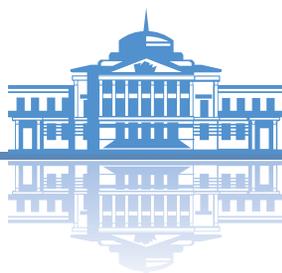


ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY
OF MEDICAL SCIENCES



6

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

Научно-теоретический журнал. Выходит один раз в два месяца. Основан в 1946 г.

Входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК.
Индексируется в базах данных: Elsevier BV Scopus, Pub Med, Embase, EBSCO,
Russian Science Citation Index.

Учредитель — Российская академия медицинских наук

Главный редактор И.И. ДЕДОВ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Э.К. АЙЛАМАЗЯН, А.И. АРЧАКОВ, Л.И. АФТАНАС, А.А. БАРАНОВ, В.В. БЕРЕГОВЫХ (зам. гл. редактора),
Л.А. БОКЕРИЯ, Н.Н. ВОЛОДИН, Н.Ф. ГЕРАСИМЕНКО, Е.К. ГИНТЕР, П.В. ГЛЫБОЧКО, Е.З. ГОЛУХОВА,
В.В. ЗВЕРЕВ, Р.С. КАРПОВ, С.И. КОЛЕСНИКОВ, В.В. КУХАРЧУК, Г.А. МЕЛЬНИЧЕНКО, Н.А. МУХИН,
Е.Л. НАСОНОВ, Г.Г. ОНИЩЕНКО, В.И. ПЕТРОВ, В.И. ПОКРОВСКИЙ, В.П. ПУЗЫРЁВ, В.Г. САВЧЕНКО,
В.И. СЕРГИЕНКО, Г.А. СОФРОНОВ, В.И. СТАРОДУБОВ, Г.Т. СУХИХ, В.А. ТУТЕЛЬЯН (зам. гл. редактора),
И.Б. УШАКОВ, Р.М. ХАИТОВ, Е.И. ЧАЗОВ, В.П. ЧЕХОНИН, В.И. ЧИССОВ, Е.В. ШЛЯХТО

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР: А.А. КУБАНОВ

2017/ТОМ 72/№6

Журнал «Вестник Российской академии медицинских наук» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций 16.09.1992 г. Регистрационный номер 01574.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов.

Воспроизведение или использование другим способом любой части издания без согласия редакции является незаконным и влечет за собой ответственность, установленную действующим законодательством РФ

Тираж 1000 экз. Подписные индексы: в агентстве Роспечать — 71488, в агентстве «Пресса России» — 38814

Издательство «ПедиатрЪ»: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, 2/62, тел./факс: +7 (499) 132-30-43, <http://vestnikramn.spr-journal.ru>
e-mail: vestnikramn@nczd.ru

ООО "Деловая полиграфия", 121352, Москва, ул. Давыдовская, 12-1-11

THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES

ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES

Published bimonthly. Founded in 1946.

The Journal is in the List of the leading scientific journals and publications
of the Supreme Examination Board (VAK).

The journal is indexed in Elsevier BV Scopus, Pub Med, Embase, EBSCO,
Russian Science Citation Index.

Founder — The Russian Academy of Medical Sciences

Editor-in-chief I.I. Dedov

EDITORIAL BOARD:

E.K. AILAMAZYAN, A.I. ARCHAKOV, L.I. AFTANAS, A.A. BARANOV, V.V. BEREGOVYKH (deputy editors-in-chief),
L.A. BOKERIYA, N.N. VOLODIN, N.F. GERASIMENKO, E.K. GINTHER, P.V. GLYBOCHKO, L.Z. GOLUKHOVA,
V.V. ZVEREV, R.S. KARPOV, S.I. KOLESNIKOV, V.V. KUKHARCHUK, G.A. MELNICHENKO, N.A. MUKHIN,
E.L. NASONOV, I.I. ONISHCHENKO, V.I. PETROV, V.I. POKROVSKII, V.P. PUZYREV, V.G. SAVCHENKO,
V.I. SERGIENKO, G.A. SOFRONOV, V.I. STARODUBOV, G.T. SUKHIKH, V.A. TUTELYAN (deputy editors-in-chief),
I.B. USHAKOV, R.M. KHAITOV, E.I. CHAZOV, V.P. CHEKHONIN, V.I. CHISSOV, E.V. SHLYAKHTO

SCIENCE EDITOR: A.A. KUBANOV

2017 / 72 (6)

Mass media registration certificate dated September, 16, 1992. Series № 01574 Federal service for surveillance over non-violation
of the legislation in the sphere of mass communications and protection of cultural heritage.

Editorial office takes no responsibility for the contents of advertising material.

No part of this issue may be reproduced without permission from the publisher. While reprinting publications one must make reference
to the journal «Annals of The Russian Academy of Medical Sciences»

Edition 1000 copies. Subscription indices are in the catalogue «Rospechat» 71488

Publisher «PEDIATR»: 2/62, Lomonosov avenue, Moscow, 119991, tel./fax: +7 (499) 132-30-43, <http://vestnikramn.spr-journal.ru>
e-mail: vestnikramn@nczd.ru

Printed by «Business printing» Ltd, 12-1-11, Davydkovskaya street, Moscow, 121352

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ**

М.В. Соколова, М.В. Коноплева, Т.А. Семенов, В.Г. Акимкин, А.В. Тутельян, А.П. Сулов
Механизмы иммунологического ускользания вируса гепатита В

Е.Г. Старикова, О.В. Воронкова, Ю.В. Ковширина, Н.И. Шубина
Криптоспоридии и макроорганизм: факторы, влияющие на развитие криптоспоридиоза

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ КАРДИОЛОГИИ
И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ**

Р.Е. Тулеутаяева, А.Е. Мусина, Н.А. Чеботаренко, А.Р. Махатова
Структура фармакотерапии артериальной гипертензии и приверженность у лиц молодого возраста

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПСИХОЛОГИИ
И ПСИХИАТРИИ**

М.Ю. Герасимчук
Особенности депрессии у больных с разными хронотипами

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
ОНКОЛОГИИ**

В.А. Бывальцев, И.А. Степанов, А.И. Кичигин, В.В. Каньгин, В.В. Ступак
Роль диффузионно-взвешенной магнитно-резонансной томографии в дифференциальной диагностике и прогнозировании выживаемости пациентов с метастазами в головной мозг

Е.В. Кайгородова
Циркулирующие опухолевые клетки: клиническое значение при раке молочной железы (обзор литературы)

Р.А. Керимов, Б.Д. Сексенбаев, О.В. Галимов, Б.К. Нурмасhev, М.Е. Жантеев
Группы крови по системе АВ0 и злокачественные новообразования ободочной и прямой кишки различных локализаций: ретроспективный анализ 1570 случаев заболевания

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ХИРУРГИИ

Е.Д. Дубинская, С.Н. Колесникова, М.Б. Хамошина, М.Г. Лебедева, М.А. Соунов, И.Н. Костин, З.М. Сохова
Полиморфизм гена *NAT2* как предиктор рецидивов после хирургического лечения пролапса тазовых органов

**INFECTIOUS DISEASES:
CURRENT ISSUES**

408 *M.V. Sokolova, M.V. Konopleva, T.A. Semenenko, V.G. Akimkin, A.V. Tutelyan, A.P. Suslov*
The Mechanisms of Immune Escape by Hepatitis B Virus

420 *E.G. Starikova, O.V. Voronkova, Yu.V. Kovshirina, N.I. Shubina*
Cryptosporidia and Macroorganism: Factors that Influence on the Development of Cryptosporidiosis

**CARDIOLOGY AND CARDIOVASCULAR
SURGERY: CURRENT ISSUES**

428 *R. Ye. Tuleutayeva, A. Ye. Musina, N.A. Cebotarenko, A.R. Makhatova*
The structure of pharmacotherapy of arterial hypertension and adherence in young patients

**PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY:
CURRENT ISSUES**

435 *M. Yu. Gerasimchuk*
Characteristics of Depression in Patients with Different Chronotypes

**ONCOLOGY:
CURRENT ISSUES**

442 *V.A. Byvaltsev, I.A. Stepanov, A.I. Kichigin, V.V. Kanigin, V.V. Stupak*
The Role of Diffusion-weighted MRI in Differential Diagnosis and Prediction of Survival in Patients with Brain Metastases

450 *E.V. Kaigorodova*
Circulating Tumor Cells: Clinical Significance in Breast Cancer (Review)

458 *R.A. Kerimov, B.D. Seksenbayev, O.V. Galimov, B.K. Nurmashev, M.E. Zhantheyev*
AB0 Blood Types and Malignant Colorectal Neoplasms of Different Location: A Retrospective Analysis of 1570 Cases

SURGERY: CURRENT ISSUES

466 *E.D. Dubinskaya, S.N. Kolesnikova, M.B. Khamoshina, M.G. Lebedeva, M.A. Sounov, I.N. Kostin, Z.M. Sokhova*
NAT2 Gene Polymorphism as a Predictor of Failure for Surgical Treatment of Pelvic Organ Prolapse: Results of a Prospective Cohort Clinical Study

DOI: 10.15690/vramn866

М.В. Соколова¹, М.В. Коноплёва¹, Т.А. Семененко¹, В.Г. Акимкин², А.В. Тутельян², А.П. Суслов¹

¹ Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Российская Федерация

² Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация

Механизмы иммунологического ускользания вируса гепатита В

Высокая распространенность вируса гепатита В (HBV) среди населения во многом обусловлена многочисленными механизмами, сформированными в ходе эволюции этого вируса, способствующими его выживанию в условиях иммунологического прессинга. В обзоре представлены наиболее полная систематизация и классификация разнообразных защитных механизмов HBV с точки зрения их воздействия на различные звенья врожденного и адаптивного иммунного ответа. Анализ литературных данных позволяет сделать заключение, что в основе всех этих механизмов заложено два базовых принципа — стратегия «вируса-невидимки» (уход вируса от распознавания иммунной системой) и стратегия иммуносупрессии. Тип взаимодействия вируса с иммунной системой, называемый стратегией «вируса-невидимки», осуществляется следующими способами: особая стратегия репликации HBV, препятствующая распознаванию рецепторами системы врожденного иммунитета, — появление мутантов вакцинального ускользания; изоляция вируса в клетках и тканях организма-хозяина, обеспечивающая его недоступность для Т-клеток, а также гиперпродукция субвирусных частиц в качестве ловушек для специфических антител. Базовый принцип стратегии иммуносупрессии, реализуемый в случае HBV, основан, по мнению авторов, преимущественно на явлении вирусной апоптотической мимикрии. Результатом данной стратегии взаимодействия являются дисфункция NK- и NKT-клеток, инактивация функций дендритных клеток и угнетение системы адаптивного иммунного ответа. В обзоре показано, что взаимодействие между HBV и иммунной системой макроорганизма находится в некоем «динамическом равновесии», зависящем от разнообразных факторов. Описаны конкретные молекулярные мишени вирусного воздействия. Предлагается расширить исследования о влиянии генетических факторов хозяина на развитие врожденного и адаптивного иммунного ответа против HBV, особенно при изучении реального инфекционного процесса, что позволит усовершенствовать подходы к терапии гепатита В в направлении разработки методов персонализированной медицины.

Ключевые слова: вирус гепатита В, иммунологическое ускользание, иммуносупрессия, механизм.

(Для цитирования: Соколова М.В., Коноплёва М.В., Семененко Т.А., Акимкин В.Г., Тутельян А.В., Суслов А.П. Механизмы иммунологического ускользания вируса гепатита В. Вестник РАМН. 2017;72 (6):408–419. doi: 10.15690/vramn866)

Система врожденного иммунитета в борьбе с вирусом гепатита В

Контроль инфекции вируса гепатита В системой врожденного иммунитета

В настоящее время к клеткам системы врожденного иммунитета относят макрофаги/моноциты, NK- (Natural

killer), NKT- (Natural killer T-cell), дендритные (ДК) и врожденные лимфоидные клетки. На поверхности этих клеток широко представлены паттернраспознающие рецепторы (Pattern recognition receptors, PRR), взаимодействующие с высококонсервативными структурами микроорганизмов (Pathogen Associated Molecular Patterns, PAMP), кластеризующиеся в несколько групп:

M.V. Sokolova¹, M.V. Konopleva¹, T.A. Semenenko¹, V.G. Akimkin², A.V. Tutelyan², A.P. Suslov¹

¹ N.F. Gamaleya Federal Research Centre of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

² Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation

The Mechanisms of Immune Escape by Hepatitis B Virus

The high prevalence of the hepatitis B virus (HBV) in population occurs mainly due to numerous mechanisms formed in the process of the virus evolution, contributing to its survival under immunological pressure. The review presents the most complete systematization and classification of various HBV protective mechanisms basing on their influence on different parts of congenial and adaptive immune response. The analysis of literature data allows for the conclusion that two basic principles underlie the mechanisms: the strategy of the «stealth virus» (virus's escape from recognition by the immune system) and strategy of immunosuppression. The stealth virus strategy is performed as follows: special strategy of the HBV replication which prevents the recognition by the receptors of congenial immune system; occurrence of the vaccine escape mutants; isolation of the virus in host cells and tissues providing its inaccessibility to T-cells along with hyperproduction of subviral particles as traps for specific antibodies. The core principle of the immunosuppression implemented in hepatitis B therapy is based on the phenomenon of the viral apoptotic mimicry. The result of this interaction strategy is dysfunction of NK and NKT-cells, inactivation of dendritic cell functions, and suppression of the adaptive immune response. The review demonstrates that interaction between HBV and the immune system of the macro organism is in some kind of «dynamic equilibrium» depending on numerous factors. Specific molecular targets of the viral impact are described. We propose to expand the research on the influence of the host's genetic factors on the development of congenial and adaptive immune response against HBV, especially during the real infectious process which results in the improvement of approaches to the therapy by developing personalized treatment methods.

