D. Cook и соавт. (2010) показывают, что использование виртуальных пациентов дает значительный образовательный эффект [8]. Сравнивая разные свойства ВП, авторы приходят к заключению об образовательной эффективности структурированной системы меню и родного для обучающегося языка интерфейса; связь текстовой или голосовой формы представления информации с успешностью обучения не столь очевидна. Продуманная обратная связь со студентом несомненно важна для положительного эффекта, как и повторные решения по одному ВП, хотя последняя опция может вызвать отрицательную реакцию обучающихся. Длительное время, предоставленное для выполнения задания с использованием ВП, в целом снижает долю правильных решений, но это зависит от сложности случая и статуса обучаемого.

Метаанализ 12 рандомизированных контролируемых исследований показал выраженный положительный эффект использования ВП в обучении [39]. Преимущества использования ВП в образовательном процессе не вызывают сомнения [40], однако конкретные способы интеграции ВП с традиционными учебными планами требуют дальнейшего исследования. Рекомендуется также интегрировать фундаментальные биомедицинские знания с клиническими описаниями случаев ВП [41].

В университете St. George (Лондон) осуществляется проблемно-ориентированное обучение студентов-медиков. Для использования в этой образовательной технологии на базе «бумажного» описания завершенных случаев заболевания были разработаны концептные карты каждого случая, а затем в программном приложении OpenLabyrinth созданы виртуальные интерактивные пациенты для on-line работы [2]. Десять групп студентов работали с пятью виртуальными случаями в линейном и разветвленном сценариях. И студенты, и преподаватели отмечают перспективность этого подхода, а также необходимость параллельного проведения очных клинических занятий.

Исследование знаний по семейной медицине в группе студентов, обучавшихся традиционным способом (48 человек) и с использованием виртуальных пациентов (51 человек), показало отсутствие различий [42]. Авторы делают вывод о высокой эффективности нового подхода, принимая во внимание отсутствие риска для реальных больных. Советы, как развивать профессиональные компетенции врачей с помощью ВП, дают S. Murphy и соавт. (2016) [43]. Среди них использование в сценарии ВП профессиональных нюансов (информированное согласие, конфиденциальность и пр.), predeterminedенная сценарием необходимость командной работы, дебрифинг проработанных случаев и коллективный разбор принятия этапных решений, учет образовательного уровня студентов.

Апробация ВП в университете г. Боготы была проведена с участием 216 студентов, которые отмечали положительное и системное влияние технологии ВП на индивидуальный процесс обучения, соответствие социокультурального контекста случаев клинической практики [44]. Проверка освоенных навыков, с точки зрения студентов, качественно отличалась от обычного экзамена и усиливала мотивацию к обучению. Студенты считают виртуальных пациентов важным образовательным инструментом, особенно в

области развития врачебной логики и принятия решений.

N. Verma и соавт. (2009) в течение 2 лет изучали влияние различных способов интеграции ВП в программу клинических дисциплин на восприятие и удовлетворенность 545 студентов [32]. Опросник был валидирован, результаты обработаны факторным анализом. Студенты оценили эффективность ВП выше, чем традиционных методик. Интеграция ВП в процесс обучения прямо влияет на его эффективность и удовлетворенность студентов, может сочетаться с ликвидацией некоторых традиционных образовательных подходов. Однако, с точки зрения студентов, противопоставление e-learning традиционному обучению неконструктивно, эти подходы должны дополнять друг друга.

Исследована группа студентов, использовавших типичные случаи ВП при изучении ревматологии для обоснования врачебных решений. Студенты воспринимали ВП в связи с реальными пациентами и клиническим контекстом обучения, оценивали их как интеграцию биомедицинских знаний и клинического опыта, как помощь в структурировании имеющейся клинко-диагностической информации. Эта интеграция обеспечивала создание основы для принятия решений в слабо структурированной клинической среде в отсутствие стресса реальных действий. Наряду с этим студентам не хватало эмоционального взаимодействия с пациентами и сложности реальной работы. Эффективность интеграции в медицинское образование сложных случаев ВП зависит как от их технологических особенностей, так и от клинической ситуации [45, 46]. Среди неблагоприятных последствий использования ВП нужно упомянуть также об ограниченном контроле за распространением деперсонализированной клинко-диагностической информации, трудностях редактирования ВП, недостаточной валидности и надежности контента [13]. Принимая во внимание весьма различные реализации ВП, их использование не позволяет оценить когнитивные навыки обучающегося, а также диверсифицировать пациентов по этническим и социокультуральным признакам [47]. Затрудняет обучение отсутствие эмоционального контакта и обратной связи с виртуальным пациентом [35, 45].

ВП используются для формирования не только клинического мышления обучающихся, но и эффективной лабораторной диагностики [48]. Программное обеспечение LabCAPS было использовано для создания восьми виртуальных пациентов, среди которых были реализованы

схожие по характеристикам, но контрастные по требующимся решениям случаи, что крайне полезно для формирования у обучающихся распознавания устойчивых клинико-лабораторных паттернов. Студенты дали высокую оценку логике интерфейса ВП, его обучающему эффекту и с уверенностью дифференцировали случаи.

Если в XX в. преобладали контентные модели обучения, то сейчас они уступают место моделям разных видов активности обучающихся и преподавателей. Использование ВП предполагает активную работу обучающегося, что ожидается приводит к большей эффективности обучения [49]. Ряд активностей встроены в ВП в ходе разработки (способы получения обучающимися информации и обеспечения интерактивности); другие связаны с использованием ВП (работа в группах, самостоятельная подготовка студентов, контекст достижения разных образовательных целей), либо с включением ВП в учебную программу дисциплины [7]. Оценка роли и педагогической эффективности технологии ВП зависит от того, какие активности мы рассматриваем. Поэтому в литературе обсуждается не только технология ВП, но роли, которые эти компьютерные симуляции смогут играть в медицинском образовании будущего [50].

## ДИВЕРСИФИКАЦИЯ ВИРТУАЛЬНЫХ ПАЦИЕНТОВ

Сценарии ВП можно разделить на предопределенные конкретным завершенным случаем и направленные на решение медицинской проблемы в целом, без четко определенной последовательности действий [51]. На процесс и результат обучения с помощью ВП влияют тип сценария, количество данных и форма их представления, доступность доказательных источников, потенциал дальнейшего использования полученных компетенций в клинике. Встречаются разные варианты моделей ВП: статичные и динамичные, линейные и разветвленные, с интерактивностью и без нее. Большинство ВП сейчас реализует линейный сценарий, с возможностью для обучающегося отвечать на вопросы и принимать определенные решения [1]. Для улучшения навыков коммуникации с пациентами чаще используются статичные ВП, для навыков принятия клинических решений – динамичные [40]; разветвленные сценарии ВП предполагают высокий уровень интерактивности с обучающимся [13]. Создание компьютерной базы законченных случаев заболевания для демонстрации обучающимся эквивалентно статичным ВП без выраженной

интерактивности; создание компьютерной базы мультимедийных клинико-диагностических задач эквивалентно динамичным интерактивным ВП.

В ряде работ М. Toro-Troconis и соавт. детально исследован процесс применения ВП как игрового формата медицинского образования. С точки зрения авторов, линейный сценарий ВП больше подходит для студентов начальных курсов, а разветвленные сценарии лучше развивают когнитивные навыки будущих врачей на старших курсах [52, 53]. Пол студента не влияет на его отношение к ВП, хотя этот вопрос нужно подробнее изучить на большой выборке студентов младших курсов. Студентам рекомендуется ежедневно достаточное время проводить в этом «виртуальном мире», и они охотно выполняют задания при условии наличия времени на клиническую подготовку с реальными пациентами.

При этом использование ВП в педагогическом процессе требует серьезного методического обеспечения и руководств по игровому подходу к медицинскому образованию. Внедрение данного формата позволит поддерживать и развивать совместную работу разных специалистов в рамках одной команды, включающей, например, фармацевтов, физиотерапевтов, медицинских сестер. ВП, как цифровое геймифицированное представление реальных клинических случаев, имеют высокий образовательный потенциал для большого количества студентов, выигрыш от которого значительно превышает затраты на их разработку [53].

Предполагалось, что релевантность языка, на котором представляется виртуальный пациент, имеет большое значение. Однако коллектив сотрудников медицинского факультета румынского университета не обнаружил статистически значимых различий в способности студентов поставить корректный диагноз и составить план терапевтического лечения для четырех идентичных ВП на румынском (136 студентов) и английском (144 студента) языках. Включение в программу румынского медицинского вуза ВП на английском языке авторы считают приемлемым и экономически обоснованным вариантом глобализации медицинского образования [54].

Хотя создание виртуальных пациентов требует значительных временных и финансовых ресурсов, эта технология по соотношению затрат и педагогической эффективности имеет значительные преимущества относительно стандартизованных пациентов и других симуляционных методик. Возможности широкого распространения ВП в глобальной сети, использования в дистанционном

и непрерывном медицинском образовании делают этот подход уникальным [13, 14].

## РЕПОЗИТОРИИ ВИРТУАЛЬНЫХ ПАЦИЕНТОВ

В конце XX в. виртуальные пациенты были включены в программу экзамена USMLE, используются в образовательном процессе во всех развитых европейских странах. Эффективность ВП в медицинском образовании получила высокую оценку не только от зарубежных, но и от отечественных ученых и педагогов [55]. Несмотря на многообещающие характеристики, ВП медленно внедряются в учебные планы медицинских вузов, хотя оптимизм преподавателей и администрации сохраняется. Стоимость разработки (подготовка одного случая ВП оценивается в 10–50 тыс. долларов) является одним из лимитирующих факторов, однако расходы на организацию обучающих центров, оснащенных роботизированными манекенами, выше на несколько порядков [1].

Для расширения использования технологии виртуальных пациентов в медицинском образовании естественным является создание репозитория ВП [44]. Консорциум Aquifer объединяет производителей виртуальных пациентов; преподавателей и обучающихся, использующих эту технологию [56]. Пользователями обучающих виртуальных курсов Aquifer является большинство медицинских школ США и международные медицинские программы. База ВП этой организации имеет многопараметрическую систему поиска виртуальных пациентов в зависимости от заболевания, области здравоохранения, образовательных задач. В 2017/18 учебном году более 67 тыс. обучающихся обращались к базе ВП Aquifer около 1,4 млн раз. Систематическую работу по внедрению ВП в практику, в том числе подготовку стандарта разработки и использования ВП в образовательных целях, проводит Association of American Medical Colleges [57].

Созданные ресурсы ВП активно используются в зарубежных образовательных учреждениях. В частности, Европейской комиссией поддержан проект eViP, направленный на создание базы виртуальных пациентов и клинико-диагностических ситуационных задач [58]. В этом проекте участвуют университеты и медицинские факультеты Великобритании, Швеции, Германии, Голландии, Румынии. В рамках проекта в Университете медицины и фармации ClujNapoca (Румыния) и Каролинском университете (Швеция) разработаны компьютерные приложения для создания ВП в разных клинических областях [44, 59]. Основой

послужило программное средство, с 2005 г. используемое в университете г. Боготы (Испания), для применения ВП в медицинском образовании [60]. Данное Web-приложение позволяет создавать линейные интерактивные сценарии на основе реальных завершённых случаев.

Американской медицинской ассоциацией в 2017 г. рассмотрен вопрос об использовании виртуальных электронных записей о здоровье (EHR) в качестве платформы клинического обучения в медицинских школах [61]. В 90% медицинских практик используется EHR, но студентов и молодых врачей мало обучают этой технологии. Regenstrief Institute ведет разработку платформы EHR для клинического обучения. База виртуальных пациентов этого института включает более 10 тыс. реальных деперсонализированных случаев заболевания и представлена в собственной информационной системе [62]. Эта база используется для развития навыков клинического мышления и принятия решений у студентов более 30 образовательных медицинских учреждений США.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время доказан значительный положительный эффект технологии виртуальных пациентов в медицинском образовании и повышении квалификации врачей, продемонстрирована их экономическая эффективность в сравнении с симуляционными центрами роботизированных манекенов и использованием стандартизованных пациентов, очевидны возможности дистанционного использования ВП для формирования и совершенствования компетенций принятия клинико-диагностических решений. Настало время для создания репозитория или Web-сервиса мультимедийных ВП в рамках отечественных клинических школ для применения в системе вузовского и непрерывного медицинского образования.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Cendan J., Lok B. The use of virtual patients in medical school curricula. *Adv. Physiol. Educ.* 2012; 36 (1): 48–53. DOI: 10.1152/advan.00054.2011.
2. Poulton T., Conradi E., Kavia S., Round J., Hilton S.R. The replacement of 'paper' cases by interactive online virtual patients in problem – based learning. *Medical Teacher.* 2009; 31 (8): 752–758. DOI: 10.1080/01421590903141082.
3. Pozner Ch.N. Медицинская симуляция в США. *Медицинское образование и профессиональное развитие.* 2013; 2–3: 83–100.
4. Горшков М.Д., Мороз В.В., Евдокимов Е.А. Симуляционное обучение по анестезиологии и реаниматологии. М: РОСОМЕД, 2014: 312.

5. Толмачев И.В., Рипп Е.Г., Тропин С.В., Карпушкина Е.В., Цверова А.С. Разработка информационной модели клинических сценариев на базе обучающего симуляционного центра. *Бюллетень сибирской медицины*. 2014; 13 (4): 118–122. DOI: 10.20538/1682-0363-2014-4-118-122.
6. Harless W., Drennon G., Marxer J., Root J., Miller G. CASE: a computer-aided simulation of the clinical encounter. *J. Med. Educ.* 1971; 46 (5): 443–448.
7. Ellaway R.H., Davies D. Design for learning: deconstructing virtual patient activities. *Med. Teach.* 2011; 33 (4): 303–310. DOI: 10.3109/0142159X.2011.550969.
8. Cook D., Erwin P., Triola M. Computerized virtual patients in health professions education: a systematic review and meta-analysis. *Academic Medicine*. 2010; 85 (10): 1589–1602. DOI: 10.1097/ACM.0b013e3181edfe13.
9. Huwendiek S., Reichert F., Bosse H.-M., DeLeng B.A., Van Der Vlueten C., Haag M., Hoffman G.F., Tцnshoff B. Design principles for virtual patients: A focus group study among students. *Med. Educ.* 2009; 43 (6): 580–588. DOI: 10.1111/j.1365-2923.2009.03369.x.
10. Poulton T., Balasubramaniam C. Virtual patients: A year of change. *Med. Teach.* 2011; 33 (11): 933–937. DOI: 10.3109/0142159X.2011.613501.
11. Posel N., Shore B.M., Fleischer D. Virtual patient cases: a qualitative study of the requirements and perceptions of authors. *Int. J. Med. Educ.* 2012; 3: 175–182. DOI: 10.5116/ijme.5038.a1e1.
12. Kononowicz A.A., Zary N., Edelbring S., Corral J., and Hege I. Virtual patients – what are we talking about? A framework to classify the meanings of the term in healthcare education. *BMC Med. Educ.* 2015; 15: 11. DOI: 10.1186/s12909-015-0296-3.
13. Hege I., Kononowicz A., Tolks D., Edelbring S., Kublmeier K. A qualitative analysis of virtual patient descriptions in healthcare education based on a systematic literature review. *BMC Med. Educ.* 2016; 16: 146. DOI: 10.1186/s12909-016-0655-8.
14. Cook D.A., Triola M.M. Virtual patients: a critical literature review and proposed next steps. *Med. Educ.* 2009; 43 (4): 303–311. DOI: 10.1111/j.1365-2923.2008.03286.x.
15. Srinivasan M., Wilkes M., Stevenson F., Nguyen T., Slavin S. Comparing problem-based learning with case-based learning: Effects of a major curricular shift at two institutions. *Academic Medicine*. 2007; 82 (1): 74–82. DOI: 10.1097/01.ACM.0000249963.93776.aa.
16. Лалов Ю.В., Осадчук О.А. Формирование профессионального мышления у будущих врачей посредством кейс-метода обучения. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2016; 2-2: 302–305.
17. Кобринский Б.А., Путинцев А.Н. О принципах построения интеллектуальных медицинских обучающих систем на основе case-метода. *Искусственный интеллект и поддержка принятия решений*. 2016; 2: 30–37.
18. Гаранина Р.М., Гаранин А.А. Возможности и перспективы применения метода кейс-анализа в подготовке врачей клинических специальностей. *Медицинское образование и профессиональное развитие*. 2016; 4 (26): 39–48.
19. Путинцев А.Н., Алексеев Т.В. Кейс-метод в медицинском образовании: современные программные продукты. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2016; 12 (9): 1655–1659.
20. Агранович Н.В., Бабашева Г.Г., Агранович О.В., Зеленский В.А. Использование компьютерных обучающих программ в преподавании клинических дисциплин в медицинском вузе в рамках подготовки студентов к профессиональной деятельности в современных условиях. *Здоровье и образование в XXI веке*. 2016; 18 (5): 31–34.
21. Алимов Д.В., Гулиев Я.И., Зарубина Т.В., Комаров С.И., Потапова И.И., Раузина С.Е. Использование учебной версии интегрированной медицинской информационной системы в образовательном процессе. *Врач и информационные технологии*. 2013; 6: 34–41.
22. Карась С.И., Корнева И.О., Аржаник М.Б., Семенова О.А., Черникова Е.В., Урнева О.В., Гречишниковая А.Ю. Роль и перспективы использования информационно-коммуникационных технологий в формировании врачебных компетенций. *Врач и информационные технологии*. 2018; 4: 46–58.
23. Карась С.И., Колганов С.О. Web-сервис формирования клиничко-диагностических компетенций студентов и врачей в системе непрерывного медицинского образования. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2019614701, 2019.
24. Карась С.И., Колганов С.О. База данных виртуальных пациентов для сервиса формирования клиничко-диагностических компетенций студентов и врачей в системе непрерывного медицинского образования. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2019620554, 2019.
25. Пономарев А.В. Виртуальное моделирование профессиональных задач в стоматологическом образовании. *Вестник Санкт-Петербургского университета*. 2011; 4: 127–139.
26. Грибова В.В., Петряева М.В., Окунь Д.Б., Краснов Д.А., Островский Г.Е. Программная оболочка для создания интеллектуальных систем в практической и образовательной медицине. *Информатика и системы управления*. 2017; 4 (54): 114–124. DOI: 10.22250/isu.2017.54.114-124.
27. Муравьев К.А., Ходжаян А.Б., Рой С.В. Симуляционное обучение в медицинском образовании – переломный момент. *Фундаментальные исследования*. 2011; 10–3: 534–537.
28. Kononowicz A., Hege I. Virtual patients as a practical realisation of the e-learning idea in medicine. in: e-learning experiences and future. Ed. by Safeeullah Soomro: IntechOpen, 2010: 345–370. DOI: 10.5772/8803.

29. Lee R., Kwan C.Y. The use of problem-based learning in medical education. *J. Med. Education*. 1997; 1: 149–158.
30. Ellaway R.H., Poulton T., Jivram T. Decision PBL: a 4-year retrospective case study of the use of virtual patients in problem – based learning. *Med. Teach*. 2015; 37 (10): 926–934. DOI: 10.3109/0142159 X.2014.970627.
31. Savery J.R. Overview of problem-based learning: definitions and distinctions. *Interdisciplinary Journal of Problem-Based Learning*. 2006; 1 (1). DOI: 10.7771/1541-5015.1002.
32. Berman N., Fall L.H., Smith S., Levine D.A., Maloney C.G., Potts M., Siegel B., Foster-Johnson L. Integration strategies for using virtual patients in clinical clerkships. *Acad. Med*. 2009; 84 (7): 942–949. DOI:10.1097/ACM.0b013e3181a8c668.
33. Hege I., Kononowicz A.A., Berman N.B., Kiesewetter J. Advancing clinical reasoning in virtual patients – development and application of a conceptual framework. *GMS J. Med. Educ*. 2018; 35 (1): Doc12. DOI: 10.3205/zma001159.
34. Doloca A., Țanculescu O., Ciongradi I., Trandafir L.M., Stoleriu S., Ifteni G. Comparative study of virtual patient applications. *Proc. of the Romanian Academy, Series A*. 2015; 16 (3): 466–473.
35. Bateman J., Allen M., Kidd J., Davies D. Virtual patient design: exploring what works and why. A grounded theory study. *Med. Educ*. 2013; 4 (6): 595–606. DOI: 10.1111/medu.12151.
36. Begg M. Virtual patients: practical advice for clinical authors using Labyrinth. *Clinical Teacher*. 2010; 7 (3): 202–205. DOI: 10.1111/j.1743-498X.2010.00382.x.
37. Posel N., McGee J.B., Fleiszer D.M. Twelve tips to support the development of clinical reasoning skills using virtual patient cases. *Medical Teacher*. 2015; 37 (9): 813–818. DOI: 10.3109/0142159X.2014.993951.
38. Huwendiek S., de Leng B.A. Virtual patient design and curricular integration evaluation toolkit. *Med. Educ*. 2010; 44 (5): 519. DOI: 10.1111/j.1365-2923.2010.03665.x.
39. Consorti F., Mancuso R., Nocioni M. et al. Efficacy of virtual patients in medical education: A meta-analysis of randomized studies. *Computers & Education*. 2012; 59 (3): 1001–1008. DOI: 10.1016/j.compedu.2012.04.017.
40. Saleh N. The value of virtual patients in medical education. *Annals of Behavioral Science and Medical Education*. 2010; 16 (2): 29–31. DOI: 10.1007/BF03355129.
41. Schauber S.K., Hecht M., Nouns Z.M., Dettmer S. On the role of biomedical knowledge in the acquisition of clinical knowledge. *Medical Education*. 2013; 47 (12): 1223–1235. DOI: 10.1111/medu.12229.
42. Klemenc-Ketis Z., Cagran B., Dinevsky D. Evaluating the difference between virtual and paper-based clinical cases in family medicine undergraduate education. *Advances in Medicine*. 2018: Article ID 1408450. DOI: 10.1155/2018/1408450.
43. Murphy S., Imam B., Whitehouse L. Twelve Tips for Utilizing Virtual Patients to Teach Professionalism. *Med. Ed. Publish*. 2016; 5 (3): 21. DOI: 10.15694/mep.2016.000107.
44. Botezatu M., Hult H., Fors U.G. Virtual patient simulation: What do students make of it? A focus group study. *BMC Med. Educ*. 2010; 10: 91. DOI: 10.1186/1472-6920-10-91.
45. Edelbring S., Dastmalchi M., Hult H., Lundberg I.E., Dahlgren L.O. Experiencing virtual patients in clinical learning: a phenomenological study. *Adv. Health Sci. Educ*. 2011; 16 (3): 331–345. DOI: 10.1007/s10459-010-9265-0.
46. Poulton T., Ellaway R.H., Round J., Kavia S., Hilton S. Exploring the efficacy of replacing linear paper - based patient cases in problem-based learning with dynamic web-based virtual patients: randomized trial. *J. Med. Internet Res*. 2014; 16 (11): e240. DOI: 10.2196/jmir.3748.
47. Ellaway R., Poulton T., Fors U., McGee G.B., Albright S. Building a virtual patient commons. *Med. Teach*. 2008; 30 (2): 170–174. DOI: 10.1080/01421590701874074.
48. Kreiter C.D., Haugen T., Leaven T., Goerdts C., Rosenthal N., McGaghie W.C., Dee F. A report on the piloting of a novel computer-based medical case simulation for teaching and formative assessment of diagnostic laboratory testing. *Medical Education Online*. 2011; 16: 5646. DOI: 10.3402/meo.v16i0.5646.
49. Kolb D.A., Fry R.E. Toward an Applied Theory of Experiential Learning. In: C. Cooper (ed.) *Theories of group processes*. NY: J. Wiley and Sons, 1975.
50. Berman N.B., Durning S.J., Fischer M.R., Huwendiek S., Triola M.M. The role for virtual patients in the future of medical education. *Acad. Med*. 2016; 91 (9): 1217–1222. DOI: 10.1097/ACM.0000000000001146.
51. Bearman M. Is virtual the same as real? Medical students' experiences of a virtual patient. *Acad. Med*. 2003; 78 (5): 538–545. DOI: 10.1097/00001888-200305000-00021.
52. Toro-Troconis M., Mellström U., Partridge M.R., Meeran K., Barrett M., Higham J. 'Designing game-based learning activities for virtual patients in Second Life. *J. Cyber Therapy & Rehabilitation*. 2008; 1 (3): 227–239.
53. Toro-Troconis M.M., Kamat A., Partridge M.R. Design and development of a component-based system for virtual patients in the virtual world of second life. *Journal of Emerging Technologies in Web Intelligence*. 2011; 3 (4): 308–316.
54. Muntean V., Calinici T., Tigan S., Fors U. Language, culture and international exchange of virtual patients. *BMC Medical Education*. 2013. 13: 21. DOI: 10.1186/1472-6920-13-21.
55. Логвинов Ю.И., Ющенко Г.В., Орловская А.И. Оценка эффективности обучения с использованием симуляционных технологий. *Мед. образование и проф. развитие*. 2018; 1 (31): 86–105.
56. Aquifer (MedU): resource for advancing clinical teaching and learning. URL: <https://www.aquifer.org> (25.06.2019).
57. ANSI/MEDBIQ LO.10.1-2008 Healthcare Learning Object Metadata Specifications and Description Document. URL: [https://www.medbiq.org/working\\_groups/](https://www.medbiq.org/working_groups/)

- learning\_objects/HealthcareLOMSpecification.pdf (25.06.2019).
58. Electronic Virtual Patients: resource for clinical training. URL: <http://www.virtualpatients.eu> (25.06.2019).
59. Calinici T., Muntean V. Open labyrinth – a web application for medical education using virtual patients. *Applied Medical Informatics Original Research*. 2010; 27 (4): 15 URL: 20.
60. Zary N., Johnson G., Boberg J., Fors U. Development, implementation and pilot evaluation of a Web-based virtual patient case simulation environment – Web-SP. *BMC Med. Educ.* 2006; 6: 10. DOI: 10.1186/1472-6920-6-10.
61. AMA Innovations in Medical Education Webinar Series: Implementing a Teaching Virtual EHR as a Clinical Learning Platform. URL: <https://www.ama-assn.org/sites/ama-assn.org/files/corp/media-browser/public/ace/teach-virtual-ehr.pdf> (25.06.2019).
62. The Regenstrief EHR Clinical Learning Platform. URL: <https://www.regenstrief.org/resources/clinical-learning> (25.06.2019).

---

## Сведения об авторе

Карась Сергей Иосифович, д-р мед. наук, доцент, зав. отделом координации научной и образовательной деятельности, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ; профессор, кафедра медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Карась Сергей Иосифович, e-mail: [ksi@cardio-tomsk.ru](mailto:ksi@cardio-tomsk.ru).

Поступила в редакцию 04.07.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Анализ эпидемиологических исследований взаимосвязи холангиокарциномы и печеночных трематодозов

Ковширина А.Е.<sup>1</sup>, Федорова О.С.<sup>1</sup>, Ковширина Ю.В.<sup>1</sup>, Онищенко С.В.<sup>2</sup>, Таслицкий С.С.<sup>3</sup>, Катаныхова Л.Л.<sup>2</sup>, Чижиков А.В.<sup>4</sup>, Татауров И.А.<sup>5</sup>, Огородова Л.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> Сургутский государственный университет (СурГУ)  
Россия, 628403, г. Сургут, пр. Ленина, 1

<sup>3</sup> Сургутская окружная клиническая больница  
Россия, 628408, г. Сургут, ул. Энергетиков, 14

<sup>4</sup> Ханты-Мансийская государственная медицинская академия  
Россия, 628011, г. Ханты-Мансийск, ул. Мифа, 40

<sup>5</sup> Окружная клиническая больница  
Россия, 628012, г. Ханты-Мансийск, ул. Калинина, 40

### РЕЗЮМЕ

Согласно официальной медицинской статистике, случаи инвазии, вызываемые печеночными трематодами *Opisthorchis felineus*, *Opisthorchis viverrini* и *Clonorchis sinensis*, ежегодно регистрируются как в регионах Юго-Восточной Азии, так и в европейских странах, в Российской Федерации, являясь причиной заболеваний органов пищеварительной системы у населения эндемичных регионов.

**Цель обзора** – анализ результатов эпидемиологических исследований, посвященных оценке взаимосвязи злокачественных новообразований гепатобилиарной системы и печеночных трематодозов, вызванных гельминтами семейства Opisthorchiidae.

Изучены оригинальные исследования, опубликованные за период 1974–2019 гг. и размещенные в базах данных MEDLINE и научной электронной библиотеки eLIBRARY. Проведенные исследования свидетельствуют, что холангиокарцинома является значимой медико-социальной проблемой в эндемичных по трематодозам регионах Юго-Восточной Азии ввиду отсутствия специфических симптомов, длительного бессимптомного течения, резистентности к терапии и высокой смертности пациентов. Длительная персистенция в организме печеночных трематод *Opisthorchis viverrini* и *Clonorchis sinensis* ассоциирована со значительным риском развития холангиоцеллюлярного рака. Требуется проведение эпидемиологического многоцентрового исследования для установления взаимосвязи инвазии *Opisthorchis felineus* и холангиокарциномы у населения эндемичных регионов Российской Федерации.

**Ключевые слова:** холангиокарцинома, *Opisthorchis viverrini*, *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis felineus*, рак печени, обзор, эпидемиологическое исследование.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант «Разработка алгоритма ранней диагностики злокачественных новообразований гепатобилиарного тракта, ассоциированных с инвазией *Opisthorchis felineus*, у населения эндемичных регионов», договор от 22.04.2019, № 19-415-703013\19.

✉ Федорова Ольга Сергеевна, e-mail: olga.sergeevna.fedorova@gmail.com.

Для цитирования: Ковширина А.Е., Федорова О.С., Ковширина Ю.В., Онищенко С.В., Таслицкий С.С., Катанакхова Л.Л., Чижиков А.В., Татауров И.А., Огородова Л.М. Анализ эпидемиологических исследований взаимосвязи холангиокарциномы и печеночных трематодозов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 150–159. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-150-159>.

## Association between cholangiocarcinoma and liver flukes: review of epidemiological studies

Kovshirina A.E.<sup>1</sup>, Fedorova O.S.<sup>1</sup>, Kovshirina Y.V.<sup>1</sup>, Onishchenko S.V.<sup>2</sup>, Taslicki S.S.<sup>3</sup>, Katanakhova L.L.<sup>2</sup>, Chizhikov A.V.<sup>4</sup>, Tataurov I.A.<sup>5</sup>, Ororodova L.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup> Surgut State University  
1, Lenin Av., Surgut, 628403, Russian Federation

<sup>3</sup> Surgut Regional Clinical Hospital  
14, Energetikov Str., Surgut, 628403, Russian Federation

<sup>4</sup> Khanty-Mansiysk Medical Academy  
40, Mira Str., Khanty-Mansiysk, 628011, Russian Federation

<sup>5</sup> Regional Clinical Hospital  
40, Kalinina Str., Khanty-Mansiysk, 628012, Russian Federation

### ABSTRACT

According to official medical statistics, liver fluke infections caused by *Opisthorchis felineus*, *Opisthorchis viverrini* and *Clonorchis sinensis*, are reported annually in the Southeast Asia, European countries and the Russian Federation. These infections are the main cause of digestive system diseases in the population of endemic regions. The aim of the review is to analyze the findings of epidemiological studies and to assess the relationship between liver and bile duct cancer and Opisthorchiidae liver fluke infections.

**Materials and methods.** The authors reviewed original studies published in 1974–2019 via the MEDLINE databases and the eLIBRARY scientific digital library.

**Results.** The studies have shown that cholangiocarcinoma is a significant medical and social problem in the trematode-endemic areas of Southeast Asia due to the absence of specific symptoms, long asymptomatic course, resistance to therapy and high mortality of patients. Long-term infection caused by trematodes *Opisthorchis viverrini* and *Clonorchis sinensis* is associated with a significant risk of developing cholangiocellular cancer. An epidemiological multicenter study is required to establish the relationship between the *Opisthorchis felineus* infection and cholangiocarcinoma in the population of endemic regions in the Russian Federation.

**Key words:** cholangiocarcinoma, *Opisthorchis viverrini*, *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis felineus*, liver cancer, review, epidemiological study.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research grant No. 19-415-703013\19 (22.04.2019) «Development of preclinical diagnostic tools of hepatobiliary tumors associated with *Opisthorchis felineus* infection in population of endemic regions».

**For citation:** Kovshirina A.E., Fedorova O.S., Kovshirina Y.V., Onishchenko S.V., Taslicki S.S., Katanakhova L.L., Chizhikov A.V., Tataurov I.A., Ororodova L.M. Association between cholangiocarcinoma and liver flukes: epidemiological studies review. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 150–159. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-150-159>.

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время гельминтозы распространены во многих странах мира, причиняя значительный медико-социальный ущерб [1]. Согласно официальной медицинской статистике, случаи инвазии, вызываемые печеночными трематодами *Opisthorchis felinus* (*O. felinus*), *Opisthorchis viverrini* (*O. viverrini*) и *Clonorchis sinensis* (*C. sinensis*), ежегодно регистрируются как в гиперэндемичных регионах Юго-Восточной Азии (Таиланд, Вьетнам, Китай, Корея), так и в европейских странах (Греция, Италия, Испания, Португалия, Германия, Польша), являясь причиной заболеваний органов пищеварительной системы у 40 млн человек [2–5]. При этом более 600 млн человек ежегодно подвержены риску заражения [6–8].

Международное агентство по изучению рака Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) включило печеночных трематод *O. viverrini* и *C. sinensis* в реестр биологических канцерогенов, основываясь на результатах исследований, проведенных в Юго-Восточной Азии, продемонстрировавших взаимосвязь между инвазией *O. viverrini*, *C. sinensis* и холангиокарциномой (ХК) [9–11].

Холангиокарцинома является одним из наиболее неблагоприятных в отношении прогноза злокачественным новообразованием [12]. Наибольшая заболеваемость раком желчных протоков наблюдается в северо-восточном Таиланде, а также Китае и Южной Корее [13–15].

В Российской Федерации остается актуальным изучение проблемы печеночного трематодоза, вызываемого *O. felinus*, и ассоциированных с ним хронических заболеваний. За последние 20 лет отмечается значительный рост уровня заболеваемости описторхозом в эндемичных регионах Западной Сибири, а также распространение инвазии в ряде других регионов благодаря усилению миграции населения [16, 17].

Цель настоящего обзора – провести анализ результатов эпидемиологических исследований, посвященных оценке взаимосвязи злокачественных новообразований гепатобилиарной системы и печеночных трематодозов.

## ИСТОЧНИКИ ДАННЫХ

Авторами проведен анализ эпидемиологических исследований, посвященных изучению взаимосвязи злокачественных новообразований гепатобилиарной системы и печеночных трематодозов, вызванных гельминтами семейства *Opisthorchiidae* (*C. sinensis*, *O. viverrini* и *O. felinus*),

из числа публикаций в базах данных MEDLINE через электронно-поисковую систему PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) и научной электронной библиотеки eLIBRARY (<https://elibrary.ru/>). В обзоре использованы оригинальные статьи, опубликованные за период с 1 января 1974 по 31 декабря 2019 г., сгруппированные по следующему алгоритму.

### Предварительный поиск по ключевым словам.

Для поиска зарубежных публикаций в базе данных PubMed использовали ключевые слова: epidemiological study, *Opisthorchis viverrini* infection, *Clonorchis sinensis* infection, *Opisthorchis felinus* infection, cholangiocarcinoma, liver cancer, malignant diseases; в электронной библиотеке eLIBRARY: эпидемиологическое исследование, холангиокарцинома, инвазия *Opisthorchis viverrini*, инвазия *Clonorchis sinensis*, инвазия *Opisthorchis felinus*, рак печени. Также поиск исследований, соответствующих перечисленным терминам, проводили среди списков литературы и ссылок в выбранных публикациях. Изучено 889 публикаций из PubMed и четыре из научной электронной библиотеки eLIBRARY.

*Анализ тезисов (резюме) отобранных публикаций.* На данном этапе исключены экспериментальные исследования, обзорные публикации, не являющиеся эпидемиологическими исследованиями, а также статьи с отсутствием требуемых данных в тексте абстракта. Проанализировано 374 публикации, из них отобрано 48.

*Анализ полнотекстовых публикаций.* Критериями включения являлось наличие у публикации следующих признаков: оригинальное эпидемиологическое исследование, полнота описания схемы исследования, включая численность и характеристику выборки, критерии отбора; открытый доступ к полному тексту статьи; соблюдение критериев постановки диагноза «холангиокарцинома» (гистологическое исследование опухоли); описание диагностического метода верификации инвазии. Критериями исключения было отсутствие требуемых данных в тексте статьи (объем выборки, описание метода диагностики ХК и описторхоза). По результатам отбора в настоящий обзор включено 14 полнотекстовых публикаций, отвечающих критериям включения.

## ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХОЛАНГИОКАРЦИНОМЫ

Холангиокарцинома представляет собой гетерогенную группу опухолей печени с поражением внутри- и (или) внепеченочных желчных протоков и высокой смертностью вследствие ее агрес-

сивности, отсутствием специфических симптомов и (или) длительного бессимптомного течения и резистентности к терапии [12, 13, 18]. ХК всех типов представляет собой второй тип опухолей печени по частоте распространенности и смертности от рака, составляет около 3% всех новообразований органов пищеварительной системы. Заболеваемость увеличивается с возрастом, женщины заболевают ХК чаще мужчин [19, 20].