Key words: HBV, immunologic escape, immune suppression, mechanism.

(For citation: Sokolova MV, Konopleva MV, Semenenko TA, Akimkin VG, Tutelyan AV, Suslov AP. The Mechanisms of Immune Escape by Hepatitis B Virus. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2017;72 (6):408–419. doi: 10.15690/vramn866)

Toll- (от нем. Toll — замечательный; Toll-like receptor, TLR), RIG-I (ген 1, индуцируемый ретиноевой кислотой; Retinoic acid-inducible gene 1, RIG-I-like receptors, RLR) и NOD-подобные (нуклеотидсвязывающий домен олигомеризации; Nucleotide-binding oligomerization domain) рецепторы [1].

За распознавание вирусной ДНК/РНК отвечают рецепторы TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9, которые представлены в основном в эндосомах клеток, особенно в плазмитоидных дендритных клетках (пДК). Распознавание вирусной ДНК/РНК запускает TLR-опосредованный сигнальный путь, который в итоге приводит к активации транскрипционных факторов NF- κ B (ядерный фактор «каппа-би»; Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), IRF3 и IRF7 (интерферонрегулируемые факторы; Interferon regulatory factor, IRF). Второе семейство PRR, играющее ключевую роль в противовирусном иммунитете, — RIG-I и MDA5 (Melanoma Differentiation-Associated protein 5) рецепторы. Подобно TLR, распознавание вирусной ДНК/РНК через RLR ведет к активации тех же транскрипционных факторов, что в конечном итоге приводит к активации интерферонстимулированных генов (*ISGs*), которые в свою очередь инициируют синтез и продукцию интерферонов и других провоспалительных цитокинов, ингибирующих репликацию вируса и запускающих механизмы адаптивного иммунитета.

Согласно современным исследованиям, печень представляет собой иммунологический орган, в котором преобладают клетки врожденной системы иммунитета [1]. Все клеточные популяции, представленные в печени (NK- и NKT-клетки, ДК, клетки Купфера и сами гепатоциты), играют важную роль в защите организма против инфекции, вызванной вирусом гепатита В (Hepatitis B virus, HBV). При этом доминирующими являются популяции NK- и NKT-клеток, составляющие вместе 50% всех лимфоцитов печени [1].

Интерферон (Interferon, IFN) α/β , продуцируемый гепатоцитами, зараженными вирусом гепатита В, привлекает в очаг воспаления и активирует клетки Купфера, которые начинают затем продуцировать интерлейкин (Interleukins, IL) 18 и хемокин CCL3, активирующие, в свою очередь, NK- и NKT-клетки. Очень важным являясь взаимодействие между NK- и дендритными клетками: на этом этапе продуцируется множество цитокинов, хемокинов и факторов роста, необходимых для успешной стимуляции и вовлечения адаптивного иммунного ответа в процесс инфекции [1].

Несмотря на многочисленные способы защиты организма от вирусных инфекций, HBV обладает разнообразными механизмами ускользания от системы иммунологического надзора.

Молекулярно-биологические механизмы иммунологического ускользания вируса гепатита В

На модели острого гепатита В у шимпанзе было показано, что в инкубационный период HBV не вызывает индукции *ISGs* [2]. Более того, не замечено какой-либо регуляции экспрессии генов иммунного ответа ни на начальном этапе инфекции, ни в логарифмической фазе вирусного развития. Таким образом, HBV является «вирусом-невидимкой», который может бесконтрольно реплицироваться до чрезвычайно высокого уровня (38 765 копий/нл) [3]. Вероятно, это связано с репликационной стратегией HBV, при которой ДНК-геном реплицируется на основе прегеномной РНК внутри нуклеокапсидных частиц, вследствие чего клеточные рецепторы, связывающиеся с двуцепочечной РНК, не могут распознать

прегеномную РНК HBV. Внеклеточные вирионы HBV и субвирусные продукты также не детектируются расположенными в эндосомах TLR [2].

Тем не менее процесс репликации HBV чрезвычайно чувствителен к действию IFN α/β [2]: например, IFN α/β , непосредственно введенный в печень или индуцированный у HBV-трансгенных мышей с помощью инъекций препарата Poly (I:C)¹, существенно угнетает репликацию HBV. IFN α/β ингибирует и/или дестабилизирует сборку незрелых вирусных капсидов, содержащих прегеномную РНК, вызывая угнетение репликации вируса в целом [4].

HBV способен предотвращать активацию экспрессии генов и продукцию IFN α/β несколькими способами. Например, полимеразы вируса гепатита В (HBV Pol) ингибирует TLR3 и RIG-I-индуцированные сигнальные пути посредством блокировки взаимодействия между полипептидами IKK ϵ и DDX3 [5]. Кроме того, HBV Pol ингибирует STING-опосредованную индукцию IFN α/β посредством блокировки процесса K63-зависимого убиквитилирования молекулы STING (Stimulator of interferon genes), необходимого для ее активации [6].

Вирусный белок HBx также способен блокировать сигнальные пути, приводящие к активации экспрессии IFN β . Он вызывает разрушение белка MAVS (Mitochondrial antiviral-signaling protein) посредством убиквитилирования Lys136. Экспрессия MAVS в гепатоцитах пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой, вызванной инфекцией HBV, практически полностью подавляется [7]. Кроме того, HBx может связываться с белком IPS-1, играющим роль адаптора при RIG-I и MDA5-рецепторном распознавании вируса, что ингибирует сигнальный путь, приводящий к продукции IFN β [8]. Тем не менее HBV не способен полностью блокировать сигнальные пути, приводящие к образованию IFN α/β .

В 2016 г. группой ученых из Швейцарии был определен механизм защиты ковалентно замкнутой кольцевой ДНК (Covalently closed circular, ccc) HBV от распознавания врожденной иммунной системой хозяина. Было показано, что HBx связывается с белком DDB1 (компонентом CUL4-DDB1 убиквитинлигазного комплекса), что запускает процесс деградации комплекса Sms 5/6, связывающего cccДНК HBV и блокирующего ее транскрипцию. Деградация противовирусного фактора Sms 5/6 позволяет HBV длительное время персистировать в организме хозяина [9].

Несмотря на многочисленные механизмы, которые использует HBV для ускользания от распознавания врожденной иммунной системой, они не обеспечивают ему полноценную защиту и возможность оставаться «невидимкой» в организме. На человеческих гепатоцитах было показано, что 5'- ϵ область прегеномной РНК HBV (генотипов А, В и С) способна распознаваться рецептором RIG-I, приводя к индукции IFN λ [10]. Также было показано, что рецептор MDA5 чувствителен к прегеномной РНК HBV генотипа D [11]. Активация RIG-I/MDA5 сигнальных путей обеспечивает ингибирование репликации HBV в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [1, 12].

Клеточные механизмы иммунологического ускользания вируса гепатита В

Дисфункция NK- и NKT-клеток

В острой фазе развития HBV-инфекции NK-клетки печени активируются и оказывают сильное цитотоксическое действие по отношению к зараженным гепатоцитам

¹ Композиция, содержащая микрочастицы полиинозиновой-полицитидиловой кислоты.

[13]. У некоторых пациентов на ранних стадиях острой инфекции HBV обнаружено временное угнетение иммунного ответа NK-клеток [1], что, возможно, связано с гетерогенностью популяции HBV и активным взаимодействием вируса и иммунной системы. Немаловажное значение придают и генотипу пациентов. Предполагают, что популяция NKT-клеток также играет важную роль в контроле репликации HBV на ранних стадиях воспаления. У пациентов с острым гепатитом В на пике репликации вируса усиливается продукция IFN α и фактора некроза опухоли (Tumor necrosis factor, TNF) α NK- и NKT-клетками [14], при этом количество NKT-клеток значительно меньше, чем в группах условно здоровых пациентов или у пациентов с хроническим гепатитом В (ХГВ), однако после выздоровления уровень NKT-клеток приходит в норму [15].

При ХГВ, а также при воспалительных процессах противовирусная активность NK-клеток начинает давать сбой [1]. При моделировании ХГВ на мышах у животных снижалась активация и ослаблялась цитолитическая активность NK-клеток [13]. У пациентов с ХГВ значительно снижалась способность NK-клеток продуцировать IFN γ [16].

Функциональное состояние NK-клеток поддерживается балансом между активационными и ингибиторными рецепторами [1]. В случае ХГВ фенотип и функции NK-клеток изменяются. Особенно сильная супрессия продукции IFN γ и TNF α NK-клетками наблюдается в популяции CD56^{dim}-клеток, что в конечном счете влияет на их цитотоксическую способность. Однако ингибирование вирусной репликации с помощью противовирусных препаратов возвращает способность NK-клеток продуцировать цитокины IFN γ и TNF α , что усиливает способность субпопуляции CD56^{dim} активироваться *de novo* [1, 17].

На сегодняшний день определены несколько направлений, по которым HBV осуществляет блокировку активности NK-клеток. В частности, HBV снижает экспрессию активационных рецепторов CD16 и NKp30 и увеличивает экспрессию ингибиторных рецепторов NKG2A и Tim3 на NK-клетках. Усиление экспрессии Tim3 на NK-клетках приводит к их функциональному угнетению [1, 18]. Экспрессия Tim3 у пациентов с ХГВ значительно повышена как на лимфоцитах печеночного инфильтрата, так и на мононуклеарных периферических клетках крови (Peripheral mononuclear blood cells, PBMC) [17].

Кроме того, HBV снижает экспрессию белка MICA (MHC class I-related molecule A) на гепатоцитах. Этот белок является лигандом рецептора NKG2D и играет важную роль в элиминации инфицированных клеток. Ингибирование экспрессии белка MICA вирусом гепатита В приводит к снижению цитолитической активности NK-клеток по отношению к инфицированным клеткам [19].

Дисфункция NK-клеток при гепатите В может быть опосредована и повышением продукции IL10, особенно у пациентов с ХГВ. Это вызывает супрессию функций NK-клеток, что облегчает персистенцию вируса [1]. Блокада продукции IL10 у пациентов с ХГВ приводит к нормализации функций NK-клеток [16].

Помимо всего прочего, HBV модулирует взаимодействие между NK-клетками и пДК, играющее важную роль в первой фазе иммунного ответа против вирусных инфекций. В присутствии HBV способность NK-клеток продуцировать эффекторные цитокины после взаимодействия с пДК подавляется [20].

Инактивация функций дендритных клеток

Основные продуценты IFN I типа — пДК — оказывают прямое противовирусное действие посредством

продукции не только IFN I типа, но и цитокинов TNF α и IL6, ингибирующих вирусную репликацию. С другой стороны, пДК активируют NK- и Т-клетки, обеспечивая регуляцию иммунного противовирусного ответа [21].

ДНК HBV обнаруживается в циркулирующих в кровотоке плазматоидных и миелоидных дендритных клетках у пациентов с ХГВ. Это говорит о том, что в условиях *in vivo* происходит прямое взаимодействие пДК и HBV [22], однако не вполне понятно, способен ли HBV напрямую заражать дендритные клетки [1, 22]. Количество пДК у пациентов с ХГВ значительно ниже, чем у здоровых доноров [23], при этом количество циркулирующих пДК негативно коррелирует с вирусной нагрузкой. В результате противовирусной терапии количество циркулирующих пДК у пациентов приходит в норму [1].

В отличие от различных вирусных и синтетических лигандов TLR-9 и TLR-7, таких как вирус гриппа, HSV-1, CpG и Lox, способных индуцировать продукцию IFN α плазматоидными дендритными клетками и увеличивать уровень экспрессии рецепторов CD40, CD80 и CD86 на поверхности этих клеток, HBV не активирует пДК. Более того, инкубация пДК с CpG в присутствии HBV приводит к ингибированию CpG-опосредованной активации экспрессии рецепторов CD40, CD80 и CD86 на поверхности пДК. Ингибирование Lox-опосредованной активации клеток под действием HBV не происходит. Известно, что CpG является лигандом для TLR9, а Lox — для TLR7: таким образом, ингибиторный эффект HBV, вероятнее всего, связан с блокировкой именно взаимодействия TLR9-лиганда [21], а конкретно — сигнального пути TLR9—MyD88—IRF7—IFN α [23].

Не только HBV, но и очищенные белки HBsAg и HBeAg *in vitro* ингибируют выработку CpG-индуцированного IFN α плазматоидными дендритными клетками, а также уменьшают уровень мРНК IFN- α 2 и IFN- α 8. Более того, цельные вирионы HBV, HBsAg и HBeAg ингибируют в пДК CpG-опосредованную секрецию TNF α , IP-10 (интерферонзависимый белок; Interferon-dependent protein, IP) и IL6. При совместном культивировании пДК и NK-клеток в присутствии CpG HBV снижает повышенную продукцию IFN γ NK-клетками, вызванную воздействием CpG, но не угнетает CpG-опосредованную гиперэкспрессию активационных молекул CD69 и CD25 на поверхности NK-клеток. В отличие от HBsAg и HBeAg белок HBcAg никак не влияет на ингибирование продукции IFN α и других цитокинов [21].