Согласно анатомической классификации, холангиокарциномы делятся на внутривнутрипеченочные, перихилярные и дистальные. Считается, что внутривнутрипеченочные ХК составляют около 10% случаев первичного рака печени, среди ХК на опухоль Клацкина приходится 50% случаев, из них на опухоли дистальной локализации – 40%, внутривнутрипеченочное поражение встречается в 10% случаев. ХК обладает неблагоприятным прогнозом, медиана выживаемости – 24 мес. Единственными методами лечения остаются химиотерапия I линии (гемицитабин, цисплатин) и II линии (оксалиплатин, фторурацил по схеме FOLFOX), таргетная терапия пембролизумабом при наличии MSI-H/dMMR и(или) оперативное вмешательство на ранних стадиях заболевания [21–23].

Заболеваемость ХК в мире ежегодно составляет около 5,9 случая на 100 тыс. населения. Лидирующие показатели регистрируются в Северном Таиланде (более 80 на 100 тыс.), Китае (более 7,5 на 100 тыс.) и Южной Корее (более 8 на 100 тыс.). Показатели заболеваемости ХК в странах Европы и Америки не превышают 0,7–3,36 и 0,3–1,67 на 100 тыс. соответственно [24].

Средний показатель заболеваемости ХК в РФ составляет около 4,8 на 100 тыс. ежегодно. Согласно данным официальной медицинской статистики за 2011–2013 г., в Российской Федерации наиболее высокая заболеваемость ХК отмечена в Республике Саха (Якутия) и Томской области (14,5 и 9,3 на 100 тыс. населения соответственно) [17, 25].

Важно отметить, что в странах Европы, Америки и Африки преобладает гистологический тип рака печени – гепатоцеллюлярная карцинома, тогда как в регионах, эндемичных по печеночным трематодозам, – холангиоцеллюлярный рак (более 80 на 100 тыс. в Северном Таиланде) [26]. Наиболее высокая заболеваемость гепатокарциномой (более 20 на 100 тыс.) регистрируется в Китае, Монголии, Юго-Восточной Азии, а также в странах Западной и Восточной Африки, расположенных южнее пустыни Сахара [12, 26].

ХК относится к мультифакторным заболеваниям, в развитии которого принимают участие

генетические, инфекционные, экологические, эпидемиологические факторы риска. Также значимыми факторами риска являются первичный склерозирующий холангит / язвенный колит, хронические вирусные гепатиты С и В, носительство вируса Эпштейна – Барр, неалкогольная жировая болезнь печени, холелитиаз и (или) мальформации билиарной системы, отложения рентгеноконтрастных веществ (торотраст) в желчных протоках [27, 28]. Существуют экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что индуктором канцерогенеза в желчных протоках может послужить N-динитрозодиметиламин [29, 30].

Одним из наиболее важных значимых факторов риска ХК является длительная персистенция в организме печеночных трематод *O. viverrini* и *S. sinensis*, включенных в реестр биологических канцерогенов I-й группы с доказанной онкогенностью для людей на основании результатов исследований, проведенных в Юго-Восточной Азии [11]. Согласно отчету Международного агентства по изучению рака ВОЗ (2019), *O. felineus* по-прежнему остается биологическим агентом с недоказанной канцерогенностью для людей (группа 3) ввиду недостаточного количества значимых эпидемиологических многоцентровых исследований [31–34].

## АССОЦИАЦИЯ ХОЛАНГИОКАРЦИНОМЫ И ИНВАЗИИ *O. VIVERRINI*

Нами проанализировано восемь полнотекстовых публикаций, касающиеся эпидемиологической взаимосвязи ХК и инвазии *O. viverrini* (таблица). Инвазия, вызываемая печеночной трематодой *O. viverrini*, является значимой проблемой общественного здравоохранения стран бассейна р. Меконг в Юго-Восточной Азии – Таиланда, Лаосской Народно-Демократической Республики, Вьетнама и Камбоджи [35–37]. Согласно данным официальной медицинской статистики, Таиланд (северо-восточная провинция) занимает лидирующее положение по распространенности инвазии *O. viverrini*, где не менее 6 млн населения поражены гельминтозом. Там же регистрируются самые высокие показатели заболеваемости раком желчных протоков, холангиокарциномой (более 90 на 100 тыс. у мужчин, 38,3 на 100 тыс. у женщин) [14, 38–40].

Первое значимое исследование, выполненное в Северном Таиланде (см. таблицу), продемонстрировало, что у пациентов с инвазией *O. viverrini* (по результатам микроскопии образцов стула и (или) желчи) частота диагностики ХК статистически значимо выше, чем у неинвазированных лиц [41].

В ходе исследования «случай – контроль», проведенного в 1987–1988 гг., обнаружена статистически значимая ассоциация между ХК и наличием антител к *O. viverrini* в сыворотке крови. Результаты продемонстрировали, что больший риск развития ХК имеют мужчины, а также участники (преимущественно женщины), регулярно употреблявшие специи, содержащие бетель. Возможный механизм заключается в повышенном воздействии нитрозаминов [42].

В ходе исследования «случай – контроль», проведенного в 1990–1991 гг. в 85 сельских населенных пунктах северо-восточного Таиланда, 12 311 человек в возрасте 24 лет и старше обследованы на предмет интенсивности инвазии *O. viverrini* (микроскопия образцов стула). Проводили ультразвукографию гепатобилиарной системы у индивидов с разной интенсивностью инвазии, в ходе которой у 15 пациентов диагностирована ХК. Наиболее высокая распространенность ХК наблюдалась в группе с максимальной интенсивностью инвазии *O. viverrini* [43].

Популяционное исследование «случай – контроль», проведенное в 1999–2001 гг., продемонстрировало, что повышение уровня антител к *O. viverrini* было самым значимым фактором риска ХК. У участников, употреблявших ферментированную рыбу и алкоголь, а также курящих, риск возрастал. Роль алкоголя в канцерогенезе может объясняться его влиянием на метаболические пути эндогенных и экзогенных нитрозаминов [44].

Исследование в дизайне «случай – контроль», проведенное в рамках когортного исследования в 1990–2001 гг., показало статистически значимую взаимосвязь между развитием ХК и обнаружением яиц *O. viverrini* в образцах стула. Также установлено, что у лиц, употреблявших овощи и фрукты 3–4,6 раза в день, риск ХК был значимо ниже, а при употреблении мяса чаще 0,45 раза в день был достоверно выше [45].

Исследование «случай – контроль», проведенное в 1999–2001 гг., показало возрастание риска ХК у пациентов с повышением уровня антител к *O. viverrini* и инфицированием хроническим вирусным гепатитом В и (или) С [46].

В ходе исследования «случай – контроль», проведенного в 2011 г., установлено, что использование в пищу сырой пресноводной рыбы и мясных субпродуктов, а также злоупотребление алкоголем увеличивали риск развития ХК, в то время как потребление фруктов и (или) овощей его снижало. Установлена взаимосвязь между снижением экспрессии гена *MTHFR* и употреблением пресноводной рыбы, зараженной *O. viverrini*, и

мяса. Данные продукты также являются источниками нитрозаминов, фолатов и антиоксидантов, которые совместно с инвазией *O. viverrini* могут играть важную роль в канцерогенезе [47].

В исследовании «случай – контроль», проведенном в 2009–2012 гг., повторно получены данные о возрастании риска ХК у пациентов с отягощенным наследственным онкологическим анамнезом и повышением уровня иммуноглобулинов класса G к *O. viverrini*. Употребление алкоголя более 3 раз в неделю и недостаточно термически обработанного мяса (говядина, свинина) также связано с повышением риска ХК [48].

Важно отметить, что, по данным департамента здравоохранения США, более 700 ветеранам войны во Вьетнаме установлен диагноз ХК за последние 15 лет. При исследовании 50 образцов сыворотки крови в 20% из них обнаружены антитела к *O. viverrini*. Заражение могло произойти при употреблении сырой или недостаточно термически обработанной речной рыбы в годы пребывания в эндемичном регионе Юго-Восточной Азии. Многолетнее бессимптомное течение инвазии привело к развитию рака желчных протоков, диагностированного на последней стадии заболевания [49, 50].

## АССОЦИАЦИЯ ХОЛАНГИОКАРЦИНОМЫ И ИНВАЗИИ *S. SINENSIS*

Нами проанализировано шесть полнотекстовых публикаций, касающиеся эпидемиологической взаимосвязи ХК и инвазии *S. sinensis* (см. таблицу). Согласно данным официальной статистики, инвазия печеночной трематодой *S. sinensis* наиболее распространена в Китае, Тайване, Корее, Японии, Вьетнаме. В Азии это самый распространенный человеческий трематодоз: более 15 млн человек инфицированы, а 200 млн подвержены постоянному риску заражения [51]. Самая высокая заболеваемость регистрируется в Китае – около 13 млн человек, что составляет 85% от общего числа случаев [52, 53].

Первые значимые эпидемиологические исследования, выполненные в Южной Корее (см. таблицу), показали увеличение риска развития ХК у пациентов с положительным *S. sinensis* статусом [54, 55]. Исследование «случай – контроль», проведенное в 1990–1993 гг., показало, что обнаружение яиц *S. sinensis* в кале и злоупотребление алкоголем являются наиболее значимыми факторами риска ХК [56].

По данным исследования «случай – контроль», проведенного в 2000–2004 гг. в г. Сеуле, инвазия *S. sinensis* является значимым фактором риска

для развития внутрипеченочной ХК. Повышают риск развития ХК также вирусный гепатит В, цирроз печени, злоупотребление алкоголем, сахарный диабет, холелитиаз и кисты холедоха [57].

В ходе исследования «случай – контроль», проведенного в 2003–2004 гг. в том же регионе, обнаружено, что употребление в пищу сырой пресноводной рыбы и положительный серологическое исследование на *C. sinensis* связаны с повышенным риском ХК. Значимыми факторами риска для дистальной внепеченочной ХК являются рентгенологические признаки *C. sinensis* и употребление в пищу сырой пресноводной рыбы в анамнезе [58].

В исследовании «случай – контроль», проведенном в 2011 г. в Китае, выявлена ассоциация между внутрипеченочной ХК и инвазией *C. sinensis*, а также холелитиазом хроническим вирусным гепатитом В и циррозом печени [15].

## АССОЦИАЦИЯ ХОЛАНГИОКАРЦИНОМЫ И ИНВАЗИИ *O. FELINEUS*

В настоящее время в РФ не проведено значимых эпидемиологических многоцентровых исследований, позволяющих установить взаимосвязь между ХК и инвазией *O. felineus*. Согласно пилотным данным анализа официальной медицинской статистики, заболеваемость раком печени и желчных протоков в России составляет около 4,8 случая на 100 тыс. населения ежегодно. Проведенное нами пилотное аналитическое исследование официальных данных медицинской статистики во всех субъектах Российской Федерации за период 2011–2013 гг. продемонстрировало статистически значимую зависимость между показателями заболеваемости инвазией *O. felineus* и злокачественными новообразованиями гепатобилиарной системы. Так, заболеваемость онкопатологией гепатобилиарной зоны статистически значимо выше в субъектах с высоким уровнем поражения населения описторхозом ( $\geq 50$  случаев на 100 тыс.) [17].

В настоящее время опубликованы результаты ряда отечественных исследований, выполненных

на основании материалов аутопсий и хирургических протоколов, отражающих канцерогенный потенциал *O. felineus*. Так, из 1 170 пациентов, проходивших обследование и лечение по поводу различных хирургических осложнений описторхоза в Томском зональном гепатологическом центре за период 1980–2000 гг., у 13% ( $n = 152$ ) выявлен рак органов гепатопанкреатодуоденальной области: печени и желчных протоков (61 пациент), желчного пузыря (15 пациентов), большого дуоденального сосочка (10 больных) и поджелудочной железы (66 больных) [34]. При исследовании материалов аутопсий 44 умерших в результате онкологического заболевания печени в 80% случаев установлена ХК, в 20% – гепатоцеллюлярная карцинома [59].

В 2019 г. опубликованы два случая ХК у пациентов с хроническим описторхозом, вызванным трематодой *O. felineus*. В обоих случаях пациенты в течение многих лет проживали в эндемичном по инвазии регионе, занимались рыболовством и употребляли сырую и недостаточно термически обработанную рыбу семейства карповых. Пациентам ранее выставлен диагноз инвазии *O. felineus*, но лечение празиквантелом они не получали. Оба пациента имели неспецифические симптомы при клинической манифестации ХК на стадии, когда уже произошли серьезные патологические изменения, и умерли в результате полиорганной недостаточности в течение 6 мес после верификации диагноза ХК [60].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, печеночные трематоды *O. viverrini* и *C. sinensis* ассоциированы с развитием холангиоцеллюлярного рака и являются значимыми биологическими канцерогенами. *O. felineus* по-прежнему остается биологическим агентом с недоказанной канцерогенностью для человека в связи с отсутствием эпидемиологических данных. Однако существующие экспериментальные и клинические данные свидетельствуют о значительном канцерогенном потенциале трематоды *O. felineus*.

Т а б л и ц а

Эпидемиологические исследования, оценивающие риск развития холангиокарциномы на фоне инвазии *O. viverrini* и *C. sinensis*

Автор, год	Страна	Дизайн исследования	Численность выборки, $n$	Риск развития ХК
Исследование инвазии <i>O. viverrini</i>				
Kurathong и соавт., 1985 [41]	Таиланд	Случай – контроль	551	OR = 1,21 95% CI: 0,36–4,06
Parkin и соавт., 1991 [42]	Таиланд	Случай – контроль	206	OR = 5,0

Окончание табл.

Автор, год	Страна	Дизайн исследования	Численность выборки, <i>n</i>	Риск развития ХК
Haswell-Elkins и соавт., 1994 [43]	Таиланд	Одномоментное	12 311	OR =14,1
Honjo и соавт., 2005 [44]	Таиланд	Случай – контроль	258	OR = 27,09
Poomphakwaen и соавт., 2009 [45]	Таиланд	Случай – контроль	216	OR = 2,99 95% CI: 1,04–8,62
Srivatanakul и соавт., 2010 [46]	Таиланд	Случай – контроль	212	OR = 25,04 95% CI: 5,81–07,91
Songserm и соавт., 2011 [47]	Таиланд	Случай – контроль	657	OR = 2,0 95% CI: 1,14–3,48
Manwong и соавт., 2013 [48]	Таиланд	Случай – контроль	146	OR = 3,09 95% CI: 1,04–9,16
Исследование инвазии <i>C. sinensis</i>				
Kim Y. и соавт., 1974 [54]	Корея	Одномоментное	1 402	OR = 6,5 95% CI: 3,5–112,04
Chung C. и соавт., 1976 [55]	Корея	Случай – контроль	595	OR = 6,0 95% CI: 2,82–12,04
Shin H.R. и соавт., 1996 [56]	Корея	Случай – контроль	609	OR = 2,7 95% CI: 1,13–6,46
Lee T. и соавт., 2008 [57]	Корея	Случай – контроль	2488	OR = 13,6 95% CI: 6,1–30,31
Choi D., Lim J.H., Lee K.T., и соавт., 2006 [58]	Корея	Случай – контроль	244	OR = 8,62 95% CI: 5,05–16,06
Peng N.F., Li L.Q., Qin X. и соавт., 2011 [15]	Китай	Случай – контроль	294	OR = 3,55 95% CI: 1,6–7,89

Примечание. OR – отношение шансов, CI – доверительный интервал.

В этой связи проведение эпидемиологического многоцентрового исследования для установления взаимосвязи данного трематодоза и холангиокарциномы у населения эндемичных регионов имеет приоритетное значение. Результаты исследования необходимы для рекомендаций в отношении скрининговых программ ранней диагностики ХК и в целом профилактики и лечения онкологических заболеваний гепатобилиарной системы, социально значимых для эндемичных по описторхозу регионов Российской Федерации.

#### ЛИТЕРАТУРА

- London School of Hygiene & Tropical Medicine. In electronic version of the atlas: Global Atlas of Helminth Infections. URL: [www.thiswormyworld.org/worms/global-burden](http://www.thiswormyworld.org/worms/global-burden) [Accessed October 2015].
- Schuster R.K. Opisthorchiidosis – a review. *Infect Disord Drug Targets*. 2010; 10 (5): 402–415. DOI: 10.2174/187152610793180902.
- Armignacco O., Caterini L., Marucci G., Ferri F., Bernardini G., Natalini Raponi G., Ludovisi A., Bossù T., Gomez Morales M.A., Pozio E. Human Illnesses Caused by *Opisthorchis felineus* flukes, Italy. *Emerging Infectious Diseases*. 2009; 14 (12): 1902–1905. DOI: 10.3201/eid1412.080782.
- Pozio E., Armignacco O., Ferri F., Gomez Morales M.A. *Opisthorchis felineus*, an emerging infection in Italy and its implication for the European Union. *Acta Trop.* 2013; 126 (1): 54–62. DOI: 10.1016/j.actatropica.2013.01.005.
- Tselepatiotis E., Mantadakis E., Papoulis S., Vassalou E., Kotsakis P., Samonis G. A Case of *Opisthorchis felineus* infestation in a Pilot from Greece. *Infection*. 2003; 31 (6): 430–432. DOI: 10.1007/s15010-003-3225-z.
- Marcos L.A., Terashima A., Gotuzzo E. Update on hepatobiliary flukes: fascioliasis, opisthorchiasis and clonorchiasis. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2008; 21 (5): 523–530. DOI: 10.1097/QCO.0b013e32830f9818.
- Petney T.N., Andrews R.H., Saijuntha W., Wenz-Mücke A., Sithithaworn P. The zoonotic, fish-borne liver flukes *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis felineus* and *Opisthorchis viverrini*. *Int. J. Parasitol.* 2013; 43: 1031–1077. DOI: 10.1016/j.ijpara.2013.07.007.
- Ogorodova L.M., Fedorova O.S., Sripa B., Mordvinov V.A., Katokhin A.V., Keiser J., Odermatt P., Brindley P.J., Mayboroda O.A., Velavan T.P., Freidin M.B., Sazonov A.E., Saltykova I.V., Pakharukova M.Y., Kovshirina Y.V., Kaloulis K., Krylova O.Y., Yazdanbakhsh M. Opisthorchiasis: An Overlooked Danger. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9 (4): e0003563. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003563.
- Lim M.K., Ju Y.H., Franceschi S., Oh J.K., Kong H.J., Hwang S.S., Park S.K., Cho S.I., Sohn W.M., Kim D.I., Yoo K.Y., Hong S.T., Shin H. *Clonorchis sinensis* infection and increasing risk of cholangiocarcinoma in the Republic of Korea. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2006; 75 (1): 93–96. DOI: 10.4269/ajtmh.2006.75.93.

10. Shin H.R., Oh J.K., Masuyer E., Curado M.P., Bouvard V., Fang Y.Y., Wiangnon S., Sripa B., Hong S.T. Epidemiology of cholangiocarcinoma: an update focusing on risk factors. *Cancer Sci.* 2010; 101 (3): 579–585. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01458.x.
11. WHO. International Agency for Research on Cancer IARC Biological agents. A review of human carcinogens. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans; 2012; 100B; 100: 441. DOI: 10.4135/9781412963855.n637.
12. Bridgewater J., Galle P.R., Khan S.A., Llovet J.M., Park J.W., Patel T., Pawlik T.M., Gores G.J. Guidelines for the diagnosis and management of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Journal of Hepatology.* 2014; 60: 1268–1289. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.01.021.
13. Bragazzi M.C., Carpino G., Venere R., Semeraro R., Gentile R., Gaudio E., Alvaro D. Cholangiocarcinoma: epidemiology and risk factors. *Translational Gastrointestinal Cancer.* 2012; 1: 21–32. DOI: 10.3978/j.issn.2224-4778.2011.11.04.
14. Parkin D.M., Whelan S.L., Ferlay J., Teppo L., Thomas D.B. Cancer incidence in five continents. Volume VIII: Lyon International Agency for Research on Cancer. 2002; 3: 1–781.
15. Peng N.F., Li L.Q., Qin X., Guo Y., Peng T., Xiao K.Y., Chen X.G., Yang Y.F., Su Z.X., Chen B., Su M., Qi L.N. Evaluation of risk factors and clinicopathologic features for intrahepatic cholangiocarcinoma in Southern China: a possible role of hepatitis B virus. *Ann. Surg. Oncol.* 2011; 18: 1258–1266. DOI: 10.1245/s10434-010-1458-5.
16. Прохоров Б.Б. Заболеваемость населения. Инфекционные болезни: биогельминтозы. Описторхоз. В эл. версии атласа: Окружающая среда и здоровье населения России. URL: <http://www.sci.aha.ru/ATL/ra55g.htm>.
17. Федорова О.С., Ковширина Ю.В., Ковширина А.Е., Федотова М.М., Деев И.А., Петровский Ф.И., Филимонов А.В., Дмитриева А.И., Кудяков Л.А., Салтыкова И.В., Михалев Е.В., Одерматт П., Огородова Л.М. Анализ заболеваемости инвазией *Opisthorchis felineus* и злокачественными новообразованиями гепатобилиарной системы в Российской Федерации. *Бюллетень сибирской медицины.* 2016; 15 (5): 67–78.
18. Blechacz B., Komuta M., Roskams T., Gores G. J. Clinical diagnosis and staging of cholangiocarcinoma. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2011; 8: 512–522. DOI: 10.1038/nrgastro.2011.131.
19. Shin H.R., Oh J.K., Masuyer E., Curado M.P., Bouvard V., Fang Y., Wiangnon S., Sripa B., Hong S.T. Comparison of incidence of intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma – focus on East and South-Eastern Asia. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2010; 11 (5): 1159–1166.
20. Global Burden of Disease Cancer Collaboration. The global burden of cancer 2013. *JAMA Oncol.* 2015; 1: 505–527. DOI: 10.1001/jamaoncol.2015.0735.
21. Nakanuma Y., Sato Y., Harada K., Sasaki M., Xu J., Ikeda H. Pathological classification of intrahepatic cholangiocarcinoma based on a new concept. *World J. Hepatol.* 2010; 27 (12): 419–427. DOI: 10.4254/wjgh.v2.i12.419.
22. Российское общество клинической онкологии. Злокачественные опухоли. Практические рекомендации по лечению злокачественных опухолей Российского общества клинической онкологии. 2019; 3 (2): 439–455.
23. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2013 году. М.: Московский онкологический исследовательский институт им. П. Герцена, 2015: 70–71.
24. Banales J.M., Cardinale V., Carpino G., Marzioni M., Andersen J.B., Invernizzi P., Lind G.E., Folseraas T., Forbes S.J., Fouassier L., Geier A., Calvisi D.F., Mertens J.C., Trauner M., Benedetti A., Maroni L., Vaquero J., Macias R.I., Raggi C., Perugorria M.J., Gaudio E., Boberg K.M., Marin J.J., Alvaro D. Cholangiocarcinoma: current knowledge and future perspectives consensus statement from the European Network for the Study of Cholangiocarcinoma (ENS-CCA Nat Rev). *Gastroenterol. Hepatol.* 2016; 13: 261–280. DOI: 10.1038/nrgastro.2016.51.
25. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2013 году. М.: Государственный доклад, 2014: 116–117.
26. Yeesoonsang S., McNeil E., Virani S., Bilheem S., Pittayawonganon C., Jiraphongsa C., Sriplung H. Trends in incidence of two major subtypes of liver and bile duct cancer: hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma in Songkhla, Southern Thailand, 1989–2030. *J. Cancer Epidemiol.* 2018 23; 2018: 8267059. DOI: 10.1155/2018/8267059.
27. Palmer W.C., Patel T. Are common factors involved in the pathogenesis of primary liver cancers? A meta-analysis of risk factors for intrahepatic cholangiocarcinoma. *J. Hepatol.* 2012; 57: 69–76. DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.022.
28. Patel T. Cholangiocarcinoma – controversies and challenges. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2011; 8: 189–200. DOI: 10.1038/nrgastro.2011.20.
29. Uddin M.H., Shunyu L., Jin Y., Choi M.H., Jang J.J., Hong S.T. C3H/He mice as an incompatible cholangiocarcinoma model by *Clonorchis sinensis*, dicyclanil and N-nitrosodimethylamine. *The Korean Journal of Parasitology.* 2016; 54 (3): 281–289. DOI: 10.3347/kjp.2016.54.3.281.
30. Woo H., Han J.K., Kim J.H., Hong S.T., Uddin M.H., Jang J.J. *In vivo* monitoring of development of cholangiocarcinoma induced with *Clonorchis sinensis* and N-nitrosodimethylamine in Syrian golden hamsters using ultrasonography and magnetic resonance imaging: a preliminary study. *Eur. Radiol.* 2017; 27 (4): 1740–1747. DOI: 10.1007/s00330-016-4510-4.
31. WHO. International Agency for Research on Cancer. Report of the Advisory Group to Recommend Priorities for the IARC Monographs during 2020–2024. IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans; 2019.

32. Максимова Г.А., Жукова Н.А., Кашина Е.В., Львова М.Н., Катохин А.В., Толстикова Т.Г., Мордвинов В.А. Роль *Opisthorchis felineus* в индукции рака желчевыводящих путей. *Паразитология*. 2015; 49: 3–11.
33. Максимова Г.А., Жукова Н.А., Кашина Е.В., Львова М.Н., Катохин А.В., Толстикова Т.Г., Мордвинов В.А. Изменения в печени сирийских хомяков, индуцированные диметилнитрозамином на фоне описторхоза. *Медицинский академический журнал*. 2012; 7: 160–162.
34. Бражникова Н.А., Толкаева М.В. Рак печени, желчных путей и поджелудочной железы при хроническом описторхозе. *Бюллетень сибирской медицины*. 2002; 2: 71–77.
35. Dao T.T., Bui T.V., Abatih E.N., Gabriël S., Nguyen T.T., Huynh Q.H., Nguyen C.V., Dorny P. *Opisthorchis viverrini* infections and associated risk factors in a lowland area of Binh Dinh Province, Central Vietnam. *Acta Trop.* 2016; 157: 151–157. DOI: 10.1016/j.actatropica.2016.01.029.
36. Sohn W.M., Yong T.S., Eom K.S., Pyo K.H., Lee M.Y., Lim H., Choe S., Jeong H.G., Sinuon M., Socheat D., Chai J.Y. Prevalence of *Opisthorchis viverrini* infection in humans and fish in Kratie Province, Cambodia. *Acta Trop.* 2012; 124 (3): 215–220. DOI: 10.1016/j.actatropica.2012.08.011.
37. Miyamoto K., Kirinoki M., Matsuda H., Hayashi N., Chigusa Y., Sinuon M., Chuor C.M., Kitikoon V. Field survey focused on *Opisthorchis viverrini* infection in five provinces of Cambodia. *Parasitol Int.* 2014; 63 (2): 366–373. DOI: 10.1016/j.parint.2013.12.003.
38. Sripa B., Bethony J.M., Sithithaworn P., Kaewkes S., Mairiang E., Loukas A., Mulvenna J., Laha T., Hotez P.J., Brindley P.J. Opisthorchiasis and opisthorchis-associated cholangiocarcinoma in Thailand and Laos. *Acta Trop.* 2011; 120 (1): 158–168. DOI: 10.1016/j.actatropica.2010.07.006.
39. Sripa B., Brindley P.J., Mulvenna J., Laha T., Smout M.J., Mairiang E., Bethony J.M., Loukas A. The tumorigenic liver fluke *Opisthorchis viverrini* – multiple pathways to cancer. *Trends Parasitol.* 2012; 28: 395–407. DOI: 10.1016/j.pt.2012.07.006.
40. Sripa B., Pairojkul C. Cholangiocarcinoma: lessons from Thailand. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2008; 24: 349–356. DOI: 10.1097/MOG.0b013e3282fb9b3.
41. Kurathong S., Lerdverasirikul P., Wongpaitoon V., Pramolsinsap C., Kanjanapitak A., Varavithya W., Phuapradit P., Bunyaratvej S., Upatham E.S., Brockelman W.Y. *Opisthorchis viverrini* infection and cholangiocarcinoma. A prospective, case-controlled study. *Gastroenterology*. 1985; 89: 151–156. DOI: 10.1016/0016-5085(85)90755-3.
42. Parkin D.M., Srivatanakul P., Khlat M., Chenvidhya D., Chotiwan P., Insiripong S., L'Abbé K.A., Wild C.P. Liver cancer in Thailand. I. A case-control study of cholangiocarcinoma. *Int. J. Cancer*. 1991; 48: 323–328. DOI: 10.1002/ijc.2910480302.
43. Haswell-Elkins M.R., Mairiang E., Mairiang P., Chaiyakum J., Chamadol N., Loapaiboon V., Sithithaworn P., Elkins D.B. Cross-sectional study of *Opisthorchis viverrini* infection and cholangiocarcinoma in communities within a high-risk area in northeast Thailand. *Int. J. Cancer*. 1994; 59: 505–509. DOI: 10.1002/ijc.2910590412.
44. Honjo S., Srivatanakul P., Sriplung H., Kikukawa H., Hanai S., Uchida K., Todoroki T., Jedpiyawongse A., Kittiwatanachot P., Sripa B., Deerasamee S., Miwa M. Genetic and environmental determinants of risk for cholangiocarcinoma via *Opisthorchis viverrini* in a densely infested area in Nakhon Phanom, northeast Thailand. *Int. J. Cancer*. 2005; 117: 854–860. DOI: 10.1002/ijc.21146.
45. Poomphakwaen K., Promthet S., Kamsa-Ard S., Vatanasapt P., Chaveepojnkamjorn W., Klaewkla J., Sujirarat D., Pichainarong N. Risk factors for cholangiocarcinoma in Khon Kaen, Thailand: a nested case-control study. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2009; 10 (2): 251–258.
46. Srivatanakul P., Honjo S., Kittiwatanachot P., Jedpiyawongse A., Khuhaprema T., Miwa M. Hepatitis viruses and risk of cholangiocarcinoma in northeast Thailand. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2010; 11: 985–988.
47. Songserm N., Promthet S., Sithithaworn P., Pientong C., Ekalaksananan T., Chopjitt P., Parkin D.M. Risk factors for cholangiocarcinoma in high-risk area of Thailand: role of lifestyle, diet and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms. *Cancer Epidemiol.* 2012; 36: 89–94. DOI: 10.1016/j.canep.2011.11.007.
48. Manwong M., Songserm N., Promthet S., Matsuo K. Risk factors for cholangiocarcinoma in the lower part of Northeast Thailand: a hospital-based case-control study. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2013; 14: 5953–5956. DOI: 10.7314/apjcp.2013.14.10.5953.
49. Pseudos G., Ford F.M., Hong S.T. Screening US Vietnam veterans for liver fluke exposure 5 decades after the end of the war. *Infect. Dis. Clin. Pract. (Baltim Md)*. 2018; 26 (4): 208–210. DOI: 10.1097/IPC.0000000000000611.
50. Mcdowell R., Mason M. Still fighting: Vietnam vets seek help for rare cancer. *LA Times*; 2016.
51. Tang Z.L., Huang Y., Xin-Bing Y. Current status and perspectives of *Clonorchis sinensis* and clonorchiasis: epidemiology, pathogenesis, omics, prevention and control. *Infect. Dis. Poverty*. 2016; 5 (1): 71. DOI: 10.1186/s40249-016-0166-1.
52. Hong S.T., Fang Y. *Clonorchis sinensis* and clonorchiasis, an update. *Parasitol. Int.* 2012; 61 (1): 17–24. DOI: 10.1016/j.parint.2011.06.007.
53. Qian M.B., Utzinger J., Keiser J., Xiao-Nong Z., Zhou X. N. clonorchiasis. *Lancet*. 2016; 20; 387 (10020): 800–810.
54. Kim Y.I., Yang D.H., Chang K.R. Relationship between *Clonorchis sinensis* infestation and cholangiocarcinoma of the liver in Korea. *Seoul J. Med.* 1974; 15: 247–253 (in Korean).

55. Chung C.S., Lee S.K. An epidemiological study of primary liver carcinomas in Busan area with special reference to *Clonorchis*. *Korean J. Pathol.* 1976; 10: 33–46.
56. Shin H.R., Lee C.U., Park H.J., Seol S.Y., Chung J.M., Choi H.C., Ahn Y.O., Shigemastu T. Hepatitis B and C virus, *Clonorchis sinensis* for the risk of liver cancer: a case-control study in Pusan, Korea. *Int. J. Epidemiol.* 1996; 25 (5): 933–940. DOI: 10.1093/ije/25.5.933.
57. Lee T.Y., Lee S.S., Jung S.W., Jeon S.H., Yun S.C., Oh H.C., Kwon S., Lee S.K., Seo D.W., Kim M.H., Suh D.J. Hepatitis B virus infection and intrahepatic cholangiocarcinoma in Korea: a case-control study. *Am. J. Gastroenterol.* 2008; 103: 1716–1720. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.01796.x.
58. Choi D., Lim J.H., Lee K.T., Lee J.K., Choi S.H., Heo J.S., Jang K.T., Lee N.Y., Kim S., Hong S.T. Cholangiocarcinoma and *Clonorchis sinensis* infection: a case-control study in Korea. *J. Hepatol.* 2006; 44: 1066–1073. DOI: 10.1016/j.jhep.2005.11.040.
59. Глумов В.Я., Котриков В.В., Третьякова Н.А. Патогенез и морфология первичного рака печени, развившегося на фоне описторхоза. *Вопросы онкологии.* 1974; 9: 46–49.
60. Kovshirina Y.V., Fedorova O.S., Vtorushin S.V., Kovshirina A.E., Ivanov S.D., Chizhikov A.V., Onishchenko S.V., Ogorodova L.M., Odermatt P. Case report: two cases of cholangiocarcinoma in patients with *Opisthorchis felineus* infection in Western Siberia, Russian Federation. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2019; 100 (3): 599–603. DOI: 10.4269/ajtmh.18-0652.

## Сведения об авторах

**Ковширина Анна Евгеньевна**, ассистент, кафедра общей врачебной практики и поликлинической терапии, эксперт центра международного развития и партнерства, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-6116-8323.

**Федорова Ольга Сергеевна**, д-р мед. наук, зав. кафедрой факультетской педиатрии с курсом детских болезней, декан лечебного факультета, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-2962-1076.

**Ковширина Юлия Викторовна**, канд. мед. наук, доцент, кафедра инфекционных болезней и эпидемиологии, руководитель центра последипломной подготовки, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-6818-9792.

**Онищенко Сергей Вальдемарович**, д-р мед. наук, доцент, кафедра хирургических болезней, СурГУ, г. Сургут. ORCID 0000-0002-2013-7587.

**Таслицкий Станислав Семенович**, врач-онколог, отделение онкологии № 2, Сургутская окружная клиническая больница, г. Сургут. ORCID 0000-0002-2514-4188.

**Катаныхова Людмила Леонидовна**, канд. мед. наук, доцент, кафедра детских болезней, СурГУ, г. Сургут. ORCID 0000-0002-3959-8391.

**Чижиков Андрей Валерьевич**, д-р мед. наук, и.о. зав. кафедрой онкологии, лучевой диагностики и лучевой терапии, Ханты-Мансийская государственная медицинская академия, г. Ханты-Мансийск. ORCID 0000-0002-3764-5182.

**Татауров Илья Андреевич**, врач-онколог, клинко-диагностическое отделение, Окружная клиническая больница, г. Ханты-Мансийск. ORCID 0000-0003-2127-9496.

**Огородова Людмила Михайловна**, д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, кафедра факультетской педиатрии с курсом детских болезней, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-2962-1076.

✉ **Федорова Ольга Сергеевна**, e-mail: olga.sergeevna.fedorova@gmail.com.

Поступила в редакцию 15.12.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## МикроРНК и малые интерферирующие РНК как инструменты направленной регуляции клеточных процессов для терапии онкологических заболеваний

Комина А.В.<sup>1,2</sup>, Лаврентьев С.Н.<sup>3</sup>, Рукша Т.Г.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Красноярский научный центр (КНЦ) Сибирского отделения Российской академии наук (СО РАН)  
Россия, 660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50

<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) гематологии  
Россия, 660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 15А

<sup>3</sup> Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого)  
Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

### РЕЗЮМЕ

МикроРНК и малые интерферирующие РНК (миРНК) относятся к обширному классу малых некодирующих РНК и играют важную роль в регуляции экспрессии генов в клетках. Показано, что изменения в количестве или эффективности воздействия этих молекул могут сопровождать развитие различных заболеваний, включая онкологические. Это позволило рассматривать их как перспективные диагностические и прогностические маркеры, а также инструменты для направленной регуляции синтеза белков в клетке и мишени для терапии. В данном обзоре суммированы основные знания о биогенезе, распространении и механизмах воздействия микроРНК и миРНК, а также способы направленного влияния на экспрессию генов с их помощью, используемые в настоящее время. Рассмотрены возможные варианты доставки молекул в клетку *in vitro* и *in vivo*.

**Ключевые слова:** малые некодирующие РНК, регуляция экспрессии генов, направленная терапия, онкологические заболевания.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Публикация подготовлена при поддержке гранта Российского научного фонда (соглашение № 19-15-00110).

**Для цитирования:** Комина А.В., Лаврентьев С.Н., Рукша Т.Г. МикроРНК и малые интерферирующие РНК как инструменты направленной регуляции клеточных процессов для терапии онкологических заболеваний. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 160–171. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-160-171>.