Для того чтобы определить, угнетаются ли функции пДК при ХГВ таким же образом, как и в экспериментах *in vitro*, у пациентов изучали продукцию IFN α плазматоидными дендритными клетками [21]. Выделенные из крови пДК инкубировали с классическими индукторами IFN α — CpG и Lox: результаты показали сильное подавление продукции IFN α . Более того, эффект подавления продукции IFN α был ярче выражен у HBeAg-позитивных пациентов, что свидетельствует об иммуносупрессивном действии HBeAg и подтверждает результаты экспериментов *in vitro* [21]. Тем не менее гипотеза о механизме ингибирующего влияния HBeAg на функциональную способность пДК до сих пор не сформулирована.

В настоящее время высказано несколько гипотез о влиянии HBsAg, в отличие от HBeAg, на функционирование пДК. Во-первых, HBsAg может поглощаться плазматоидными дендритными клетками и напрямую взаимодействовать с некоторыми компонентами сигнальных комплексов, приводя к блокировке сигнала. Для проверки этой гипотезы была проведена оценка влияния HBsAg на экспрессию факторов негативной

регуляции TLR-9 сигнального пути: TRIAD3A, SOCS1 (супрессор цитокиновых сигналов 1; Suppressor of cytokine signaling 1), A20, ST2L, IRAMK и SIGIRR (Single Ig IL1-related receptor): в пДК в присутствии HBsAg наблюдалось усиление экспрессии фактора SOCS1, подавляющего продукцию IFN α посредством супрессии киназы IRAK (Interleukin-1 receptor-associated kinase 1) и фактора TRAF6 (TNF receptor-associated factor 6) [24]. Согласно второй гипотезе, HBsAg может взаимодействовать с поверхностными рецепторами пДК, модулируя функции этих клеток. Для этого изучали влияние HBsAg на активацию рецепторов CD4, ILT7 и BDCA2, способных ингибировать продукцию IFN α . Оказалось, что HBsAg способен связываться только с рецептором BDCA2, причем это связывание является Ca^{2+} -зависимым, а следовательно, высокоспецифичным [25]. Кроме того, была высказана гипотеза, что избыточная продукция неинфекционных субвирусных частиц, состоящих из HBsAg, приводит к тому, что HBsAg-производные пептиды насыщают молекулы антигенов гистосовместимости (Major histocompatibility complex, МНС), препятствуя презентации пептидов от других вирусных белков [26].

В механизме иммунологического ускользания HBV важную роль играет также другая субпопуляция ДК — миелоидные дендритные клетки (мДК) [27]. С помощью методов электронной микроскопии была показана способность мДК и генерированных из моноцитов *in vitro* дендритных клеток (моДК) поглощать как природный, так и рекомбинантный HBsAg. На выделенных из крови мДК было показано, что в присутствии рекомбинантного и природного HBsAg субтипов *ay* и *ad* процесс активации этих клеток под действием TNF α и IL-1 β существенно ингибируется, что проявляется в угнетении экспрессии костимуляторных молекул CD86, CD80 и CD40.

Кроме костимуляторных молекул немаловажную роль при взаимодействии ДК и Т-лимфоцитов играют цитокины, продуцируемые дендритными клетками. Высокая аллостимуляторная активность ДК коррелирует с повышенной концентрацией IL12 и секрецией Th1-цитокинов. Было показано, что цельные вирионы HBV, но не HBsAg, блокируют продукцию IL-12p70 миелоидными и генерированными из моноцитов дендритными клетками. В результате ингибируется способность ДК стимулировать Т-клеточное звено иммунитета. В экспериментах с аллогенными Т-лимфоцитами в смешанной лимфоцитарной реакции (Mixed lymphocytic reaction, MLR) было показано, что созревание мДК в присутствии природного и рекомбинантного HBsAg субтипов *ay* и *ad* угнетает Т-клеточную пролиферацию примерно в 1,7 раза [27]. Эти данные полностью согласуются с результатами работы Н. Löhг с соавт., где было показано, что низкая пролиферативная способность Т-хелперов, опосредованная аутологичными дендритными клетками пациентов с ХГВ, может быть возвращена в норму путем добавления экзогенного IL12 [28]. Помимо угнетения Т-клеточной пролиферации вирусом гепатита В, в процессе MLR ингибируется продукция IFN γ , TNF α и IL2 Т-клетками. Более того, мДК, контактировавшие с вирионами HBV, ингибируют продукцию IFN γ Т-клетками почти в 2 раза, тогда как уровень Th2-цитокинов, таких как IL4 и IL5, практически не изменяется. Важность Th1-клеток и, соответственно, продуцируемых ими цитокинов в процессах элиминации инфекции была продемонстрирована как у пациентов с ХГВ, так и на моделях *in vivo* [29, 30]. В работах на трансгенных мышах [31] и шимпанзе [30] было показано, что большая часть вирусной ДНК элиминируется из цитоплазмы гепатоцитов под действием

нецитолитического противовирусного действия IFN γ и TNF α , продуцируемых Т-клетками.

Таким образом, HBV и его белки ингибируют созревание и функции пДК и мДК, приводя к образованию толерогенных и функционально ограниченных популяций ДК. Ингибирование экспрессии костимуляторных молекул на поверхности пДК и мДК является чрезвычайно важным механизмом, регулирующим взаимодействие между системами врожденного и приобретенного иммунитета, поскольку экспрессия CD86, CD80 и CD40 на дендритных клетках необходима для дальнейшей активации Т-клеток. Регуляция Th1-иммунного ответа является одной из важнейших стратегий, используемых HBV для иммунологического ускользания.

Система адаптивного иммунного ответа в борьбе с вирусом гепатита В

Первостепенное значение для элиминации HBV из организма играет образование сложного репертуара вирусспецифичных Т- и В-клеток. Система врожденного иммунитета предназначена главным образом для оперативного контроля над вирусной репликацией, тогда как адаптивный иммунитет определяет исход инфекционного процесса [32].

Элиминация HBV из организма напрямую зависит от сильного и устойчивого CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеточного ответа. В процессе развития инфекции антитела, продуцируемые вирусспецифичными В-клетками, способны предотвратить инфицирование еще здоровых клеток, а также обеспечить защиту организма при низкой дозе инфицирования и наличии поствакцинального иммунитета. Иммунный ответ на введение рекомбинантных вакцин против гепатита В сложен и вовлекает в процесс разные звенья иммунной системы. Мультиспецифичные Т-клеточные ответы с продукцией цитокинов 1-го и 2-го типа обеспечивают развитие сильного гуморального ответа. Установлено, что HLA-рестриктированные вирусспецифичные Т-лимфоциты и такие цитокины, как IL1, IL2, TNF α и IFN γ , участвуют в защите от инфекции HBV не менее активно, чем антитела. Генотип HLA класса II (особенно аллельные варианты HLA-DRB1) — существенный фактор, определяющий исход взаимодействия HBsAg с макроорганизмом [33]. По всей видимости, контроль силы и направленности иммунного ответа на HBV осуществляется не отдельными аллелями, а комплексом генов [34]. Другое доказательство роли иммуногенетических факторов — различие в реакции на вакцину против гепатита В у представителей разного пола [35]. Кроме генетической составляющей, на силу иммунного ответа влияют фенотипические особенности организма, приобретенные им во время жизни, — зрелый возраст [35] и такие отягчающие факторы, как алкоголизм, курение, наркомания и иммунодефицитные состояния. Эти фенотипические особенности относятся к неблагоприятным предикторам, влияющим на исход вакцинации [33].

Несмотря на сложный, специфичный и, казалось бы, очень надежный механизм адаптивного иммунного ответа, HBV использует множество путей, позволяющих ему ускользать и персистировать у больных на протяжении всей жизни, оставаясь недосягаемым для иммунитета.

Гуморальный иммунный ответ при инфекции вируса гепатита В

Антительный ответ может вырабатываться на различные белки HBV (HBcAg, HBeAg, HBsAg, Pol и X-белок),

причем наличие или отсутствие тех или иных антител, в основном к белкам оболочки (S, M, L-HBsAg) и нуклеокапсида (HBcAg и HBeAg), используется для определения клинической фазы инфекции. В процессе острой инфекции HBV кинетика образования анти-HBs и анти-HBc различна, однако выявление только анти-HBs ассоциировано с завершением и контролем инфекционного процесса, тогда как наличие анти-HBc свидетельствует о высоком уровне вирусной репликации [32]. Таким образом, анти-HBs являются протективными антителами, а наличие анти-HBc используют в диагностике как маркер текущей инфекции.

Известно, что анти-HBs вырабатываются против двух регионов HBsAg, отвечающих за инфекционность вируса, — 2-48 а.о. домена Pre-S1 в L-HBsAg и а-детерминанты (104-163 а.о. S-HBsAg) [32].

В процессе инфицирования на поверхности гепатоцита происходят два последовательных рецепторных взаимодействия. Сначала с помощью 288-311 а.о. L-HBsAg (соответствующих области а-детерминанты) вирионы HBV с низкой специфичностью взаимодействуют с рецепторами HSPG (Heparan sulfate proteoglycan), адсорбируясь на поверхности гепатоцита. Далее происходит второе высокоспецифичное рецепторное взаимодействие между Pre-S1 доменом (2-48 а.о. L-HBsAg) HBV и NTCP-рецепторами (Na⁺-taurocholate cotransporting polypeptide) на гепатоцитах, которое приводит к дальнейшему эндоцитозу вирионов HBV [32, 36]. Антитела к этим двум регионам L-HBsAg HBV способны блокировать инфекцию, однако антитела к другим регионам, не участвующим в инфицировании, например Pre-S2 области, не обладают нейтрализующей способностью [37].

Наличие антител только к а-детерминанте в целом обеспечивает эффективную защиту пациентов при трансплантации печени или просто у вакцинированных людей. Однако из-за того, что подавляющее большинство используемых вакцин содержат S-HBsAg и не содержат взаимодействующую с рецепторами NTCP область Pre-S1, не происходит выработки полного спектра нейтрализующих антител. Этот факт нашел отражение в ряде работ, где изучался поствакцинальный иммунитет у людей [38] и шимпанзе [39]. Было показано, что поствакцинальный иммунитет обеспечивает защиту от возможного будущего инфицирования, однако он не является стерилизующим [38]. Об этом свидетельствует наличие HBc- и Pol-специфичных CD8⁺ Т-клеток у вакцинированных медицинских работников, имеющих профессиональные контакты с инфекцией HBV [38]. HBV в ходе эволюции выработал стратегию ускользания от нейтрализующих его антител за счет избыточной экспрессии поверхностных белков, формирующих сферические частицы и филаменты, не содержащие вирусную ДНК. Концентрация субвирусных частиц в сыворотке может быть в 10 000 раз больше, чем концентрация вирионов, поэтому они являются своеобразной «ловушкой» для нейтрализующих антител [26].

Мутанты вакцинального ускользания

Антигенные свойства HBsAg могут изменяться, что приводит к существенной потере способности анти-HBs нейтрализовать HBV. Такие изменения антигенности могут быть следствием появления мутации как внутри, так и около а-детерминанты [40]. Существование мутантов HBV, ускользающих от протективного действия иммунной системы на фоне проведенной вакцинации, впервые было зарегистрировано в Италии у ребенка, рожденного от HBV-инфицированной матери, который

при рождении был вакцинирован от гепатита В, а также получал пассивную вакцинацию специфическими иммуноглобулинами. Прорыв инфекции у этого ребенка, ассоциированный с точечной заменой глицина на аргинин G145R во второй петле а-детерминанты, привел к стойкой вирусемии и антигенемии в течение более чем 12 лет, несмотря на серопротективный уровень анти-HBsAg. Такого варианта вируса у матери не было [41]. Впоследствии появились и другие аналогичные сообщения [42]. Мутанты HBV способны вызывать инфекцию в печени у людей после трансплантации, получавших профилактику иммуноглобулинами [43]. Варианты HBV, в отношении которых вакцинация оказалась неэффективной, получили название «мутантов вакцинного ускользания», или escape-мутантов. Практически все они имеют замены в а-детерминанте HBsAg [44].

В наше время проблема мутантов HBV стала еще более актуальной, так как массовая вакцинация и широкое применение химиотерапии способствовали значительному увеличению их распространенности. Данные, представленные в литературе, указывают на возрастающее накопление HBsAg-мутантов у вакцинированных детей [45]. В Сингапуре у 41/345 (12%) новорожденных, родившихся от HBsAg/HBeAg-позитивных матерей, несмотря на присутствие анти-HBs, индуцированных вакцинацией и введением специфического иммуноглобулина, не удалось предотвратить инфицирование HBV. У большинства вирусных изолятов, выделенных из крови заболевших, была выявлена мутация G145R [46].

Вариант HBV с заменой G145R является наиболее распространенным и значимым. Он был обнаружен при исследованиях во многих странах, в том числе и в России [45, 47, 48]. Обнаружено множество типов мутантов вакцинального бегства у вакцинированных людей в других странах: например, мутант K141E в Гамбии и мутант T/P126T в Японии [43]. Инсерция 3 дополнительных аминокислотных остатков в области 122-124 а.о. часто вызывает фульминантную реактивацию гепатита В, который ранее был серонегативным по HBsAg [43]. Большую клиническую значимость имеют также мутанты P120T, T131I и замены в позициях 123, 124, 126, 129, 133, 143, 144 [42, 43]. Кроме того, выявлены 3 кластера мутаций (40-45, 114-122 и 198-208 а.о.), часто встречающихся в совокупности с заменой G145R [49]. Частота встречаемости мутаций в а-детерминанте вызывает озабоченность в правильности выбора только одной области HBV (S-HBsAg) для профилактической вакцинации [32]. Однако, M. Feitelson и соавт. высказали опасение, что, если включить в будущие вакцины Pre-S детерминанты, это приведет к появлению Pre-S делеций и новых мутантов иммунологического ускользания у вакцинированных лиц [50].

Опубликовано большое количество работ, в которых обнаружены мутации и делеции в Pre-S области. В некоторых случаях делеции могут достигать до половины целого Pre-S2 региона [48, 51]. Например, обнаружена делеция трансляционного стоп-кодона Pre-S2, полностью прекращающая экспрессию белка М-HBsAg. Некоторые делеции не только уничтожают регион Pre-S2 промотора, но также затрагивают сайты, распознаваемые Т- и В-клетками. Напротив, регион Pre-S1, в котором расположены сайты связывания с гепатоцитами, является очень консервативным и практически не подвергается мутациям. Варианты вируса с делециями и мутациями в Pre-S2 регионе могут остаться нераспознанными Т- и В-клетками, а при сохранении их способности прикрепляться к гепатоцитам с последующим их инфицированием подобные мутанты могут способствовать развитию ХГВ и долго персисти-

ровать в организме, не подвергаясь элиминации. Кроме того, подобные мутанты могут получать селективное преимущество в условиях, когда иммунный ответ направлен в сторону уничтожения дикого варианта HBsAg [48].

Механизмы T-клеточного иммунного ускользания вируса гепатита В

Изоляция в клетках и тканях организма как один из механизмов ускользания от T-клеточного надзора

Иммунологическое бегство от системы адаптивного иммунного ответа не ограничивается только ускользанием от вирусспецифичных антител. В последнее десятилетие изучение В-клеточного иммунного ответа при гепатите В ушло на второй план, и большинство исследований о роли вирусспецифичных лимфоцитов в защите и повреждении печени были сосредоточены на Т-клетках. HBV, вызывающий хроническую инфекцию, должен также уклоняться от Т-клеточного ответа, приводящего к его элиминации из организма.

Описано множество органов и тканей, служащих изоляционными резервуарами для вируса. Так, например, резервуарами HBV могут являться почки или поджелудочная железа, а также органы с микроваскулярными барьерами, которые предохраняют клетки от атак HBsAg-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов. Плотность печеночной паренхимы также является фактором, ограничивающим доступ цитотоксических Т-лимфоцитов к инфицированным гепатоцитам [52].

В настоящее время накапливается все больше данных о том, что РВМС также являются резервуарами для HBV. В пуле РВМС обнаруживаются HBsAg, HBeAg, ДНК HBV и ссДНК, включая мутантные варианты вируса [53, 54]. HBV может реплицироваться в РВМС с высвобождением инфекционных вирусных частиц [55]. Зараженные РВМС способны вызывать внутриутробную инфекцию во втором триместре беременности [55, 56].

Механизмы HBV-специфичной CD8⁺ Т-клеточной дисфункции

Вирусспецифичные CD8⁺ Т-клетки могут элиминировать HBV из инфицированных гепатоцитов цитолитическим путем, приводящим к деструкции инфицированного гепатоцита, и нецитолитическим — цитокинопосредованным ингибированием вирусной репликации, которое не требует разрушения инфицированной клетки [57]. Вовлечение нецитолитического эффекторного механизма в ходе развития инфекции HBV было хорошо изучено на трансгенных мышах [57, 58] и шимпанзе [58, 59]. После распознавания вирусного антигена HBV-специфичными CD8⁺ Т-клетками начинается активная экспрессия противовирусных цитокинов, которые ингибируют репликацию HBV нецитолитическим путем, но при этом активируется также и цитолитический потенциал CD8⁺ Т-клеток, приводящий к воспалению и некротическим повреждениям печени, играющим решающую роль в элиминации ссДНК из зараженных гепатоцитов [57].

Персистенция HBV ассоциирована с функциональными нарушениями CD8⁺ Т-клеток и приводит к исчезновению вирусспецифичных CD8⁺ Т-клеток [57], которые практически перестают обнаруживаться у пациентов с вирусной нагрузкой больше 10⁷ копий/мл. Вероятнее всего, нарушение пролиферативного потенциала Т-клеток связано с высокой и длительной экспозицией вирусных антигенов, например HBsAg [26, 57]. Кроме того, инфекция HBV может нарушать продукцию и секрецию IL2 и IFN γ CD8⁺ Т-клетками [57].

Дисфункция CD8⁺ Т-клеток, вызванная HBV, также проявляется фенотипически, выражаясь в изменении экспрессии различных поверхностных молекул. HBV использует PD1/PD1-L (B7-H1)-опосредованный путь индукции апоптоза Т-клеток с целью выключения эффекторных иммунных реакций хозяина [60]. Кроме того, на поверхности Т-лимфоцитов, активированных антигенами патогенных микроорганизмов, повышается экспрессия рецептора PD1, а также генерируются толерогенные ДК и другие типы клеток с повышенной экспрессией лиганда PD-L1. Связывание PD1 с PD-L1 может приводить к повышенной гибели антигенспецифичных лимфоцитов [61]. У пациентов с ХГВ происходит усиление экспрессии проапоптотической молекулы Vim и рецептора PD1 на вирусспецифичных CD8⁺ Т-клетках, а также его лиганда PD-L1 на гепатоцитах, что приводит к апоптозу CD8⁺ Т-клеток [57, 58]. Блокировка связывания PD1 с PD-L1 может стать потенциальной мишенью иммунотерапии ХГВ. Н. Maier и соавт. вводили блокирующие антитела против PD-L1 HBV-трансгенным мышам, что привело к увеличению числа IFN γ продуцирующих CD8⁺ Т-клеток в печени животных [62]. В экспериментах *in vitro* на выделенных из крови HBV-специфичных CD8⁺ Т-клетках от пациентов с ХГВ было также показано восстановление популяции Т-клеток в процессе блокировки взаимодействия PD1 с PD-L1 [57]. Тем не менее путь ингибирования взаимодействия PD1 с его лигандом лишь отчасти можно считать перспективным, т.к. блокада PD1 может развивать толерантность, что было показано в исследованиях иммунотерапии рака [63].

Обнаружены коингибиторные и костимуляторные молекулы, играющие важную роль в дисфункции CD8⁺ Т-клеток у пациентов с ХГВ. Так, молекулы 2B4 и CTLA4 высоко коэкспрессируются с молекулой PD1 на HBV-специфичных CD8⁺ Т-клетках и являются индикатором гиперэкспрессии молекулы Vim [57, 58]. У пациентов с ХГВ молекула Tim3 в большой концентрации экспрессируется не только на CD8⁺, но и на CD4⁺ Т-клетках, что нарушает способность Т-клеток продуцировать IFN γ и TNF α в ответ на распознавание вирусных белков в условиях *in vitro* и повышает восприимчивость этих клеток к Tim-3/galectin-9-опосредованному апоптозу. Показано, что у пациентов с ХГВ, находящихся в фазе обострения, galectin-9 обнаруживается в сыворотке в высоких концентрациях [64]. Блокада экспрессии Tim3 приводит к частичному восстановлению функций CD8⁺ Т-клеток, а одновременная блокировка экспрессии молекул Tim3 и PD1 усиливает эффект восстановления [57, 64].

Немаловажную роль в дисфункции CD8⁺ Т-клеток при HBV-инфекции играют цитокины и регуляторные Т-клетки (Treg). Несмотря на постоянное присутствие в печени патогенов, токсинов и пищевых антигенов, адаптивный иммунный ответ на различные антигенные стимулы в этом органе реализуется в пользу индукции иммунологической толерантности. Механизм системной индуцированной иммунной печеночной толерантности изучен еще не до конца, хотя в настоящее время существует несколько предположений, которые накопили экспериментальное подтверждение: Т-клеточный апоптоз, различные иммунные отклонения и активная супрессия иммунитета [65]. Так, например, мышинные клетки Купфера конститутивно экспрессируют иммуносупрессивные цитокины IL10 и трансформирующий ростовой фактор (Transforming growth factor, TGF) β, которые вовлечены в образование уникального цитокинового микроокружения печени, обеспечивающего функциональную толерантность лимфоцитов печеноч-

ного инфильтрата [57, 65]. В то же время уровень этих цитокинов умеренно повышен в сыворотках пациентов с ХГВ и сильно повышен в HBV-трансфицированной клеточной линии HepG2.2.15 [1]. Увеличение уровня IL10 и специфический полиморфизм гена IL10 коррелируют с тяжелым течением хронического инфекционного процесса при гепатите В [57, 66]. TGF β также может оказывать негативный эффект на функционирование вирусспецифичных CD8⁺ Т-клеток, что было показано на модели вируса гепатита С, причем блокировка секреции TGF β приводила к усилению продукции IFN γ вирусспецифичными CD8⁺ Т-клетками [57].

Основными продуцентами иммуносупрессорных цитокинов IL10 и TGF β являются регуляторные CD4⁺ Т-клетки, играющие главную роль в иммунологической толерантности к собственным антигенам, поддержании гомеостаза и защиты клеток и тканей организма от чрезмерного иммунного ответа [57]. Предполагают, что при гепатите В Treg принимают участие в защите ткани печени от чрезмерных повреждений, а также нарушают функционирование CD8⁺ Т-клеток [67]. В крови у пациентов с ХГВ наблюдается повышенный уровень Treg, участвующих в ингибировании пролиферации вирусспецифичных CD8⁺ Т-клеток [68], однако О. Franzese и соавт. не обнаружили такого эффекта [69]. Высокая вирусная нагрузка у пациентов с ХГВ коррелирует с высокой частотой встречаемости Treg в печени [57], однако аналогичные исследования, проведенные на крови, были противоречивы [68, 70]. Увеличенная пропорция внутрипеченочных регуляторных CD4⁺ Т-клеток, наблюдаемая у пациентов с ХГВ, возможно, вносит весомый вклад в дисфункцию CD8⁺ Т-клеток и объясняет утрату контроля над репликацией вируса в печени [71].

Механизм ускользания вируса гепатита В от распознавания CD8⁺ Т-клетками

Важнейший механизм ускользания HBV — появление мутаций в регионах, распознаваемых CD8⁺ Т-клетками, влияющих на процессинг и презентацию вирусных эпитопов, угнетающих связывание с МНС, а также с Т-клеточным рецептором. А. Bertoletti и соавт. высказали предположение, что возникновение таких вирусных вариантов можно объяснить сильным CD8⁺ Т-клеточным ответом на иммунодоминантные эпитопы, оказывающим селективное давление на вирус [72]. В другой работе авторы предполагают, что варианты вируса, ускользающие от CD8⁺ Т-клеточного ответа, могут возникать в острой фазе HBV-инфекции, однако частота их встречаемости довольно низка, и, скорее всего, они не оказывают сильного влияния на хронизацию инфекции [73].

В исследовании, посвященном анализу взаимоотношения мутантных вариантов HBV и типов HLA-аллелей у пациентов с ХГВ, был обнаружен HLA-ассоциированный полиморфизм в CD8⁺ Т-клеточных эпитопах. Эти данные согласуются с гипотезой, что HBV у хронических больных подвергается прессингу со стороны иммунной системы. Тем не менее, являются ли обнаруженные замены полноценными вирусными мутациями, эффективно блокирующими CD8⁺ Т-клеточный ответ, в настоящее время еще не доказано. Эффекторные функции HBV-специфичных CD8⁺ Т-клеток в основном объяснены, однако точное место и процесс прайминга CD8⁺ Т-клеток, а также точный механизм хоуминга в печень вирусспецифичных Т-клеток до сих пор неизвестны. Понимание этих процессов поможет лучше разобраться в механизмах Т-клеточной дисфункции и развития хронического заболевания [57].

Вирусная апоптотическая мимикрия

Существует немало публикаций о том, что противовоспалительный потенциал HBsAg подобен потенциалу апоптотных клеток (apoptotic cells, APCE) при воздействии на моноциты и макрофаги [26, 74, 75]. Поскольку в состав субвирусных частиц входят, помимо поверхностных белков вируса, богатые фосфатидилсерином мембраны клетки-хозяина, являющиеся маркером программируемой клеточной гибели, то, маскируясь под апоптотический дебрис, вирус активирует механизм апоптотического клиренса [74].

Исследования *in vitro* показали, что РВМС, полученные от пациентов с ХГВ, после стимуляции митогеном, например липополисахаридом (ЛПС), пролиферируют реже, слабее и продуцируют меньшее количество IFN γ и IL12 [75]. Очищенный HBsAg, подобно APCE, при добавлении его к полученным из моноцитов макрофагам эффективно супрессировал продукцию ЛПС-индуцированного TNF α , TNF α -индуцированного гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора и индуцированного вирусом везикулярного стоматита IFN α . Экспрессированный в дрожжах HBsAg действовал как апоптозоподобная частица при взаимодействии с моноцитами: он супрессировал ЛПС-индуцированную секрецию провоспалительных цитокинов, но повышал секрецию IL10 [26].