---

## MicroRNAs and small interfering RNAs as tools for the directed regulation of cellular processes for cancer therapy

Komina A.V.<sup>1,2</sup>, Lavrentiev S.N.<sup>3</sup>, Ruksha T.G.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch the Russian Academy of Sciences  
50, Akademgorodok Str., Krasnoyarsk, 660036, Russian Federation

✉ Комина Анна Владимировна, e-mail: komivlann@yandex.ru.

<sup>2</sup> National Research Medical Center of Gematology  
15a, Akademgorodok Str., Krasnoyarsk, 660036, Russian Federation

<sup>3</sup> Krasnoyarsk State Medical University n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky  
1, P. Zheleznyaka Str., 660022, Russian Federation

#### ABSTRACT

MicroRNAs and small interfering RNAs (siRNAs) belong to an extensive class of small non-coding RNAs and play an important role in gene expression regulation in cells. It is shown that changes in the amount or activity of these molecules may lead to the development of various diseases, including cancer. This made it possible to consider them as promising diagnostic and prognostic markers, as well as tools for the directed regulation of protein synthesis in the cell and targets for therapy. This review summarizes the basic knowledge about the biogenesis, distribution and the mechanisms of action of microRNA and siRNA, as well as currently used ways of target genes expression management with their help. Possible methods of these molecules delivery into the cell *in vitro* and *in vivo* are considered.

**Key words:** small non-coding RNA, gene expression regulation, target therapy, cancer.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The publication was prepared with the support of a grant from the Russian Science Foundation (agreement No. 19-15-00110).

**For citation:** Komina A.V., Lavrentiev S.N., Ruksha T.G. MicroRNAs and small interfering RNAs as tools for the directed regulation of cellular processes for cancer therapy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 160–171. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-160-171>.

## ВВЕДЕНИЕ

МикроРНК (microRNAs) и малые интерферирующие РНК (миРНК, small interfering RNAs, siRNAs) относятся к большому и гетерогенному классу малых некодирующих РНК, важной функцией которых является регуляция экспрессии генов в клетке. История изучения некодирующих РНК началась в 1993 г. с опубликования Виктором Амбросом и коллегами данных об открытии коротких молекул РНК, влияющих на трансляцию белка lin-14 нематоды *Caenorhabditis elegans* [1]. С этих пор исследования малых некодирующих РНК идут очень интенсивно. Но именно микроРНК и миРНК привлекли наибольшее внимание и были исследованы более тщательно. Накопленные знания позволяют использовать данные молекулы для воздействия на живые клетки и направленной регуляции клеточных процессов. Они получили применение как в научно-исследовательских работах, так и при разработке лекарственных препаратов в практической медицине. Особенно актуально это при терапии злокачественных новообразований, где трансформация клетки в опухолевую сопровождается существенным сдвигом экспрессии генов.

## МикроРНК И МИРНК

МикроРНК – класс некодирующих белок молекул РНК длиной 18–24 нуклеотида. Они являются важными участниками процесса экспрессии генов, регулируя его интенсивность. На сегодняшний день известно несколько тысяч различных микроРНК, каждая из которых способна контролировать синтез от одного до нескольких сотен белков. В результате более 60% генов человека экспрессируются при участии микроРНК.

Изменение уровня или активности микроРНК способно вызвать нарушения в процессах синтеза тех или иных белков, что может привести к развитию заболевания. Показано, что целый ряд заболеваний сопровождается отклонениями в работе различных микроРНК. Подробное изучение взаимосвязи между работой отдельных микроРНК и патофизиологией заболеваний позволяет предположить возможность их использования в качестве молекулярных маркеров диагностики и прогноза течения заболевания, а также мишеней для направленной терапии.

МиРНК во многом сходны с микроРНК. Это молекулы размером 21–23 нуклеотида, имеющие

сходный путь созревания с микроРНК и аналогичный принцип действия, но в то же время обладающие рядом особенностей, выделяющих их в

отдельный класс [2]. В общем виде отличия микроРНК и миРНК представлены в табл. 1, а более подробно описаны ниже.

Таблица 1

Различия микроРНК и миРНК

Характеристика	МикроРНК	МиРНК
Размер молекулы	18–24 нуклеотида	21–23 нуклеотида
Структура	Одноцепочечные	Двухцепочечные
Начало биогенеза	Из интронов или отдельных участков собственной ДНК (эндогенный путь)	Из РНК вирусов или бактериальных плазмид, привнесенных в клетку, искусственных векторов и др. (экзогенный путь)
Иммуногенность	Собственные молекулы, но искусственно синтезированные микроРНК способны вызвать иммунный ответ	Могут вызывать иммунный ответ
Комплементарность мишени	Частичная комплементарность (наличие ключевого «seed»-региона)	Полная комплементарность
Мишени	ДНК, мРНК	мРНК
Специфичность	Одна молекула микроРНК регулирует множество молекул ДНК/РНК, одна молекула ДНК/РНК может быть мишенью для нескольких микроРНК	Высокоспецифичны, одна молекула миРНК связывает один участок мРНК, блокируя синтез одного белка
Результат активности	Активация или репрессия трансляции или транскрипции, возможна деградация мРНК	Деградация мРНК, «замолкание» гена
Места активности	Цитоплазма, ядро	Цитоплазма

### БИОГЕНЕЗ микроРНК И МИРНК

Понимание биогенеза микроРНК и миРНК очень важно для возможности влияния на него. Согласно каноническому представлению (рис. 1), молекулы микроРНК транскрибируются в ядре РНК-полимеразой II с участков ДНК, которые могут находиться как внутри генов, кодирующих белки (в интронах), так и на обособленных участках генома под собственным промотором. Полученный РНК транскрипт называется первичной микроРНК (при-микроРНК, pri-microRNA) и формирует вторичную структуру «стебель – петля» с присутствием на 5'-конце молекул 7-метилгуанозина, а на 3'-конце поли(А)-«хвоста». После взаимодействия с ферментным комплексом, состоящим из РНКазы III (Drosha) и ее спутника DGCR8 (Pasha), при-микроРНК преобразуется в предшественник микроРНК (пре-микроРНК, pre-microRNA), состоящий только из структуры «стебель – петля». Пре-микроРНК при помощи экспортина-5 транспортируется из ядра в цитоплазму, где петельный участок отщепляется другой РНКазой III – Dicer, оставляя микроРНК-дуплекс, состоящий из двух полностью или частично комплементарных цепочек РНК размером 18–24 нуклеотида. Впоследствии одна из цепей дуплекса (ведущая) формирует комплекс с белками, называемый РНК-индуцируемым комплексом замолкания генов (RNA induced silencing complex,

RISC), тогда как другая («пассажирская» цепь), как правило, разрушается.

МиРНК в процессе созревания проходят путь, сходный с микроРНК. И хотя, в отличие от последних, синтез миРНК в клетках млекопитающих начинается не из собственного генома, а с векторных молекул, привнесенных в клетку извне (бактериями, вирусами или искусственно), в ее биогенезе участвуют те же белки (Dicer), а созревание завершается формированием RISC-комплекса. Кроме того, миРНК может сформироваться в клетке в результате расщепления в клетке человека РНК вируса. Зрелая молекула миРНК сохраняет структуру дуплекса.

### ТРАНСПОРТ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ микроРНК В ОРГАНИЗМЕ

После созревания молекулы микроРНК могут быть перенесены в различные участки клетки или за ее пределы (рис. 2). Часть из них остается в цитоплазме, где взаимодействует с матричной РНК на различных этапах трансляции, регулируя синтез белка. Другая часть молекул транспортируется в межклеточное пространство и циркулирует в организме свободно в виде рибонуклеопротеиновых комплексов или в экзосомах [3, 4]. Экзосомы экскретируются клеткой и разносятся по всему организму, обнаруживаясь в межклеточном пространстве (внеклеточный

матрикс), плазме крови, синовиальной жидкости, ликворе, слюне, моче и других жидких средах и перенося микроРНК из клетки в клетку. Экзосомальные микроРНК могут выступать в роли маркеров для диагностики или прогнозирования течения злокачественных новообразований [5]. Еще одно направление перемещения зрелых микроРНК – обратный транспорт в ядро. По-

казано, что большинство микроРНК способны к такому обратному переносу и выявляются как в ядре, так и в ядрышках [6]. Кроме того, в ядре также осуществляется регуляция экспрессии генов с участием RISC-комплекса, для чего белки, участвующие в данном процессе (AGO, TRPV, Dicer, TRNC6A), свободно переносятся из цитоплазмы в ядро [7].

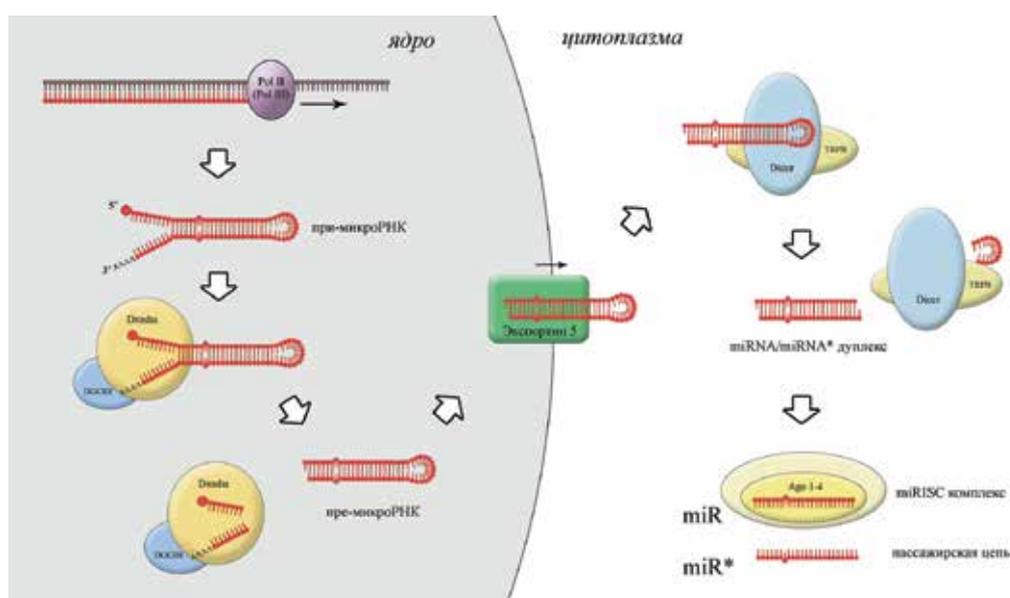


Рис. 1. Каноническая схема биогенеза микроРНК

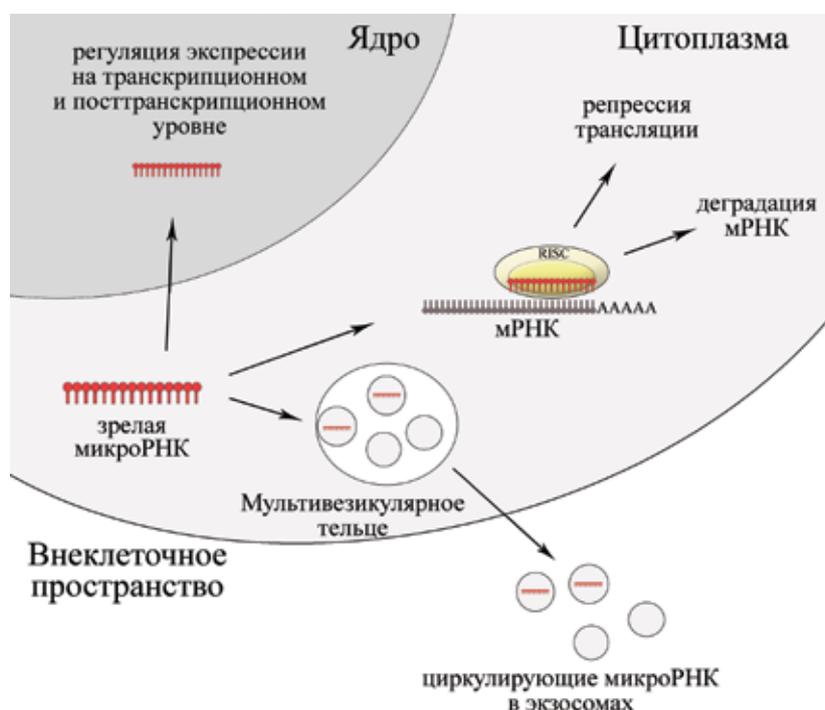


Рис. 2. Транспорт зрелой микроРНК в организме

МиРНК при попадании или образовании в клетке, как правило, сохраняются в цитоплазме, осуществляя регуляцию посредством взаимодействия с мРНК. В 2004 г. Н. Kawasaki и К. Taiga было показано, что миРНК способны индуцировать метилирование ДНК клетки посредством взаимодействия с CpG островками в промоторной части гена, однако свободное проникновение и постоянное присутствие миРНК в клеточном ядре при этом доказаны не были [8]. Механизм доставки миРНК к геномной ДНК до сих пор остается до конца не ясным.

## ПУТИ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ С УЧАСТИЕМ микроРНК

Наиболее изученным способом регуляции синтеза белка является взаимодействие микроРНК с матричной РНК в цитоплазме клетки. МикроРНК связываются с мРНК в специфических комплементарных участках (мишеневых сайтах, target sites). Наиболее часто эти сайты встречаются в 3'-нетранслируемом регионе мРНК (3'-untranslated region, 3'-UTR), но, в целом, обнаруживаются и в кодирующей части (coding sequence, CDS), и даже в 5'-UTR [9]. Как правило, сайт связывания на молекуле мРНК обладает высокой консервативностью, чтобы случайные мутации или полиморфизмы не нарушали синтез белка. При этом одна мРНК может быть мишенью для множества микроРНК, и их совместное участие определяет степень подавления синтеза белка.

В отличие от растений, у животных полная комплементарность микроРНК гену-мишени практически не встречается, но доказано, что в этом случае для эффективного связывания RISC-комплекса достаточно комплементарности мишени молекуле лишь участка со второго по восьмой нуклеотид на 5'-конце молекулы микроРНК, названного ключевым («seed») регионом. Хотя существуют микроРНК, осуществляющие регуляцию иным способом: доказано, что miR-24 принимает участие в регуляции клеточных процессов посредством воздействия на гены-мишени, не содержащие участка, комплементарного ее «seed»-региону [10]. В любом случае, результатом присоединения микроРНК является воздействие белковой части комплекса RISC на мишеневую мРНК.

Основным белком RISC-комплекса у человека является фермент семейства Argonaute AGO2, который представляет собой структурный аналог РНКазы H, и потому обладает способностью напрямую расщеплять молекулы мРНК на участках, определяемых микроРНК. Благодаря его действию возможна деградация молекулы мРНК по-

сле встречи с микроРНК. Однако показано, что это происходит лишь в 29% случаев, тогда как примерно в половине случаев (48%) взаимодействие с микроРНК приводит к репрессии трансляции без разрушения матрицы, а в 23% отмечается одновременное протекание двух этих процессов [11]. Предполагается, что способ регуляции может зависеть от места посадки микроРНК. Связывание микроРНК с мРНК в 3'-некодирующей области (3'-UTR) с большей вероятностью приведет к деградации мишени РНК за счет деадезилации поли(А)-«хвоста» и, как следствие, дестабилизации и быстрой деградации молекулы [12–14]. Посадка на кодирующую часть гена более вероятно вызывает подавление синтеза полипептида на рибосоме [15]. А при связывании с 5'-некодирующим регионом (5'-UTR) матричной РНК исходом может стать как деградация мРНК за счет предварительного декэпирования 5'-конца [16], так и активация трансляции [17]. Переключение микроРНК-белкового комплекса с функции ингибирования на активацию трансляции может зависеть как от действия особых факторов (например, eIF4E), так от состояния клетки или фазы ее клеточного цикла [18]. Например, miR-206 ингибирует синтез белка KLF4 в пролиферирующих эпителиальных клетках, но активирует в иммортализованных эпителиальных клетках линии MCF10A [19]. Подобно репрессии, активация может проявляться в диапазоне от легких стимулирующих эффектов до значительного усиления синтеза полипептида.

Ядерные микроРНК способны влиять на экспрессию генов на посттранскрипционном или транскрипционном уровнях. Таким образом, они способны контролировать синтез или вызывать деградацию других микроРНК или длинных некодирующих РНК [20]. Способность микроРНК связываться с одно- или даже с двухцепочечной ДНК приводит к ингибированию [21] или активации [22] транскрипции генов. Примечательно, что в ядре микроРНК также действует в комплексе с белком Argonaute, а также другими компонентами RISC-комплекса.

## РЕГУЛЯЦИЯ ПРИ ПОМОЩИ микроРНК

Связыванием РНК с мишениевой молекулой мРНК является основным ее отличием от микроРНК. Молекула микроРНК не имеет «seed»-региона, а обладает полной комплементарностью молекуле мРНК. По этой причине ее действие очень специфично распространяется на синтез только одного белка. Результатом ее связывания является расщепление мишени белками RISC-комплекса

на участке между 10- и 11-м нуклеотидами мРНК и полное прекращение трансляции [23].

## НАРУШЕНИЯ РАБОТЫ микроРНК ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ

Нарушения, ассоциированные с развитием злокачественных новообразований, могут возникать на этапах биогенеза или работы микроРНК. Это могут быть мутации генов, кодирующих сами

микроРНК или важные для их синтеза белки. Несмотря на общую консервативность, возможны полиморфизмы и в мРНК на участках связывания с микроРНК. Также развитие злокачественного новообразования может быть ассоциировано с изменением уровней тех или иных микроРНК в клетке. В табл. 2 представлены примеры различных отклонений, связанных с биогенезом и действием микроРНК в клетке.

Таблица 2

Различные формы нарушений в работе микроРНК при злокачественных новообразованиях		
Вид нарушения	Заболевания	Источник
Полиморфизмы и мутации в генах белков, ассоциированных с биогенезом и действием микроРНК	Dicer1-синдром: наличие мутаций в гене <i>Dicer1</i> приводит к изменению структуры и функций белка и, как следствие, к нарушению синтеза различных микроРНК. Результатом становятся злокачественные новообразования: плевропульмональная бластома, опухоль клеток Сертоли – Лейдига, нейробластома, рабдомиосаркома и др.	[24–26]
Изменение или утрата гена, кодирующего микроРНК при хромосомных перестройках	Делеция фрагмента хромосомы 13q14 при хроническом В-клеточном лимфобластном лейкозе приводит к утрате участков, кодирующих микроРНК miR-15 и miR-16, которые являются негативными регуляторами синтеза белка BCL2. Результатом становится снижение способности клеток к апоптозу	[27, 28]
Мутации и полиморфизмы в гене, кодирующем микроРНК	Однонуклеотидная замена G>C (rs2910164) в гене, кодирующем miR-146a, приводит к изменению продукции данной микроРНК и ассоциирована с повышенным риском развития почечноклеточной карциномы, глиомы, раннего проявления семейного рака молочной железы или яичников	[29–31]
Мутации и полиморфизмы в мРНК на участках взаимодействия с микроРНК	Полиморфизм гена <i>HIF1A</i> на участке вблизи связывания «seed»-региона miR-199a приводит к повышенному синтезу белка, что ассоциировано с плохим прогнозом при протоковой аденокарциноме поджелудочной железы. Однонуклеотидная замена в 3'-некодирующем регионе гена <i>SET8</i> нарушает сайт связывания с miR-502, что повышает риск раннего развития рака молочной железы	[32, 33]
Сниженное количество микроРНК	miR-143 и miR-145 имеют сниженный уровень в клетках рака желудочно-кишечного тракта и проявляют онкосупрессорные свойства при эндогенном введении	[34]
Повышенное количество микроРНК	МикроРНК miR-21 имеет относительно высокий уровень в шести видах солидных опухолей (рак молочной железы, легких, простаты, желудка, поджелудочной железы и прямой кишки), а также глиобластоме	[35, 36]

Для коррекции молекулярных процессов в клетке при помощи микроРНК возможно регулировать как количество регуляторных молекул, так и качество регуляции посредством управления способностью RISC комплекса связываться именно с мишеневым участком.

## ПУТИ НАПРАВЛЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

*Имитаторы (мимики) микроРНК.* Для искусственного повышения уровня заданной микроРНК в клетке, в нее вводят синтетические копии этой молекулы – имитаторы, или мимики (заместительная терапия). Это могут быть зрелые молекулы – прямые копии микроРНК, обладающие теми же свойствами связывать молекулы, что и их прототип, либо ее предшественники, и даже

кодирующие ее гены. Введение зрелой микроРНК является более удобным и быстрым методом воздействия. В силу небольшого размера, молекула достаточно легко проникает через клеточную мембрану в составе РНК-липидных комплексов (липидная трансфекция, или липофекция). С использованием зрелых мимиков продемонстрирована, например, возможность подавления пролиферации клеток рака желудка и колоректального рака при помощи miR-375 *in vitro* [37, 38]. Однако в случае использования мимика микроРНК для усиления эффекта репрессии синтеза белка важно помнить, что для активной работы микроРНК она должна сформировать рибонуклеопротеиновый комплекс RISC. Показано, что введение в клетку отдельно взятых молекул микроРНК, как правило, встречает ограниченный белковый

пул, и для формирования рибонуклеопротеинового комплекса они вынуждены конкурировать с эндогенными микроРНК клетки за белковые компоненты комплекса RISC и могут истощить их запасы. В результате это может привести не только к незначительному эффекту подавления трансляции мишени мРНК, но и к усилению трансляции других белков за счет нарушения регуляторных функций собственных микроРНК клетки [39]. В то же время при введении в клетку даже малых количеств экзогенной микроРНК совместно с плазидами, экспрессирующими AGO2, приводит к значительному эффекту от ее активности [40].

Введение предшественников микроРНК позволяет хотя бы частично решить проблему с формированием комплекса RISC: синтез и созревание молекулы в клетке более вероятно приведут к ее естественной встрече с AGO2. Показано даже, что введение микроРНК-дуплекса, состоящего из ведущей и пассажирской цепей, с большей вероятностью приводит к образованию активной молекулы микроРНК, чем введение зрелой одноцепочечной молекулы [41]. Также описаны возможности введения в клетку пре-микроРНК или при-микроРНК.

В целом использование имитаторов открывает широкие возможности заместительной терапии для борьбы со злокачественными новообразованиями. Так, усиление активности микроРНК miR-4779 за счет использования мимика привело к подавлению опухолевого роста, блокировке клеточного цикла и стимуляции апоптоза раковых клеток при раке прямой кишки [42]. В другом исследовании направленное ведение имитатора miR-29b позволило достичь эффекта подавления развития острого миелолейкоза [43].

*Ингибиторы микроРНК.* Антисмысловый ингибитор представляет собой олигонуклеотид РНК, комплементарный мишени микроРНК. При их связывании образуется достаточно прочный дуплекс, что препятствует посадке микроРНК на мРНК и тем самым снимает запрет на трансляцию. Одним из естественных регуляторов активности микроРНК в организме выступают конкурентные эндогенные РНК (competitive endogenous RNA, ceRNA), включающие длинные некодирующие молекулы РНК (длинные нкРНК, long non-coding RNA, lncRNA) [44], кольцевые РНК [45], псевдогены. Благодаря присутствию в их последовательности нуклеотидов участков посадки микроРНК, эти молекулы способны выступать в роли так называемой молекулярной губки, принимающей на себя атаку микроРНК и тем

самым снимающей блок с настоящей матричной РНК [46]. При помощи такой «губки» было достигнуто почти полное удаление из клетки активных miR-221/222, что повлекло за собой усиление апоптоза клеток плоскоклеточного рака ротовой полости [47].

Экзогенные ингибиторы также показывают эффективное подавление активности мишеневых микроРНК. Но при этом возникает необходимость доставки молекулы в клетку через мембрану и сохранения ее стабильности в цитоплазме, поскольку не имеющая защиты экзогенная молекула РНК может быть быстро разрушена РНКазой. Эти проблемы частично разрешаются одним из последних поколений ингибиторов микроРНК, созданных на основе «закрытых» («запертых») нуклеиновых кислот, или LNA-ингибиторами (от англ. locked nucleic acid – закрытые нуклеиновые кислоты). Они представляют собой олигомеры длиной 12–14 нуклеотидов, имеющие в части нуклеотидов метиленовый мостик между 2'-О и 4'-С рибозного кольца. В результате такая LNA-молекула обладает более высокой устойчивостью к действию эндонуклеаз, образует более прочный дуплекс с РНК или ДНК-мишенью, а также легче проникает через клеточную мембрану (в силу малого размера) [48], и не показывает значимой токсичности для организма в экспериментах на мышах [49]. Все это делает LNA-ингибиторы перспективными для разработки лекарственных препаратов на основе принципа подавления активности микроРНК. Именно с их помощью удалось произвести деградацию miR-21 и тем самым достичь усиления апоптоза и подавления пролиферации клеток гепатоцеллюлярной карциномы [50].

## СИНТЕТИЧЕСКИЕ РЕГУЛЯТОРЫ

Иногда при исследовании или для разработки способа терапии заболевания возникает необходимость воздействия на определенные участки матричной РНК, не имеющие естественного сайта посадки регуляторной молекулы. Например, при возникновении онкогенной мутации гена, приводящей к изменению структуры белка, удобно было бы заблокировать синтез мутантной формы протеина, сохранив при этом работу нормального белка. Для этого требуется регуляция с распознаванием мутации в матричной РНК. В этом случае на помощь приходят искусственные молекулы микроРНК. В 2017 г. М. Acunzo и коллеги наглядно продемонстрировали возможность и преимущества создания искусственной микроРНК для направленного

ингибирования трансляции гена *KRAS*, содержащего точечную мутацию G12S для повышения чувствительности клеток рака легкого (клеточная линия A549) к лечению гефитинибом. Было продемонстрировано, что даже однонуклеотидная замена изменяет регуляторный эффект [51]. Однако, поскольку микроРНК способна оказывать влияние на несколько мРНК одновременно, это может привести к возникновению нежелательных побочных эффектов и затруднит ее использование для одной цели. Более специфичным вариантом становится использование молекулы миРНК. Но полная комплементарность миРНК делает ее менее чувствительной к полиморфизмам и мутациям. Кроме того, активность миРНК *in vivo* может быть ограничена возникновением иммунного ответа. Например, при исследовании влияния миРНК на рост клеток, несущих мутацию V617F гена *JAK2*, показано значительное снижение эффекта ингибирования под действием цитокинов [52].

Еще один вид синтетических ингибиторов микроРНК – пептидные нуклеиновые кислоты (ПНК, PNA, от англ. peptide nucleic acids). Это химические соединения, представляющие собой линейные полимерные молекулы, аналогичные ДНК, но имеющие в основе вместо сахара N-(2-аминоэтил) глицин. Преимуществом ПНК является их устойчивость к деградации нуклеазами и протеазами, а также независимость гибридизации с ДНК или РНК от концентрации солей в среде [53]. Еще одно важное свойство ПНК – чувствительность к некоплементарным основаниям. Даже один несовпадающий нуклеотид способен изменить температуру плавления дуплекса ПНК-ДНК до 15 °С, что делает их перспективными молекулами для избирательного ингибирования мишеней, содержащих однонуклеотидные мутации [54]. Кроме того, показана возможность модификации ПНК таким образом, чтобы их проникновение в клетку обеспечивалось без участия дополнительного реагента для трансфекции [55]. На сегодняшний день данный тип молекул был успешно применен для ингибирования микроРНК *in vivo* [56].

Правильный дизайн и оптимизация условий применения искусственных молекул позволяют добиться желаемого эффекта снижения или выключения синтеза белка в клетке, снизить неспецифическое воздействие, избежать токсичности или иммуногенности вводимого вещества. Это делает данные молекулы перспективными терапевтическими агентами в медицине в целом и онкологии в частности.

## ДОСТАВКА МАЛЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК В КЛЕТКИ

Доставка микроРНК и миРНК в клетку *in vitro* и *in vivo* до сих пор представляет затруднения и является сферой активных разработок. Во-первых, свободные молекулы РНК без какой-либо защиты или модификации легко разрушаются нуклеазами, а в животном организме также выводятся почками и печенью [57] или задерживаются в немишеневых органах. Во-вторых, на пути к опухолевой клетке в организме, как правило, возникают другие ткани и структуры (стенки кровеносных сосудов, соединительные ткани, опухолевое микроокружение), обладающие различной проницаемостью, что может существенно затруднить доставку. В-третьих, чужеродные молекулы РНК способны инициировать иммунный ответ и вызвать нежелательные побочные эффекты [58]. В-четвертых, даже в культуре *in vitro*, где достижение цели возможно введением молекул в питательную среду, для проникновения в клетку требуется преодолеть мембранный барьер. Наконец, попавшая в клетку молекула может быть лишена доступа к мишени в результате включения в эндосому [57, 59] или неспецифического взаимодействия с некоплементарными или частично комплементарными молекулами РНК.

В настоящее время разрабатываются различные методы доставки молекул РНК к опухолевым клеткам: химические, физические, биологические. К химическим методам относится использование полимерных комплексов (полиэтиленимин), липидных наночастиц (липосомы), дендримеров, неорганических соединений (оксид железа, золотые, силикатные наночастицы) [60, 61] и др. Полагается, что химические методы доставки исходно имеют невысокую эффективность трансфекции в сравнении с биологическими. Отчасти это связано с небольшой продолжительностью жизни молекул *in vivo*, их способностью связываться с сывороточными белками в крови. Однако модификации химических соединений позволяют преодолевать эти трудности, создавая устойчивые конструкции, обеспечивающие более специфичную доставку микроРНК к клеткам. Примерами являются наноструктурные липидные переносчики, имеющие на поверхности билипидного слоя положительный заряд, или молекулы, распознаваемые клеточными рецепторами, которые были успешно применены для доставки микроРНК в клеточные культуры и *in vivo* на мышинных моделях [62, 63]. К химическим методам доставки можно также отнести модификации

самих РНК, повышающие устойчивость молекул, снижающие их токсичность и (или) облегчающие проникновение в клетку (LNA, PNA). Химические методы эффективно применяются в исследованиях *in vivo*.

Физические методы доставки подходят для культур *in vitro* и включают магнитофекцию, биобалистику, электропорацию, сонопорацию, лазерную иррадиацию и др. Наиболее распространенным методом является электропорация, позволяющая при помощи электрического импульса пробить брешь в мембране, обеспечивая тем самым прямое проникновение нуклеиновых кислот в цитоплазму клетки, либо помещение нужной молекулы в экзосому для последующей доставки к клеткам. Использование экзосом повышает стабильность молекул и облегчает способ доставки *in vivo* [64], тогда как прямая доставка в клетки *in vitro* при помощи электропорации высоко ценится за простоту и эффективность [65].

Химические и физические методы доставки обеспечивают, как правило, транзистентный характер экспрессии генов, имея относительно невысокий период жизни вводимых молекул. Для более длительного эффекта используются биологические методы, а именно доставка в составе вирусных векторов (трансдукция). В качестве вектора могут быть использованы ДНК аденовирусов, ретровирусов, лентивирусов.

Аденовирусные векторы представляют собой двухцепочечные молекулы ДНК, отличаются относительной простотой использования и успешно применяются для быстрого и кратковременного введения молекул, поскольку не способны внедрять нужный ген в геномную ДНК эукариотической клетки и обеспечивать постоянный синтез заданной РНК. Однако еще одним важным их преимуществом является способность привносить в клетку чужеродные фрагменты ДНК размером до 38 кб. В отличие от них, ретровирусные РНК векторы вмещают в себя не более 8 кб чужеродной нуклеотидной последовательности, однако при этом вводят ее в геном клетки-хозяина на этапе митотического деления. Лентивирусные векторы подобны ретровирусным, но отличаются способностью вводить чужеродную последовательность в геном как делящейся, так и неделящейся клетки, находящейся в постмитотическом периоде или на стадии терминальной дифференцировки. Ретровирусные и лентивирусные векторы используются для стабильной трансфекции делящихся клеток *in vitro* и *in vivo*, демонстрируя высокую эффективность введения как мимиков, так и ингибиторов микроРНК [66]. Недостатком вирус-

ных векторов является высокая иммуногенность и потенциальная токсичность молекул, а также нестабильность вирусного генома и вероятность реверсии вируса к «дикому» типу с потерей интересующей вставки [67]. Последние разработки нацелены на модификацию конструкций для снижения или устранения негативных эффектов этих векторов [68], что открывает широкие возможности их использования в науке и клинической практике для терапии заболеваний.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение регуляторных молекул микроРНК и миРНК для управления экспрессией генов в клетке представляется мощной технологией как для изучения клеточных процессов в норме и патологии, так и для терапии заболеваний, в частности злокачественных новообразований. Уже сегодня зарегистрированы патенты и проходят регистрацию ряд препаратов на основе микроРНК или миРНК для терапии заболеваний, включая хронический лимфолейкоз (регуляция гена *BCL-2*), рак печени (регуляция экспрессии *VEGF* и *KSP*), другие солидные опухоли, включая более поздние стадии прогрессии [69]. Терапии за счет направленной регуляции экспрессии генов при помощи микроРНК и миРНК прогнозируют большое будущее, называя данные препараты лекарственными средствами нового поколения. Однако многое в механизмах такой регуляции остается не до конца исследованным, и мир регуляторных молекул еще требует глубокого и многостороннего изучения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Lee R.C., Feinbaum R.L., Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993; 75 (5): 843–854. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90529-Y.
2. Lam J.K., Chow M.Y., Zhang Y., Leung S.W. siRNA versus miRNA as therapeutics for gene silencing. *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2015; 4: e252. DOI: 10.1038/mtna.2015.23.
3. Willms E., Johansson H.J., Mäger I., Lee Y., Blomberg K.E., Sadik M., Alaarg A., Smith C.I., Lehtijä J., El Andaloussi S., Wood M.J., Vader P. Cells release subpopulations of exosomes with distinct molecular and biological properties. *Sci. Rep.* 2016; 6: 22519. DOI: 10.1038/srep22519.
4. Li M., Zerlinger E., Barta T., Schageman J., Cheng A., Vlassov A.V. Analysis of the RNA content of the exosomes derived from blood serum and urine and its potential as biomarkers. *Philos. Trans R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2014; 369 (1652): 20130502. DOI: 10.1098/rstb.2013.0502.
5. Roberson C.D., Atay S., Gercel-Taylor C., Taylor D.D. Tumor derived exosomes as mediators of disease and

- potential diagnostic biomarkers. *Cancer Biomark.* 2010–2011; 8 (4–5): 281–291. DOI: 10.3233/CBM-2011-0211.
6. Liao J.-Y., Ma L.-M., Guo Y.-H., Zhang Y.-C., Zhou H., Shao P., Chen Y.-Q., Qu L.-H. Deep sequencing of human nuclear and cytoplasmic small RNAs reveals an unexpectedly complex subcellular distribution of miRNAs and tRNA 3' trailers. *PLoS One.* 2010; 5 (5): e10563. DOI: 10.1371/journal.pone.0010563.
  7. Gagnon K.T., Li L., Chu Y., Janowski B.A., Corey D.R. RNAi factors are present and active in human cell nuclei. *Cell Rep.* 2014; 6 (1): 211–221. DOI: 10.1016/j.celrep.2013.12.013.
  8. Kawasaki H., Taira K. Induction of DNA methylation and gene silencing by short interfering RNAs in human cells. *Nature.* 2004; 431 (7005): 211–217. DOI: 10.1038/nature02889.
  9. Miranda K.C., Huynh T., Tay Y., Ang Y.S., Tam W.L., Thomson A.M., Lim B., Rigoutsos I. A pattern-based method for the identification of MicroRNA binding sites and their corresponding heteroduplexes. *Cell.* 2006; 126 (6): 1203–1217. DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.031.
  10. Lal A., Navarro F., Maher C.A., Maliszewski L.E., Yan N., O'Day E., Chowdhury D., Dykxhoorn D.M., Tsai P., Hofmann O., Becker K.G., Gorospe M., Hide W., Lieberman J. miR-24 inhibits cell proliferation by targeting E2F2, MYC, and other cell-cycle genes via binding to “seedless” 3'UTR microRNA recognition elements. *Mol. Cell.* 2009; 35 (5): 610–625. DOI: 10.1016/j.molcel.2009.08.020.
  11. Jin H.Y., Xiao C. MicroRNA mechanisms of action: What have we learned from mice? *Front Genet.* 2015; 6: 328. DOI: 10.3389/fgene.2015.00328.
  12. Hausser J., Syed A.P., Bilén B., Zavolan M. Analysis of CDS-located miRNA target sites suggests that they can effectively inhibit translation. *Genome Res.* 2013; 23 (4): 604–615. DOI: 10.1101/gr.139758.112.
  13. Takimoto K., Wakiyama M., Yokoyama S. Mammalian GW182 contains multiple Argonaute-binding sites and functions in microRNA-mediated translational repression. *RNA.* 2009; 15 (6): 1078–1089. DOI: 10.1261/rna.1363109.
  14. Yi H., Park J., Ha M., Lim J., Chang H., Kim V.N. PABP Cooperates with the CCR4-NOT complex to promote mRNA deadenylation and block precocious decay. *Mol. Cell.* 2018; 70 (6): 1081–1088. DOI: 10.1016/j.molcel.2018.05.009.
  15. Lytle J.R., Yario T.A., Steitz J.A. Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA-binding sites in the 5' UTR as in the 3' UTR. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2007; 104 (23): 9667–9672. DOI: 10.1073/pnas.0703820104.
  16. Nishihara T., Zekri L., Braun J.E., Izaurre E. miRISC recruits decapping factors to miRNA targets to enhance their degradation. *Nucleic Acids Res.* 2013; 41 (18): 8692–8705. DOI: 10.1093/nar/gkt619.
  17. Ørom U.A., Nielsen F.C., Lund A.H. MicroRNA-10a binds the 5'UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation. *Mol. Cell.* 2008; 30 (4): 460–471. DOI: 10.1016/j.molcel.2008.05.001.
  18. Vasudevan S., Tong Y., Steitz J.A. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science.* 2007; 318 (5858): 1931–1934. DOI: 10.1126/science.1149460.
  19. Lin C.C., Liu L.Z., Addison J.B., Wonderlin W.F., Ivanov A.V., Ruppert J.M. A KLF4-miRNA-206 autoregulatory feedback loop can promote or inhibit protein translation depending upon cell context. *Mol. Cell Biol.* 2011; 31 (12): 2513–2527. DOI: 10.1128/MCB.01189-10.
  20. Leucci E., Patella F., Waage J., Holmström K., Lindow M., Porse B., Kauppinen S., Lund A.H. MicroRNA-9 targets the long non-coding RNA MALAT1 for degradation in the nucleus. *Sci. Rep.* 2013; 3: 2535. DOI: 10.1038/srep02535.
  21. Zheng L., Chen Y., Ye L., Jiao W., Song H., Mei H., Li D., Yang F., Li H., Huang K., Tong Q. MiRNA-584-3p inhibits gastric cancer progression by repressing Yin Yang 1-facilitated MMP-14 expression. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1): 8967. DOI: 10.1038/s41598-017-09271-5.
  22. Zhang Y., Zhang H. RNAa induced by TATA box-targeting microRNAs. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017; 983: 91–111. DOI: 10.1007/978-981-10-4310-9\_7.
  23. Elbashir S.M., Lendeckel W., Tuschl T. RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs. *Genes Dev.* 2001; 15 (2): 188–200.
  24. Hill D.A., Ivanovich J., Priest J.R., Gurnett C.A., Dehner L.P., Desruisseau D., Jarzembowski J.A., Wikenheiser-Brokamp K.A., Suarez B.K., Whelan A.J., Williams G., Bracamontes D., Messinger Y., Goodfellow P.J. DICER1 mutations in familial pleuropulmonary blastoma. *Science.* 2009; 325 (5943): 965. DOI: 10.1126/science.1174334.
  25. De Kock L., Terzic T., McCluggage W.G., Stewart C.J.R., Shaw P., Foulkes W.D., Clarke B.A. DICER1 mutations are consistently present in moderately and poorly differentiated Sertoli-Leydig cell tumors. *Am. J. Surg. Pathol.* 2017; 41 (9): 1178–1187. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000895.
  26. Robertson J.C., Jorcyk C.L., Oxford J.T. DICER1 syndrome: DICER1 mutations in rare cancers. *Cancers (Basel).* 2018; 10 (5): e143. DOI: 10.3390/cancers10050143.
  27. Cimmino A., Calin G.A., Fabbri M., Iorio M.V., Ferracin M., Shimizu M., Wojcik S.E., Aqeilan R.I., Zupo S., Dono M., Rassenti L., Alder H., Volinia S., Liu C.G., Kipps T.J., Negrini M., Croce C.M. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2005; 102 (39): 13944–13949. DOI: 10.1073/pnas.0506654102.
  28. Calin G.A., Dumitru C.D., Shimizu M., Bichi R., Zupo S., Noch E., Aldler H., Rattan S., Keating M., Rai K., Rassenti L., Kipps T., Negrini M., Bullrich F., Croce C.M. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2002; 99 (24): 15524–15529. DOI: 10.1073/pnas.242606799.

29. Shen J., Ambrosone C.B., DiCioccio R.A., Odunsi K., Lele S.B., Zhao H. A functional polymorphism in the miR-146a gene and age of familial breast/ovarian cancer diagnosis. *Carcinogenesis*. 2008; 29 (10): 1963–1966. DOI: 10.1093/carcin/bgn172.
30. Xu T., Zhu Y., Wei Q.K., Yuan Y., Zhou F., Ge Y.Y., Yang J.R., Su H., Zhuang S.M. A functional polymorphism in the miR-146a gene is associated with the risk for hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis*. 2008; 29 (11): 2126–2131. DOI: 10.1093/carcin/bgn195.
31. Permuth-Wey J., Thompson R.C., Burton Nabors L., Olson J.J., Browning J.E., Madden M.H., Ann Chen Y., Egan K.M. A functional polymorphism in the pre-miR-146a gene is associated with risk and prognosis in adult glioma. *J. Neurooncol.* 2011; 105 (3): 639–646. DOI: 10.1007/s11060-011-0634-1.
32. Wang X., Ren H., Zhao T., Ma W., Dong J., Zhang S., Xin W., Yang S., Jia L., Hao J. Single nucleotide polymorphism in the microRNA-199a binding site of HIF1A gene is associated with pancreatic ductal adenocarcinoma risk and worse clinical outcomes. *Oncotarget*. 2016; 7 (12): 1371–13729. DOI: 10.18632/oncotarget.7263.
33. Song F., Zheng H., Liu B., Wei S., Dai H., Zhang L., Calin G.A., Hao X., Wei Q., Zhang W., Chen K. An miR-502-binding site single-nucleotide polymorphism in the 3'-untranslated region of the SET8 gene is associated with early age of breast cancer onset. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15 (19): 6292–6300. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0826.
34. Takagi T., Iio A., Nakagawa Y., Naoe T., Tanigawa N., Akao Y. Decreased expression of microRNA-143 and -145 in human gastric cancers. *Oncology*. 2009; 77 (1): 12–21. DOI: 10.1159/000218166.
35. Volinia S., Calin G.A., Liu C.G., Ambs S., Cimmino A., Petrocca F., Visone R., Iorio M., Roldo C., Ferracin M., Prueitt R.L., Yanaihara N., Lanza G., Scarpa A., Vecchione A., Negrini M., Harris C.C., Croce C.M. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2006; 103 (7): 2257–2261. DOI: 10.1073/pnas.0510565103.
36. Chan J.A., Krichevsky A.M., Kosik K.S. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. *Cancer Res.* 2005; 65 (14): 6029–6033. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0137.
37. Wei R., Yang Q., Han B., Li Y., Yao K., Yang X., Chen Z., Yang S., Zhou J., Li M., Yu H., Yu M., Cui Q. MicroRNA-375 inhibits colorectal cancer cells proliferation by downregulating JAK2/STAT3 and MAP3K8/ERK signaling pathways. *Oncotarget*. 2017; 8 (10): 1663–16641. DOI: 10.18632/oncotarget.15114.
38. Shen Z.Y., Zhang Z.Z., Liu H., Zhao E.H., Cao H. MiR-375 inhibits the proliferation of gastric cancer cells by repressing ERBB2 expression. *Exp. Ther. Med.* 2014; 7 (6): 1757–1761. DOI: 10.3892/etm.2014.1627.
39. Khan A.A., Betel D., Miller M.L., Sander C., Leslie C.S., Marks D.S. Transfection of small RNAs globally perturbs gene regulation by endogenous microRNAs. *Nat. Biotechnol.* 2009; 27 (6): 549–555. DOI: 10.1038/nbt.1543.
40. Riley K.J., Yario T.A., Steitz J.A. Association of Argonaute proteins and microRNAs can occur after cell lysis. *RNA*. 2012; 18 (9): 1581–1585. DOI: 10.1261/rna.034934.112.
41. Bader A.G., Brown D., Stoudemire J., Lammers P. Developing therapeutic microRNAs for cancer. *Gene Ther.* 2011; 18 (12): 1121–1126. DOI: 10.1038/gt.2011.79.
42. Koo K.H., Kwon H. MicroRNA miR-4779 suppresses tumor growth by inducing apoptosis and cell cycle arrest through direct targeting of PAK2 and CCND3. *Cell Death Dis.* 2018; 9 (2): 77. DOI: 10.1038/s41419-017-0100-x.
43. Huang X., Schwind S., Yu B., Santhanam R., Wang H., Hoellerbauer P., Mims A., Klisovic R., Walker A.R., Chan K.K., Blum W., Perrotti D., Byrd J.C., Bloomfield C.D., Caligiuri M.A., Lee R.J., Garzon R., Muthusamy N., Lee L.J., Marcucci G. Targeted delivery of microRNA-29b by transferrin-conjugated anionic lipopolyplex nanoparticles: a novel therapeutic strategy in acute myeloid leukemia. *Clin. Cancer Res.* 2013; 19 (9): 2355–2367. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3191.
44. Wilusz J.E., Sunwoo H., Spector D.L. Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world. *Genes Dev.* 2009; 23 (13): 1494–1504. DOI: 10.1101/gad.1800909.
45. Hansen T.B., Jensen T.I., Clausen B.H., Bramsen J.B., Finsen B., Damgaard C.K., Kjems J. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature*. 2013; 495 (7441): 384–388. DOI: 10.1038/nature11993.
46. Ebert M.S., Neilson J.R., Sharp P.A. MicroRNA sponges: competitive inhibitors of small RNAs in mammalian cells. *Nat. Methods*. 2007; 4 (9): 721–726. DOI: 10.1038/nmeth1079.
47. Zhou L., Jiang F., Chen X., Liu Z., Ouyang Y., Zhao W., Yu D. Downregulation of miR-221/222 by a microRNA sponge promotes apoptosis in oral squamous cell carcinoma cells through upregulation of PTEN. *Oncol. Lett.* 2016; 12 (6): 4419–4426. DOI: 10.3892/ol.2016.5250.
48. Grünweller A., Hartmann R.K. Locked nucleic acid oligonucleotides: the next generation of antisense agents? *BioDrugs*. 2007; 21 (4): 235–243. DOI: 10.2165/00063030-200721040-00004.
49. Палкина Н.В., Комина А.В., Аксененко М.Б., Белоногов Р.Н., Лаврентьев С.Н., Рукша Т.Г. Жизнеспособность клеток меланомы В16 *in vitro* и токсичность ингибитора miR-204-5p (LNA<sup>TM</sup>) *in vivo* при модуляции экспрессии miR-204-5p мышей. *Цитология*. 2018; 60 (3): 180–187. DOI: 10.31116/tsitol.2018.03.04.
50. Najafi Z., Sharifi M., Javadi G. Degradation of miR-21 induces apoptosis and inhibits cell proliferation in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Gene Ther.* 2015; 22 (11): 530–535. DOI: 10.1038/cgt.2015.51.
51. Acunzo M., Romano G., Nigita G., Veneziano D., Fattore L., Lagana A., Zanesi N., Fadda P., Fassan M., Rizzotto L., Kladney R., Coppola V., Croce C.M. Selective

- targeting of point-mutated KRAS through artificial microRNAs. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2017; 114 (21): e4203–4212. DOI: 10.1073/pnas.1620562114.
52. Jedidi A., Marty C., Oligo C., Jeanson-Leh L., Ribeil J.A., Casadevall N., Galy A., Vainchenker W., Villeval J.L. Selective reduction of JAK2V617F-dependent cell growth by siRNA/shRNA and its reversal by cytokines. *Blood*. 2009; 114 (9): 1842–1851. DOI: 10.1182/blood-2008-09-176875.
  53. Brown P.N., Yin H. PNA-based microRNA inhibitors elicit anti-inflammatory effects in microglia cells. *Chem. Commun. (Camb.)*. 2012; 49 (39): 4415–4417. DOI: 10.1039/c2cc36540e.
  54. Giesen U., Kleider W., Berding C., Geiger A., Orum H., Nielsen P.E. A formula for thermal stability (Tm) prediction of PNA/DNA duplexes. *Nucleic Acids Res.* 1998; 26 (21): 5004–5006. DOI: 10.1093/nar/26.21.5004.
  55. Oh S.Y., Ju Y., Kim S., Park H. PNA-based antisense oligonucleotides for microRNAs inhibition in the absence of a transfection reagent. *Oligonucleotides*. 2010; 20 (5): 225–230. DOI: 10.1089/oli.2010.0238.
  56. Fabani M.M., Abreu-Goodger C., Williams D., Lyons P.A., Torres A.G., Smith K.G.C., Enright A.J., Gait M.J., Vigorito E. Efficient inhibition of miR-155 function *in vivo* by peptide nucleic acids. *Nucleic Acids Res.* 2010; 38 (13): 4466–4475. DOI: 10.1093/nar/gkq160.
  57. White P.J., Anastasopoulos F., Pouton C.W., Boyd B.J. Overcoming biological barriers to *in vivo* efficacy of antisense oligonucleotides. *Expert Rev. Mol. Med.* 2009; 11: e10. DOI: 10.1017/S1462399409001021.
  58. Judge A.D., Sood V., Shaw J.R., Fang D., McClintock K., MacLachlan I. Sequence-dependent stimulation of the mammalian innate immune response by synthetic siRNA. *Nat. Biotechnol.* 2005; 23 (4): 457–462. DOI: 10.1038/nbt1081.
  59. Cheng C.J., Saltzman W.M., Slack F.J. Canonical and non-canonical barriers facing anti-miR cancer therapeutics. *Curr. Med. Chem.* 2013; 20 (29): 3582–3593. DOI: 10.2174/0929867311320290004.
  60. Ben-Shushan D., Markovsky E., Gibori H., Tiram G., Scomparin A., Satchi-Fainaro R. Overcoming obstacles in microRNA delivery towards improved cancer therapy. *Drug Deliv. Transl. Res.* 2014; 4 (1): 38–49. DOI: 10.1007/s13346-013-0160-0.
  61. Fernandez-Piceiro I., Badiola I., Sanchez A. Nanocarriers for microRNA delivery in cancer medicine. *Biotechnol. Adv.* 2017; 35 (3): 350–360. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2017.03.002.
  62. Pramanik D., Campbell N.R., Karikari C., Chivukula R., Kent O.A., Mendell J.T., Maitra A. Restitution of tumor suppressor microRNAs using a systemic nanovector inhibits pancreatic cancer growth in mice. *Mol. Cancer Ther.* 2011; 10 (8): 1470–1480. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0152.
  63. Chen Y., Zhu X., Zhang X., Liu B., Huang L. Nanoparticles modified with tumor-targeting scFv deliver siRNA and miRNA for cancer therapy. *Mol. Ther.* 2010 Sept.; 18 (9): 1650–1656. DOI: 10.1038/mt.2010.136.
  64. Zhang D., Lee H., Zhu Z., Minhas J.K., Jin Y. Enrichment of selective miRNAs in exosomes and delivery of exosomal miRNAs *in vitro* and *in vivo*. *Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol.* 2016; 312 (1): L110–121. DOI: 10.1152/ajplung.00423.2016.
  65. Montoya M.M., Ansel K.M. Small RNA transfection in primary human Th17 cells by next generation electroporation. *J. Vis. Exp.* 2017 Apr.; 122. DOI: 10.3791/55546.
  66. Yang N. An overview of viral and nonviral delivery systems for microRNA. *Int. J. Pharm. Investig.* 2015; 5 (4): 179–181. DOI: 10.4103/2230-973X.167646.
  67. Шахбазов А.В., Космачева С.М., Картель Н.А., Потапнев М.П. Генная терапия на основе мезенхимальных стволовых клеток человека: стратегии и методы. *Цитология и генетика*. 2010; 1: 76–82.
  68. Herrera-Carrillo E., Liu Y.P., Berkhout B. Improving miRNA delivery by optimizing miRNA expression cassettes in diverse virus vectors. *Hum. Gene Ther. Methods*. 2017; 28 (4): 177–190. DOI: 10.1089/hgtb.2017.036.
  69. Chakraborty C., Sharma A.R., Sharma G., Doss C.G.P., Lee S.S. Therapeutic miRNA and siRNA: moving from bench to clinic as next generation medicine. *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2017; 8: 132–143. DOI: 10.1016/j.omtn.2017.06.005.

## Сведения об авторах

Комина Анна Владимировна, канд. биол. наук, науч. сотрудник, КНЦ СО РАН; НМИЦ гематологии, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-2269-0298.

Лаврентьев Семен Николаевич, аспирант, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID 0000-0002-2214-1336.

Рукша Татьяна Геннадьевна, д-р мед. наук, профессор, проректор по научной работе КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID 0000-0001-8142-4283.

(✉) Комина Анна Владимировна, e-mail: komivlann@yandex.ru.

Поступила в редакцию 16.05.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Оценка кальцификации коронарных артерий и отдаленный прогноз сердечно-сосудистых заболеваний

Полонская Я.В.<sup>1</sup>, Каштанова Е.В.<sup>1,2</sup>, Аникина А.В.<sup>1</sup>, Рагино Ю.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины (НИИТПМ) – филиал Федерального исследовательского центра «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук (ФИЦ ИЦиГ СО РАН)  
Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

<sup>2</sup> Новосибирский государственный технический университет (НГТУ)  
Россия, 630073, г. Новосибирск, пр. Карла Маркса, 20

### РЕЗЮМЕ

Сосудистая кальцификация является отличительной чертой сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза. Визуализация кальцификатов осуществляется инвазивными и неинвазивными методами. Знания о наличии и степени кальциноза могут предсказать клинические исходы у пациентов с высоким риском коронарных событий, помочь при проведении профилактики и лечении ишемической болезни сердца.

В статье представлены краткая характеристика методов визуализации сосудистого кальция и обзор исследований по изучению связи кальцификации с риском отдаленных неблагоприятных сердечно-сосудистых событий.

**Ключевые слова:** кальцификация, коронарный атеросклероз, методы оценки кальцификации, сердечно-сосудистые заболевания.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках и при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-015-00055, бюджетной темы по Государственному заданию № 0324-2018-0001.

**Для цитирования:** Полонская Я.В., Каштанова Е.В., Аникина А.В., Рагино Ю.И. Оценка кальцификации коронарных артерий и отдаленный прогноз сердечно-сосудистых заболеваний. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 172–179. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-172-179>.

---

## Assessment of calcification of the coronary arteries and long-term prognosis of cardiovascular disease

Polonskaya Y.V.<sup>1</sup>, Kashtanova E.V.<sup>1,2</sup>, Anikina A.V.<sup>1</sup>, Ragino Yu.I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences  
175/1, Borisa Bogatkova Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation

<sup>2</sup> Novosibirsk State Technical University  
20, Marx Av., Novosibirsk, 630073, Russian Federation

---

✉ Полонская Яна Владимировна, e-mail: yana-polonskaya@yandex.ru.

**ABSTRACT**

Vascular calcification is a distinctive feature of cardiovascular diseases of atherosclerotic origin. Visualization of calcifications is carried out by invasive and non-invasive methods. Knowledge of the presence and degree of calcification can predict clinical outcomes in patients at high risk of coronary events, help in the prevention and treatment of coronary heart disease.

The article presents a brief description of the methods of visualization of vascular calcium and a review of studies on the relationship of calcification with the risk of long-term adverse cardiovascular events.

**Key words:** calcification, coronary atherosclerosis, methods of assessing vascular calcification, cardiovascular disease.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** This work was carried out within the framework and with financial support of the RFBR grant No. 19-015-00055, the budget theme for State Assignment No. 0324-2018-0001.

**For citation:** Polonskaya Y.V., Kashtanova E.V., Anikina A.V., Ragino Yu.I. Assessment of calcification of the coronary arteries and long-term prognosis of cardiovascular disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 172–179. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-172-179>.

**ВВЕДЕНИЕ**

Ишемическая болезнь сердца (ИБС), основной которой является атеросклероз, остается одной из основных причин заболеваемости и смертности во всех странах мира. Сосудистая кальцификация является отличительной чертой атеросклеротического процесса. Несмотря на обилие клинических данных, фундаментальная роль кальцификации при разрыве нестабильной атеросклеротической бляшки все еще остается неясной. Визуализация структурных особенностей кальцификации в коронарных артериях с использованием инвазивных и неинвазивных методов может иметь значение для прогнозирования разрыва бляшки, а знание о наличии и степени кальцификации давать представление об уровне риска сердечно-сосудистых заболеваний и может помочь при проведении профилактики и лечения ишемической болезни сердца [1–3].

**МЕТОДЫ ОЦЕНКИ КАЛЬЦИЯ**

Общий показатель кальция в коронарной артерии, определяемый с помощью инвазивных и неинвазивных методов визуализации, обеспечивает дополнительную ценность по сравнению с традиционными показателями риска для выявления пациентов с высоким риском сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [4, 5]. К инвазивным методам относятся рентгеновская коронароангиография (КАГ), внутрисосудистое ультразвуковое исследование (ВСУЗИ) и оптическая когерентная томография (ОКТ). К неинвазивным – рентгено-

графия (МСКТ), однофотонная эмиссионная томография, позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) и др. Эти методы имеют свои преимущества и недостатки.

**ИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ**

Основными методиками оценки поражения коронарных артерий являются рентгенэндоваскулярные методы. Преимущества этих методов заключаются в непосредственной визуализации просвета сосуда, установке датчиков вблизи атеросклеротической бляшки, что позволяет наиболее достоверно оценивать выраженность отложения атеросклеротических масс и их кальцинирование.

*Коронарная ангиография.* Коронарная ангиография до сих пор остается одним из ведущих методов диагностики и лечения коронарной недостаточности. Проведение коронарографии позволяет получить наиболее полное представление об анатомии и степени поражения русла коронарных артерий. К недостаткам данного метода исследования можно отнести применение рентгеновского излучения и введение контрастных препаратов. Кроме того, КАГ может предоставить только двухмерный контур коронарного просвета и не может полностью продемонстрировать сложную природу атеросклеротических бляшек, которые ответственны за связь между ангиографическими данными и клиническим исходом [6]. Для выявления морфологических особенностей кальцифицированных бляшек используют виртуальную внутрисосудистую эндоскопию 3D, которая, как было показано, предоставляет до-

полнительную информацию о стенке коронарных артерий и бляшках [7].

В последнее время на смену классической КАГ пришли внутрисосудистое ультразвуковое исследование и оптическая когерентная томография.

*Внутрисосудистое ультразвуковое исследование.* Одной из самых информативных и специфических методик определения атерокальциноза является интракоронарное ультразвуковое исследование с использованием датчиков высокого разрешения. Эта методика позволяет уточнить степень исходного поражения коронарного русла, осуществить эффективный контроль при проведении рентгенэндоваскулярных вмешательств. В отличие от рентгеноконтрастной ангиографии, ВСУЗИ дает возможность получить срез сосудистой стенки в нескольких плоскостях, позволяя количественно и качественно оценить просвет сосуда, область распространения бляшки и ее кальциноз. К недостаткам метода относятся недостаточная визуализация интимы сосуда и неадекватная оценка степени кальцинирования в связи с наличием выраженной акустической тени.

К факторам, ограничивающим применение ВСУЗИ, относятся особенность топика коронарных артерий, затрудняющая продвижения датчика, и микрососудистый характер поражения. Возможности ВСУЗИ существенно расширяются с помощью проведения спектрального анализа полученных данных, при котором четырем основным компонентам атеросклеротической бляшки присваивается соответствующая цветовая кодировка. Такой анализ называется виртуальной гистологией. ВСУЗИ с виртуальной гистологией позволяет обнаружить наиболее опасный тип атеросклеротической бляшки [8]. Используя в своем исследовании ВСУЗИ с виртуальной гистологией Т. Noto и соавт. (2015), наблюдая за больными с острым коронарным синдромом, показали, что при содержании кальция  $>3,4\%$  площади атеросклеротической бляшки, частота коронарных событий возрасла в 4,4 раза [9].

*Оптическая когерентная томография.* Это метод внутрисосудистой светооптической визуализации, использующий лазерное излучение с длиной волны 1 300 нм для получения информации о трехмерном строении сосудистой стенки. В последнее время ОКТ стала ведущей технологией интракоронарной визуализации с более высоким разрешением (10–20 мкм), чем ВСУЗИ (100–200 мкм) [10, 11].

В отличие от внутрисосудистого ультразвука, ОКТ способна оценить толщину кальция и, сле-

довательно, площадь и объем. Этот метод имеет целый ряд преимуществ, таких как высокое разрешение датчиков, краткосрочное проведение исследования, возможность реконструкции наглядных и удобных для интерпретации изображений в различных плоскостях. Однако метод имеет ограничения по глубине проникновения через ткани, которая составляет  $<2$  мм, и это значительно влияет на роль ОКТ в оценке бляшек [7, 12].

Исследование М. Nabara и соавт. (2018), направленное на оценку характеристики кальцификации сосудов *in vivo* с помощью ОКТ по сравнению с данными гистологии, показало, что ОКТ не позволяет увидеть микрокальцификации [13], но может показать пятнистую или крапчатую кальцификацию, которая меньше, чем макрокальцификация, но больше, чем микрокальцификация [14]. Также методом ОКТ затруднено обнаружение кальцификатов, расположенных за некротическим ядром атеросклеротической бляшки [15].

## НЕИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ

Так как инвазивные вмешательства имеют ряд противопоказаний и высокий риск развития осложнений, в медицинской практике все чаще применяют высокотехнологические методы неинвазивной визуализации.

*Рентгенография.* Обнаружением коронарной кальцификации с помощью рентгенографии занимались еще в 1930-е гг. У методики есть некоторые ограничения в применении: при проведении рентгенографии органов грудной клетки можно обнаружить лишь крупные кальцинаты и оценить их протяженность можно только косвенно. Рентгенологический метод является основным методом лучевой диагностики на первом этапе медицинской помощи, а в последующем требуются более высокотехнологичные методы, такие как компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, позитронная эмиссионная томография и т.д. Однако в последние годы внедрение цифровых технологий повысило возможности рентгенографии.

М.Д. Султанова (2017) на 90 пациентах изучала возможности цифровой рентгенографии в диагностике коронарных кальцификаций и сравнивала полученные результаты с результатами мультиспиральной компьютерной томографии. Автором отмечено, что выявление коронарных кальцификаций при цифровой рентгенографии ограничивается определенными значениями индекса кальция и этот метод может быть рекомен-

дован в качестве скрининг-диагностики стратегии риска кардиоваскулярных заболеваний [16].

*Компьютерная томография.* Основным методом количественного определения выраженности кальциноза коронарных артерий является компьютерная томография. При синхронизации с электрокардиографией компьютерная томография позволяет выявлять и количественно определять даже небольшие отложения коронарного кальция и, соответственно, оценивать наличие и тяжесть коронарного атерокальциноза. Согласно стандартизированной количественной системе измерений коронарного кальциноза, количество коронарного кальция выражается в единицах кальциевого индекса. Кальциевый индекс рассчитывается по стандартному методу А. Agatston [17] и определяется путем умножения площади кальцинированного поражения на фактор плотности. Фактор плотности вычисляется по пиковой плотности в зоне кальциноза и составляет 1 – для кальцинатов плотностью 130–199 HU, 2 – для поражений плотностью 200–299 HU, 3 – при плотности 300–399 HU и 4 – для кальцинатов плотностью более 400 HU. Общий кальциевый индекс вычисляется как сумма индексов на всех срезах [18].

*Позитронно-эмиссионная томография.* Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) / КТ с использованием  $^{18}\text{F}$ -фторида натрия ( $^{18}\text{F}$ -NaF) обладает потенциалом неинвазивной идентификации микрокальцификации [19–21]. А. Irkle и соавт. (2015) продемонстрировали, что  $^{18}\text{F}$ -NaF адсорбируется кальцифицированными отложениями внутри атеросклеротической бляшки с высоким сродством и является селективным и специфичным. Кроме того, ПЭТ / КТ с использованием  $^{18}\text{F}$ -NaF позволяет различать области макро- и микрокальцификации [22]. Молекулярная визуализация может диагностировать атеросклероз на более ранней стадии, в том числе у предсимптомных пациентов, и может быть еще одним вариантом обнаружения уязвимых бляшек и прогнозирования будущих неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [23].

## ОЦЕНКА КОРОНАРНОЙ КальЦИФИКАЦИИ И ПРОГНОЗ РИСКА ОТДАЛЕННЫХ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ СОБЫТИЙ

Оценка коронарной кальцификации важна для прогноза риска отдаленных неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов с различными формами коронарного атероскле-

роза, в том числе и субклинического. L.J. Shaw и соавт. (2015) при помощи электронно-лучевой компьютерной томографии определяли индекс коронарной кальцификации у 9 715 пациентов разного пола и возраста без клинических проявлений ИБС, наблюдение велось в течение 15 лет. Высокие индексы коронарной кальцификации ассоциировались с мужским полом, пожилым возрастом, сахарным диабетом, дислипидемией и курением. Авторами отмечено, что у пациентов даже с небольшим уровнем артериального кальция общий риск смертности почти на 70% выше по сравнению с теми, у кого не было каких-либо отложений кальция, а у пациентов с самыми большими отложениями кальция этот риск выше в 6 раз. Исследователи отметили, что степень кальцификации коронарных артерий предсказывает 15-летнюю смертность у бессимптомных пациентов [24].

P. Genevex и соавт. (2014) включили в исследование около 7 тыс. больных с острым коронарным синдромом, которым проводилась коронарная ангиография. У 32% пациентов отмечалась тяжелая и средняя степень кальцификации инфаркт-связанной артерии. Именно у этих пациентов в течение 1 года после острого коронарного синдрома чаще отмечались повторные неблагоприятные сердечно-сосудистые события. Авторы отметили, что умеренная и тяжелая кальцификация была более частой у пожилых людей, пациентов с гипертонической болезнью и с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST. Также авторами были отмечены гендерные отличия, более выраженная кальцификация была у мужчин [25].

M.J. Vlaha и соавт. (2016) изучили более 3 тыс. пациентов с исходным коэффициентом коронарной кальцификации  $>0$ . Наблюдение велось около 10 лет. За это время было выявлено 368 случаев ИБС и 493 случая ССЗ. Авторами было показано, что учет количества кальцифицированных сосудов совместно с определением общего индекса кальцификации позволяет улучшить прогноз неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [26].

На основе результатов исследования CARDIA, включающего более 5 тыс. молодых участников, наблюдаемых в течение 30 лет, у которых через 15, 20 и 25 лет от начала исследования измерялся коронарный кальций, J.J. Carr и соавт. (2017) пришли к выводу, что наличие коронарной кальцификации среди лиц в возрасте 32–46 лет связано с повышенным риском летальной и нефатальной ИБС в течение 12,5 лет наблюдения. Авторы отметили, что коэффициент коронарной кальцифици-

кации 100 и более связан с ранней смертью, а участники исследования моложе 50 лет с любым уровнем коронарного кальция, даже с очень низкими показателями, выявленными при компьютерной томографии, имеют повышенный риск клинической ИБС, ССЗ и смерти [27].

М.И. Лутай и И.П. Голикова (2017) изучили 142 человека с ИБС или подозрением на ИБС. Всем пациентам с целью выявления коронарной кальцификации проводили МСКТ, диагноз верифицирован коронароангиографией. Также авторами оценивалась степень кальциноза аорты. Авторы пришли к выводу, что кальциноз венечных артерий и аорты значимо повышается с возрастом, выше при наличии сахарного диабета, артериальной гипертензии, гиперхолестеринемии. Пациенты с высоким коронарным кальциевым индексом чаще переносили инфаркт миокарда и имели семейный анамнез, отягощенный ИБС, чем пациенты с низким индексом кальция [28].

Выраженность кальцификации аорты и венечных артерий являются независимым предиктором кардиоваскулярной летальности. U. Hoffmann и соавт. (2016) изучали кальций коронарной артерии, грудной и брюшной аорты, митрального и аортального клапана с помощью компьютерной томографии сердца у людей без сердечно-сосудистых заболеваний на момент начала наблюдений. В исследование были включены 3 217 участников, средний возраст составил 50 лет (половина из которых женщины). Участники наблюдались в среднем 8 лет. Авторы оценивали возможности прогноза ИБС, ССЗ и смертности от всех причин по уровню кальцификации сосудов и сравнивали с данными, полученными при помощи Фрамингемской шкалы. По данным авторов, наиболее часто встречалась кальцификация брюшной аорты и коронарной артерии, в то время как кальцификация грудной аорты и клапанов встречались реже. Кальций коронарных артерий наиболее сильно ассоциировался с ИБС, ССЗ и смертностью от всех причин независимо от факторов риска Фрамингемской шкалы. Причем при увеличении начального уровня кальция увеличивался риск развития неблагоприятных событий. Модифицированный индекс A. Agatston 101 и выше указывал на значительный риск развития ИБС и ССЗ. Степень некоронарной кальцификации также выявляет лиц с более высоким риском развития ИБС и ССЗ независимо от факторов риска [29].

N. Lehmann и соавт. (2018) изучали факторы риска и проводили КТ в начале исследования и через 5 лет у 3 281 человека, без сердечно-сосудистых событий на начало и в течение 5 лет

наблюдения. Тяжелые коронарные и сердечно-сосудистые события, а также общие сердечно-сосудистые события, включая реваскуляризацию, регистрировались после второй КТ в течение 10 лет. Авторами установлена высокая прогностическая ценность коронарного кальция в отношении коронарных и сердечно-сосудистых событий, а также смертности от всех причин. Особенно выраженная связь была показана у пациентов с уровнем коронарного кальция более 400 на первом этапе исследования. Эти пациенты имели высокие показатели тяжелых коронарных и тяжелых и общих сердечно-сосудистых событий (10-летний риск: 12,0; 13,5 и 30,9% соответственно). Увеличение коронарного кальция более 400 на втором этапе исследования приводило к почти двукратному повышению риска коронарных и общих сердечно-сосудистых событий по сравнению с лицами, у которых уровень данного показателя при повторной КТ не превышал 400. У пациентов с нулевым уровнем кальция на двух этапах КТ 10-летний риск составил 1,4; 2,0 и 2,8% [30].

A.R. Paixao и соавт. (2015) в своем исследовании оценивали влияние кальцификации коронарной артерии на прогнозирование риска ишемической болезни сердца в более молодой популяции ( $44,4 \pm 9,0$  лет). В исследование включили 2 084 пациента без диабета и сердечно-сосудистых заболеваний. В молодой многонациональной когорте, по данным авторов, добавление определения коронарного кальция к модели, состоящей из традиционных факторов риска ИБС, значительно улучшило дискриминацию и классификацию рисков [31].

M.H. Criqui и соавт. (2017), исследовав 6 814 мужчин и женщин, которые на момент регистрации не имели клинических проявлений сердечно-сосудистых заболеваний, пришли к выводу, что объем кальцификации коронарной артерии положительно и независимо связан с риском ИБС и ССЗ, в то время как плотность кальцификации при любом объеме обратно пропорциональна и достоверно связана с риском ИБС и ССЗ [32]. N.I. Forbang и соавт. (2016) с помощью компьютерной томографии в многонациональной когорте из 997 участников с индексом A. Agatston более 0 определяли объем и плотность кальцификации брюшной аорты и коронарных артерий. Наблюдение велось в течение 9 лет. Изучали ассоциации объема и плотности кальцификации с ИБС, ССЗ и смертью от всех причин. В скорректированных с учетом факторов сердечно-сосудистых заболеваний моделях увеличение объема кальцификации брюшной аорты

было связано с увеличением смертности от всех причин, а коронарных артерий – с ИБС и ССЗ. В отличие от предыдущих исследователей у N.I. Forbang и соавт. плотность кальцификации не была достоверно связана с ССЗ [33].

S.B. Puchner и соавт. (2018) исследовали с помощью компьютерной томографии пациентов с наличием и без острого коронарного синдрома. Авторы отметили, что низкий уровень локального кальция указывает на нестабильность бляшки, в то время как высокий уровень кальция с высокой плотностью может быть маркером стабильности бляшки, несмотря на тот факт, что более высокая общая оценка индекса коронарной кальцификации является маркером повышенного сердечно-сосудистого риска [34].