HBsAg содержит 30% по массе полученных от хозяина липидов. Главными липидными компонентами HBsAg являются фосфолипиды (67%), холестерин эфир (15%), холестерол (14%) и триглицериды (3%). При этом в пуле фосфолипидов 90% приходится на фосфатидилхолин, а содержание фосфатидилэтаноламина составляет 2–4%. Присутствуют также следовые количества фосфатидилсерина, сфингомиелина, лизофосфатидилхолина и лизофосфатидилэтаноламина [76]. Благодаря такому составу фосфолипидов HBsAg может взаимодействовать с мембраносвязанными рецепторами или растворимыми молекулами, способными связываться с APCE.

Хотя наиболее важной детерминантой APCE для их распознавания является фосфатидилсерин, с которым связывается множество разнообразных клеточных рецепторов, значимыми детерминантами являются такие заряженные фосфолипиды, как фосфатидилинозитол, фосфатидилэтаноламин и окисленный фосфатидилхолин. Окисление фосфатидилсерина усиливает поглощение APCE [77].

Одной из наиболее важных молекул, связывающихся с фосфатидилсерином, является белок плазмы β 2-GPI. Только после связывания β 2-GPI с фосфатидилсерином, экспонированным на APCE, становится возможным распознавание макрофагами. Показано, что β 2-GPI связывается с заряженными фосфолипидами на частицах Дейна, причем в это взаимодействие вовлекается миристилированный L-HBsAg [26]. Тем не менее плазматический HBsAg, а также HBsAg, полученный в дрожжах и в клетках насекомых, также связывает β 2-GPI. Благодаря ненормально высокому количеству HBsAg даже низкоавидное взаимодействие с β 2-GPI может вызывать значимый противовоспалительный ответ [78].

Связывание с APCE может происходить также за счет молекулы CD14. У пациентов с ХГВ повышена концентрация растворимой формы CD14 (sCD14) в кровотоке, причем наблюдается обратная корреляция между уровнями HBsAg и sCD14 [26]. Показано, что рекомбинантный HBsAg, подобно APCE, связывается с моноцитами по-

средством взаимодействия с CD14. Примечательно, что плазматический HBsAg не обладает такой способностью, что может быть обусловлено низким содержанием в нем фосфатидилсерина (1–2%) и отсутствием фосфатидилинозитола. Хотя мембраны эндоплазматического ретикулума, где происходит сборка HBsAg-содержащих частиц, насыщены 10–20% фосфатидилинозола, в итоговом HBsAg он не присутствует. В то же время HBsAg, экспрессированный в клетках млекопитающих (СНО, клетках гепатомы человека и мышинных фибробластах) или в дрожжах (*Saccharomyces cerevisiae* и *Hansenula polymorpha*), всегда содержит ≥4–7% фосфатидилсерина и/или фосфатидилинозитола. Возможно, содержание фосфолипидов в циркулирующем HBsAg изменяется со временем (или в процессе хранения плазмы) [26].

Факторы комплемента тоже связываются с фосфолипидами APCE [79]. В 1981 г. было представлено доказательство связывания HBsAg с C1q, возможно, в комплексе с полимеризованным альбумином человека [80]. C1q и C4 — ключевые молекулы в удалении APCE [81]. Кроме того, C1q необходим для противовоспалительного взаимодействия CRP с APCE, и апоптотические тельца циркулируют вместе с C1q [26, 82].

Факторы комплемента и рецепторы комплемента (CR3 и CR4) играют также важную роль в поглощении циркулирующих APCE дендритными клетками маргинальной зоны селезенки. После фагоцитоза опсониро-

ванных комплементом APCE снижается уровень провоспалительных цитокинов, при этом влияния на секрецию TGF β нет. Предполагается, что такое цитокиновое переключение уменьшает антигензависимую Т-клеточную стимуляцию ДК, которые поглотили APCE, и может приводить к периферической толерантности [83]. Было высказано предположение, что HBsAg в комплексе с факторами комплемента (C1q, C3 и C4) может похжим образом поглощаться ДК. Это может приводить к индукции толерантности к белкам оболочки вируса. Такой механизм способен объяснить отсутствие адекватного иммунного ответа на белки оболочки HBV [26].

Основные механизмы иммунологического ускользания HBV отражены в рис.

Заключение

В ходе эволюции вируса гепатита В сформировалось множество механизмов, способствующих его выживанию в условиях иммунологического прессинга. В данном обзоре предлагается кластеризовать эти механизмы в две группы на основе базовых принципов, условно называемых «стратегиями», — стратегию «вируса-невидимки» и стратегию иммуносупрессии.

Стратегия «вируса-невидимки» обозначает такой характер взаимодействия вируса и иммунной системы,

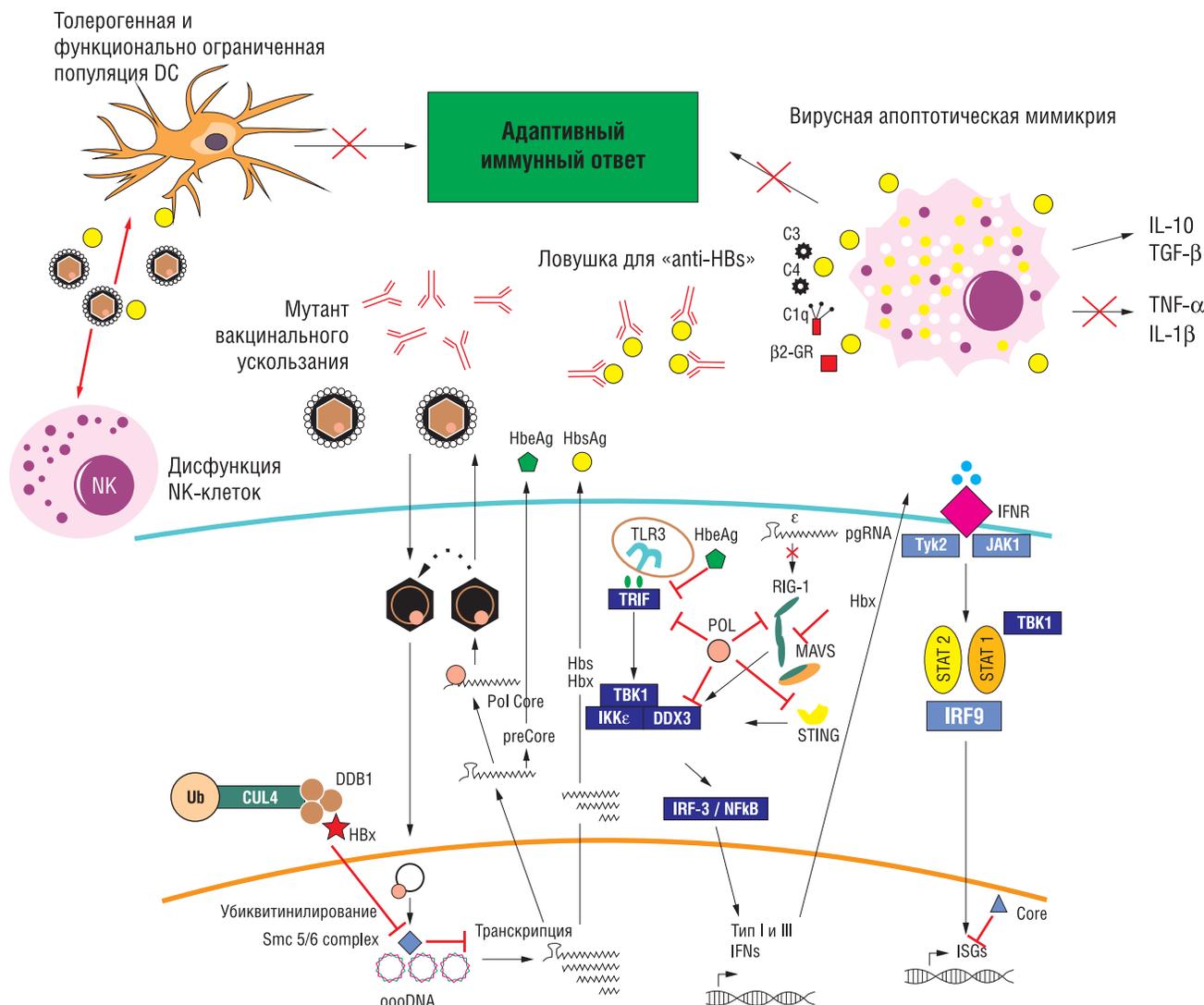


Рис. Основные механизмы иммунологического ускользания HBV

при котором долгое время не развивается и блокируется иммунный ответ. Данный тип взаимодействия вируса с иммунной системой может осуществляться разными способами: особая стратегия репликации HBV, препятствующая распознаванию рецепторами системы врожденного иммунитета; появление мутантов вакцинального ускользания; изоляция вируса в клетках и тканях организма-хозяина, обеспечивающая его недоступность для Т-клеток, а также гиперпродукция субвирусных частиц в качестве ловушек для специфичных антител.

Базовый принцип стратегии иммуносупрессии, реализуемый в случае вируса гепатита В, основан, по нашему мнению, преимущественно на явлении вирусной апоптотической мимикрии. Распознавание экспонированного на поверхности вируса фосфатидилсерина соответствующими рецепторами на поверхности фагоцитов, а также различными молекулами, связывающими апоптотические тельца, приводит к запуску эндоцитоза. В результате инициируется синтез противовоспалительных цитокинов с одновременной супрессией транскрипции провоспалительных цитокинов. В итоге развивается подавление иммунитета против HBV: дисфункция NK- и NKT-клеток, инактивация функций дендритных клеток, угнетение системы адаптивного иммунного ответа.

Проблема ускользания вирусов от иммунологического контроля является актуальной. Ее изучение способствует раскрытию механизмов иммуносупрессии и связанного с ней иммунодефицита, хронизации инфекционного процесса, а также помогает контролировать и корректировать процесс терапии.

На примере лиц, вакцинированных против гепатита В, было показано, что существенным фактором, определяющим исход взаимодействия HBsAg с макроорганизмом, является генотип HLA класса II. Однако на развитие иммунного ответа против HBV влияют не только единичные аллели, но и комплекс генов и фенотипические особенности организма. Понимание этого становится важным при исследованиях реального инфекционного процесса, поскольку взаимодействие между патогеном и иммунной системой хозяина находится в некоем «динамическом равновесии», зависящем от множества факторов. Мы считаем, что дальнейшее изучение комплексного влияния генотипа макроорганизма на иммунный ответ против HBV позволит усовершенствовать подходы к терапии гепатита В в направлении разработки методов персонализированной медицины.

Источник финансирования

Работа выполнена в рамках государственного задания Минздрава России по теме: «Вариабельность вируса гепатита В и ее влияние на формирование популяционного иммунитета в условиях распространения мутантных форм, «ускользающих» от вакцинального контроля».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Han QJ, Zhang C, Zhang J, Tian ZG. The role of innate immunity in HBV infection. *Semin Immunopathol.* 2013;35(1):23–38. doi: 10.1007/s00281-012-0331-y.
- Wieland SF, Chisari FV. Stealth and cunning: hepatitis B and hepatitis C viruses. *J Virol.* 2005;79(15):9369–9380. doi: 10.1128/Jvi.79.15.9369-9380.2005.
- Morikawa K, Shimazaki T, Takeda R, et al. Hepatitis B: progress in understanding chronicity, the innate immune response, and cccDNA protection. *Ann Transl Med.* 2016;4(18):337. doi: 10.21037/atm.2016.08.54.
- Wieland SF, Vega RG, Muller R, et al. Searching for interferon-induced genes that inhibit hepatitis B virus replication in transgenic mouse hepatocytes. *J Virol.* 2003;77(2):1227–1236. doi: 10.1128/Jvi.77.2.1227-1236.2003.
- Yu SY, Chen J, Wu M, et al. Hepatitis B virus polymerase inhibits RIG-I- and Toll-like receptor 3-mediated beta interferon induction in human hepatocytes through interference with interferon regulatory factor 3 activation and dampening of the interaction between TBK1/IKK epsilon and DDX3. *J Gen Virol.* 2010;91(Pt 8):2080–2090. doi: 10.1099/vir.0.020552-0.
- Liu YH, Li JH, Chen JL, et al. Hepatitis B virus polymerase disrupts K63-linked ubiquitination of STING to block innate cytosolic DNA-sensing pathways. *J Virol.* 2015;89(4):2287–2300. doi: 10.1128/Jvi.02760-14.
- Wei CW, Ni CF, Song T, et al. The hepatitis B virus X protein disrupts innate immunity by downregulating mitochondrial antiviral signaling protein. *J Immunol.* 2010;185(2):1158–1168. doi: 10.4049/jimmunol.0903874.
- Kumar M, Jung SY, Hodgson AJ, et al. Hepatitis B virus regulatory HBx protein binds to adaptor protein IPS-1 and inhibits the activation of beta interferon. *J Virol.* 2011;85(2):987–995. doi: 10.1128/Jvi.01825-10.
- Decorsière A, Mueller H, van Breugel PC, et al. Hepatitis B virus X protein identifies the Smc5/6 complex as a host restriction factor. *Nature.* 2016;531(7594):386–380. doi: 10.1038/nature17170.
- Sato S, Li K, Kameyama T, et al. The RNA sensor RIG-I dually functions as an innate sensor and direct antiviral factor for hepatitis B virus. *Immunity.* 2015;42(1):123–132. doi: 10.1016/j.immuni.2014.12.016.
- Lu HL, Liao F. Melanoma differentiation-associated gene 5 senses hepatitis B virus and activates innate immune signaling to suppress virus replication. *J Immunol.* 2013;191(6):3264–3276. doi: 10.4049/jimmunol.1300512.
- Ebert G, Poeck H, Lucifora J, et al. 5' Triphosphorylated small interfering RNAs control replication of hepatitis B virus and induce an interferon response in human liver cells and mice. *Gastroenterology.* 2011;141(2):696–706.e1-3. doi: 10.1053/j.gastro.2011.05.001.
- Chen M, Sallberg M, Hughes J, et al. Immune tolerance split between hepatitis B virus precore and core proteins. *J Virol.* 2005;79(5):3016–3027. doi: 10.1128/JVI.79.5.3016-3027.2005.
- Wang FS, Zhang Z. Host immunity influences disease progression and antiviral efficacy in humans infected with hepatitis B virus. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2009;3(5):499–512. doi: 10.1586/egh.09.50.
- Li J, Han YP, Liu B, et al. [Dynamic changes and clinical significance of HBcAg18–27 specific cytotoxic T lymphocytes in acute hepatitis B patients. (In Chinese).] *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* 2011;19(1):38–43. doi: 10.3760/cma.j.isn.1007-3418.2011.01.011.