Помимо объема и плотности кальция в коронарных артериях, прогностическую ценность имеют данные о структурной характеристике кальцификатов. Исследования показывают, что микрокальцификация чаще встречается в нестабильных бляшках, в то время как для стабильных бляшек характерны более крупные отложения [35, 36]. Y. Kataoka и соавт. (2014), изучая при помощи ОКТ пациентов со стабильной ИБС, имеющих клинические показания для чрескожного коронарного вмешательства, показали, что наличие пятнистой кальцификации указывает на большую уязвимость бляшек [37]. Позже M. Sakaguchi и соавт. (2016) исследовали пациентов с острым коронарным синдромом, с разрывом бляшки и без него. Авторы показали, что чаще пятнистая кальцификация имеет тенденцию располагаться вблизи места разрыва бляшки, а наличие пятнистой кальцификации является независимым прогностическим фактором разрыва бляшки [2].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка коронарного кальция помимо традиционных факторов риска обеспечивает ценную, долгосрочную прогностическую информацию для оценки риска ИБС и сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза. В будущем определение показателей плотности кальция, региональной и внекоронарной кальцификации, которые являются прогностическими для риска ИБС и ССЗ, независимо от показателя А. Agatston, могут еще более улучшить оценку риска, что позволит клиницисту назначать профилактическую фармакотерапию с учетом оценки 10-летнего риска ИБС у своих пациентов. Знания морфологических особенностей бляшки могут повлиять на стратегии лечения для профилактики ОКС и быть полезны для понима-

ния патофизиологических механизмов разрыва бляшки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Yahagi K., Davis H.R., Arbustini E., Virmani R. Sex differences in coronary artery disease: pathological observations. *Atherosclerosis*. 2015; 239 (1): 260–267. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.017.
2. Sakaguchi M., Hasegawa T., Ehara S., Matsumoto K., Mizutani K., Iguchi T., Ishii H., Nakagawa M., Shimada K., Yoshiyama M. New insights into spotty calcification and plaque rupture in acute coronary syndrome: an optical coherence tomography study. *Heart Vessels*. 2016; 31 (12): 1915–1922. DOI: 10.1007/s00380-016-0820-3.
3. Nerlekar N., Ha F.J., Cheshire C., Rashid H., Cameron D., Wong D.T., Seneviratne S., Brown A.J. Computed tomographic coronary angiography-derived plaque characteristics predict major adverse cardiovascular events clinical perspective. *Circ. Cardiovasc. Imaging*. 2018; 11 (1): e006973. DOI: 10.1161/CIRCIMAGING.117.006973.
4. Criqui M.H., Knox J.B., Denenberg J.O., Forbang N.I., McClelland R.L., Novotny T.E., Sandfort V., Waalen J., Blaha M.J., Allison M.A. Coronary artery calcium volume and density: potential interactions and overall predictive value: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *JACC Cardiovasc. Imaging*. 2017; 10: 845–854. DOI: 10.1016/j.jcmg.2017.04.018.
5. Greenland P., Blaha M.J., Budoff M.J., Erbel R., Watson K.E. Coronary calcium score and cardiovascular risk. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018; 72 (4): 434–447. DOI: 10.1016/j.jacc.2018.05.027.
6. Xu L., Sun Z. Virtual intravascular endoscopy visualization of calcified coronary plaques: a novel approach of identifying plaque features for more accurate assessment of coronary lumen stenosis. *Medicine (Baltimore)*. 2015; 94 (17): e805. DOI: 10.1097/MD.0000000000000805.
7. Sun Z., Xu L. Coronary CT angiography in the quantitative assessment of coronary plaques. *Biomed Res. Int.* 2014; 2014: 346380. DOI: 10.1155/2014/346380.
8. Тагиева Н.Р., Шахнович Р.М., Миронов В.М., Ежов М.В., Матчин Ю.Г., Митрошкин М.Г., Сафарова М.С., Шитов В.Н., Руда М.Я. Прогностическое значение характеристик атеросклеротических бляшек в коронарных артериях у больных с острым инфарктом миокарда и хронической ишемической болезнью сердца по данным внутрисосудистого ультразвукового исследования. *Атеросклероз и дислипидемия*. 2015; 4 (21): 20–29.
9. Noto T., Kameyama T., Satoh T., Nonomura M., Nozawa T., Inoue H. Association between virtual histology intravascular ultrasound findings and subsequent coronary events in patients with acute coronary syndrome. *Int. Heart J.* 2015; 56 (2): 157–162. DOI: 10.1536/ihj.14-222.
10. Mintz G. Intravascular imaging of coronary calcification and its clinical implications. *JACC Cardiovasc. Imaging*. 2015; 8 (4): 461–471. DOI: 10.1016/j.jcmg.2015.02.003.

11. Wang X., Matsumura M., Mintz G., Lee T., Zhang W., Cao Y., Fujino A., Lin Y., Usui E., Kanaji Y., Murai T., Yonetsu T., Kakuta T., Maehara A. *In vivo* calcium detection by comparing optical coherence tomography, intravascular ultrasound, and angiography. *JACC Cardiovasc. Imaging.* 2017; 10 (8): 869–879. DOI: 10.1016/j.jcmg.2017.05.014.
12. Демин В.В., Демин Д.В., Сероштанов Е.В., Долгов С.А., Григорьев А.В., Демин А.В., Желудков А.Н., Клочков М.Д., Ломакина Е.В. Клинические аспекты применения оптической когерентной томографии для диагностики коронарных артерий. *Международный Журнал интервенционной кардиоангиологии.* 2016; 44: 42–58.
13. Nabara M., Otsuka F., Tsuchikane E., Terashima M., Nasu K., Kinoshita Y., Murata A., Suzuki Y., Kawase Y., Okubo M., Matsuo H., Matsubara T., Yasuda S., Ishibashi-Ueda H., Suzuki T. *In vivo* tissue characterization of human atherosclerotic plaques by optical coherence tomography: A directional coronary atherectomy study with histopathologic confirmation. *Int. J. Cardiol.* 2018; 268: 1–10. DOI: 10.1016/j.ijcard.2018.05.022.
14. Yahagi K., Joner M., Virmani R. The mystery of spotty calcification: can we solve it by optical coherence tomography? *Circ. Cardiovasc. Imaging.* 2016; 9 (1): e004252. DOI: 10.1161/CIRCIMAGING.115.004252.
15. Otsuka F., Sakakura K., Yahagi K., Joner M., Virmani R. Has our understanding of calcification in human coronary atherosclerosis progressed? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014; 34 (4): 724–736. DOI: 10.1161/ATV-BAHA.113.302642.
16. Султанова М.Д. Цифровая рентгенография в диагностике коронарных кальцификаций: возможности и перспективы. *Казанский медицинский журнал.* 2017; 98 (4): 640–644. DOI: 10.17750/KMJ2017-640.
17. Agatston A., Janowitz W., Hildner F., Zusmer N.R., Viamonte M. Jr., Detrano R. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1990; 15 (4): 827–832. DOI: 10.1016/0735-1097(90)90282-t.
18. Bhatti K., Zeltser R. Coronary Artery Calcification. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. URL: <https://www.statpearls.com/kb/viewarticle/20008/> (Accessed 31 Jan 2019).
19. Joshi N.V., Vesey A.T., Williams M.C., Shah A.S., Calvert P.A., Craighead F.H., Yeoh S.E., Wallace W., Salter D., Fletcher A.M., van Beek E.J., Flapan A.D., Uren N.G., Behan M.W., Cruden N.L., Mills N.L., Fox K.A., Rudd J.H., Dweck M.R., Newby D.E. 18F-fluoride positron emission tomography for identification of ruptured and high-risk coronary atherosclerotic plaques: a prospective clinical trial. *Lancet.* 2014; 383 (9918): 705–713. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61754-7.
20. Vesey A.T., Jenkins W.S.A., Irkle A., Moss A., Sng G., Forsythe R.O., Clark T., Roberts G., Fletcher A., Lucatelli C., Rudd J.H.F., Davenport A.P., Mills N.L., Salzman R.A.I-S., Dennis M., Whiteley W.N., van Beek E.J.R., Dweck M.R., Newby D.E. 18F-fluoride and 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography after transient ischemic attack or minor ischemic stroke: case-control study. *Circ. Cardiovasc. Imaging.* 2017; 10 (3): pii: e004976. DOI: 10.1161/CIRCIMAGING.116.004976.
21. Dweck M.R., Aikawa E., Newby D.E., Tarkin J.M., Rudd J.H., Narula J., Fayad Z.A. Noninvasive molecular imaging of disease activity in atherosclerosis. *Circ. Res.* 2016; 119 (2): 330–340. DOI: 10.1161/CIRCRESA-HA.116.307971.
22. Irkle A., Vesey A., Lewis D., Skepper J.N., Bird J.L., Dweck M.R., Joshi F.R., Gallagher F.A., Warburton E.A., Bennett M.R., Brindle K.M., Newby D.E., Rudd J.H., Davenport A.P. Identifying active vascular microcalcification by (18)F-sodium fluoride positron emission tomography. *Nat. Commun.* 2015; 6: 7495. DOI: 10.1038/ncomms8495.
23. Moghbel M., Al-Zaghal A., Werner T.J., Constantinescu C.M., Høilund-Carlsen P.F., Alavi A. The role of PET in evaluating atherosclerosis: a critical review. *Semin. Nucl. Med.* 2018; 48 (6): 488–497. DOI: 10.1053/j.semnuclmed.2018.07.001.
24. Shaw L.J., Giambrone A.E., Blaha M.J., Knapper J.T., Berman D.S., Bellam N., Quyyumi A., Budoff M.J., Callister T.Q., Min J.K. Long-term prognosis after coronary artery calcification testing in asymptomatic patients. A cohort study. *Ann. Intern. Med.* 2015; 163 (1): 14–21. DOI: 10.7326/M14-0612.
25. Genereux P., Madhavan M.V., Mintz G.S., Maehara A., Palmerini T., Lasalle L., Xu K., McAndrew T., Kirtane A., Lansky A.J., Brener S.J., Mehran R., Stone G.W. Ischemic outcomes after coronary intervention of calcified vessels in acute coronary syndromes pooled analysis from the HORIZONS-AMI (Harmonizing Outcomes With Revascularization and Stents in Acute Myocardial Infarction) and ACUITY (Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage Strategy) trials. *JACC.* 2014; 63 (18): 1845–1854. DOI: 10.1016/j.jacc.2014.01.034.4.
26. Blaha M.J., Budoff M.J., Tota-Maharaj R., Dardari Z.A., Wong N.D., Kronmal R.A., Eng J., Post W.S., Blumenthal R.S., Nasir K. Improving the CAC score by addition of regional measures of calcium distribution: Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *JACC Cardiovasc. Imaging.* 2016; 9 (12): 1407–1416. DOI: 10.1016/j.jcmg.2016.03.001.
27. Carr J.J., Jacobs D.R Jr., Terry J.G., Shay C.M., Sidney S., Liu K., Schreiner P.J., Lewis C.E., Shikany J.M., Reis J.P., Goff D.C. Jr. Association of Coronary Artery Calcium in Adults Aged 32 to 46 Years With Incident Coronary Heart Disease and Death. *JAMA Cardiol.* 2017; 2 (4): 391–399. DOI:10.1001/jamacardio.2016.5493.
28. Лутай М.И., Голикова И.П. Кальциноз венечных артерий и аорты у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца: возрастные и гендерные особенности, взаимосвязь с факторами риска. *Укрфа-*

- инский кардиологический журнал. 2017; 1: 25–31. ISSN 1608-635X.
29. Hoffmann U., Massaro J.M., D'Agostino R.B. Sr., Kathiresan S., Fox C.S., O'Donnell C.J. Cardiovascular Event Prediction and Risk Reclassification by Coronary, Aortic, and Valvular Calcification in the Framingham Heart Study. *J. Am. Heart. Assoc.* 2016; 5 (2): e003144. DOI: 10.1161/JAHA.115.003144.
  30. Lehmann N., Erbel R., Mahabadi A.A., Rauwolf M., Möhlenkamp S., Moebus S., Kälsch H., Budde T., Schmermund A., Stang A., Führer-Sakel D., Weimar C., Roggenbuck U., Dragano N., Jöckel K.H. Value of progression of coronary artery calcification for risk prediction of coronary and cardiovascular events: result of the HNR Study (Heinz Nixdorf Recall). *Heinz Nixdorf Recall Study Investigators.Circulation.* 2018; 137 (7): 665–679. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.027034.
  31. Paixao A.R., Ayers C.R., El Sabbagh A., Sanghavi M., Berry J.D., Rohatgi A., Kumbhani D.J., McGuire D.K., Das S.R., de Lemos J.A., Khera A. Coronary artery calcium improves risk classification in younger populations. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2015; 8 (11): 1285–1293. DOI: 10.1016/j.jcmg.2015.06.015.
  32. Criqui M.H., Knox J.B., Denenberg J.O., Forbang N.I., McClelland R.L., Novotny T.E., Sandfort V., Waalen J., Blaha M.J., Allison M.A. Coronary artery calcium volume and density: potential interactions and overall predictive value: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *JACC Cardiovasc. Imaging.* 2017; 10 (8): 845–854. DOI: 10.1016/j.jcmg.2017.04.018.
  33. Forbang N.I., Michos E.D., McClelland R.L., Remigio-Baker R.A., Allison M.A., Sandfort V., Ix J.H., Thomas L., Rifkin D.E., Criqui M.H. Greater volume but not higher density of abdominal aortic calcium is associated with increased cardiovascular disease risk: MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *Circ. Cardiovasc. Imaging.* 2016; 9 (11): e005138. DOI: 10.1161/CIRCIMAGING.116.005138.
  34. Puchner S.B., Mayrhofer T., Park J., Lu M.T., Liu T., Maurovich-Horvat P., Ghemigian K., Bittner D.O., Fleg J.L., Udelson J.E., Truong Q.A., Hoffmann U., Ferencik M. Differences in the association of total versus local coronary artery calcium with acute coronary syndrome and culprit lesions in patients with acute chest pain: The coronary calcium paradox. *Atherosclerosis.* 2018; 274: 251–257. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.04.017.
  35. Inaba M., Ueda M. Vascular calcification – pathological mechanism and clinical application. The significance of arterial calcification in unstable plaques. *Clin. Calcium.* 2015; 25 (5): 679–686. DOI: CliCa1505679686.
  36. Holzapfel G.A., Mulvihill J.J., Cunnane E.M., Walsh M.T. Computational approaches for analyzing the mechanics of atherosclerotic plaques: a review. *J. Biomech.* 2014; 47 (4): 859–869. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2014.01.011.
  37. Kataoka Y., Puri R., Hammad M., Duggal B., Uno K., Kapadia S.R., Tuzcu E.M., Nissen S.E., Nicholls S.J. Spotty calcification and plaque vulnerability *in vivo*: frequency-domain optical coherence tomography analysis. *Cardiovasc. Diagn. Ther.* 2014; 4 (6): 460–469. DOI: 10.3978/j.issn.2223-3652.2014.11.06.

## Сведения об авторах

**Полонская Яна Владимировна**, д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинических, биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-3538-0280.

**Каштанова Елена Владимировна**, д-р биол. наук, зав. лабораторией клинических, биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН; профессор, кафедра инженерных проблем экологии, НГТУ, г. Новосибирск. ORCID 0000-0003-2268-4186.

**Аникина Анастасия Викторовна**, аспирант, лаборатория этиопатогенеза и клиники внутренних болезней, НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск.

**Рагино Юлия Игоревна**, д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, ВРИО руководителя НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск. ORCID 0000-0002-4936-8362.

(✉) Полонская Яна Владимировна, e-mail: yana-polonskaya@yandex.ru.

Поступила в редакцию 03.09.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Молекулярно-генетические маркеры фибрилляции предсердий

Понасенко А.В.<sup>1</sup>, Сеницкий М.Ю.<sup>1,2</sup>, Хуторная М.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (НИИ КПССЗ)  
Россия, 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6

<sup>2</sup> Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук  
(ФИЦ УУХ СО РАН)  
Россия, 650000, г. Кемерово, пр. Советский, 18

### РЕЗЮМЕ

Фибрилляция предсердий (ФП) – наджелудочковая форма тахикардии, характеризующаяся некординованным возбуждением предсердий, проявляющимся в увеличении частоты их сокращения. Частота возникновения данной патологии напрямую коррелирует с возрастом пациентов и достигает 50% в старшей возрастной группе. Необходимость увеличения эффективности профилактических мероприятий обуславливает поиск маркеров, позволяющих оценивать индивидуальные риски развития заболевания. Среди таких маркеров наиболее перспективными являются полиморфные варианты ключевых генов, участвующих в патогенезе ФП. В данном обзоре обсуждены результаты изучения генетических маркеров развития данной патологии, а также возможность их использования в качестве предикторов ФП.

**Ключевые слова:** фибрилляция предсердий, генетический полиморфизм, сердечно-сосудистые заболевания.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2015-0012 «Мультифокальный атеросклероз и коморбидные состояния. Особенности диагностики, управления рисками в условиях крупного промышленного региона Сибири».

**Для цитирования:** Понасенко А.В., Сеницкий М.Ю., Хуторная М.В. Молекулярно-генетические маркеры фибрилляции предсердий. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 180–189. <https://doi.org: 10.20538/1682-0363-2020-1-180–189>.

---

## Molecular genetic markers of atrial fibrillation

Ponassenko A.V.<sup>1</sup>, Sinitsky M.Y.<sup>1,2</sup>, Khutornaya M.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases  
6, Sosnovy Blvd., Kemerovo, 650002, Russian Federation

<sup>2</sup> Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of the Siberian Branch the Russian Academy of Sciences  
18, Sovetsky Av., Kemerovo, 650000, Russian Federation

### ABSTRACT

Atrial fibrillation (AF) is the supraventricular form of tachyarrhythmia characterized by uncoordinated atrial stimulation and manifested in the increased frequency of their contraction. The frequency of this

pathology directly correlates with the patients' age and reaches 50% in an older age group. This fact determines the need for search of any markers of individual AF risk, which may contribute to an increase in the effectiveness of preventive actions. Among such markers, polymorphic variants of genes involved in the pathogenesis of AF are the most promising markers. This review discusses the results of studying the genetic markers of the AF development, as well as the possibility of their use as predictors of this pathology.

**Key words:** atrial fibrillation, genetic polymorphism, cardiovascular diseases.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The work was supported by the basic research program of the Siberian Branch of RAS as part of the research topic No. 0546-2015-0012 "Multifactorial atherosclerosis and comorbid conditions. Peculiarities of diagnosis and risk management in a big industrial region of Siberia".

**For citation:** Ponasenko A.V., Sinitzky M.Y., Khutoraya M.V. Molecular genetic markers of atrial fibrillation. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 180–189. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-180-189>.

## ВВЕДЕНИЕ

Фибрилляция предсердий (ФП) – наджелудочковая форма тахикардии, характеризующаяся нескоординированным возбуждением предсердий, проявляющимся в увеличении частоты их сокращения до 350 раз в минуту и более, что оказывает значимое влияние на насосную функцию сердца [1]. Частота встречаемости ФП в общей популяции постоянно растет, и на сегодняшний день данная патология отмечается примерно у 33,5 млн человек [2]. Показано, что с возрастом наблюдается не только увеличение частоты встречаемости ФП (данная патология развивается у 0,5% людей в возрасте до 40 лет, у 25% – в возрасте от 40 до 70 лет и у 50% – старше 70 лет) [3–5], но и повышение риска возникновения других сердечно-сосудистых событий (до 12,5% в год у пожилых пациентов с ФП) [6–8].

Показатели выживаемости в отдаленном сроке наблюдения пациентов, перенесших хирургическую коррекцию митрального клапана (МК), зависят от наличия сопутствующей ФП, диагностирующейся у 40–60% пациентов с приобретенным поражением МК. Так, у больных с дисфункцией нативного МК ревматического генеза и сопутствующей ФП отмечено 17-кратное повышение риска развития системных тромбоэмболий в сравнении с контрольной группой пациентов с синусовым ритмом. Сохранение ФП после хирургической коррекции порока МК в большинстве случаев является следствием атриомегалии и (или) длительного анамнеза предшествующих нарушений ритма [9].

В основе патогенеза ФП лежат патологии миокарда или нарушения в нейрогуморальном аппарате, регулирующем работу сердца [10, 11]. Примерно в 70% случаев нарушение ритма, характерное для ФП, является вторичным, обусловленным такими заболеваниями, как артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, гипертрофическая и дилатационная кардиомиопатия, врожденные и приобретенные пороки сердца, но в некоторых случаях этиологию заболевания установить не удается. В этих случаях говорят об идиопатической или первичной ФП [12]. Именно эта форма ФП и является наследственно обусловленной [13]. При этом вклад наследственности не исключается и при вторичной ФП, поскольку даже в случае одинаковой тяжести первичного заболевания у различных пациентов данная патология возникает далеко не всегда.

В настоящий момент выделяют две группы факторов риска развития ФП: традиционные (старение, ишемия, сахарный диабет, метаболический синдром, употребление алкоголя и т.д.) и наследственные (полиморфизм генов, задействованных в патогенезе ФП). Наследственные факторы являются одними из важнейших, оказывающих влияние, в том числе, и на эффективность медикаментозной терапии данной патологии, и активно изучаются в настоящее время. Так, в последнее десятилетие было установлено более 30 генетических локусов, тем или иным образом участвующих в патогенезе ФП [14]. На сегодняшний день исследования молекулярно-генетических механизмов развития ФП сосредоточены в двух основных направлениях: 1) выявление генов,

мутации в которых приводят к развитию ФП; 2) изучение полиморфизма генов, оказывающих опосредованное влияние на функцию миокарда (гены ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, воспалительного ответа и др.).

Таким образом, определение генов-кандидатов повышенного риска развития ФП – важнейшее направление современной генетики. Целью подобных исследований является идентификация триггерных факторов, которые ответственны за возникновение различных форм ФП, и факторов, ответственных за хронизацию данной патологии [5, 14].

### МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПОВЫШЕННОГО РИСКА РАЗВИТИЯ ФП

Несмотря на то, что факторы риска развития ФП изучаются уже достаточно давно, концепция о роли наследственности в возникновении данной патологии получила всеобщее признание относительно недавно. Так, в исследовании 2004 г. было установлено, что наличия ФП у родителей на 40% повышает риск развития данной патологии у их детей [15]. Исследование, проведенное в Исландии в 2006 г., показало, что с увеличением генетического расстояния между родственниками значимо снижается риск развития ФП [16], а риск развития данной патологии у обоих монозиготных близнецов выше, чем у дизиготных [17].

Все эти исследования подтверждают значимую роль наследственности в развитии ФП и обуславливают проведение молекулярно-генетических исследований. По состоянию на декабрь 2018 г., было выполнено свыше 3 800 исследований, посвященных поиску ассоциаций генетического полиморфизма и фенотипических проявлений различных признаков (полногеномный поиск ассоциаций, Genome-Wide Associations Studies, GWAS) [18]. В GWAS, выполненном в 2007 г. в Исландии, была установлена связь двух независимых однонуклеотидных полиморфизмов, локализованных на хромосоме 4q25, с развитием ФП [19]. Последующие исследования, выполненные на независимых выборках в европеоидной [20], китайской [21] и афроамериканской [22] популяциях, подтвердили роль данного локуса в развитии ФП. Начиная с 2006 г., с помощью GWAS было установлено еще 23 локуса, ответственных за развитие ФП, причем роль большинства из них в патогенезе ФП была отмечена впервые [14, 23–27].

### ГЕНЫ ИОННЫХ КАНАЛОВ

Согласно данным GWAS, к развитию ФП приводят мутации в генах семейства *KCN* (*KCNA5*, *KCND3*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNH2*, *KCNJ2*, *KCNJ5*, *KCNN2*, *KCNN3* и *KCNQ1*), *SCN* (*SCN5A* и *SCN10A*), *GJA* (*GJA1* и *GJA5*), *CAV* (*CAV1* и *CAV2*) [5, 14]. Эти гены кодируют белки калиевых и натриевых каналов, коннексина и кальвеолина, которые участвуют в мембранном транспорте и играют важную роль в функционировании миокарда. Мутации в данных генах могут влиять на работу каналов и конформацию белков, что в свою очередь оказывает влияние на состояние миокарда.

В 2012 г. коллектив датских ученых исследовал взаимосвязь мутации в гене *KCNE1*, кодирующей бета-субъединицу белка калиевого канала, с развитием ФП. В рамках исследования была секвенирована кодирующая последовательность данного гена у 209 пациентов с ранним началом ФП (возраст доноров, включенных в исследование, составил менее 40 лет), и у 216 здоровых доноров, которые составили контрольную группу. В результате проведенного исследования было обнаружено, что пациенты с ФП являлись носителями гетерозиготных генотипов по гену *KCNE1* с.74 G>T и *KCNE1* с.179 G>A, которые не встречались в контрольной группе. Более того, функциональный анализ данных полиморфных вариантов показал, что мутации в позициях с.74 G>T и с.179 G>A связаны с усилением тока калия через мембрану, что свидетельствует о роли данного процесса в патогенезе ФП [23].

Позднее, в 2014 г., были секвенированы кодирующие регионы в генах калиевых каналов *KCNE2* и *KCNE3* у 192 пациентов с ранним началом ФП. В гене *KCNE3* были идентифицированы две несинонимичные миссенс-мутации M23L (с.67 A>T) и I57T (с.170 T>C), отсутствующие у доноров из контрольной группы без ФП. В то же самое время мутаций в гене *KCNE3*, ассоциированных с ФП, выявлено не было. Таким образом, авторы данного исследования определили мутации гена *KCNE2*, кодирующей бета-субъединицу белка калиевого канала, ассоциированные с повышенным риском развития ранней ФП [24].

L. Li с соавт. оценили ассоциации между полиморфизмом генов *KCNE1*, *KCNQ1*, *KCNH2* и риском развития ФП в китайской популяции. В исследование было включено достаточно большое количество обследуемых – 438 пациентов с ФП и 450 здоровых доноров, что обеспечивает высокую достоверность проведенной работы. Среди девяти изученных однонуклеотидных

замен только три были связаны с повышенным риском ФП. Так, для носителей аллеля G гена *KCNE1* (rs1805127) характерно повышение риска развития данной патологии, по сравнению с носителями аллеля A (A/G против A/A, отношение шансов (ОШ) = 1,56,  $p = 0,049$ ; G/G против A/A, ОШ = 1,59,  $p = 0,044$ ; доминантная модель G/G + A/G против A/A, ОШ = 1,57,  $p = 0,036$ ); рисковыми также являлись аллель C гена *KCNQ1*, rs2283228 (A/C против A/A, ОШ = 1,62,  $p = 0,001$ ; C/C против A/A, ОШ = 1,73,  $p = 0,012$ ; C/C + A/C против A/A, ОШ = 1,64,  $p < 0,001$ ) и аллель A гена *KCNQ1*, rs1057128 (A/A против G/G, ОШ = 1,92,  $p = 0,013$ ; A/A + A/G против G/G, ОШ = 1,78,  $p < 0,025$ ). В то же самое время аллель T гена *KCNH2* (rs1805120) являлся протективным – носители данного аллеля имеют сниженный риск развития ФП. Пять других SNPs (rs2237892, rs2237895, rs2237897, rs2070357 и rs2070356) не показали значимой ассоциации с риском развития ФП ( $p > 0,05$ ) [25].

Эффекты гена *KCNQ1* изучались также и в экспериментах *in vitro*. Опыты показывают, что в случае индуцированной реполяризации предсердий, мутация S140G данного гена приводит к более чем четырехкратному увеличению положительных токов реполяризации и пикового потенциала во время реполяризации мембраны, по сравнению с данными этих показателей у носителей мажорного аллеля; в случае индуцированной реполяризации желудочков пиковый потенциал в мутантных клетках был в три раза выше, чем в случае носительства мажорных аллелей (в целом общий уровень пикового потенциала был выше по сравнению с экспериментами с реполяризацией предсердий, не зависимо от аллельного носительства). Изменение потенциала, в свою очередь, приводило к укорочению интервала QT, которое у пациентов с ФП с мутацией S140G гена *KCNQ1* может нести прогностическое значение [26]. Сходные результаты были получены и на компьютерных моделях в экспериментах *in silico* [27].

В ряде исследований показано влияние нон-сенс-мутации в гене *KCNA5*, кодирующем трансмембранный белок Kv1,5, формирующий натриевые каналы, активирующиеся при изменении мембранного потенциала в области вблизи канала. Данная мутация приводит к синтезу дефектного белка и ассоциирована с повышенным риском развития ФП [19–30].

Еще одним геном семейства *KCN*, довольно хорошо изученным в контексте развития ФП, является ген *KCND3*, кодирующий трансмембранный белок Kv4,3. Еще в 2000 г. коллективом

немецких ученых было установлено, что у пациентов с ФП наблюдается снижение экспрессии мРНК данного гена на 61%, по сравнению с донорами с нормальным синусовым ритмом (уровень значимости данных различий был достаточно высок –  $p < 0,001$ ), в то время как экспрессия мРНК генов *KCNA4* и *KCNA5* была идентична в обеих группах [31]. Сходная тенденция была получена и в более позднем исследовании. Так, экспрессия генов *KCND3* и *KCNJ5* была на 35 и 47% ниже у пациентов с хронической формой ФП по сравнению с контрольной группой. В случае же пароксизмальной формы достоверность различий в экспрессии мРНК получена только для гена *KCND3*. Ген *KCNA5*, как и в предыдущем исследовании, экспрессировался на одинаковом уровне во всех изученных группах. Интересно, что экспрессия белков *KCND3* и *KCNJ5* была достоверно снижена в обеих группах (хроническая и пароксизмальная форма ФП) [32]. В 2013 г. в результате исследования 209 пациентов моложе 40 лет с ФП впервые была показана роль замен с.1633 G<C в гене *KCND3* в развитии ранней ФП [33] и g.112392360 G>T [34] в формировании данной патологии.

Недавно коллективом датских авторов было выполнено крупное исследование, в котором было изучено 14 генов, кодирующих белки, входящие в состав ионных каналов. Авторы установили одну замену в генах *GJA5*, *KCND3*, *KCNE5*, две – в генах *KCNE1*, *KCNE2*, *SCN2B*, три – в генах *KCNA5*, *KCNQ1*, *SCN3B* и восемь замен в гене *SCN5A*, ассоциированных с развитием ранней ФП [35].

## ГЕНЫ АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

Адренорецепторы – класс рецепторов, локализованных на наружной клеточной мембране, отвечающих за распознавание и связывание адреналина, норадреналина и синтетических аналогов катехоламинов и опосредующих их физиологическое и фармакологическое действие. В зависимости от локализации и выполняемой функции, адренорецепторы разделяются на несколько классов: 1)  $\alpha 1A$  – экспрессируются в шейке мочевого пузыря, мочеиспускательном канале и предстательной железе; 2)  $\alpha 2\beta$  – экспрессируются в артериолах (их стимуляция приводит к сужению артериол, что влечет за собой повышение артериального кровяного давления); 3)  $\alpha 2$  – экспрессируются в нервно-мышечных синапсах; 4)  $\beta 1$  – экспрессируются в миокарде и почках (их стимулирование приводит к повышению силы и частоты сердечных сокращений, а также к повышению проводимости

нервного импульса по проводящей системе сердца); 5)  $\beta 2$  – экспрессируются в бронхиолах и печени и 6)  $\beta 3$  – локализуются в жировой ткани. Исходя из биологической функции рецепторов, наибольший интерес для исследователей в области поиска геномных предикторов ФП представляют гены, кодирующие  $\beta 1$ - и  $\alpha 2\beta$ -адренергические рецепторы (*ADRB1* и *ADRA2B* соответственно).

Ген *ADRB1* расположен на длинном плече 10-й хромосомы (11 q23-q25) и кодирует белок, состоящий из 477 аминокислотных остатков. Имеющиеся данные о роли данного гена в развитии ФП достаточно противоречивы. Так, в 2014 г. было проведено крупное проспективное исследование, в которое включили 947 совершеннолетних американцев, перенесших кардиохирургическое вмешательство (коронарное шунтирование, протезирование клапанов, коррекция врожденных пороков сердца) в период с 1999 по 2005 г. Были изучены ассоциации двух полиморфных вариантов rs1801253 (Arg389Gly) и rs1801252 (Ser49Gly) гена *ADRB1* с риском развития ФП в послеоперационном периоде (14 дней после кардиохирургического вмешательства).

Результаты исследования показали, что фибрилляция предсердий была зарегистрирована у 239 (25,2%) пациентов. У носителей генотипа Gly389Gly по замене rs1801253 риск развития ФП увеличивался более чем в 2,5 раза (ОШ = 2,63,  $p = 0,008$ ), по сравнению с носителями генотипа Arg389Arg, причем в группе пациентов, не получающих терапию  $\beta$ -адреноблокаторами, риск увеличивался еще больше – отношение шансов составило 7,00 ( $p = 0,005$ ). Полиморфизм Ser49Gly не был ассоциирован с риском развития данной патологии [36], в отличие от исследования российской популяции, в котором было показано, что гетерозиготный генотип по замене rs1801252 (Ser49Gly) гена *ADRB1* ассоциирован с повышенным риском развития как первичной, так и вторичной ФП [37]. В то же время носители генотипа Arg389Arg по замене rs1801253 гена *ADRB1* с подтвержденным диагнозом ФП были менее чувствительны к терапии, направленной на восстановление сердечного ритма, и требовали более высоких дозировок лекарственных препаратов (атенолола, карведилола, метопролола, дилтиазема, верапамила) по сравнению с носителями гетерозигот по данной замене [38]; хотя в случае терапии с использованием бундиндола среди пациентов с данным генотипом наблюдалось 40%-е снижение смертности по сравнению с носителями аллеля Gly [39].

Ген *ADRA2B* расположен на длинном плече 2-й хромосомы (2q11.2) и кодирует  $\alpha 2\beta$ -адренергический рецептор. Исследование взаимосвязи наследования определенных генетических вариантов гена *ADRA2B* и риска развития семейной ФП было проведено на российской популяции и включило в себя 100 пробандов с диагностированной ФП и 144 их родственника I, II, III степени родства. В результате проведенного исследования были выявлены три вида генотипов: I/I – гомозиготный референсный, I/D – гетерозиготный, D/D – гомозиготный мутантный. При этом установлено статистически значимое преобладание гомозиготного генотипа I/I у больных с ФП по сравнению с контрольной группой (43,7% против 25,2% соответственно,  $p = 0,034$ ). При разделении групп больных с ФП на подгруппы – первичная ФП и вторичная ФП – установлено статистически значимое преобладание гомозиготного генотипа II у больных с первичной ФП (42,2%) по сравнению с контрольной группой (25,2%). При сравнении частот генотипов у больных с ФП предсердий, их родственников и лиц контрольной группы достоверных различий не выявлено. Таким образом, авторы установили, что генотип I/I гена *ADRA2B* может быть фактором риска развития первичной ФП [40].

## ГЕНЫ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ

Ренин-ангиотензиновая система – гормональная система, регулирующая кровяное давление за счет воздействия на тонус сосудов. Ключевую роль в данном процессе играет гормон ангиотензин II, предшественником которого является ангиотензиноген. Ангиотензиноген расщепляется с образованием неактивного пептида ангиотензина I, который под воздействием ангиотензин-превращающего фермента (ACE) превращается в активный ангиотензин II. Ренин-ангиотензиновая система играет важную роль в патогенезе ФП [41], в частности, имеются исследования о роли генов ACE, AGT и AGTR1 в формировании предрасположенности к развитию данной патологии.

В 2004 г. группа тайваньских ученых изучила инсерционный полиморфизм (I/D) гена ACE, шесть аллельных вариантов гена AGT (T174M, M235T, G-6A, A-20C, G-152A, G-217A), а также замену A1166C гена AGTR1 у 250 пациентов с ФП. Было выявлено, что гаплотипы гена AGT существенно отличались между группами пациентов с ФП и контрольной группой (250 человек). Кроме того, показаны достоверные ассоци-

ации замен M235T, G-6A и G-217A в гене *AGT* с риском развития ФП [42]; позднее данный факт был подтвержден – аллель T и генотип T/T полиморфизма M235T, а также аллель G и генотип G/G полиморфизма G-6A продемонстрировали ассоциации с повышенным риском развития данной патологии [43, 44]. В продолжение, в 2008 г., эта же группа провела повторное исследование с привлечением большего количества пациентов (1 236 человек). Выявить ассоциации между отдельными полиморфными вариантами изучаемых генов и риском развития ФП не удалось, в то время как различия по гаплотипам между пациентами и контрольной группой были подтверждены. Более того, были также обнаружены межгенные взаимодействия между I/D-полиморфизмом гена *ACE*, полиморфизмом A1166C гена *AGTR1* и гаплотипами гена *AGT* [45].

Датские исследователи, проанализировав полиморфизм гена *AGT* (A-20C, G-6A, T174M и M235T) и I/D-полиморфизм гена *ACE* у 9 253 человек (из них 968 пациентов с ФП), установили, что носители генотипов A/C и C/C гена *AGT* характеризовались повышенным риском развития ФП по сравнению с носителями генотипа A/A (ОШ = 1,1 и 1,5 соответственно); при этом сочетания данных рискованных генотипов с I/D и D/D вариантами гена *ACE* приводило к увеличению риска развития ФП (ОШ = 1,2 и 2,4 соответственно) [46].

В 2011 г. были опубликованы результаты метаанализа, посвященного I/D-полиморфизму гена *ACE* и охватывающего 18 исследований (7 577 пациентов с ФП). Авторы делают вывод о том, что нет достаточного количества данных, чтобы продемонстрировать связь между данным полиморфизмом и риском развития ФП, однако допускают наличие связи между геном *ACE* и ФП у пациентов с артериальной гипертензией [47]. После публикации данного метаанализа был проведен целый ряд исследований I/D-полиморфизма гена *ACE*. Результаты большинства работ подтверждают более ранние данные об ассоциации генотипов I/D и D/D гена *ACE* с повышенным риском развития ФП [43, 48, 49]. Однако одно из последних исследований, выполненное на российской популяции, напротив, говорит о том, что носительство гомозиготного генотипа D/D может обладать условно протективным эффектом в отношении развития ФП [50].

В недавнем исследовании была также показана ассоциация полиморфизма rs1492099 в гене *AGTR1*, кодирующем рецептор к ангиотензиногену, с ФП в китайской популяции (частота ми-

норного аллеля в группе пациентов составила 14,2% по сравнению с 8,8% в контрольной группе, ОШ = 1,727), а также полиморфизма rs6632677 гена *ACE2* (частота минорного аллеля составила 16,3% у пациентов мужского пола в сравнении с 9,1% у здоровых мужчин, ОШ = 1,954) [51].