16. Peppas D, Micco L, Javadi A, et al. Blockade of immunosuppressive cytokines restores NK cell antiviral function in chronic hepatitis B virus infection. *PLoS Pathog.* 2010;6(12):e1001227. doi: 10.1371/journal.ppat.1001227.
17. Tjwa ET, van Oord GW, Hegmans JP, et al. Viral load reduction improves activation and function of natural killer cells in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol.* 2011;54(2):209–218. doi: 10.1016/j.jhep.2010.07.009.
18. Ju Y, Hou N, Meng J, et al. T cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecule-3 (Tim-3) mediates natural killer cell suppression in chronic hepatitis B. *J Hepatol.* 2010;52(3):322–329. doi: 10.1016/j.jhep.2009.12.005.
19. Tang KF, Chen M, Xie J, et al. Inhibition of hepatitis B virus replication by small interference RNA induces expression of MICA in HepG2.2.15 cells. *Med Microbiol Immunol.* 2009;198(1):27–32. doi: 10.1007/s00430-008-0101-6.
20. Shi CC, Tjwa ET, Biesta PJ, et al. Hepatitis B virus suppresses the functional interaction between natural killer cells and plasmacytoid dendritic cells. *J Viral Hepat.* 2012;19(2):E26–E33. doi: 10.1111/j.1365-2893.2011.01496.x.
21. Woltman AM, Op den Brouw ML, Biesta PJ, et al. Hepatitis B virus lacks immune activating capacity, but actively inhibits plasmacytoid dendritic cell function. *PLoS One.* 2011;6(1):e15324. doi: 10.1371/journal.pone.0015324.
22. Hasebe A, Akbar SM, Furukawa S, et al. Impaired functional capacities of liver dendritic cells from murine hepatitis B virus (HBV) carriers: relevance to low HBV-specific immune responses. *Clin Exp Immunol.* 2005;139(1):35–42. doi: 10.1111/j.1365-2249.2004.02676.x.
23. Zhang Z, Chen DW, Yao JX, et al. Increased infiltration of intrahepatic DC subsets closely correlate with viral control and liver injury in immune active pediatric patients with chronic hepatitis B. *Clin Immunol.* 2007;122(2):173–180. doi: 10.1016/j.clim.2006.09.006.
24. Fenner JE, Starr R, Cornish AL, et al. Suppressor of cytokine signaling 1 regulates the immune response to infection by a unique inhibition of type I interferon activity. *Nat Immunol.* 2006;7(1):33–39. doi: 10.1038/ni1287.
25. Xu Y, Hu Y, Shi B, et al. HBsAg inhibits TLR9-mediated activation and IFN- α production in plasmacytoid dendritic cells. *Mol Immunol.* 2009;46(13):2640–2646. doi: 10.1016/j.molimm.2009.04.031.
26. Vanlandschoot P, Leroux-Roels G. Viral apoptotic mimicry: an immune evasion strategy developed by the hepatitis B virus? *Trends Immunol.* 2003;24(3):144–147. doi: 10.1016/S1471-4906(03)00026-7.
27. den Brouw ML, Binda RS, van Roosmalen MH, et al. Hepatitis B virus surface antigen impairs myeloid dendritic cell function: a possible immune escape mechanism of hepatitis B virus. *Immunology.* 2009;126(2):280–289. doi: 10.1111/j.1365-2567.2008.02896.x.
28. Lohr HF, Pingel S, Bochner WO, et al. Reduced virus specific T helper cell induction by autologous dendritic cells in patients with chronic hepatitis B - restoration by exogenous interleukin-12. *Clin Exp Immunol.* 2002;130(1):107–114. doi: 10.1046/j.1365-2249.2002.01943.x.
29. Penna A, DelPrete G, Cavalli A, et al. Predominant T-Helper 1 cytokine profile of hepatitis B virus nucleocapsid-specific T cells in acute self-limited hepatitis B. *Hepatology.* 1997;25(4):1022–1027. doi: 10.1002/hep.510250438.
30. Guidotti LG, Rochford R, Chung J, et al. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science.* 1999;284(5415):825–829. doi: 10.1126/science.284.5415.825.
31. Guidotti LG, Chisari FV. Noncytolytic control of viral infections by the innate and adaptive immune response. *Annu Rev Immunol.* 2001;19:65–91. doi: 10.1146/annurev.immunol.19.1.65.
32. Bertolotti A, Ferrari C. Adaptive immunity in HBV infection. *J Hepatol.* 2016;64(1 Suppl):S71–S83. doi: 10.1016/j.jhep.2016.01.026.
33. Семенов Т.А. Иммунный ответ при вакцинации против гепатита В у лиц с иммунодефицитными состояниями // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* — 2011. — №1 — С. 51–58. [Semenko TA. Immune response after vaccination against hepatitis B in patients with immunodeficiency. *Epidemiol Vakcinoprofil.* 2011;(1):51–58. (In Russ).]
34. Zhu XL, Du T, Li JH, et al. Association of HLA-DQB1 gene polymorphisms with outcomes of HBV infection in Chinese Han population. *Swiss Med Wkly.* 2007;137(7–8):114–120. doi: 2007/07/smw-11428.
35. Rosic I, Malicevic S, Medic S. [The significance of age and sex for the absence of immune response to hepatitis B vaccination. (In Serbian).] *Srp Arh Celok Lek.* 2008;136(1–2):33–37.
36. Ni Y, Lempp FA, Mehrle S, et al. Hepatitis B and D viruses exploit sodium taurocholate co-transporting polypeptide for species-specific entry into hepatocytes. *Gastroenterology.* 2014;146(4):1070–1083. doi: 10.1053/j.gastro.2013.12.024.
37. Le Seyec J, Chouteau P, Cannie I, et al. Role of the pre-S2 domain of the large envelope protein in hepatitis B virus assembly and infectivity. *J Virol.* 1998;72(7):5573–5578.
38. Werner JM, Abdalla A, Gara N, et al. The hepatitis B vaccine protects re-exposed health care workers, but does not provide sterilizing immunity. *Gastroenterology.* 2013;145(5):1026–1034. doi: 10.1053/j.gastro.2013.07.044.
39. Rybczynska J, Campbell K, Kamili S, et al. CD4+ T cells are not required for suppression of hepatitis B virus replication in the liver of vaccinated chimpanzee. *J Infect Dis.* 2016;213(1):49–56. doi: 10.1093/infdis/jiv348.
40. Waters JA, Kennedy M, Voet P, et al. Loss of the common a determinant of hepatitis-B surface-antigen by a vaccine-induced escape mutant. *J Clin Invest.* 1992;90(6):2543–2547. doi: 10.1172/Jci116148.
41. Carman WF, Zanetti AR, Karayiannis P, et al. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis-B virus. *Lancet.* 1990;336(8711):325–329. doi: 10.1016/0140-6736(90)91874-A.
42. Weber B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact. *J Clin Virol.* 2005;32(2):102–112. doi: 10.1016/j.jcv.2004.10.008.
43. Carman WF, Trautwein C, van Deursen FJ, et al. Hepatitis B virus envelope variation after transplantation with and without hepatitis B immune globulin prophylaxis. *Hepatology.* 1996;24(3):489–493. doi: 10.1053/jhep.1996.v24.pm0008781312.
44. Weinberger KM, Bauer T, Bohm S, Jilg WG. High genetic variability of the group-specific a-determinant of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) and the corresponding fragment of the viral polymerase in chronic virus carriers lacking detectable HBsAg in serum. *J Gen Virol.* 2000;81(Pt 5):1165–1174. doi: 10.1099/0022-1317-81-5-1165.
45. Chang MH. Breakthrough HBV infection in vaccinated children in Taiwan: surveillance for HBV mutants. *Antivir Ther.* 2010;15(3):463–469. doi: 10.3851/Imp1555.
46. Oon CJ, Lim GK, Ye Z, et al. Molecular epidemiology of hepatitis-B virus-vaccine variants in Singapore. *Vaccine.* 1995;13(8):699–702. doi: 10.1016/0264-410x(94)00080-7.
47. Баженов А.И., Коноплева М.В., Эльгорт Д.А., и др. Алгоритм серологического поиска и оценка распространенности серологически значимых HBsAg-мутаций у хронических носителей вируса гепатита В // *Журнал микробиологии, эпидемиологии*