## ГЕН NO-СИНТАЗЫ

Различные факторы вазодилатации, регулирующие сосудистый тонус, могут модулировать сократительную активность миокарда, участвуя, таким образом, в патогенезе ФП. К таким факторам относится и оксид азота (NO), препятствующий тоническому сокращению сосудов эндокринного, нейронального или локального происхождения и образующийся под действием NO-синтазы (NOS). Снижение продукции NO-синтазы может вызывать окислительный стресс и провоцировать изменения в проводящей системе миокарда, что, в свою очередь, приводит к развитию ФП [52]. NO-синтаза кодируется геном *eNOS*, локализованным на 7-й хромосоме. Исследованием данного гена относительно ФП занималась группа российских ученых [53]. Были обследованы 100 пробандов и их родственников I, II, III степени родства и 91 пациент с отсутствием клинических проявлений заболеваний сердечно-сосудистой системы, составивших контрольную группу. Выявлено достоверное преобладание гомозиготного генотипа G/G (замена G894T) у больных с ФП (58,5%) по сравнению с контрольной группой (39,6%;  $p = 0,039$ ). При разделении группы больных с ФП на подгруппы с первичной и вторичной ФП выявлено достоверное преобладание гомозиготного генотипа G/G только у больных с первичной ФП, по сравнению с донорами из контрольной группы. У пациентов с вторичной ФП статистически значимых различий в частотах аллелей и генотипов выявлено не было. Таким образом, показано, что аллель G является предрасполагающим фактором к развитию фибрилляции предсердий.

Была также изучена взаимосвязь замен G894T, T786C и 4b/a в гене *eNOS* и ФП у пациентов с сердечной недостаточностью. Было выявлено, что аллель G (полиморфизм G894T) чаще встречается в группе пациентов с ФП, а носители генотипа G/G характеризуются более чем трехкратным повышением риска развития данной патологии [54, 55]. Остальные изученные полиморфные варианты не были ассоциированы с ФП [54], при этом в более поздних исследованиях, напротив, были показаны протективный полиморфизм T786C в модуляции риска развития ФП [56], а также отсутствие каких-либо значимых ассоциаций [57].

## ГЕНЫ РЕЦЕПТОРОВ, СВЯЗАННЫХ С G-БЕЛКАМИ

Киназы, связанные с G-белками (GRK-киназы), – семейство протеинкиназ, фосфорилирующих внутриклеточные домены рецепторов, сопряженных с G-белком (GPCR), и регулирующих их активность. Фосфорилирование происходит после связывания рецептором лиганда и диссоциации G-белка. Кроме этого, GRK-киназы регулируют клеточный ответ, независимый от их киназной активности. Ген *GRK5* – важный регулятор функции GPCR, располагающийся в 24-м регионе длинного плеча 10-й хромосомы (10q24). Согласно литературным данным, полиморфизм данного гена ассоциирован со снижением смертности среди афроамериканцев с сердечной недостаточностью и ишемической болезнью сердца [58].

В 2014 г. было проведено обширное исследование с включением 563 пациентов, подвергшихся аортокоронарному шунтированию, из которых у 111 развилась послеоперационная ФП. В целом были проанализированы 492 однонуклеотидные замены в 10 генах. В ходе исследования установлено, что четыре полиморфных варианта гена *GRK5* были ассоциированы с повышенным риском развития послеоперационной ФП (rs3740563, ОШ = 2,75; rs4752292, ОШ = 2,21; rs1198893, ОШ = 2,51; rs10787959, ОШ = 1,72). Проведенный метаанализ показал, что полиморфный вариант rs3740563 играет наибольшую роль в формировании индивидуальной чувствительности к развитию ФП. Таким образом, у пациентов, перенесших аортокоронарное шунтирование, генетическая изменчивость гена *GRK5* связана с послеоперационной ФП, несмотря на предоперационную терапию β-адреноблокаторами [59].

Подобное исследование было также проведено на китайской популяции. В исследование были включены 1 348 пациентов, у которых было проанализировано девять однонуклеотидных замен, шесть из которых также оценивались в другой группе из 2 000 пациентов с целью валидации результатов. Только два варианта гена *GRK5* (rs4752292 и rs1198893) были ассоциированы с повышенным риском развития ФП, отношения шансов для минорного аллеля составили 1,32 и 1,47 соответственно [60].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные в обзоре литературные данные подтверждают важную роль генов различных систем, задействованных в патогенезе ФП (ионных каналов, адренорецепторов, ренин-ангиотензино-

вой системы, NO-синтазы, рецепторов GRK-киназ) в формировании повышенных индивидуальных рисков развития данной патологии. Имеющиеся данные свидетельствуют о достаточно обширной панели генов, которые могут служить потенциальными молекулярно-генетическими маркерами развития ФП, а также о необходимости изучения межгенных взаимодействий между потенциальными генами-кандидатами. Вместе с тем полученные на настоящий момент данные об ассоциации некоторых генов с ФП отличаются противоречивостью и интерпретационной вариацией в зависимости от изученной популяции, что обуславливает необходимость более подробных исследований на различных этнических группах.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Мазур Н.А. Фибрилляция и трепетание предсердий. М.: Медпрактика-М, 2003: 20.
2. Polovina M., Đikić D., Vlajković A., Vilotijević M., Milinković I., Аљанин М., Ostojić M., Coats A.J.S., Seferović P.M. Adverse cardiovascular outcomes in atrial fibrillation: validation of the new 2MACE risk score. *Int. J. Cardiol.* 2017; 249: 191–197. DOI: 10.1016/j.ijcard.2017.09.154.
3. Sun Y., Hu D. The link between diabetes and atrial fibrillation: cause or correlation? *J. Cardiovasc. Dis.* 2010; 1 (1): 10–11. DOI: 10.4103/0975-3583.59978.
4. Lloyd-Jones D.M., Wang T.J., Leip E.P., Larson M.G., Levy D., Vasan R.S., D'Agostino R.B., Massaro J.M., Beiser A., Wolf P.A., Benjamin E.J. Lifetime risk for development of atrial fibrillation: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2004; 110 (9): 1042–1046. DOI: 10.1161/01.CIR.0000140263.20897.42.
5. Darbar D., Roden D.M. Genetic mechanisms of atrial fibrillation: impact on response to treatment. *Nat. Rev. Cardiol.* 2013; 10 (6): 317–329. DOI: 10.1038/nrcardio.2013.53.
6. O'Neal W.T., Sangal K., Zhang Z.M., Soliman E.Z. Atrial fibrillation and incident myocardial infarction in the elderly. *Clin. Cardiol.* 2014; 37 (12): 750–755. DOI: 10.1002/clc.22339.
7. Winkel T.A., Hoeks S.E., Schouten O., Zeymer U., Limbourg T., Baumgartner I., Bhatt D.L., Steg P.G., Goto S., Röther J., Cacoub P.P., Verhagen H.J., Bax J.J., Poldermans D. Prognosis of atrial fibrillation in patients with symptomatic peripheral arterial disease: data from the reduction of atherothrombosis for continued health (REACH) registry. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2010; 40 (1): 9–16. DOI: 10.1016/j.ejvs.2010.03.003.
8. Lee H.Y., Yang P.S., Kim T.H., Uhm J.S., Pak H.N., Lee M.H., Joung B. Atrial fibrillation and the risk of myocardial infarction: a nation-wide propensity-matched study. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1): 12716. DOI: 10.1038/s41598-017-13061-4.
9. Одаренко Ю.Н., Рутковская Н.В., Горбунова Е.В., Хоменко Е.А., Кокорин С.Г., Барбараш О.А. Приме-

- нение биопротезов в хирургии митральных пороков: возможности отказа от антикоагулянтной терапии. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2018; 7 (3): 72–82. DOI: 10.17802/2306-1278-2018-7-3-72-82.
10. Markides V., Schilling R.J. Atrial fibrillation: classification, pathophysiology, mechanisms and drug treatment. *Heart*. 2003; 89 (8): 939–943. DOI: 10.1136/heart.89.8.939.
  11. Hu Y.F., Chen Y.J., Lin Y.J., Chen S.A. Inflammation and the pathogenesis of atrial fibrillation. *Nat. Rev. Cardiol.* 2015; 12 (4): 230–243. DOI: 10.1038/nrcardio.2015.2.
  12. Никулина С.Ю., Шульман В.А., Кузнецова О.О., Аксюткина Н.В., Шестерня П.А., Чернова А.А., Максимов В.Н., Куликов И.В., Устинов С.Н., Казаринова Ю.А., Ромащенко А.Г., Воевода М.И. Клинико-генетические особенности фибрилляции предсердий. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2008; 4 (2): 13–18.
  13. Parvez B., Chopra N., Rowan S., Vaglio J.C., Muhammad R., Roden D.M., Darbar D. A common  $\beta$ 1-adrenergic receptor polymorphism predicts favorable response to rate-control therapy in atrial fibrillation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2012; 59 (1): 49–56. DOI: 10.1016/j.jacc.2011.08.061.
  14. Bapat A., Anderson C.D., Ellinor P.T., Lubitz S.A. Genomic basis of atrial fibrillation. *Heart*. 2018; 104 (3): 201–206. DOI: 10.1136/heartjnl-2016-311027.
  15. Lubitz S.A., Yin X., Fontes J.D., Magnani J.W., Rienstra M., Pai M., Villalon M.L., Vasan R.S., Pencina M.J., Levy D., Larson M.G., Ellinor P.T., Benjamin E.J. Association between familial atrial fibrillation and risk of new-onset atrial fibrillation. *JAMA*. 2010; 304 (20): 2263–2269. DOI: 10.1001/jama.2010.1690.
  16. Arnar D.O., Thorvaldsson S., Manolio T.A., Thorgeirsson G., Kristjansson K., Hakonarson H., Stefansson K. Familial aggregation of atrial fibrillation in Iceland. *Eur. Heart J.* 2006; 27 (6): 708–712. DOI: 10.1093/eurheartj/ehi727.
  17. Christophersen I.E., Ravn L.S., Budtz-Joergensen E., Skytthe A., Haunsoe S., Svendsen J.H., Christensen K. Familial aggregation of atrial fibrillation: a study in Danish twins. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2009; 2 (4): 378–383. DOI: 10.1161/CIRCEP.108.786665.
  18. GWAS Catalog. URL: [https://www.ebi.ac.uk/gwas/search?query=\\*&filter=recent](https://www.ebi.ac.uk/gwas/search?query=*&filter=recent) (Accessed 25 December 2018).
  19. Gudbjartsson D.F., Arnar D.O., Helgadóttir A., Gretarsdóttir S., Holm H., Sigurdsson A., Jonasdóttir A., Baker A., Thorleifsson G., Kristjansson K., Pálsson A., Blondal T., Sulem P., Backman V.M., Hardarson G.A., Palsdóttir E., Helgason A., Sigurjonsdóttir R., Sverrisson J.T., Kostulas K., Ng M.C., Baum L., So W.Y., Wong K.S., Chan J.C., Furie K.L., Greenberg S.M., Sale M., Kelly P., MacRae C.A., Smith E.E., Rosand J., Hillert J., Ma R.C., Ellinor P.T., Thorgeirsson G., Gulcher J.R., Kong A., Thorsteinsdóttir U., Stefansson K. Variants conferring risk of atrial fibrillation on chromosome 4q25. *Nature*. 2007; 448 (7151): 353–357. DOI: 10.1038/nature06007.
  20. Kaab S., Darbar D., van Noord C., Dupuis J., Pfeufer A., Newton-Cheh C., Schnabel R., Makino S., Sinner M.F., Kannankeril P.J., Beckmann B.M., Choudry S., Donahue B.S., Heeringa J., Perz S., Lunetta K.L., Larson M.G., Levy D., MacRae C.A., Ruskin J.N., Wacker A., Schömig A., Wichmann H.E., Steinbeck G., Meitinger T., Uitterlinden A.G., Witteman J.C., Roden D.M., Benjamin E.J., Ellinor P.T. Large scale replication and meta-analysis of variants on chromosome 4q25 associated with atrial fibrillation. *Eur. Heart. J.* 2009; 30 (7): 813–839. DOI: 10.1093/eurheartj/ehn578.
  21. Shi L., Li C., Wang C., Xia Y., Wu G., Wang F., Xu C., Wang P., Li X., Wang D., Xiong X., Bai Y., Liu M., Liu J., Ren X., Gao L., Wang B., Zeng Q., Yang B., Ma X., Yang Y., Tu X., Wang Q.K. Assessment of association of rs2200733 on chromosome 4q25 with atrial fibrillation and ischemic stroke in a Chinese Han population. *Hum. Genet.* 2009; 126 (6): 843–849. DOI: 10.1007/s00439-009-0737-3.
  22. Delaney J.T., Jeff J.M., Brown N.J., Pretorius M., Okafor H.E., Darbar D., Roden D.M., Crawford D.C. Characterization of genome-wide association-identified variants for atrial fibrillation in African Americans. *PLoS One*. 2012; 7 (2): e32338. DOI: 10.1371/journal.pone.0032338.
  23. Olesen M.S., Bentzen B.H., Nielsen J.B., Steffensen A.B., David J.P., Jabbari J., Jensen H.K., Haunsoe S., Svendsen J.H., Schmitt N. Mutations in the potassium channel subunit KCNE1 are associated with early-onset familial atrial fibrillation. *BMC Med. Genet.* 2012; 13: 24. DOI: 10.1186/1471-2350-13-24.
  24. Nielsen J.B., Bentzen B.H., Olesen M.S., David J.P., Olesen S.P., Haunsoe S., Svendsen J.H., Schmitt N. Gain-of-function mutations in potassium channel subunit KCNE2 associated with early-onset lone atrial fibrillation. *Biomark. Med.* 2014; 8 (4): 557–570. DOI: 10.2217/bmm.13.137.
  25. Li L., Shen C., Yao Z., Liang J., Huang C. Genetic variants of potassium voltage-gated channel genes (KCNQ1, KCNH2, and KCNE1) affected the risk of atrial fibrillation in elderly patients. *Genet. Test. Mol. Biomarkers*. 2015; 19 (7): 359–365. DOI: 10.1089/gtmb.2014.0307.
  26. El Harchi A., Zhang H., Hancox J.C. The S140G KCNQ1 atrial fibrillation mutation affects 'I(KS)' profile during both atrial and ventricular action potentials. *J. Physiol. Pharmacol.* 2010; 61 (6): 759–764.
  27. Hancox J.C., Kharche S., El Harchi A., Stott J., Law P., Zhang H. *In silico* investigation of a KCNQ1 mutation associated with familial atrial fibrillation. *J. Electrocardiol.* 2014; 47 (2): 158–165. DOI: 10.1016/j.jelectrocard.2013.12.004.
  28. Olson T.M. et al. Kv1.5 channelopathy due to KCNA5 loss-of-function mutation causes human atrial fibrillation. *Hum. Mol. Genet.* 2006; 15 (14): 2185–2191. DOI: 10.1093/hmg/ddl143.

29. Yang Y. et al. Novel KCNA5 loss-of-function mutations responsible for atrial fibrillation. *J. Hum. Genet.* 2009; 54 (5): 277–283. DOI: 10.1038/jhg.2009.26.
30. Christophersen I.E., Olesen M.S., Liang B., Andersen M.N., Larsen A.P., Nielsen J.B., Haunsø S., Olesen S.P., Tveit A., Svendsen J.H., Schmitt N. Genetic variation in KCNA5: impact on the atrial-specific potassium current I<sub>Kur</sub> in patients with lone atrial fibrillation. *Eur. Heart J.* 2013; 34 (20): 1517–1525. DOI: 10.1093/eurheartj/ehs442.
31. Grammer J.B., Bosch R.F., Kehlkamp V., Seipel L. Molecular remodeling of Kv4.3 potassium channels in human atrial fibrillation. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2000; 11 (6): 626–633. DOI: 10.1111/j.1540-8167.2000.tb00024.x
32. Brundel B.J., Van Gelder I.C., Henning R.H., Tuinenburg A.E., Wietses M., Grandjean J.G., Wilde A.A., Van Gilst W.H., Crijns H.J. Alterations in potassium channel gene expression in atria of patients with persistent and paroxysmal atrial fibrillation: differential regulation of protein and mRNA levels for K<sup>+</sup> channels. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001; 37 (3): 926–932. DOI: 10.1016/s0735-1097(00)01195-5.
33. Olesen M.S., Refsgaard L., Holst A.G., Larsen A.P., Grubb S., Haunsø S., Svendsen J.H., Olesen S.P., Schmitt N., Calloe K. A novel KCND3 gain-of-function mutation associated with early-onset of persistent lone atrial fibrillation. *Cardiovasc. Res.* 2013; 98 (3): 488–495. DOI: 10.1093/cvr/cvt028.
34. Low S.K., Takahashi A., Ebana Y., Ozaki K., Christophersen I.E., Ellinor P.T., AFGen Consortium, Ogishima S., Yamamoto M., Satoh M., Sasaki M., Yamaji T., Iwasaki M., Tsugane S., Tanaka K., Naito M., Wakai K., Tanaka H., Furukawa T., Kubo M., Ito K., Kamatani Y., Tanaka T. Identification of six new genetic loci associated with atrial fibrillation in the Japanese population. *Nat. Genet.* 2017; 49 (6): 953–958. DOI: 10.1038/ng.3842.
35. Olesen M.S., Andreassen L., Jabbari J., Refsgaard L., Haunsø S., Olesen S.P., Nielsen J.B., Schmitt N., Svendsen J.H. Very early-onset lone atrial fibrillation patients have a high prevalence of rare variants in genes previously associated with atrial fibrillation. *Heart Rhythm.* 2014; 11 (2): 246–251. DOI: 10.1016/j.hrthm.2013.10.034.
36. Jeff J.M., Donahue B.S., Brown-Gentry K., Roden D.M., Crawford D.C., Stein C.M., Kurnik D. Genetic variation in the  $\beta$ 1-adrenergic receptor is associated with the risk of atrial fibrillation after cardiac surgery. *Am. Heart J.* 2014; 167 (1): 101–108. DOI: 10.1016/j.ahj.2013.09.016.
37. Nicoulina S., Shulman V., Shesternya P., Chernova A., Salmina A., Issachenko O., Maksimov V., Voevoda M. Association of ADRB1 gene polymorphism with atrial fibrillation. *Genet. Test. Mol. Biomarkers.* 2010; 14 (2): 249–253. DOI: 10.1089/gtmb.2009.0100.
38. Parvez B., Chopra N., Rowan S., Vaglio J.C., Muhammad R., Roden D.M., Darbar D. A common  $\beta$ 1-adrenergic receptor polymorphism predicts favorable response to rate-control therapy in atrial fibrillation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2012; 59 (1): 49–56. DOI: 10.1016/j.jacc.2011.08.061.
39. Parikh K.S., Piccini J.P. Pharmacogenomics of bucindolol in atrial fibrillation and heart failure. *Curr. Heart Fail. Rep.* 2017; 14 (6): 529–535. DOI: 10.1007/s11897-017-0364-6.
40. Шульман В.А., Никулина С.Ю., Дудкина К.В. Роль гена альфа-2-бета-адренорецепторов в генезе фибрилляции предсердий. *Сибирское медицинское обозрение.* 2009; 5 (59): 23–26.
41. Nair G.M., Nery P.B., Redpath C.J., Birnie D.H. The role of renin angiotensin system in atrial fibrillation. *J. Atr. Fibrillation.* 2014; 6 (6): 972. DOI: 10.4022/jafb.972.
42. Tsai C.T., Lai L.P., Lin J.L., Chiang F.T., Hwang J.J., Ritchie M.D., Moore J.H., Hsu K.L., Tseng C.D., Liao C.S., Tseng Y.Z. Renin-angiotensin system gene polymorphisms and atrial fibrillation. *Circulation.* 2004; 109 (13): 1640–1646. DOI: 10.1161/01.CIR.0000124487.36586.26.
43. Topal N.P., Ozben B., Hancer V.S., Tanrikulu A.M., Diz-Kucukkaya R., Fak A.S., Basaran Y., Yesildag O. Polymorphisms of the angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen gene in patients with atrial fibrillation. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2011; 12 (4): 549–556. DOI: 10.1177/1470320311399605.
44. Zhao L.Q., Wen Z.J., Wei Y., Xu J., Chen Z., Qi B.Z., Wang Z., Shi Y.Y., Liu S.W. Polymorphisms of renin-angiotensin-aldosterone system gene in Chinese Han patients with non-familial atrial fibrillation. *PLoS One.* 2015; 10 (2): e0117489. DOI: 10.1371/journal.pone.0117489.
45. Tsai C.T., Hwang J.J., Chiang F.T., Wang Y.C., Tseng C.D., Tseng Y.Z., Lin J.L. Renin-angiotensin system gene polymorphisms and atrial fibrillation: a regression approach for the detection of gene-gene interactions in a large hospitalized population. *Cardiology.* 2008; 111 (1): 1–7. DOI: 10.1159/000113419.
46. Ravn L.S., Benn M., Nordestgaard B.G., Sethi A.A., Agerholm-Larsen B., Jensen G.B., Tybjaerg-Hansen A. Angiotensinogen and ACE gene polymorphisms and risk of atrial fibrillation in the general population. *Pharmacogenet. Genomics.* 2008; 18 (6): 525–533. DOI: 10.1097/FPC.0b013e3282f3e3bd.
47. Liu T., Korantzopoulos P., Xu G., Shehata M., Li D., Wang X., Li G. Association between angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism and atrial fibrillation: a meta-analysis. *Europace.* 2011; 13 (3): 346–354. DOI: 10.1093/europace/euq407.
48. Ueberham L., Bollmann A., Shoemaker M.B., Arya A., Adams V., Hindricks G., Husser D. Genetic ACE I/D polymorphism and recurrence of atrial fibrillation after catheter ablation. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2013; 6 (4): 732–737. DOI: 10.1161/CIRCEP.113.000253.
49. Ma R., Li X., Su G., Hong Y., Wu X., Wang J., Zhao Z., Song Y., Ma S. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphisms associated with risk of atrial fibrillation: A meta-analysis of 23 case-control studies. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2015; 16 (4): 793–800. DOI: 10.1177/1470320315587179.

50. Кускаева А.В., Никулина С.Ю., Чернова А.А., Аксютин Н.В., Кускаев А.П., Черкашина И.И. Роль полиморфизма I/D гена ACE в развитии фибрилляции предсердий. *Кардиология*. 2018; 58 (2): 5–9. DOI: 10.18087/cardio.2018.2.10079.
51. Feng W., Sun L., Qu X.F. Association of AGTR1 and ACE2 gene polymorphisms with structural atrial fibrillation in a Chinese Han population. *Pharmazie*. 2017; 72 (1): 17–21. DOI: 10.1691/ph.2017.6752.
52. Kim M., Guzik J. A myocardial Nox2 containing NAD(P)H oxidase contributes to oxidative stress in human atrial fibrillation. *Circ. Res.* 2005; 97 (7): 629–636. DOI: 10.1161/01.RES.0000183735.09871.61.
53. Шульман В.А., Никулина С.Ю., Дудкина К.В., Воевода М.И., Максимов В.Н., Аксютин Н.В., Чернова А.А., Злодеев К.В., Аллаhverдян А.А. Роль гена NO-синтазы в генезе фибрилляции предсердий. *Сибирское медицинское обозрение*. 2011; 1 (67): 16–20.
54. Bedi M., McNamara D., London B., Schwartzman D. Genetic susceptibility to atrial fibrillation in patients with congestive heart failure. *Heart Rhythm*. 2006; 3 (7): 808–812. DOI: 10.1016/j.hrthm.2006.03.002.
55. Fares F., Smith Y., Azzam N., Zafrir B., Lewis B.S., Amir O. The 894G Allele of the endothelial nitric oxide synthase 3 (eNOS) is associated with atrial fibrillation in chronic systolic heart failure. *J. Atr. Fibrillation*. 2012; 5 (4): 757. DOI: 10.4022/jafib.757.
56. Chen H., Chu H., Shi Y., Bhuyan S.S., Li J.P., Liu S.R., Yang J. Association between endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and atrial fibrillation: a meta-analysis. *J. Cardiovasc. Transl. Res.* 2012; 5 (4): 528–534. DOI: 10.1007/s12265-012-9375-6.
57. Gensini F., Padeletti L., Fatini C., Sticchi E., Gensini G.F., Michelucci A. Angiotensin-converting enzyme and endothelial nitric oxide synthase polymorphisms in patients with atrial fibrillation. *Pacing. Clin. Electrophysiol.* 2003; 26 (1P2): 295–298. DOI: 10.1046/j.1460-9592.2003.00036.x.
58. Liggett S.B., Cresci S., Kelly R.J., Syed F.M., Matkovich S.J., Hahn H.S., Diwan A., Martini J.S., Sparks L., Parekh R.R., Spertus J.A., Koch W.J., Kardia S.L.R., Dorn G.W. A GRK5 polymorphism that inhibits beta-adrenergic receptor signaling is protective in heart failure. *Nat. Med.* 2008; 14 (5): 510–517. DOI: 10.1038/nm1750.
59. Kertai M.D., Li Y.W., Li Y.J., Shah S.H., Kraus W.E., Fontes M.L., Stafford-Smith M., Newman M.F., Podgoreanu M.V., Mathew J.P. G protein-coupled receptor kinase 5 gene polymorphisms are associated with postoperative atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting in patients receiving  $\beta$ -blockers. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2014; 7 (5): 625–633. DOI: 10.1161/CIRC-GENETICS.113.000451.
60. Liu L., Zhang L., Liu M., Zhang Y., Han X., Zhang Z. GRK5 polymorphisms and postoperative atrial fibrillation following coronary artery bypass graft surgery. *Sci. Rep.* 2015; 5: 12768. DOI: 10.1038/srep12768.

## Сведения об авторах

Понасенко Анастасия Валериевна, канд. мед. наук, зав. лабораторией геномной медицины, отдел экспериментальной и клинической кардиологии, НИИ КПССЗ, г. Кемерово. ORCID 0000-0002-3002-2863.

Синицкий Максим Юрьевич, канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория геномной медицины, отдел экспериментальной и клинической кардиологии, НИИ КПССЗ; инженер-технолог 1-й категории, лаборатория цитогенетики, ФИЦ УУХ СО РАН, г. Кемерово. ORCID 0000-0002-4824-2418.

Хуторная Мария Владимировна, мл. науч. сотрудник, лаборатория геномной медицины, отдел экспериментальной и клинической кардиологии, НИИ КПССЗ, г. Кемерово. ORCID 0000-0002-9714-4080.

(✉) Синицкий Максим Юрьевич, e-mail: max-sinitsky@rambler.ru.

Поступила в редакцию 22.03.2019

Подписана в печать 25.12.2019

## Исторические и современные аспекты хирургического лечения аномалии Эбштейна

Трошкинев Н.М.<sup>1</sup>, Подоксенов А.Ю.<sup>1</sup>, Связов Е.А.<sup>1</sup>, Егунов О.А.<sup>1</sup>,  
Кривощев Е.В.<sup>1</sup>, Киселев В.О.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

### РЕЗЮМЕ

На сегодняшний день врожденные пороки сердца (ВПС) занимают одно из ведущих мест среди всей врожденной патологии. Частота ВПС достигает 2,4–14,2% на 1 000 новорожденных. Аномалия Эбштейна – редкая и сложная патология, клиническая картина которой может проявляться в любом возрасте. Медикаментозное лечение пациентов с этой патологией малоэффективно. Предпочтение в данном случае следует отдать хирургическому лечению. Для кардиохирурга важно знать основные методы коррекции этой патологии, их преимущества и недостатки.

В литературном обзоре показана эволюция методов хирургических коррекции аномалии Эбштейна с середины XX в. по настоящий момент. Дано описание хирургической техники основных способов пластики трикуспидального клапана, оказавших влияние на развитие хирургии аномалии Эбштейна. Ключевым моментом для успешной пластики клапана становится объем ткани створки, который возможно отделить от стенки правого желудочка. Приведен опыт выполнения протезирования и пластики трехстворчатого клапана. Наиболее многообещающим методом на сегодняшний день является «конусная» реконструкция. Таким образом, существует необходимость поиска новых методов и модификации уже имеющихся. Работы, направленные на их усовершенствование и устранение недостатков, являются перспективными.

**Ключевые слова:** врожденные пороки сердца, аномалия Эбштейна, протезирование трикуспидального клапана, пластика трикуспидального клапана.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Для цитирования:** Трошкинев Н.М., Подоксенов А.Ю., Связов Е.А., Егунов О.А., Кривощев Е.В., Киселев В.О. Исторические и современные аспекты хирургического лечения аномалии Эбштейна. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 190–202. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-190-202>.

## Historical and modern aspects of surgical treatment of Ebstein's anomaly

Troshkinev N.M.<sup>1</sup>, Podoksenov A.Yu.<sup>1</sup>, Svyazov E.A.<sup>1</sup>, Egunov O.A.<sup>1</sup>,  
Krivoshchekov E.V.<sup>1</sup>, Kiselev V.O.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Research Institute Cardiology, Tomsk National Research Medical Center of Russian Academy of Sciences 111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation*

<sup>2</sup> *Siberian State Medical University 2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation.*

### ABSTRACT

Congenital heart defects (CHDs) are recognized as the most common type of congenital pathology. The frequency of CHDs reaches 2.4–14.2 % per 1 000 newborns. Ebstein's anomaly is a rare and complex pathology that can be manifested clinically at any age. Drug treatment is ineffective in patients with this pathology. Preference in this case should be given to surgical treatment. Cardiac surgeons must know basic methods of correction of this pathology, their advantages, and disadvantages. The literature review shows the evolution of Ebstein's anomaly surgical correction techniques from the middle of the XX century to the present moment. The description of the main tricuspid valve repair techniques, which had an impact on the development of Ebstein's anomaly surgery, is given. The volume of flap tissue that can be separated from the wall of the right ventricle is the key to successful valve repair. A case of tricuspid valve repair and replacement is given. "Cone" reconstruction is the most promising modern technique. There is also a need in new techniques and modification of the existing ones. The works aimed at their improvement and elimination of imperfections are promising.

**Key words:** congenital heart defects, Ebstein's anomaly, tricuspid valve replacement, tricuspid valve repair.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that there is no funding for the study.

**For citation:** Troshkinev N.M., Podoksenov A.Yu., Svyazov E.A., Egunov O.A., Krivoshchekov E.V., Kiselev V.O. Historical and modern aspects of surgical treatment of Ebstein's anomaly. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 190–202. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-190-202>.

### ВВЕДЕНИЕ

Аномалия Эбштейна (АЭ) – редкий врожденный порок сердца «синего» типа, частота встречаемости которого – 5,2 случая на 100 тыс. новорожденных, что составляет около 1% от всех врожденных пороков сердца [1–3]. Wilhelm Ebstein впервые описал данную патологию в 1866 г. при аутопсии умершего от хронической сердечной недостаточности девятнадцатилетнего пациента Josef Prescher. Работая помощником врача и прозектором, он публикует свою статью, в которой описывает данный клинический случай [4]. В нашей стране первое описание этой патологии принадлежит А.А. Елашевичу (1925). Термин «аномалия Эбштейна» как обозначение нозологической единицы впервые был введен в литературу в 1937 г. W. Yater и M. Shapiro, описавшими в своей статье 16 клинических случаев данного порока [5]. Средняя продолжительность жизни при естественном течении заболевания, по данным различных авторов, составляет до 50 лет,

при этом 80–87% летальных исходов приходится на возраст 30–40 лет. В последние годы возрос интерес хирургического сообщества именно к пластическим операциям при АЭ, поэтому цель литературного обзора состоит в описании возможных хирургических подходов для коррекции этой аномалии.

На сегодняшний день нет однозначного мнения относительно этиологии порока. Большинство исследователей склоняются к мультифакторной природе данного заболевания. Эмбриональное развитие трикуспидального клапана (ТК) начинается с 5-й нед внутриутробного развития. Установлено, что именно в этот период происходят нарушения закладки сердечного геля между миокардом желудочка и эндокардом, которые приводят к нарушению процесса деламинации, т.е. эмбрионального отделения ткани створки от ткани правого желудочка (ПЖ) [6].

Для АЭ характерны следующие особенности (рис. 1) [7].

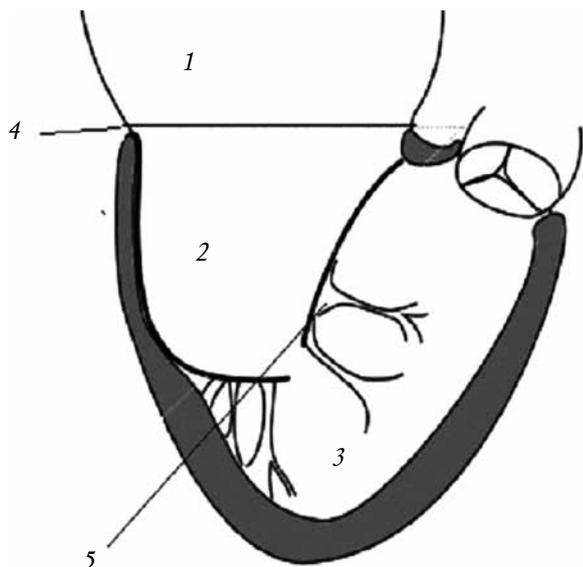


Рис. 1. Схема строения правого желудочка при аномалии Эбштейна: 1 – правое предсердие; 2 – атриализованная часть ПЖ; 3 – функциональная часть ПЖ; 4 – анатомическое кольцо ТК; 5 – функциональное кольцо ТК

Первая особенность – это сращение створок с миокардом желудочка. Как правило, передняя створка больше деламинирована от стенки желудочка, а задняя и септальная створки деламинированы минимально. В самых тяжелых случаях септальная створка представляет собой гребень соединительной ткани. Вторая – передне-апикальное смещение функционального кольца ТК (место перехода атриализованной части желудочка в истинный правый желудочек с нормальной деламинацией створок) по направлению к выводному отделу ПЖ. Третья характерная черта – избыточность ткани передней створки (парусообразная створка), ее фенестрация и ограничение подвижности между створкой клапана и ПЖ за счет соединения хордами. Четвертой особенностью является наличие истонченной, дилатированной и акинетичной части ПЖ (атриализованная часть), причем количество волокон миокарда в этой области значительно меньше, чем в норме [8]. И пятым признаком является расширение истинного (анатомического) фиброзного кольца ТК. По мере увеличения спектра тяжести фиброзная трансформация створок из их мышечных предшественников в процессе эмбриогенеза усиливается [9, 10]. При АЭ изменена структура миокарда ПЖ с меньшим количеством волокон миоцитов, ядра миоцитов смещены под сарколемму, а также нарушены Z-полоски саркомеров, поэтому эту аномалию можно считать миопатией желудочка [11].

Наиболее частый сопутствующий порок – дефект межпредсердной перегородки (42–60% случаев), реже встречаются дефект межжелудочковой перегородки, транспозиция магистральных сосудов и стеноз легочной артерии [10]. Из-за недоразвития истинного фиброзного кольца функционируют дополнительные проводящие пути, которые клинически проявляются синдромом Вольфа – Паркинсона – Уайта в 7–30% случаев [12, 13].

В 1988 г. А. Carpentier [14, 15] (рис. 2) предложил следующую классификацию аномалии Эбштейна.

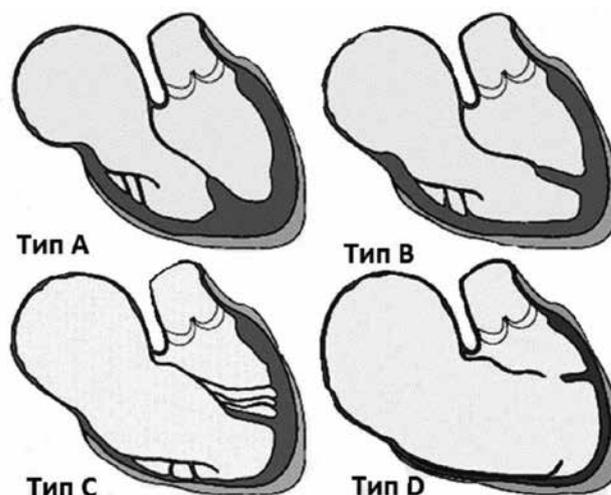


Рис. 2. Типы аномалии Эбштейна [14]: тип А – объем истинного ПЖ удовлетворительный; тип В – имеется большой атриализованный компонент ПЖ, а передняя створка ТК свободно перемещается; тип С – передняя створка ТК ограничена в своем движении и может служить причиной обструкции в выводном отделе ПЖ; тип D – почти полная атриализация желудочка за исключением небольшой части выводного отдела ПЖ

В российских клинических рекомендациях дополнительно выделена крайняя форма АЭ – тип Е: сросшиеся передняя, задняя и септальная створки клапана вместе с приточным отделом ПЖ образуют «трехстворчатый мешок». Стенка приточного отдела ПЖ истончена. Сообщение между «трехстворчатым мешком» (предсердие) и инфундибулумом (желудочек) чаще образовано узким отверстием в области так называемой передне-септальной комиссуры.

Естественное клиническое течение данной патологии зависит от степени дисплазии ТК и функции ПЖ. Несмотря на большой опыт хирургического лечения, показания к оперативному вмешательству не определены. На сегодняшний день показания к оперативному лечению следу-

ющие: снижение толерантности к физической нагрузке; цианоз; прогрессирующая дилатация правых отделов сердца (кардиоторакальный индекс более 60%); дисфункция правого желудочка (фракция выброса ниже 30%, смещение межжелудочковой перегородки в сторону левого желудочка); дисфункция левого желудочка (снижение фракции выброса ниже 50%, сниженный конечно-диастолический объем); предсердные аритмии.