- и иммунологии.* — 2007. — №6 — С. 30–37. [Bazhenov AI, Konopleva MV, Elgort DA, et al. Algorithm of serologic screening and assessment of prevalence of serologically meaningful mutations of HBsAg in hepatitis B virus carriers. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* 2007;(6):30–37. (In Russ).]
48. Francois G, Kew M, Van Damme P, et al. Mutant hepatitis B viruses: a matter of academic interest only or a problem with far-reaching implications? *Vaccine.* 2001;19(28–29):3799–3815. doi: 10.1016/S0264-410x(01)00108-6.
 49. Kalinina T, Riu A, Fischer L, et al. A dominant hepatitis B virus population defective in virus secretion because of several S-gene mutations from a patient with fulminant hepatitis. *Hepatology.* 2001;34(2):385–394. doi: 10.1053/jhep.2001.26516.
 50. Feitelson MA. Biology of hepatitis-B virus variants. *Lab Invest.* 1994;71(3):324–349.
 51. Melegari M, Bruno S, Wands JR. Properties of hepatitis-B virus pre-S1 deletion mutants. *Virology.* 1994;199(2):292–300. doi: 10.1006/viro.1994.1127.
 52. Rosenberg W. Mechanisms of immune escape in viral hepatitis. *Gut.* 1999;44(5):759–764. doi: 10.1136/gut.44.5.759.
 53. Coffin CS, Osiowy C, Gao S, et al. Hepatitis B virus (HBV) variants fluctuate in paired plasma and peripheral blood mononuclear cells among patient cohorts during different chronic hepatitis B (CHB) disease phases. *J Viral Hepat.* 2015;22(4):416–426. doi: 10.1111/jvh.12308.
 54. Datta S, Panigrahi R, Biswas A, et al. Genetic characterization of hepatitis B virus in peripheral blood leukocytes: evidence for selection and compartmentalization of viral variants with the immune escape G145R mutation. *J Virol.* 2009;83(19):9983–9992. doi: 10.1128/Jvi.01905-08.
 55. Bai GQ, Li SH, Yue YF, Shi L. The study on role of peripheral blood mononuclear cell in HBV intrauterine infection. *Arch Gynecol Obstet.* 2011;283(2):317–321. doi: 10.1007/s00404-010-1366-8.
 56. Shao QL, Zhao XX, Li MD. Role of peripheral blood mononuclear cell transportation from mother to baby in HBV intrauterine infection. *Arch Gynecol Obstet.* 2013;288(6):1257–1261. doi: 10.1007/s00404-013-2893-x.
 57. Schmidt J, Blum HE, Thimme R. T-cell responses in hepatitis B and C virus infection: similarities and differences. *Emerg Microbes Infect.* 2013;2(3):e15. doi: 10.1038/emi.2013.14.
 58. Hofmann M, Thimme R. Kill, control, or escape: Immune responses in viral hepatitis. *Clin Liver Dis (Hoboken).* 2016;8(3):79–82. doi: 10.1002/cld.576.
 59. Guidotti LG, Isogawa M, Chisari FV. Host-virus interactions in hepatitis B virus infection. *Curr Opin Immunol.* 2015;36:61–66. doi: 10.1016/j.coi.2015.06.016.
 60. Chen LG, Zhang Z, Chen WW, et al. B7-H1 up-regulation on myeloid dendritic cells significantly suppresses T cell immune function in patients with chronic hepatitis B. *J Immunol.* 2007;178(10):6634–6641. doi: 10.4049/jimmunol.178.10.6634.
 61. Dong HD, Chen XM. Immunoregulatory role of B7-H1 in chronicity of inflammatory responses. *Cell Mol Immunol.* 2006;3(3):179–187.
 62. Maier H, Isogawa M, Freeman GJ, Chisari FV. PD-1: PD-L1 interactions contribute to the functional suppression of virus-specific CD8(+) T lymphocytes in the liver. *J Immunol.* 2007;178(5):2714–2720. doi: 10.4049/jimmunol.178.5.2714.
 63. Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol.* 2010;28(19):3167–3175. doi: 10.1200/Jco.2009.26.7609.
 64. Shoukry NH, Nebbia G, Peppia D, et al. Upregulation of the Tim-3/Galectin-9 pathway of T cell exhaustion in chronic hepatitis B virus infection. *PLoS One.* 2012;7(10):e47648. doi: 10.1371/journal.pone.0047648.
 65. You Q, Cheng LL, Kedl RM, Ju C. Mechanism of T cell tolerance induction by murine hepatic Kupffer cells. *Hepatology.* 2008;48(3):978–990. doi: 10.1002/hep.22395.
 66. Miyazoe S, Hamasaki K, Nakata K, et al. Influence of interleukin-10 gene promoter polymorphisms on disease progression in patients chronically infected with hepatitis B virus. *Am J Gastroenterol.* 2002;97(8):2086–2092. doi: 10.1111/j.1572-0241.2002.05926.x.
 67. Miroux C, Vausselin T, Delhem N. Regulatory T cells in HBV and HCV liver diseases: implication of regulatory T lymphocytes in the control of immune response. *Expert Opin Biol Ther.* 2010;10(11):1563–1572. doi: 10.1517/14712598.2010.529125.
 68. Stoop JN, van der Molen RG, Baan CC, et al. Regulatory T cells contribute to the impaired immune response in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology.* 2005;41(4):771–778. doi: 10.1002/hep.20649.
 69. Franzese O, Kennedy PT, Gehring AJ, et al. Modulation of the CD8(+) T-cell response by CD4(+) CD25(+) regulatory T cells in patients with hepatitis B virus infection. *J Virol.* 2005;79(6):3322–3328. doi: 10.1128/Jvi.79.6.3322-3328.2005.
 70. Li S, Gowans EJ, Chougnet C, et al. Natural regulatory T cells and persistent viral infection. *J Virol.* 2008;82(1):21–30. doi: 10.1128/Jvi.01768-07.
 71. Stoop JN, Claassen MA, Woltman AM, et al. Intrahepatic regulatory T cells are phenotypically distinct from their peripheral counterparts in chronic HBV patients. *Clin Immunol.* 2008;129(3):419–427. doi: 10.1016/j.clim.2008.07.029.
 72. Bertoletti A, Sette A, Chisari FV, et al. Natural variants of cytotoxic epitopes are T-cell receptor antagonists for antiviral cytotoxic T-cells. *Nature.* 1994;369(6479):407–410. doi: 10.1038/369407a0.
 73. Whalley SA, Brown D, Webster GJ, et al. Evolution of hepatitis B virus during primary infection in humans: transient generation of cytotoxic T-cell mutants. *Gastroenterology.* 2004;127(4):1131–1138. doi: 10.1053/j.gastro.2004.07.004.
 74. Amara A, Mercer J. Viral apoptotic mimicry. *Nat Rev Microbiol.* 2015;13(8):461–469. doi: 10.1038/nrmicro3469.
 75. Jochum C, Voth R, Rossol S, et al. Immunosuppressive function of hepatitis-B antigens invitro - role of endoribonuclease-V as one potential trans inactivator for cytokines in macrophages and human hepatoma-cells. *J Virol.* 1990;64(5):1956–1963.
 76. Gavilanes F, Gonzalezros JM, Peterson DL. Structure of hepatitis-B surface-antigen - characterization of the lipid components and their association with the viral-proteins. *J Biol Chem.* 1982;257(13):7770–7777.
 77. Kagan VE, Gleiss B, Tyurina YY, et al. A role for oxidative stress in apoptosis: oxidation and externalization of phosphatidylserine is required for macrophage clearance of cells undergoing Fas-mediated apoptosis. *J Immunol.* 2002;169(1):487–499. doi: 10.4049/jimmunol.169.1.487.
 78. Stefanis I, Rucheton M, D’Angeac AD, et al. Hepatitis B virus Dane particles bind to human plasma apolipoprotein H. *Hepatology.* 2001;33(1):207–217. doi: 10.1053/jhep.2001.20531.
 79. Mevorach D, Mascarenhas JO, Gershov D, Elkon KB. Complement-dependent clearance of apoptotic cells by human macrophages. *J Exp Med.* 1998;188(12):2313–2320. doi: 10.1084/jem.188.12.2313.
 80. Milich DR, Bhatnagar PK, Papas ED, Vyas GN. Interactions between polymerized human albumin, hepatitis B surface antigen, and complement: II. Involvement of Clq in or near the hepatitis B surface antigen receptor for polyalbumin. *J Med Virol.* 1981;7(3):193–204. doi: 10.1002/jmv.1890070303.

81. Manfredi AA, Iannacone M, D'Auria F, Rovere-Querini P. The disposal of dying cells in living tissues. *Apoptosis*. 2002;7(2):153–161. doi: 10.1023/A:1014366531885.
82. Nauta AJ, Trouw LA, Daha MR, et al. Direct binding of C1q to apoptotic cells and cell blebs induces complement activation. *Eur J Immunol*. 2002;32(6):1726–1736. doi: 10.1002/1521-4141(200206)32:6<1726::AID-IMMU1726>3.0.CO;2-R.
83. Steinman RM, Turley S, Mellman I, Inaba K. The induction of tolerance by dendritic cells that have captured apoptotic cells. *J Exp Med*. 2000;191(3):411–416. doi: 10.1084/jem.191.3.411.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Соколова Мария Владимировна, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории медиаторов и эффекторов иммунитета отдела иммунологии ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России)

Адрес: 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18, **тел.:** +7 (499) 193-61-31, **e-mail:** sokolova_mariya_gamaleya@mail.ru, **SPIN-код:** 8100-0056, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-2836-8232>

Коноплёва Мария Вениаминовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории медиаторов и эффекторов иммунитета отдела иммунологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

Адрес: 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18, **тел.:** +7 (499) 193-61-31, **e-mail:** maria-konopleva@rambler.ru, **SPIN-код:** 9680-6301, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9724-695X>

Семенов Татьяна Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории неспецифической профилактики инфекционных заболеваний, руководитель отдела эпидемиологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

Адрес: 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18, **тел.:** +7 (499) 190-72-56, **e-mail:** semenenko@gamaleya.org, **SPIN-код:** 8375-2270, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-6686-9011>

Акимкин Василий Геннадьевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заместитель директора по эпидемиологии ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора)

Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а, **тел.:** +7 (495) 672-10-69, **e-mail:** vgakimkin@yandex.ru, **SPIN-код:** 4038-7455, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8139-0247>

Тутельян Алексей Викторович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора

Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а, **тел.:** +7 (495) 672-10-69, **e-mail:** bio-tav@yandex.ru, **SPIN-код:** 8150-2230, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-2706-6689>

Суслов Анатолий Петрович, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории медиаторов и эффекторов иммунитета отдела иммунологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

Адрес: 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18, **тел.:** +7 (499) 193-61-31, **e-mail:** suslov.anatoly@gmail.com, **eLibrary Author ID:** 251813, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-5731-3284>

Криптоспоридии и макроорганизм: факторы, влияющие на развитие криптоспоридиоза

Криптоспоридиоз — протозойное заболевание, вызываемое простейшими паразитами, принадлежащими к роду Cryptosporidium. Первичным местом локализации инфекции является тонкий кишечник, что обуславливает основной клинический симптом заболевания — диарею. Важнейшими факторами, влияющими на инфицирование криптоспоридиями и течение заболевания, являются молекулярно-генетическая вариабельность паразита, его контагиозность и вирулентность, а также состоятельность слизистой оболочки пищеварительного тракта, локального и системного иммунитета макроорганизма. Иммунный статус хозяина играет ключевую роль в определении чувствительности к инфекции, а также тяжести течения заболевания. Инфицирование криптоспоридиями различается в исходах: от асимптоматического у одних пациентов до острого энтерита, сопровождающегося профузной диареей, поражением внутренних органов и летальным исходом, — у других. Современные терапевтические подходы к лечению криптоспоридиоза, как правило, малоэффективны. Среди большого количества препаратов с антипаразитарным эффектом лекарственные средства со специфическим действием в отношении криптоспоридий в настоящее время отсутствуют. Понимание факторов, определяющих, с одной стороны, патогенность криптоспоридий, а с другой — протективные свойства организма-хозяина, позволит разработать эффективные методы профилактики и подходы к медикаментозной терапии данного протозооза.

Ключевые слова: криптоспоридиоз, эпидемиология, патогенез, терапия.

(Для цитирования: Старикова Е.Г., Воронкова О.В., Ковширина Ю.В., Шубина Н.И. Криптоспоридии и макроорганизм: факторы, влияющие на развитие криптоспоридиоза. *Вестник РАМН*. 2017;72 (6):420–427. doi: 10.15690/vramn888)

Введение

Криптоспоридии — небольшие одноклеточные паразиты рода *Cryptosporidium* из типа *Apicomplexa* (паразиты, имеющие апикальный комплекс на стадии спорозоита), способные инфицировать организм человека, позвоночных и беспозвоночных животных. Основной путь заражения криптоспоридиозом — фекально-оральный — реализуется при употреблении контаминированной воды и пищи. По данным Всемирной организации здравоохранения, по распространенности криптоспоридиоз занимает пятое место в мире среди паразитарных инвазий, передаваемых фекально-оральным способом [1].

Диагностика криптоспоридиоза крайне затруднена ввиду небольшого размера ооцист возбудителя. Известно также, что ооцисты криптоспоридий высокорезистентны к дезинфицирующим агентам, что обуславливает частые вспышки заболевания. Человек чаще всего подвержен инфицированию штаммами *Cryptosporidium parvum* и *Cryptosporidium hominis*, а основным симптомом вызываемого ими заболевания является диарея с тенденцией к самоизлечению. У детей младшего возраста и пациентов со сниженной иммунологической резистентностью криптоспоридии могут вызвать тяжелую патологию с поражением висцеральных органов и летальным исходом. В последнем случае, как показывают исследования,

Е.Г. Starikova¹, О.В. Voronkova¹, Yu.V. Kovshirina¹, N.I. Shubina²

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

² Health Care Unit № 2, Tomsk, Russian Federation

Cryptosporidia and Macroorganism: Factors that Influence on the Development of Cryptosporidiosis

Cryptosporidiosis is a disease caused by unicellular parasites belonging to the Cryptosporidium genus. The small intestine is the primary site of localization of infection which predicts the main clinical symptom of the disease — diarrhea. The most important factors influencing Cryptosporidium infection and the course of disease are molecular genetic variability of the parasite, its virulence and infectivity, and viability of the mucosa of the digestive tract and local and systemic immunity of the macroorganism. The immune status of the host plays a key role in determining sensitivity to infection and the severity of the disease. Cryptosporidium infection differs in outcomes: asymptomatic in some patients, acute enteritis accompanied by profuse diarrhea, lesions of internal organs, and fatal outcome in others. Current therapeutic approaches to the treatment of cryptosporidiosis are ineffective. Despite the existence of a large number of drugs with antiparasitic effect, there are no medications with a specific effect on cryptosporidia. Understanding the factors that determine both the pathogenicity of Cryptosporidia and the protective properties of host defense systems will allow developing effective prevention measures and therapeutic interventions of this protozoosis.

Key words: cryptosporidiosis, epidemiology, pathology, therapy.

(For citation: Starikova EG, Voronkova OV, Kovshirina YuV, Shubina NI. Cryptosporidia and Macroorganism: Factors that Influence on the Development of Cryptosporidiosis. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017;72 (6):420–427. doi: 10.15690/vramn888)

развитию заболевания способствует несостоятельность Т-клеточного звена иммунитета [2, 3].

Детальное изучение механизмов взаимодействия паразит-хозяин в процессе инфицирования и развития заболевания позволит разработать новые патогенетически обоснованные подходы к терапии криптоспоридиоза, в том числе основанные на комбинированном применении протозоопроизводных препаратов и иммуномодулирующих средств.

Эпидемиология криптоспоридиоза и генетическая вариабельность возбудителя

Для криптоспоридиоза характерны вспышки заболеваемости. Так, в 2010–2011 гг. в Швеции были зарегистрированы 2 крупные вспышки криптоспоридиоза, при которых количество зараженных составило 47 000 человек. В этом случае зараженность водопроводной воды была признана основным фактором распространения заболевания; кроме того, подчеркивалась также высокая вирулентность и самого возбудителя — *C. hominis* [4].

Среди путей заражения криптоспоридиозом выделяют прямой путь трансмиссии инфекции — от человека к человеку или от животного к человеку, и непрямой — через зараженную воду, пищевые продукты (главным образом, непастеризованное или неправильно пастеризованное молоко) и предметы, контаминированные ооцистами криптоспоридий [5].

Известно о крупных вспышках криптоспоридиоза в Америке, Швеции, Англии, Германии. Малочисленные эпидемиологические данные по другим странам, в том числе по России, свидетельствуют, скорее, о неадекватной диагностике данной паразитарной инфекции, чем об отсутствии протозооза. В литературе приводятся результаты единичных исследований по изучению распространенности криптоспоридиоза в регионах Российской Федерации. Так, наличие антител к антигенам криптоспоридий было зарегистрировано у 68% обследованных взрослых в Череповце [6]. В результате исследования, проведенного в Санкт-Петербурге, установлено, что 41,3% обследованных ВИЧ-инфицированных лиц являлись серопозитивными по антигенам *C. parvum* [7]. Поскольку основные симптомы криптоспоридиоза неспецифичны, диагностический поиск, направленный на выявление паразита, проводится крайне редко, и только в случаях, когда исключены вирусная и бактериальная этиология заболевания. Так, например, результаты исследования, проведенного среди детей школьного возраста в Триполи, продемонстрировали широкую распространенность инфицированностью криптоспоридиозом в Ливане. При этом в 27% случаев инфекция не сопровождалась какими-либо острыми клиническими проявлениями, а характеризовалась отдельными эпизодами кишечных расстройств [8]. Таким образом, скрининговая диагностика на наличие криптоспоридиоза необходима как при вспышках энтероинфекций, так и при спорадических случаях длительно текущей диареи.