Относительными противопоказаниями для коррекции, по мнению J. Dearani и соавт., являются [16]: возраст старше 50 лет; легочная гипертензия тяжелой степени; значительное снижение функции левого желудочка (фракция выброса менее 30%); полное нарушение деламинации септальной и задней створок трикуспидального клапана, при этом деламинация передней створки составляет менее 50%.

Но за последние несколько лет принципиально изменился подход к показаниям для оперативного лечения. Поскольку практически всем пациентам рано или поздно требуется хирургическое вмешательство при этой патологии, коллектив авторов из клиники Mayo во главе с J. Dearani предлагают выполнять операцию, как только был диагностирован порок. Эта концепция основана на том, что с возрастом функция ПЖ ухудшается из-за перегрузки объемом и увеличивается вероятность правожелудочковой сердечной недостаточности в раннем послеоперационном периоде.

Имеются следующие варианты хирургической коррекции аномалии Эбштейна:

1. Двухжелудочковая коррекция (протезирование клапана (биологический или механический протез), пластика клапана).

2. Полуторажелудочковая коррекция (пластика или протезирование клапана с выполнением двунаправленного кавапальмонального анастомоза).

3. Одножелудочковая коррекция (операция Starnes).

До середины прошлого века лечение пациентов с АЭ было исключительно консервативным. Результаты медикаментозной терапии не были значимыми, поэтому основной приоритет был за хирургической помощью. В настоящее время все операции выполняются на открытом сердце с применением аппарата искусственного кровообращения и остановкой сердечной деятельности.

Большинство детей в новорожденном периоде не требуют хирургического вмешательства. Однако при крайних формах порока с выраженными

ми клиническими проявлениями в виде одышки, цианоза, тахикардии и при отсутствии эффекта от терапии простагландином E1 необходимо хирургическое вмешательство. Дополнительно усиливает правожелудочковую недостаточность и повышенное легочное сосудистое сопротивление, сохраняющееся в первые несколько недель жизни. Для оценки выживаемости таких пациентов в 1992 г. разработана шкала GOSE (Great Ormond Street Echo) [17]. Индекс GOSE равен отношению суммы размеров правого предсердия и атриализованной части к сумме левого предсердия, левого желудочка и функциональной части ПЖ (размеры камер сердца определяются в четырехкамерной позиции). В зависимости от количества баллов определяется риск летального исхода при естественном течении порока (таблица).

Таблица

Шкала GOSE SCORE		
Показатель	SCORE, баллы	Смертность, %
GOSE I	<0,5	0
GOSE II	0,5–0,99	10
GOSE III	1–1,49	44
GOSE IV	>1,5	100

Если анатомия створок и желудочка не подходит для выполнения двухжелудочковой коррекции, выполняют одножелудочковую коррекцию (рис. 3). Впервые данная методика была представлена V.A. Starnes в 1991 г., 27 пациентов с процедурой Starnes в 1989–2015 гг. прооперировано в Children's Hospital Los Angeles.

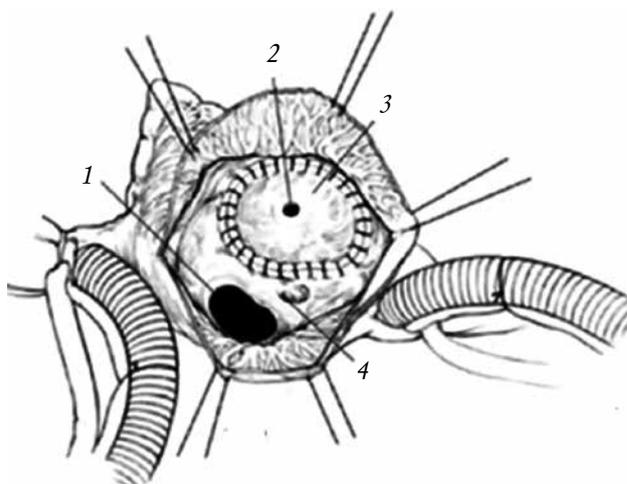


Рис. 3. Операция Starnes. Изображение модифицировано из [18]: 1 – иссеченная межпредсердная перегородка; 2 – фенестрация PTFE заплаты 4 мм; 3 – заплата PTFE; 4 – коронарный синус

Выполняется исключение из кровотока ПЖ путем фиксации к истинному фиброзному кольцу политетрафторэтиленовой заплаты с фенестрацией 4 мм. При этом коронарный синус оставался на стороне правого предсердия. Дополнительно иссекалась межпредсердная перегородка для формирования единого предсердия [18]. Легочный кровоток обеспечивался за счет модифицированного Блелок – Таусиг шунта. На следующем этапе гемодинамической коррекции в возрасте 3–6 мес выполняется двунаправленный каваппульмональный анастомоз, 2–4 лет – процедура тотального каваппульмонального соединения. У новорожденных с крайней формой аномалии Эбштейна правый желудочек дилатирован и не способен функционировать адекватно для поддержания сердечного выброса, поэтому необходимо исключить ПЖ из кровотока [19, 20].

Наибольший интерес хирургов представляет двухжелудочковая коррекция путем пластики или протезирования клапана. Впервые протезирование ТК при АЭ выполнил С. Barnard в ЮАР (г. Кейптаун) в 1963 г. Затем процедура была модифицирована кардиохирургами D. Ross и J. Somerville, которые в 1970 г. применили аортальный гомографт, чтобы избежать необходимости в антикоагулянтах [21]. В 1988 г. N. Kumar и В. Dubeu использовали легочный гомографт для имплантации в трикуспидальную позицию. В СССР успешное протезирование клапана осуществил Г.М. Соловьев в 1964 г [22].

Протезирование клапана возможно с применением биологического или механического протеза [23]. Особенностью протезирования является то, что клапан располагается выше истинного фиброзного кольца ТК. Ткань створок, вызывающая обструкцию выводного отдела ПЖ, должна быть обязательно иссечена, а истинное фиброзное кольцо сужено до размера протеза. Атриализованная часть ПЖ также редуцируется. На заднебоковой стенке ткань обычно истончена, поэтому линия шва должна проходить ближе к предсердию во избежание повреждения правой коронарной артерии. Чтобы избежать повреждения атриовентрикулярного узла, линия шва располагается выше коронарного синуса, соответственно дренирование венозной крови будет осуществляться в ПЖ.

Среди методов хирургического лечения протезирование клапана при данной патологии имеет значительные недостатки по сравнению с реконструктивной хирургией. По данным M. Brown и соавт., отдаленные результаты 378 операций протезирования ТК составляют: 6% смертности

в раннем послеоперационном периоде и 17% в первые 10 лет после. Частота репротезирования составила 41% за последующие 20 лет [24].

В 2007 г. Н. Bartlett и соавт. в своем исследовании описали результаты протезирования ТК у 97 пациентов, средний возраст которых составил  $(2,9 \pm 1,7)$  лет. Получили механический протез 44 ребенка и 53 – биологический протез. В результате 26 (27%) пациентов умерли в раннем послеоперационном периоде. Среди осложнений в раннем послеоперационном периоде отмечалась полная атриовентрикулярная блокада у 13 пациентов, которая потребовала имплантации водителя ритма. В группе с механическим протезом частота блокад была выше, чем в группе с биологическим (23 против 6%). Тромбоз клапана в раннем послеоперационном периоде отмечался у пяти пациентов. Все эти пациенты получили механический протез.

Протезирование ТК связано с высокой смертностью, особенно у детей до 1 года [25]. Значительным недостатком протезирования биологическими клапанами у детей также является их кальциноз, особенно в период активного роста и повышения уровня гормонов в крови. Необходимость постоянного приема антикоагулянтов в случае имплантации механического протеза дает серьезные осложнения и ухудшает качество жизни маленьких пациентов [26]. Кроме того, с ростом ребенка возникает несоответствие размера протеза размерам камер сердца, что опять требует репротезирования с имплантацией протеза большего размера; применение же протезов у новорожденных детей невозможно. Согласно российским данным Ю.Н. Горбатовых и соавт., необходимость репротезирования в 10-летний срок достигает 45–60% [27].

Протезирование ТК оправдано только при неэффективности или невозможности выполнения пластики, поэтому и возникла большая необходимость в новых методах пластики клапана.

Пионером в реконструкции клапана при АЭ можно считать К. Hardy, который в 1964 г. впервые выдвинул концепцию воссоздания клапана из собственных редуцированных тканей створок, а также предложил исключать атриализованную часть желудочка [28]. В нашей стране первую попытку выполнить пластику клапана предпринял Е.Н. Мешалкин, использовав полоску из айвалона для восстановления задней и септальной створок, но результат был неудовлетворительным, и только в 1978 г. И.К. Охоткин реконструировал клапан. В 1979 г., взяв за основу концепцию К. Hardy, коллектив хирургов из кли-

ники Mayo (США) под руководством профессора G. Danielson разработали наиболее совершенную для того времени методику (рис. 4).

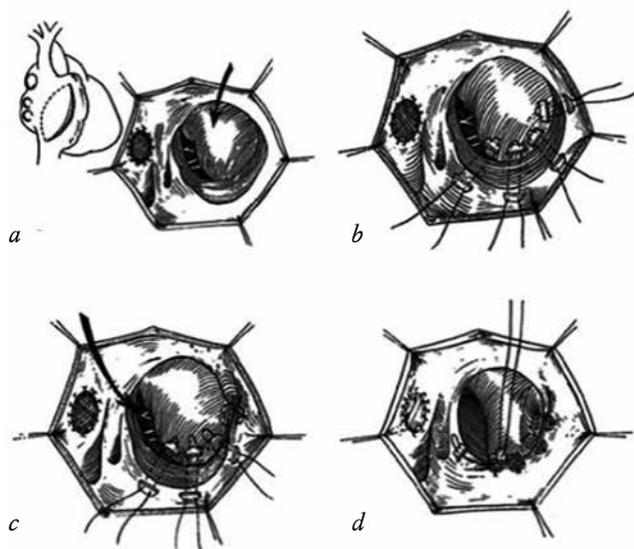


Рис. 4. Хирургическая коррекция по методу G. Danielson (a–d). Изображение модифицировано из [29]

Оригинальный метод заключался в вертикальной пликацией атриализованной части ПЖ, «подтягивания» функционального фиброзного кольца к истинному фиброзному кольцу при помощи П-образных швов на прокладках, а также суживания фиброзного кольца по переднезадней комиссуре. Данная техника применима при условии достаточной мобильности передней створки трикуспидального клапана. В итоге формируется моностворчатый клапан [29]. М. Brown и соавт. применили метод G. Danielson у 182 пациентов. Смертность в раннем послеоперационном периоде составила 5%, в течение 10 лет – 12%. За следующий 20-летний период наблюдения количество реопераций при этом методе – 36%. Эта операция долгое время не имела аналогов для коррекции разных типов АЭ.

Следующая техника была разработана немецким хирургом F. Sebening. Суть данного метода заключается в перемещении папиллярной мышцы передней створки ТК ближе к межжелудочковой перегородке по направлению к истинному трикуспидальному кольцу (рис. 5). Конечной целью данного метода является создание моностворчатого клапана. При этом передняя створка, которая, как правило, мобильная, приближается к краю истинного фиброзного кольца [30].

Данный метод может сочетаться как с другими способами создания компетентного ТК, так и применяться как самостоятельный метод [31].

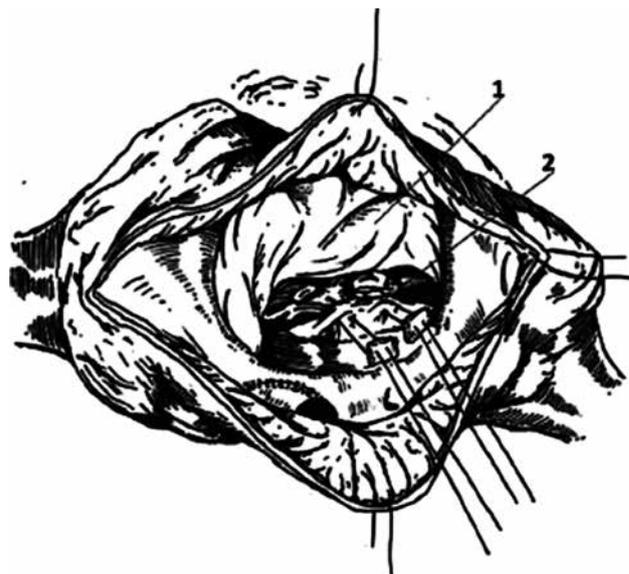


Рис. 5. Хирургическая коррекция по методу F. Sebening stitch. Изображение модифицировано из [31]: 1 – передняя створка; 2 – пликация задней створки

В работе Takeushi Komoda (2007) применялась комбинация методов F. Sebening stitch и техники Hetzer (см. ниже). В исследование были включены 28 пациентов. В группе из 11 человек применялась комбинация методов. Послеоперационное наблюдение осуществлялось в течение 32 мес. В группе с комбинацией методов в результате отсутствовала послеоперационная летальность, также не было реопераций [32, 33].

Техники G. Danielson и F. Sebening stitch были схожи и заключались в создании клапана за счет пликаций тканей створки из желудочка. Они имели положительные моменты, но приводили к деформации в области межжелудочковой борозды, что могло повлечь сдавление правой коронарной артерии и ее ветвей. Этот метод не получил широкого распространения, поскольку был применим лишь у пациентов с типами А и В, когда ткань задней и септальной створки достаточно мобильна, а передняя створка должна быть достаточной площади и не ограничена в движении хордами.

В 1988 г. французский кардиохирург А. Sargentier впервые обратил внимание на возможность создания клапана с использованием собственных гипоплазированных тканей створок. В своей инновационной технике (рис. 6) он впервые описал деламинацию передней и задней створок ТК путем рассечения фиброзированных хорд от стенок миокарда, начиная от высшей точки (функционального кольца).

Рассечение фиброзированных хорд дает мобильность тканям створки для последующего

распределения по всей поверхности истинного фиброзного кольца. Однако хорды, крепящиеся к сосочковой мышце, должны оставаться нетронутыми, чтобы избежать пролапса створки. Затем выполняются пликация атриализованной части по задней стенке ПЖ и сужение истинного фиброзного кольца клапана. Ранее деламинированные створки пришиваются к истинному фиброзному кольцу с поворотом по часовой стрелке. Таким

образом, создается бicuspidальный клапан на уровне истинного фиброзного кольца. У взрослых пациентов фиброзное кольцо дополнительно фиксируется с помощью каркасного опорного кольца. S. Chauvaud и соавт. докладывали о 9%-й летальности в раннем послеоперационном периоде и 13%-й летальности в течение 10-летнего периода. Количество реопераций составило 11% за следующие 20 лет [14].

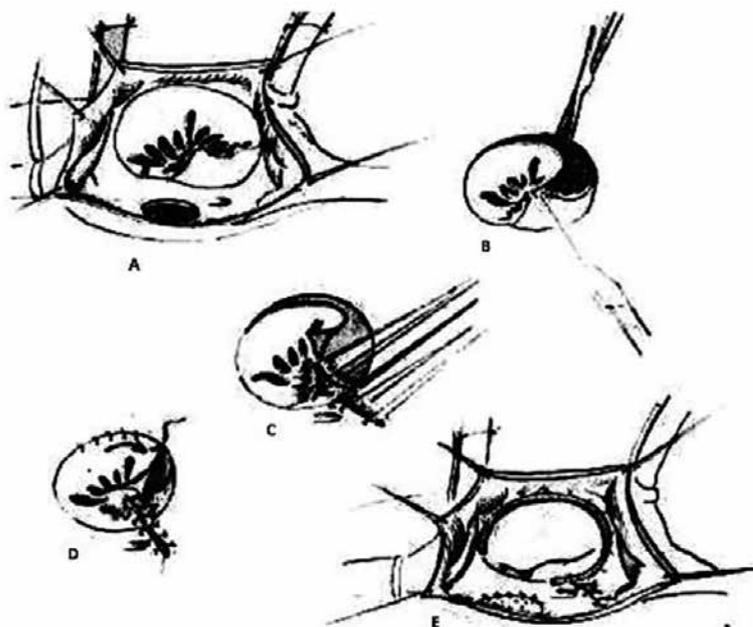


Рис. 6. Хирургическая коррекция по методу A. Carpentier (a-e). Изображение модифицировано из [14]

Следующим вариантом вмешательства была техника немецкого кардиохирурга R. Hetzer, разработанная в 1998 г. Автор описывает различные варианты пластики в своих работах, но ключевым моментом его техники становится шовная пликация ТК. При этом задняя часть ТК сшивается с септальной частью. В некоторых случаях R. Hetzer предполагал создание клапана по типу double orifice (рис. 7). При этом ткани створок не мобилизуются для создания клапана, и атриализованная часть не плицируется; недостаточность на клапане снижается за счет уменьшения площади поверхности истинного фиброзного кольца [34]. Результаты лечения были опубликованы в 2015 г.: летальность составила 2,4% в раннем послеоперационном периоде и 8,7% в течение 10-летнего периода. Количество реопераций составило 7,1% за следующий 20-летний период наблюдения [35]. В своих работах R. Hetzer описывал различные варианты сужения фиброзного кольца, но за основу принят метод сшивания передней и задней части фиброзного кольца.

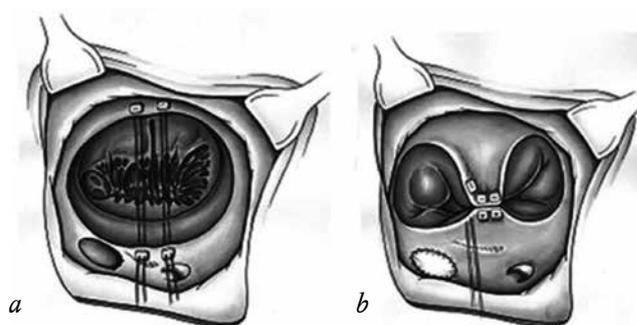


Рис. 7. Хирургическая техника double orifice (a-b). Изображение модифицировано из [34]

В 2000 г. был опубликован метод С.Ж. Knott-Craig, который применяется и в неонатальном периоде путем выполнения двухжелудочковой коррекции. С.Ж. Knott-Craig и соавт. выполнили оперативное лечение в госпитале Оклахомы у 27 детей с АЭ, 22 из которых были новорожденными. Первым этапом выполняется деламинация переднего края передней створки клапана для обеспечения ее подвижности. Затем выполняется

шов через доминантную сосочковую мышцу передней створки с привидением последней к межжелудочковой перегородке на противоположной стороне. Для ушивания расширенного фиброзного кольца накладываются швы на передне-заднюю комиссуру клапана или через медиальную стенку коронарного синуса. Данный маневр обеспечивает подтягивание сосочковой мышцы передней створки к противоположной стенке желудочка, а также дает большую свободу передней створке и увеличивает ее коаптацию.

В оригинальной методике выполняется резекция стенки правого предсердия в виде эллипса. При ее выполнении в нижнем углу разреза следу-

ет быть осторожным, чтобы не повредить правую коронарную артерию, поскольку у новорожденных граница атриализованной части желудочка и правого предсердия достаточно сложно различима. Затем выполняется ушивание атриализованной части ПЖ. Техника пластики ТК сходна с техникой G. Danielson, итогом которой должно быть создание моностворчатого клапана. Необходимым условием для выполнения является мобильность передней створки клапана [36].

Если передняя створка имеет множественные хордалные сращения, то при недостаточной длине створки возможно увеличение ее поверхности с помощью аутоперикардиальной заплаты [37].

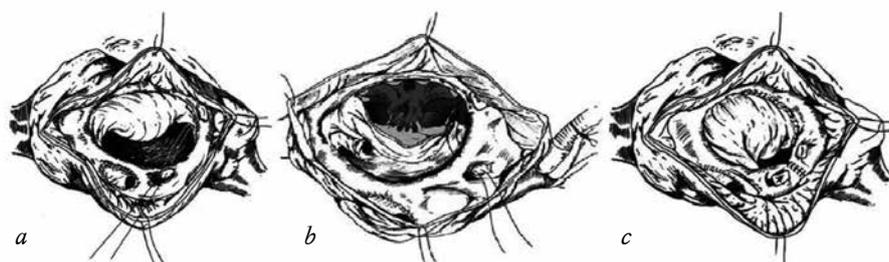


Рис. 8. Хирургическая коррекция по методу С.Д. Кнотт-Крейга (а–с). Изображение модифицировано из [36]

Закрытие дефекта межпредсердной перегородки, как правило, выполняют с оставлением дефекта 4 мм. В неонатальном периоде шунт несет разгрузочную функцию для право-левого сброса при правожелудочковой сердечной недостаточности и повышенном легочном сосудистом сопротивлении, которое сохраняется у новорожденных первые несколько недель жизни.

В 2001 г. арсенал хирургических вмешательств дополнила техника китайского кардиохирурга Q. Wu. Эта техника была направлена на улучшение

функции клапана за счет ткани задней створки. Q. Wu описывает технику следующим образом (рис. 9): мобилизуются задняя и септальная створки от стенок ПЖ, створки сшиваются и прикрепляются к уровню истинного фиброзного кольца, создавая при этом бicuspidальный клапан. В некоторых случаях выполнялась пластика септальной створки аутоперикардиальной заплатой. В данной технике вместо пликаций атриализованной части выполняется резекция треугольного лоскута правого желудочка [38, 39].

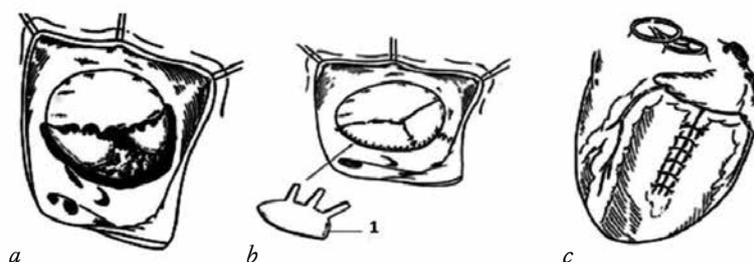


Рис. 9. Хирургическая коррекция по методу Q. Wu. Изображение модифицировано из [38]: а – первоначальный вид клапана (пунктиром указана граница деламинации); б – конечный вид клапана; с – ушивание атриализованной части; 1 – аутоперикардиальная заплата

По результатам доктора Q. Wu и соавт., ранний и отдаленный послеоперационный периоды у 34 пациентов протекали без осложнений. Недостаточность ТК была незначительной [40]. Приме-

нение данного метода имеет значительные ограничения, поскольку при крайних формах ткань септальной и задней створок практически отсутствует. При резекции атриализованной части и

ушивании обвивным швом повышается опасность послеоперационного кровотечения и повреждения правой коронарной артерии и ее ветвей.

Наиболее прогрессивным методом на сегодняшний день считается «конусная» реконструкция ТК. Впервые данный метод предложил бразильский кардиохирург J. da Silva в 1989 г. Основой для данной реконструкции послужила техника A. Carpentier [41]. На сегодняшний день наибольший опыт проведения «конусной» реконструкции накоплен в клинике Mayo (Рочестер, США).

Хирургическая техника (рис. 10) осуществляется следующим образом. Доступ к ТК осуществляется через правую атриотомию после подключение аппарата искусственного кровообращения. Отделение передней створки начинают с 12.00 при условном применении циферблата к ТК, отступая от фиброзного кольца несколько миллиметров. Разрез продолжается по часовой стрелке в направлении к задней створке клапана. Фиброзные и мышечные сращения между передней створ-

кой клапана и правым желудочком рассекаются, освобождая ее. Это наиболее важный хирургический прием в операции, поскольку от его результата зависит максимальное количество ткани передней створки для последующей пластики. В некоторых случаях выполняют продольные разрезы на 1/3–1/4 длины от края передней створки, формируя так называемые неохорды для лучшей пропускной способности клапана в диастолу.

Данный прием используется при невозможности отсепаровки края створки. После отсепаровки передней створки переходят на заднюю и септальную створки, если это возможно. По завершении процесса деламинации створок выполняют продольную пликацию атриализованной части ПЖ с сужением фиброзного кольца правого атрио-вентрикулярного клапана. После пликации мобилизованные ткани створок сшиваются, образуя единую створку, которая распределяется на 360° по окружности и фиксируется к истинному фиброзному кольцу.

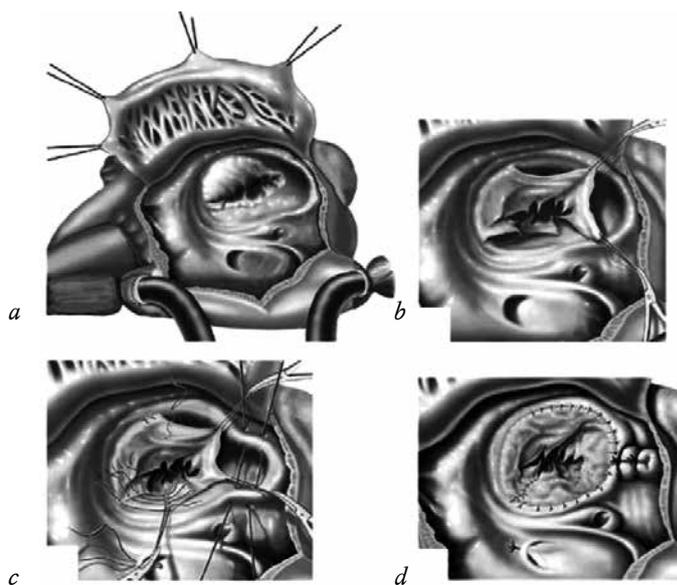


Рис. 10. Конусная реконструкция трикуспидального клапана. Изображение модифицировано из [42]: *a* – вид клапана до реконструкции; *b* – деламинация передней и задней створок; *c* – сшивание створок клапана; *d* – конечный вид клапан в виде конуса [41]

Конусная реконструкция, описанная J. da Silva и коллегами, отличается от предыдущих методов вальвулопластики тем, что она ближе всего к «анатомической коррекции». Конечный результат «конусной» реконструкции включает 360°-е распределение ткани ТК на уровне истинного фиброзного кольца. Это позволяет створкам ТК смыкаться подобно тому, как это происходит в нормальном клапане. Кроме того, восстановленный ТК присоединяется к истинному фиброз-

ному кольцу, так что точка крепления клапана теперь находится в нормальном анатомическом положении. Истонченная атриализованная часть ПЖ плицируется, таким образом устраняется дискинетичная часть ПЖ. «Конусная» реконструкция восстанавливает анатомию клапана лучше, чем любой вышеописанный метод, и может быть применима к широкому разнообразию анатомических вариаций клапана, встречающихся с аномалией Эбштейна [42].

Результаты доктора J. da Silva и соавт. описаны у 52 пациентов, прооперированных этим методом. Ранняя послеоперационная летальность составила 3,8%, за следующие 7 лет – 14%, за период наблюдения – всего 4 реоперации. С. Pizarro и соавт. сообщили о выполнении «конусной» реконструкции в неонатальном периоде двоим детям, и один ребенок был прооперирован в возрасте до 1 года. Послеоперационной летальности не было, и наблюдение в течение 1-го года показало положительную динамику по данным эхокардиографии и рентгенографии грудной клетки. У всех пациентов сохранялся I функциональный класс и недостаточность ТК до 1-й степени [43].

В статье К. Holst и J. Dearani (2018) приведены результаты лечения 235 пациентов с «конусной» реконструкцией и последующим десятилетним периодом наблюдения. В исследование вошли 134 ребенка и 101 пациент старше 18 лет. В раннем послеоперационном периоде был один летальный исход (0,4%), количество реопераций – 14 (5,9%). Недостаточность на клапане в отдаленном периоде была в пределах 1–2-й степени, статистически значимо снизилась дисфункция ПЖ и уменьшилась апикальная диастолическая площадь ПЖ [44].

М. Ibrahim и соавт. на примере 23 случаев «конусной» реконструкции показали снижение недостаточности на ТК и увеличение конечно-диастолического объема левого желудочка [45]. R. Lange и соавт. с помощью эхокардиографического исследования и магнитно-резонансной томографии показали увеличение ударного объема и уменьшение размеров ПЖ через 6 мес после данного метода лечения [46].

В России данная методика активно применяется в кардиохирургических клиниках г. Томска [47], Санкт-Петербурга [48], Самары [49]. В НИИ кардиологии г. Томска «конусная» реконструкция стала применяться с 2011 г., за это период накоплено более 40 случаев ее выполнения.

При сниженной функции ПЖ и неспособности адекватно обеспечивать легочный кровоток показано выполнение двунаправленного каваппульмонального анастомоза. Метод выполняется следующим образом: отсекается верхняя полая вена от правого предсердия на 0,5–1 см выше ее устья (для исключения повреждения синусового узла), правое предсердие ушивается. Правая легочная артерия рассекается вдоль, строго над верхней полой веной, и сшивается с отсеченной верхней полой веной [50, 51]. Функции анастомоза верхней полой вены и правой легочной

артерии следующие: снижение преднагрузки на правый желудочек (в детском возрасте примерно на 1/2 венозного возврата и 1/3 во взрослом возрасте); увеличение преднагрузки на левый желудочек (рис. 11).

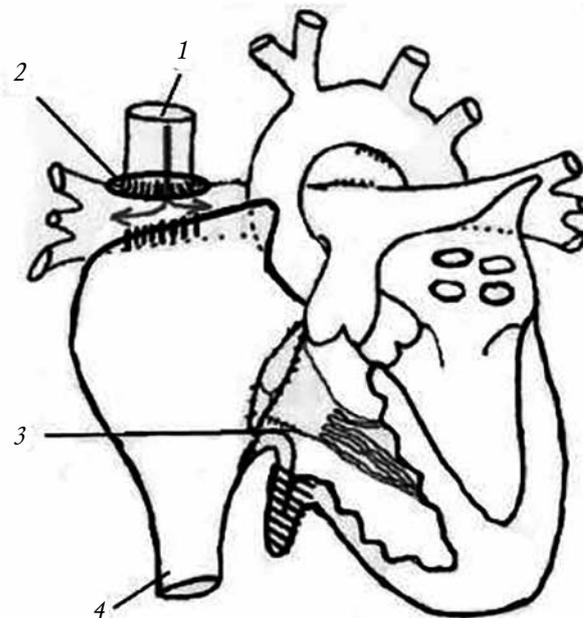


Рис. 11. Двунаправленный каваппульмональный анастомоз в сочетании с «конусной» реконструкцией трикуспидального клапана: 1 – верхняя полая вена; 2 – двунаправленный каваппульмональный анастомоз; 3 – конусная реконструкция трикуспидального клапана; 4 – нижняя полая вена

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хирургическое лечение аномалии Эбштейна является проблемой уже более полувека. После того как С. Bernard впервые заменил ТК на протез, появилось множество различных техник пластики ТК. Первые попытки пластики клапана были сделаны S. Hunter и W. Lillehei в 1957 г. Протезирование клапана можно назвать «операцией отчаяния», когда хирург не в силах сконструировать новый клапан из собственных тканей. Существуют работы по применению собственной аутоперикардальной ткани и применению костно-мозговых клеток – предшественников эндотелиоцитов CD133+ в лечении АЭ. В России данная методика разрабатывается в НЦССХ им. Бакулева под руководством академика Л.А. Бокерии [52].

Накопление опыта и совершенствование хирургических методик привели к значительному прогрессу при лечении этого порока сердца. На сегодняшний день, по данным мировой литературы, методом выбора хирургического лечения АЭ

является «конусная» реконструкция, которая показывает хорошие результаты как в ближайшем, так и в отдаленном послеоперационном периоде. Однако остаются дискуссионными вопросы о подходящей анатомии порока, о предельных возможностях мобилизации ткани створки для проведения коррекции, о показаниях для выполнения двунаправленного кавапальмонального анастомоза. Возможность выполнения «конусной» реконструкции или другого вида пластики клапана при аномалии Эбштейна также зависит от анатомии клапанного и подклапанного аппарата.

Важнейшей особенностью для выполнения пластики клапана является свободный, неприторченный край передней створки клапана, из которой получают наибольший объем ткани. Восстановление клапана затруднено, если передняя створка сильно смещена к верхушке ПЖ и есть обширные фиброзные сращения створки клапана с прилежащим миокардом. В своей работе J. Stulak и соавт. указывают, что необходимыми условиями для успешной коррекции являются: деламинация передней створки более 50% ее площади; наличие длинных хорд и сосочковая мышца, не вызывающая обструкции выводного отдела правого желудочка. Чем больше ткани возможно получить при отсепаровке створки от миокарда, тем меньший градиент и недостаточность на клапане можно ожидать в итоге.

Таким образом, «конусная» реконструкция считается наиболее «анатомической» из всех существующих (на сегодняшний день) видов коррекции и может быть выполнена для широкого диапазона анатомических вариантов аномалии Эбштейна как в детском, так и во взрослом возрасте.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Correa-Villaseca A., Ferencz C., Neill C.A., Wilson P.D., Boughman J.A. Ebstein's malformation of the tricuspid valve: genetic and environmental factors. *Teratology*. 1994; 50 (02): 137–147. DOI: 10.1002/tera.1420500208.
- Edwards W.D. Embryology and pathologic features of Ebstein's anomaly. *Prog. Pediatr. Cardiol.* 1993; 2 (1): 5–15. DOI: 10.1016/1058-9813(93)90042-X.
- Keith J.B., Rows R.D., Vlad P. Heart disease in infancy and childhood. *Academic. Medicine*. 1958; 33 (8): 608.
- Robicsek F. Wilhelm Ebstein and the history of surgery for Ebstein's disease. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2013; 61 (4): 86–292. DOI: 10.1055/s-0032-1304540.
- Yater W.M., Shapiro M.J. Congenital displacement of the tricuspid valve (Ebstein's disease): Review and report of a case with electrocardiographic abnormalities and detailed histologic study of the conduction system. *Ann. Intern. Med.* 1937; 11: 1043–1062.
- Combs M.D., Yutzy K.E. Heart valve development: regulatory networks in development and disease. *Circ. Res.* 2009; 105 (5): 408–421. DOI: 10.1161/CIRCRESA-NA.109.201566.
- Li B., Sun H.-S., Pan S.-W., Xu J.-P.. Outcomes of Ebstein's anomaly patients treated with tricuspid valvuloplasty or tricuspid valve replacement experience of a Single Center. *Chinese Medical Journal*. 2018; 131 (9): 1067–1074. DOI: 10.4103/0366-6999.230731.
- Егорова И.Ф., Пеняева Е.В., Бокерия Л.А. Структурные особенности кардиомиоцитов атриализованной части правого желудочка у больных с аномалией Эбштейна. *Архив патологии*. 2014; 76 (2): 13–16.
- Mavroudis C., Backer C.L. *Pediatric cardiac surgery*; 4th ed. NY: John Wiley & Sons, 2012: 571–586.
- Anderson K.R., Lie J.T. The right ventricular myocardium in Ebstein's anomaly: a morphometric histopathologic study. *Mayo Clin. Proc.* 1979; 54 (3): 181–184. DOI: 10.1016/s0003-4975(01)02464-x.
- Егорова И.Ф., Пеняева Е.В., Бокерия Л.А. Изменения Z-дисков миофибрилл в кардиомиоцитах у больных с аномалией Эбштейна. *Архив патологии*. 2015; 77 (6): 3–8. DOI: 10.17116/patol20157763-8.
- Chauvaud S.M., Brancaccio G., Carpentier A.F. Cardiac arrhythmia in patients undergoing surgical repair of Ebstein's anomaly. *Ann. Thorac. Surg.* 2001; 71 (5): 1547–1552. DOI: 10.1016/s0003-4975(01)02464-x.
- Oh J.K., Holmes D.R. Jr., Hayes D.L., Porter C.B.J., Danielson G.K. Cardiac arrhythmias in patients with surgical repair of Ebstein's anomaly. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1985; 6 (6): 1351–1357. DOI: 10.1016/s0735-1097(85)80224-2.
- Carpentier A., Chauvaud S., Macé L., Relland J., Mihaileanu S., Marino J.P., Abry B., Guibourt P. A new reconstructive operation for Ebstein anomaly of the tricuspid valve. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1988; 96 (1): 92–101.
- Christine H., Attenhofer J., Connolly H.M., Dearani J., Edwards W.D., Danielson G.K., Ebstein's anomaly. *Circulation*. 2007; 115 (2): 277–285. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.619338.
- Dearani J.A., Bacha E., da Silva J.P. Cone reconstruction of the tricuspid valve for Ebstein's anomaly: anatomic repair operative techniques. *Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2008; 13 (2): 109–125. DOI: 10.1053/j.optechstcvs.2008.03.003.
- Celermajer D.S., Cullen S., Sullivan I.D. et al. Outcome in neonates with Ebstein's anomaly. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1992; 19 (5): 1041–1046. DOI: 10.1016/0735-1097(92)90291-t.
- Starnes V.A., Pitlick P.T., Bernstein D., Griffin M.L., Choy M., Shumway N.E. Ebstein's anomaly appearing in the neonate. A new surgical approach. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1991; 101 (6): 1082–1087.
- Reemtsen B.L., Fagan B.T., Wells W.J., Starnes V.A. Current surgical therapy for Ebstein anomaly in neonates. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2006; 132 (6): 1285–1290. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2006.08.044.

20. Reemtsen B.L., Polimenakos A.C., Fagan B.T., Wells W.J., Starnes V.A. Fate of the right ventricle after fenestrated right ventricular exclusion for severe neonatal Ebstein anomaly. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2007; 134 (06): 1406–1410. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2007.07.047.
21. Ross D., Somerville J. Surgical correction of Ebstein's anomaly. *Lancet.* 1970; 296 (7667): 280–284. DOI: 10.1016/S0140-6736(70)91329-2.
22. Соловьев Г.М. Первый опыт радикальной коррекции аномалии Эбштейна. *Грудная хирургия.* 1966; 4: 3–1.
23. Kumar N., Gallo R., al-Halees Z. et al. Unstented semilunar homograft replacement of the tricuspid valve in Ebstein's malformation. *Ann. Thorac. Surg.* 1995; 59 (2): 320–322. DOI: 10.1016/0003-4975(94)00803-F.
24. Brown M.L., Dearani J.A., Danielson G.K. et al. Comparison of the outcome of porcine bioprosthetic versus mechanical prosthetic replacement of the tricuspid valve in the Ebstein anomaly. *Am. J. Cardiol.* 2009; 103 (4): 555–561. DOI: 10.1016/j.amjcard.2008.09.106.
25. Bartlett H.L., Atkins D.L., Burns T.L. et al. Early outcomes of tricuspid valve replacement in young children. *Circulation.* 2007; 115 (3): 319–325. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.618652.
26. Burri M., Vogt M.O., Hörer J., Cleuziou J., Kasnar-Samprec J., Kühn A. et al. Durability of bioprostheses for the tricuspid valve in patients with congenital heart disease. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2016; 50 (5): 988–993. DOI: 10.1093/ejcts/ezw094.
27. Горбатов Ю.Н., Наберухин Ю.А., Ленько Е.В., Омельченко А.Ю., Жалнина Е.В., Хапаев Т.С., Шиленко В.П. Результаты протезирования трикуспидального клапана различными видами протезов у детей. *Патология кровообращения и кардиохирургия.* 2012; 16 (2): 9–14. DOI: 10.21688/1681-3472-2012-2-9-14.
28. Hardy K.L., May I.A., Webster C.A., Kimball K.G. Ebstein's anomaly: a functional concept and successful definitive repair. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1964; 48: 927–940.
29. Danielson G.K., Maloney J.D., Devloo R.A. Surgical repair of Ebstein's anomaly. *Mayo Clin. Proc.* 1979; 54 (3): 185–192.
30. Augustin N., Schmidt-Habelmann P., Wottke M., Meisner H., Sebening F. Results after surgical repair of Ebstein's anomaly. *Ann. Thorac. Surg.* 1997; 63 (6): 1650–1656. DOI: 10.1016/s0003-4975(97)00090-8.
31. Schmidt-Habelmann P., Meisner H., Struck E., Sebening F. Results of valvuloplasty for Ebstein's anomaly. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1981; 29 (3): 155–157. DOI: 10.1055/s-2007-1023466.
32. Komoda T., Komoda S., Nagdyman N., Berger F., Hetzer R. Combination of a Hetzer operation and a Sebening stitch for Ebstein's anomaly. *Gen Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2007; 55 (9): 355–359. DOI: 10.1007/s11748-007-0146-2.
33. Ullmann M.V., Born S., Sebening C., Gorenflo M., Ulmer H.E., Hagl S. Ventricularization of the atrialized chamber: a concept of Ebstein's anomaly repair. *Ann. Thorac. Surg.* 2004; 78 (3): 918–924; discussion 924–925. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2004.02.134.
34. Hetzer R., Nagdyman N., Ewert P., Weng Y.G., Alexi-Meskhisvili V., Berger F., Pasic M., Lange P.E. A modified repair technique for tricuspid incompetence in Ebstein's anomaly. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1998; 115 (4): 857–868. DOI: 10.1016/S0022-5223(98)70367-8.
35. Hetzer R., Hackeb P., Javiera M., Miera O., Schmitt K., Weng Y., Walter E.D. The long-term impact of various techniques for tricuspid repair in Ebstein's anomaly. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2015; 150 (5): 1212–1219. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2015.08.036.
36. Knott-Craig C.J., Overholt E.D., Ward K.E., Razook J.D. Repair of Ebstein's anomaly in the symptomatic neonate: an evolution of technique with 7-year follow-up. *Ann. Thorac. Surg.* 2000; 69 (5): 1505–1510. DOI: 10.1016/s0003-4975(00)01138-3.
37. Knott-Craig C.J., Goldberg S.P., Overholt E.D., Colvin E.V., Kirklin J.K. Repair of neonates and young infants with Ebstein's anomaly and related disorders. *Ann. Thorac. Surg.* 2007; 84 (2): 587–592. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2007.03.061.
38. Wu Q., Huang Z. Anatomic correction of Ebstein anomaly. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2001; 122 (6): 1237–1238.
39. Wu Q., Huang Z. A new procedure for Ebstein's anomaly. *Ann. Thorac. Surg.* 2004; 77 (2): 470–476. DOI: 10.1016/S0003-4975(03)01492-9.
40. Wu Q., Huang Z., Pan G., Wang L., Li L., Xue H. Early and midterm results in anatomic repair of Ebstein anomaly. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2007; 134 (6): 1438–1440. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2007.08.019.
41. Da Silva J.P., Baumgratz J.F., da Fonseca L., Franchi S.M., Lopes L.M., Tavares G.M., Soares A.M., Moreira L.F., Barbero-Marcial M. The cone reconstruction of the tricuspid valve in Ebstein's anomaly. The operation: early and midterm results. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2007; 133 (1): 215–223. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2006.09.018.
42. Dearani J.A., Bacha E., da Silva J.P. Cone reconstruction of the tricuspid valve for Ebstein's anomaly: anatomic repair. *Operative Techniques in Thoracic and Cardiovascular Surgery.* 2008; 13 (2): 109–125. DOI: 10.1053/j.optechstcvs.2008.03.003.
43. Pizarro C., Bhat M.A., Temple J. Cone reconstruction and ventricular septal defect closure for neonatal Ebstein's anomaly. *Multimed Man Cardiothorac. Surg.* 2012; mms014. DOI: 10.1093/mmcts/mms014.
44. Holst K.A., Dearani J.A., Said S., Pike R.B., Connolly H.M., Cannon B.C., Sessions K.L., O'Byrne M.M., O'Leary P.W. Improving results of surgery for Ebstein anomaly: where are we after 235 cone repairs? *Ann. Thorac. Surg.* 2018; 105: 160–168. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2017.09.058.
45. Ibrahim M., Tsang V.T., Caruana M., Hughes M.L., Jenkyns S., Perdreau E., Giardini A., Marek J. Cone recon-

- struction for Ebstein's anomaly: Patient outcomes, biventricular function, and cardiopulmonary exercise capacity. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2015; 149 (4): 1144–1150. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2014.12.074.
46. Lange R., Burri M., Eschenbach L.K., Badiu C.C., da Silva J.P., Nagdyman N. et al. Da Silva's cone repair for Ebstein's anomaly: effect on right ventricular size and function. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2015; 48 (2): 316–321. DOI: 10.1093/ejcts/ezu472.
47. Krivoshchekov E.V., Ackerman J.P., Yanulevich O.S., Sokolov A.A., Ershova N.V., Dearani J.A., Cetta F. Modified cone reconstruction of the tricuspid valve for Ebstein anomaly as performed in Siberia. *Texas Heart Institute Journal*. 2017; 44 (1): 39–42. DOI: 10.14503/THIJ-16-5832.
48. Хохлунов М.С., Хубулава Г.Г., Болсуновский В.А., Мовсесян Р.Р., Шорохов С.Е., Козева И.Г., Болсуновский А.В., Хохлунов С.М. Первый опыт выполнения операции конусной реконструкции трехстворчатого клапана у пациентов с аномалией Эбштейна. *Грудная и сердечно-сосудистая хирургия*. 2017; 59 (1): 28–33. DOI: 10.24022/0236-2791-2017-59-1-28-33.
49. Бухарева О.Н., Гуцин М.В., Хохлунов С.М. Первый опыт выполнения операции конусной реконструкции трехстворчатого клапана у пациентов с аномалией Эбштейна. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2016; 61 (3): 170.
50. Stellin G., Vida V.L., Milanesi O., Rubino M., Padalino M.A., Secchieri S., Pittarello G., Casarotto D. Surgical treatment of complex cardiac anomalies: the 'one and one half ventricle repair'. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2002; 22 (6): 1043–1049. DOI: 10.1016/S1010-7940(02)00669-3.
51. Lee Y.O., Kim Y.J., Lee J.R., Kim W. Long-term results of one-and-a-half ventricle repair in complex cardiac anomalies. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2011; 39 (5): 711–715. DOI: 10.1016/j.ejcts.2010.07.048
52. Бокерия Л.А., Голухова Е.З., Какучая Т.Т., Еремеева М.В., Макаренко В.Н., Серов Р.А., Свободов А.А. Опыт применения аутологичных костномозговых клеток-предшественников эндотелиоцитов CD133+ в лечении пациентов с аномалией Эбштейна. *Детские болезни сердца и сосудов*. 2010; 1: 67–75.

## Сведения об авторах

Трошкинев Никита Михайлович, аспирант, отделение сердечно-сосудистой хирургии № 2, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-7627-7303.

Подоксенов Андрей Юрьевич, канд. мед. наук, врач сердечно-сосудистый хирург, отделение сердечно-сосудистой хирургии № 2, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-4958-1462.

Связов Евгений Александрович, врач сердечно-сосудистый хирург, отделение кардиохирургии № 2, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-0486-3212.

Егунов Олег Анатольевич, врач сердечно-сосудистый хирург, отделение кардиохирургии № 2, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0003-4023-455X.

Кривошеков Евгений Владимирович, д-р. мед. наук, вед. науч. сотрудник, зав. отделением кардиохирургии № 2, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-0828-3995.

Киселев Валерий Олегович, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной хирургии с курсом сердечно-сосудистой хирургии, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Трошкинев Никита Михайлович, e-mail: tnm.sibir@mail.ru.

Поступила в редакцию 10.02.2019

Подписана в печать 25.12.2019



УДК 616.126.42-089.8-06:616.124.2-007

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-203-207>

## Синдром такоцубо после протезирования митрального клапана (клинический случай)

Захарьян Е.А.<sup>1</sup>, Григорьев П.Е.<sup>1,2</sup>, Шатов Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского (КФУ им. В.И. Вернадского)  
Россия, Республика Крым, 295007, г. Симферополь, пр. Вернадского, 4

<sup>2</sup> Тюменский государственный университет (ТюмГУ)  
Россия, 625003, г. Тюмень, ул. Семакова, 10

### РЕЗЮМЕ

В статье представлен случай синдрома такоцубо, развившегося у 71-летней пациентки после протезирования митрального клапана сердца, выполненного в связи с его выраженной (3-я степень) недостаточностью неревматического генеза. Данная нозология является редко встречающейся. В литературе имеются единичные разрозненные сообщения о синдроме такоцубо после кардиохирургических вмешательств и электроимпульсной терапии. Вопросы этиологии и патогенеза остаются дискуссионными. Особенностью данного случая является развитие обратимой дисфункции левого желудочка в раннем послеоперационном периоде после протезирования митрального клапана – снижение фракции выброса левого желудочка до 25% с гиперкинезией его базальных отделов с ее последующим восстановлением до 56% через 3 нед после дебюта заболевания. Также имели место электрокардиографические изменения, имитирующие острый циркулярный инфаркт миокарда, при отсутствии гемодинамически значимых поражений коронарных артерий. У пациентки были выявлены факторы риска развития данного синдрома (возраст, женский пол, стрессовая ситуация, хирургическое вмешательство, дефибриляция, применение добутамин и фторхинолонов). На основании перечисленного было заподозрено наличие синдрома такоцубо. Данный случай демонстрирует возможность развития синдрома такоцубо после кардиохирургических вмешательств и дефибриляции.

**Ключевые слова:** кардиомиопатия такоцубо, приобретенные пороки сердца, фибрилляция желудочков, протезирование клапана сердца, кардиохирургия, дефибриляция.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

**Для цитирования:** Захарьян Е.А., Григорьев П.Е., Шатов Д.В. Синдром такоцубо после протезирования митрального клапана (клинический случай). *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 203–207. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-203-207>.

## Takotsubo syndrome after mitral valve replacement and defibrillation

Zakharian E.A.<sup>1</sup>, Grigoriev P.E.<sup>1,2</sup>, Shatov D.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> V.I. Vernadsky Crimean Federal University  
4, Vernadskogo Av., Simferopol, 295007, Republic of Crimea, Russian Federation

<sup>2</sup> Tyumen State University  
10, Semakova Str., Tyumen, 625003, Russian Federation

✉ Шатов Дмитрий Викторович, e-mail: dmitrii\_shatov@mail.ru.

**ABSTRACT**

The article describes the case of Takotsubo syndrome, which arose in a 71-year-old female patient after a mitral heart valve replacement, performed due to its severe (3rd degree) insufficiency of non-rheumatic genesis. This pathology is quite rare. Questions of its etiology and pathogenesis remain controversial. A special feature of this case is the development of reversible left ventricular dysfunction in the early postoperative period after mitral valve replacement. The reduction of the left ventricular ejection fraction to 25% with hyperkinesia of its basal parts with subsequent recovery of the ejection fraction to 56% 3 weeks after the onset of the disease was observed. There were also electrocardiographic changes simulating acute circular myocardial infarction with the absence of hemodynamically significant lesions of the coronary arteries. The patient had risk factors for this syndrome (age, female gender, stress situation, surgical intervention, administration of dobutamine and fluoroquinolones). For the reasons given above, the presence of Takotsubo syndrome was suspected. This case demonstrates the possibility of developing takotsubo syndrome after cardio-surgical interventions and defibrillation.

**Key words:** takotsubo cardiomyopathy; valvular heart disease; ventricular fibrillation; mitral valve replacement; cardiac surgery; defibrillation.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state the absence of funding for the study.

**For citation:** Zakharian E.A., Grigoriev P.E., Shatov D.V. Takotsubo syndrome after mitral valve replacement and defibrillation. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 203–207. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-203-207>.

**ВВЕДЕНИЕ**

Синдром такоцубо (СТ) (кардиомиопатия такоцубо, стрессовая кардиомиопатия, синдром раздувания верхушки, ампулоподобная кардиомиопатия, «синдром разбитого сердца», синдром транзиторной дисфункции левого желудочка) – это доброкачественная обратимая патология, характеризующаяся преходящей систолической дисфункцией желудочков и клинически проявляющаяся как острый инфаркт миокарда при отсутствии стенозирования коронарных артерий [1, 2]. Этиология СТ до конца не изучена, но учеными признается связь с гиперкатехолаемией, вызванной физическим или эмоциональным стрессом. Описаны несколько этиологических теорий развития СТ: спазм коронарных артерий, обструкция выводящего тракта левого желудочка, повышение уровня катехоламинов, нарушение состояния кальциевой регуляторной системы, окислительный стресс, повышение продукции трансформирующего фактора роста бета [3].

Несмотря на значительное количество описаний СТ в научной литературе, случаи развития данной патологии у пациентов после кардиохирургических вмешательств и электрической кардиоверсии носят единичный характер и представлены исключительно в зарубежных источниках [4–8].

Приводим наш клинический случай СТ, диагностированный у пациентки после протезирования митрального клапана и дефибрилляции.

**КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР**

Пациентка О., 71 год, поступила в кардиохирургическое отделение для проведения планового оперативного вмешательства с диагнозом: неревматический сочетанный аортально-митрально-трикуспидальный порок сердца: пролапс митрального клапана 3-й степени, недостаточность митрального клапана 3-й степени, аортальная недостаточность 1-й степени, трикуспидальная недостаточность 2-й степени; постоянная форма фибрилляции предсердий с нормосистолией; сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса левого желудочка, IIА стадия, функциональный класс IV.

В предоперационном периоде была выполнена эхокардиография: левое предсердие – 6,2 см, конечно-диастолический размер левого желудочка – 4,9 см, конечно-систолический размер левого желудочка – 2,9 см, задняя стенка левого желудочка – 1,1 см, межжелудочковая перегородка – 1,1 см, фракция выброса – 71%, правый желудочек – 2,3 см, створки митрального клапана в систолу значительно пролабируют в полость левого предсердия (передняя – до 1,0 см, задняя – до 0,9 см),

сопровождаясь выраженной митральной клапанной регургитацией (максимальная скорость потока митральной регургитации 4,7 м/с, диаметр vena contracta – 0,8 см). При ангиографии коро-

нарных артерий гемодинамически значимых поражений выявлено не было. На дооперационной электрокардиограмме – зусистолическая форма фибрилляции предсердий (рис. 1).

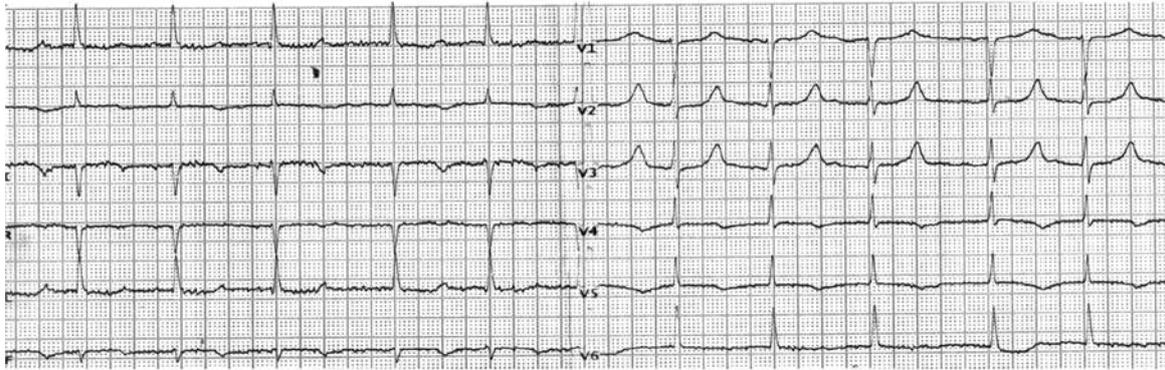


Рис. 1. Электрокардиограмма больной О. до операции: скорость развертки 25 мм/с; вольтаж 1 мВ = 10 мм; ЧСС 60–75 уд./мин; QTc 520 мс

Через срединную стернотомию выполнено протезирование митрального клапана трехстворчатым биологическим протезом «Medtronic» Hancock II T510 CinchSZ – 31 mm, редуцированная аннулопластика трикуспидального клапана по Батиста и ушивание ушка левого предсердия в условиях нормотермического искусственного кровообра-

нения и фармакохолодовой кардиopleгии (кусто-диол). К окончанию оперативного вмешательства возобновилась фибрилляция предсердий с частотой сердечных сокращений (ЧСС) 50–60 уд./мин.

Ранний послеоперационный период протекал со склонностью к брадиформе фибрилляции предсердий (рис. 2).

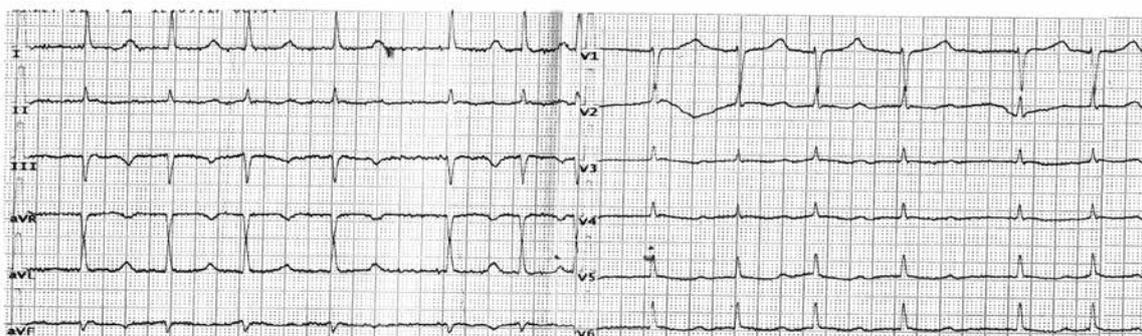


Рис. 2. Электрокардиограмма больной О., 1-е сут после операции: скорость развертки 25 мм/с; вольтаж 1 мВ = 10 мм; ЧСС 58–100 уд./мин; QTc 557 мс (здесь и в рис. 2–4)

Периоперационно пациентка планово получила ципрофлоксацин с целью профилактики развития инфекционных осложнений. На третьи сутки у пациентки на фоне относительного благополучия (нормальные показатели общего анализа крови, электролитов и других биохимических тестов крови, а также параметров центральной гемодинамики) развилась фибрилляция желудочков. Немедленно была выполнена дефибрилляция двухфазным разрядом 150 Дж с восстановлением фибрилляции предсердий с ЧСС 55–65 уд./мин, артериальным давлением 130/70 мм рт. ст., цен-

тральным венозным давлением 40 мм вод. ст. При электрокардиографии выявлено удлинения интервала QT до 754 мс, инверсия зубца Т в отведения I, II, III, AVF, V<sub>3-6</sub> (рис. 3).

Спустя 6 ч у пациентки развился отек легких. По данным эхокардиографии – аневризматическое расширение верхушки левого желудочка со снижением фракции выброса левого желудочка до 25%, гиперкинез базальных отделов левого желудочка. При переводе в кардиохирургическое отделение на 9-е сут после фибрилляции желудочков электрокардиограмма выглядела следующим образом (рис. 4).

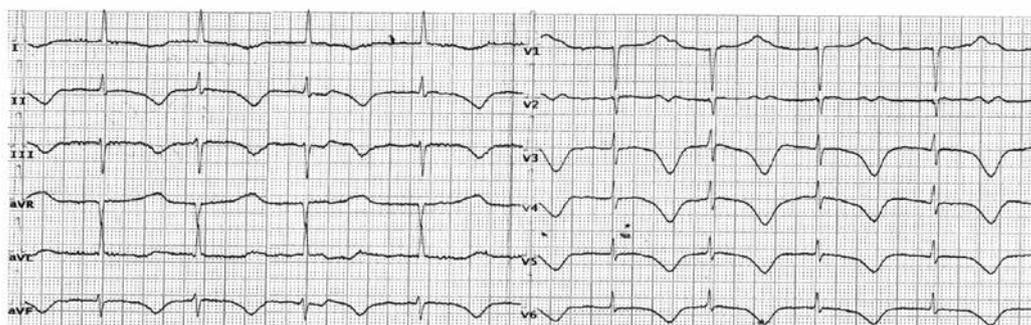


Рис. 3. Электрокардиограмма больной О., 1-е сут после дефибриляции

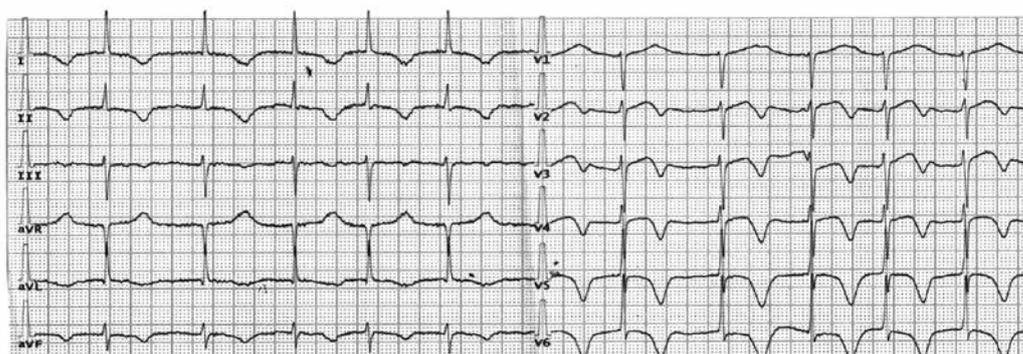


Рис. 4. Электрокардиограмма больной О., 9-е сут после дефибриляции

С течением времени общее состояние больной стабилизировалось, и пациентка была выписана из отделения на 21-й день в удовлетворительном состоянии. Данные эхокардиографии при выписке: левое предсердие – 5,0 см, конечно-диастолический размер левого желудочка – 5,3 см, конечно-систолический размер левого желудочка – 3,8 см, задняя стенка левого желудочка – 1,4–1,6 см, межжелудочковая перегородка – 1,5–1,8 см, фракция выброса – 56%, правый желудочек – 3,2 см, в проекции митрального клапана протез с градиентом давления 15 мм рт. ст., выраженная несимметричная гипертрофия миокарда левого желудочка, в полости перикарда следы жидкости с локализацией в области верхушки, аневризматическое выпячивание не визуализируется.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Клинически СТ может проявиться в виде длительных загрудинных болей, одышки, внезапным развитием острой сердечной недостаточности, тяжелых желудочковых аритмий, вплоть до разрыва стенки желудочка [9].

Патологические изменения электрокардиограммы в период острой фазы (в течение первых 12 ч) включают подъем или снижение сегмента ST от изоэлектрической линии, впервые развившуюся блокаду левой ножки пучка Гиса и, в некото-

рых случаях, формирование зубца Q. Также возможно формирование инвертированных зубцов T и увеличение продолжительности интервала QT во многих отведениях в течение 24–48 ч после развития клинических проявлений заболевания или действия провоцирующего стрессового фактора. Удлинение интервала QTc часто бывает выраженным (более 500 мс), что предрасполагает к развитию двунаправленной полиморфной веретенообразной желудочковой тахикардии (torsades de pointes) и фибрилляции желудочков [1].

При трансторакальной эхокардиографии выявляют большую площадь нарушения локальной сократимости миокарда, превышающую зону кровоснабжения одной артерии (циркулярное поражение), а также возможные осложнения (обструкция выносящего тракта левого желудочка, митральная регургитация, вовлечение правого желудочка, образование тромба и разрыв сердца). При проведении ангиографии коронарных артерий обнаруживают отсутствие гемодинамически значимых стенозов, которые могли бы объяснить указанные нарушения сократимости миокарда [1].

В приведенном клиническом случае можно отметить наличие многих факторов риска для развития СТ (возраст, женский пол, стрессовая ситуация, хирургическое вмешательство, введе-

ние добутамина, ципрофлоксацина). Учитывая наличие доказанной роли трансформирующего бета-фактора роста как в генезе СТ, так и в развитии пролапса митрального клапана, можно предположить влияние этого фактора на генез патологии у пациентки в описанном случае [10].

В настоящее время существуют диагностические критерии, предложенные исследователями клиники Мейо и впоследствии доработанные Ассоциацией специалистов по сердечной недостаточности (2016 г.) [9]. У нашей пациентки можно выделить присутствие пяти диагностических критериев: проходящее нарушение локальной сократимости миокарда левого желудочка, которому предшествовало оперативное вмешательство; нарушение локальной сократимости соответствовало участкам миокарда, кровоснабжаемым более одной эпикардальной коронарной артерией; отсутствие гемодинамически значимых поражений коронарных артерий; патологические изменения на электрокардиограмме в виде инверсии зубцов Т, сочетавшиеся с увеличением продолжительности интервала QTс до 754 мс с постепенным его укорочением в течение острой фазы заболевания; восстановление фракции выброса левого желудочка до 56%. На основании вышесписанного нами было предположено наличия у пациентки СТ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, приведенный случай демонстрирует актуальность данного патологического состояния как потенциального осложнения после хирургических вмешательств на митральном клапане и электроимпульсной терапии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Lyon A.R., Bossone E., Schneider B. et al. Current state of knowledge on Takotsubo syndrome: a position statement

from the taskforce on takotsubo syndrome of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur. J. Heart Fail.* 2016; 18 (1): 8–27. DOI: 10.1002/ehf.424.

- Горшенина Е.И., Куркина Н.В., Мишарова А.П., Нотина Н.И. Кардиомиопатия такоцубо. *Вестник Ивановской медицинской академии.* 2017; 22 (3): 52–57.
- Скакун П.В., Губичева А.В. Особенности этиопатогенеза кардиомиопатии takotsubo. *Apriori.* Серия: естественные и технические науки. 2018; 2: 17.
- Gariboldi V., Jop B., Grisoli D., Jaussaud N., Kerbaul F., Collart F. Takotsubo syndrome after mitral valve replacement for acute endocarditis. *Ann. Thorac. Surg.* 2011; 91 (3): e31–32. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2010.10.085.
- Kogan A., Ghosh P., Schwammenthal E., Raanani E. Takotsubo syndrome after cardiac surgery. *Ann. Thorac. Surg.* 2008; 85 (4): 1439–1941. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2007.10.003.
- Blázquez J.A., González J.M., Dalmau M.J., Lypez J. Takotsubo cardiomyopathy after elective mitral valve replacement. *Interact Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2010; 11 (1): 117–119. DOI: 10.1510/icvts.2010.234013.
- Vizzardi E., Rovetta R., Bonadei I., Quinzani F., D'Aloia A., Salghetti F., Curnis A., Dei Cas L. A case of Takotsubo cardiomyopathy after electrical cardioversion. *Minerva Med.* 2013; 104 (1): 115–117.
- McCutcheon K., Butler I., Vachiat A., Manga P. Takotsubo syndrome in an elderly woman due to electrical cardioversion. *Int. J. Cardiol.* 2016; 224: 69–71. DOI: 10.1016/j.ijcard.2016.08.265.
- Абдрахманова А.И., Цибулькин Н.А., Амиров Н.Б., Галимзянова Л.А., Сайфуллина Г.Б., Ослопова Ю.В. Синдром такоцубо в клинике внутренних болезней. *Вестник современной клинической медицины.* 2017; 10 (6): 49–60. DOI: 10.20969/VSKM.2017.10(6).49-60
- Малев Э.Г., Земцовский Э.В., Омельченко М.Ю., Васина Л.В. Роль трансформирующего  $\beta$ -фактора роста в патогенезе пролапса митрального клапана. *Кардиология.* 2012; 52 (12): 34–39.

## Сведения об авторах

Захарьян Елена Аркадьевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра внутренней медицины № 1 с курсом клинической фармакологии, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского (структурное подразделение), КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0002-7384-9705.

Григорьев Павел Евгеньевич, д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой медицинской физики и информатики, Физико-технический университет (структурное подразделение), КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь; профессор, кафедра общей и социальной психологии, Институт психологии и педагогики, ТюмГУ, г. Тюмень. ORCID 0000-0001-7390-9109.

Шатов Дмитрий Викторович, канд. мед. наук, ст. преподаватель, кафедра анестезиологии-реаниматологии и скорой медицинской помощи, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского (структурное подразделение), КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь. ORCID 0000-0003-2248-5400.

(✉) Шатов Дмитрий Викторович, e-mail: dmitrii\_shatov@mail.ru.

Поступила в редакцию 07.04.2019

Подписана в печать 25.12.2019

# ЕЩЕ ОДИН ЖУРНАЛ СИБГМУ ВОШЕЛ В SCOPUS

Научно-производственный журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств» (издатель – ООО «Центр Фармацевтической Аналитики») успешно прошел экспертизу и был рекомендован комиссией Scopus Content Selection and Advisory Board для включения международную базу данных Scopus. Эксперты комиссии отдельно отметили высокий уровень публикаций журнала, значимость издания для российского рынка.

## Учредители журнала:

- «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА»)
- Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
- Сибирский государственный медицинский университет

## Цели и задачи журнала

Научно-производственный рецензируемый журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств» – актуальное бесплатное ежеквартальное прикладное издание и информационный портал для специалистов, задействованных в сфере обращения лекарственных средств.

Журнал предназначен для фармацевтических предприятий-производителей и их сотрудников из отделов разработки, контроля качества, регистрации, производства и развития; сотрудников лабораторных центров, контрактно-исследовательских организаций, научных и образовательных учреждений. Основная цель журнала – обобщение научных и практических достижений в сфере разработки и регистрации лекарственных средств, повышение научной и практической квалификации специалистов сферы обращения лекарственных средств.

Основные 5 тематических разделов журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств» включают цикл развития лекарственного средства от его создания до получения регистрационного удостоверения. Первый раздел посвящен поиску и разработке новых лекарственных средств, второй – фармацевтической технологии и рассматривает научные и практические направления от разработки и производства исходных фармацевтических ингредиентов, технологий и оборудования – до создания стандартных и терапевтически эффективных лекарственных препаратов.

Третий раздел описывает аналитические методики контроля качества; четвертый раздел посвящен подходам к оценке эффективности и безопасности лекарственных средств, проведению доклинических и клинических исследований; в пятом разделе рассматриваются вопросы валидации методик, подготовки регистрационного досье, жизненный цикл лекарственного препарата в GxP окружении.

Наименование и содержание научных работ, публикуемых в журнале «Разработка и регистрация лекарственных средств», должно соответствовать: 02.00.00 – химические науки; 03.02.00 – общая биология; 03.03.00 – физиология; 14.04.00 – фармацевтические науки.

Журнал принимает к рассмотрению обзорные и экспериментальные статьи по данной тематике. К публикации в журнале приглашаются как отечественные, так и зарубежные исследователи в области разработки и регистрации лекарственных средств.

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

### Главный редактор

**Шохин И. Е.**, д. фарм. н., генеральный директор ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», Москва, Россия.

### Редакционная коллегия

**Аммуру Ю. И.**, к. биол. н., зав. лабораторией экспериментальной иммунологии ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Россия.

**Белоусов М. В.**, профессор, д. фарм. н., заведующий кафедрой фармации ФПК и ППС ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия.

**Боян Салия**, Assist. Professor, PhD, University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Белград, Сербия.

**Василенко И. А.**, проф., д. х. н., профессор Института биохимической технологии и нанотехнологии ФГАОУ РУДН, Москва, Россия.

**Ваизова О. Е.**, доцент, д. м. н., профессор кафедры фармакологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия.

**Гузев К. С.**, д. ф. н., уполномоченное лицо АО Фармацевтическое научно-производственное предприятие «Ретиноиды», Москва, Россия.

**Гусаров Д. А.**, к. х. н., руководитель группы экспериментального биотехнологического производства Научно-исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия.

**Демина Н. Б.**, проф., д. фарм. н., профессор кафедры фармацевтической технологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия.

**Емшанова С. В.**, д. фарм. н., начальник отдела научных разработок ЦКП (НОЦ) ФГАОУ РУДН, Москва, Россия.

**Каленикова Е. И.**, проф., д. фарм. н., зав. кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия.

**Комаров Т. Н.**, к. фарм. н., старший химик-аналитик ООО «ЦФА», Москва, Россия.

**Кулинич Ю. И.**, к. фарм. н., эксперт 1 категории ФГБУ НЦ ЭСМП Минздрава России, Москва, Россия.

**Макеев О. Г.**, проф., д. м. н., зав. кафедрой биологии и медицинской генетики УГМУ, Екатеринбург, Россия.

**Малашенко Е. А.**, к. фарм. н., ст. преп. кафедры фармацевтической и токсикологической химии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия.

**Медведев Ю. В.**, к. фарм. н., доц. кафедры фармацевтической и токсикологической химии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия.

**Мельников Е. С.**, к. фарм. н., старший научный сотрудник ЦКФ ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России, Москва, Россия.

**Мирошниченко И. И.**, д. м. н., заведующий лабораторией фармакокинетики ФГБНУ Научный центр психического здоровья (НЦПЗ), Москва, Россия.

**Мустафин Р. И.**, к. фарм. н., директор Института фармации ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет Минздрава России, Казань, Республика Татарстан.

**Оборотова Н. А.**, проф., д. фарм. м, НИМЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва, Россия.

**Попов В. В.**, проф., д. м. н., зав. лабораторией профессиональной клинической фармакодинамики НУЗ «Научный клинический центр ОАО «РЖД», Москва, Россия.

**Русинов В. А.**, чл.-корр. РАН, д. х. н., директор Химико-технологического института ФГАОУ ВО УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина.

**Скорик Ю. А.**, доц., к. х. н., руководитель лаборатории природных полимеров Института высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург, Россия.

**Сливкин А. И.**, проф., д. фарм. н., зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГАОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия.

**Смехова И. Е.**, профессор кафедры технологии лекарственных форм. ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург, Россия.

**Станишевский Я. М.**, д. х. н., проф., директор Института биохимической технологии и нанотехнологии ФГАОУ РУДН, Москва, Россия.

**Сукоян Г. В.**, д. б. н., Международный центр внедрения новых биомедицинских технологий, Тбилисский государственный университет имени Иванэ Джавахишвили, Тбилиси, Грузия.

**Сысуев Б. Б.**, доц., д. фарм. н., ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия.

**Ташлицкий В. Н.**, к. х. н., старший научный сотрудник кафедры химии природных соединений химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия.

**Тринеева О. В.**, д. фарм. н., доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГАОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия.

**Хуторянский В. В.**, к. х. н., Prof., BSc MSc PhD MRSC, School of Pharmacy, University of Reading, Рединг, Великобритания.

**Чучалин В. С.**, д. фарм. н., заведующий кафедрой фармацевтической технологии, декан фармацевтического факультета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия.

**Эпштейн Н. А.**, к. х. н., зав. лабораторией Центра регистрации и разработки лекарственных средств ООО «Ирвин 2», Москва, Россия, Екатеринбург, Россия.