Эпидемиологические исследования во время вспышек криптоспоридиоза позволили идентифицировать виды криптоспоридий, ранее не считавшиеся важными патогенами человека. Так, например, паразит кроликов *Cryptosporidium cuniculus* вызвал вспышку заболеваемости в Англии с вовлечением 422 человек [9].

Ряд исследователей относит организмы, принадлежащие к роду криптоспоридий, к типу споровиков (*Apicomplexa*), классу *Conoidasida*, отряду *Eucoccidiorida* [10]. В настоящее время дискутируется вопрос об отнесении криптоспоридий к грегаринам и подклассу *Cryptogregarina*, основанием чему служат результаты генетического анализа. Одним из фактов, поддерживающих эту точку зрения, является способность криптоспоридий размножаться внеклеточно, т.е. без инвазии клеток хозяина [11].

С помощью морфологических, биологических и молекулярных методов исследования был идентифицирован 31 вид криптоспоридий, инфицирующих птиц, амфибий, рептилий и млекопитающих [12]. Более 40 вариантов генотипов возбудителя были выявлены у позвоночных хозяев. Основными патогенами, вызывающими свыше 90% случаев криптоспоридиоза у человека, являются *C. hominis* и *C. parvum* [13].

В настоящее время хорошо исследован полиморфный ген *gp60* изолятов *C. hominis* и *C. parvum* [14]. Продукт данного гена — гликопротеин *gp60* — расщепляется протеазами паразита и экспрессируется на поверхности спорозонта в виде двух гликопротеинов — *gp15* и *gp40*. Оба полипептида обладают иммуногенными свойствами. Установлено также, что различные аллельные варианты *gp60* *C. hominis* и *C. parvum* ассоциированы с разной клинической картиной и имеют свои особенности течения заболевания у детей и ВИЧ-положительных взрослых [15, 16].

Показано, что единичные аллельные варианты гена *gp60* доминируют среди изолятов *C. parvum* (семейство Па — 84,8%) и *C. hominis* (семейство Ib — 90,8%). У ряда пациентов обнаруживается одновременное поражение множеством штаммов с различными аллельными вариантами гена *gp60*, при этом клиническая картина характеризуется тяжелым гастроэнтеритом. Прямая зоонозная передача *C. parvum* доказана для нескольких подтипов семейства Па: ПаА15G2R1 (характерная инфекция молодняка крупного рогатого скота), IaA19G1R1 (вызывает вспышки заболевания у ягнят), ПаА20G2R1 (вовлечен в спорадические случаи и вспышки инфекций у животных). Субтипы криптоспоридий, принадлежащие к аллельному семейству Id, также вызывают заболевание у человека [17, 18].

Изучение распространенности криптоспоридиоза у ВИЧ-инфицированных лиц показало, что клиническое течение заболевания находится в зависимости от того, какие виды, типы и подтипы возбудителя преобладают у пациента. Так, инфекция, вызванная *C. hominis* (подтип Id), *C. parvum*, *C. canis*, *C. felis*, ассоциирована с более тяжелым клиническим течением криптоспоридиоза и характеризуется хронической диареей и значительной потерей массы тела [19].

Кроме того, риск развития диареи оказался выше у пациентов, инфицированных *C. hominis*, принадлежащих подтипу Id, в сравнении с теми, кто был инфицирован *C. hominis* субтипа Ib; диарея совсем не проявлялась у пациентов, инфицированных *C. hominis* подтипа Ia [20].

Принимая во внимание зависимость клинической картины криптоспоридиоза от генотипического профиля возбудителя, а также различающуюся вирулентность генотипических вариантов криптоспоридий в отношении организма человека, следует отметить, что молекулярно-биологическая диагностика (генотипирование) паразита играет важную роль в определении риска тяжелого течения заболевания, развития осложнений, а также контагиозности инфекции для окружающих.

Патогенетические особенности кишечного криптоспоридиоза

Криптоспоридиоз обычно протекает в гастроинтестинальной форме с развитием диареи секреторного типа. Клиническая картина заболевания обусловлена особенностями жизненного цикла паразита. Криптоспоридии являются моноксенными паразитами, которые развиваются в эпителиальных клетках тонкого кишечника, размножаются бесполом путем (стадия мерозоита), созревают до полового поколения (стадия микро- и макрогамонта) с последующим формированием зиготы и инфекционных ооцист. Контагиозные спорулированные ооцисты выделяются инфицированным хозяином с фекалиями.

Ооцисты криптоспоридий высокорезистентны к действию химических веществ и физическим воздействиям, благодаря послойной структуре стенки, состоящей из гликокаликсного, липидного и гликопротеинового слоев. Внутренний протеиновый слой стенки ооцисты в основном состоит из белков COWP1 и небольшого количества COWP8. COWP (Cryptosporidium Oocyst Wall Protein) — это семейство протеинов, состоящее из 9 богатых цистеином белков, которые, за исключением COWP1 и COWP8, пока мало изучены. Предполагается, что молекулы цистеина образуют дисульфидные связи, обеспечивающие прочность внутреннего слоя стенки ооцисты [21, 22].

Исследования *in vitro* показали, что *Cryptosporidium* в отличие от других кокцидий, таких как *Eimeria* или *Toxoplasma*, требуется только один единственный раздражитель (изменение температуры), чтобы начать эксцистирование. Это объясняет способность *Cryptosporidium* инфицировать органы за пределами кишечника (например, легкие) у хозяев с несостоятельным иммунитетом. После активации спорозоитов внутри ооцисты они начинают секретировать протеазы, которые играют решающую роль в процессе эксцистирования. При использовании различных ингибиторов протеаз было показано, что в активированных ооцистах в основном экспрессируются сериновые и цистеиновые протеазы. В целом исследования *in vitro* показали, что после попадания ооцист в организм хозяина подъем температуры активирует спорозоиты, приводя к продуцированию протеаз и усилению подвижности паразитов [23].

Прикрепление к клетке хозяина опосредовано разнообразными молекулами, которые присутствуют на поверхности спорозоита и могут связываться с поверхностными структурами клетки хозяина. Геномный поиск выявил наличие 51 белка, экспрессированного на поверхности спорозоита. Многие белки имеют строение, подтверждающее их специфическое происхождение, отличное от *Plasmodium* и *Toxoplasma* [24].

Спорозоиты инвазируют энтероциты кишечника, после чего следует внутриклеточная стадия развития паразита — трофозоит. Во время внутриклеточного этапа развития паразит, заключенный в паразитофорную вакуоль, прикреплен к щеточной каемке эпителия и не соприкасается с цитоплазмой клеток хозяина. *Cryptosporidium* имеет сравнительно небольшой геном, в котором не предусмотрено значимых основ для формирования собственного метаболизма, что заставляет паразита получать питательные вещества из клетки хозяина. Показано, что *S. parvum* содержит по меньшей мере 69 транспортеров для различных веществ [25]. Трофозоит за счет бесполого размножения образует два различных типа меронтов. Мерозоиты из меронтов I типа инфицируют близлежащие энтероциты и могут развиваться в меронты II типа или за-

вершать жизненный цикл как меронты I типа. Мерозоиты из меронтов II типа далее продуцируют макро- и микрогаметоциты для полового размножения. При слиянии гамет образуется зигота, которая созревает в ооцисту [21].

При попадании ооцист в организм нового хозяина цикл повторяется, при этом каждый раз после размещения *Cryptosporidium* в своей внутриклеточной нише паразит приспосабливается к новым условиям существования. Активирующийся при инфицировании иммунный ответ макроорганизма может быть достаточным для элиминации паразита или неэффективным, способствуя хронизации инфекции и возникновению внекишечных сайтов криптоспоридиоза.

Инфицирование криптоспоридиями и развитие заболевания зависят от иммунологического статуса хозяина. Несмотря на то, что криптоспоридиоз протекает остро, и эпизоды диареи длятся дольше, чем эпизоды гастроэнтеритов, вызываемых другими энтеровозбудителями (вирусы, бактерии), для лиц с сохраненным иммунным статусом характерно самоизлечение.

Как врожденный, так и приобретенный иммунитет играет ключевую роль в защите от инфицирования криптоспоридиями и элиминации паразита. При инфицировании первыми воздействия паразита подвергаются энтероциты, которые экспрессируют рецепторы распознавания патогенассоциированных паттернов, таких как TLR (Toll-like receptor) и внутриклеточные NOD (Nucleotide-binding oligomerization domain; NOD-like receptor, NLRs) рецепторы [26].

Основу иммунных реакций при криптоспоридиозе составляют реакции клеточного иммунитета, поскольку они являются наиболее эффективными при внутриклеточном типе паразитирования инфекционного агента. Лица с иммунодефицитными состояниями, у которых затронута T-клеточное звено (ВИЧ-инфекция, синдром сочетанного иммунодефицита, CD4⁺-лимфоцитопении и др.), особенно подвержены риску инфицирования криптоспоридиями [3].

У пациентов с ВИЧ-инфекцией тяжелое течение криптоспоридиоза наблюдается при количестве CD4⁺-лимфоцитов в крови менее 200 кл./мл. В слизистых оболочках интраэпителиальные CD4⁺-лимфоциты контролируют размножение криптоспоридий, опосредуя свое действие через секрецию интерферона (Interferon, IFN) γ , который, как известно, является важным регулятором реакций как врожденного, так и приобретенного иммунитета.

Однако механизмы антипаразитарного действия IFN γ при криптоспоридиозе изучены недостаточно. В настоящее время предполагается два механизма действия IFN γ в отношении криптоспоридий:

- 1) цитокин напрямую ингибирует развитие паразита в энтероцитах за счет снижения содержания внутриклеточного железа в клетках хозяина, необходимого для жизнедеятельности возбудителя;
- 2) IFN γ индуцирует NF- κ B (Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)-опосредованный синтез фактора некроза опухоли (Tumor necrosis factor, TNF) α , который в свою очередь предотвращает пролиферацию криптоспоридий в энтероциты [27].

При воспалении стенки кишечника, сопровождающем криптоспоридиоз, доминирует NF- κ B-зависимая секреция цитокинов. В свою очередь, секретлируемые эпителиальными клетками цитокины и хемокины могут повышать проницаемость эпителия и изменять кишечную абсорбцию, усугубляя течение синдромов мальабсорбции и мальабсорбции [28].

В эксперименте показано, что в функционирование врожденного иммунитета при криптоспориidioзе вовлечена индуцируемая NO-синтаза (iNOS) [29]. Так, ингибирование iNOS энтероцитов кишечника существенно усугубляло течение инфекции. Возможно, это связано с угнетением апоптоза инфицированных энтероцитов под действием NO. В результате ранее проведенных в нашем университете исследований на базе научно-образовательного центра молекулярной медицины было показано, что воздействие оксида азота на клетки (эксперимент проводился на культуре клеток линии *Jurkat*) приводит к повышению содержания белков ингибиторов каспаз в клетке, т.е. к NO-опосредованному ингибированию апоптоза клеток [30].

В современной литературе представлены результаты единичных исследований, касающихся изучения роли отдельных цитокинов в патогенезе криптоспориidioза. Так, исследования *in vivo* подтвердили, что интерлейкин (Interleukin, IL) 12 принимает участие в реакциях врожденного иммунитета при реализации антипаразитарной иммунной реакции, направленной против *S. parvum*. Известно также, что IL12 необходим для экспрессии мРНК IFN γ в слизистой оболочке кишечника. Ученые выявили, что введение анти-IL12-нейтрализующих антител новорожденным мышам линии *SCID* усугубляло течение криптоспориidioза. Те же авторы подтвердили и регуляторную роль IL18 в балансе Th1/Th2 иммунного ответа при криптоспориidioзе и зарегистрировали повышение уровня данного цитокина в крови в ответ на инфицирование *S. parvum* [31]. IL18 играет важную роль в функционировании Т-хелперов 1-го типа, являясь для них ростовым и дифференцировочным фактором [32].

В свою очередь, эффекторная роль Т-лимфоцитов не ограничивается исключительно продукцией цитокинов и цитотоксичностью в отношении зараженных клеток хозяина. Процессы, происходящие при установлении непосредственного контакта «Т-лимфоцит-макрофаг», а также продукция Т-лимфоцитами хемокинов могут вносить существенный вклад в развитие местных воспалительных реакций [33]. Тем не менее четкое понимание роли других иммунокомпетентных клеток в патогенезе криптоспориidioза в настоящее время отсутствует. Одним из объектов внимания исследователей в контексте антипаразитарного иммунитета являются дендритные клетки. В литературе представлены результаты единичных исследований, демонстрирующих цитокинпродуцирующую активность дендритных клеток при их культивировании *in vitro* с *S. parvum*: установлено повышение концентрации IL2 и IL12 в культуральных супернатантах по сравнению с контрольными пробами [34].

Нельзя оставлять без внимания способность инвазивных агентов изменять активность апоптоза иммунокомпетентных клеток организма-хозяина. В настоящее время хорошо изучены механизмы, посредством которых микроорганизмы (вирусы и бактерии) способны регулировать апоптоз клеток хозяина для обеспечения собственной выживаемости [35]. Простейшие паразиты не являются исключением и способны изменять апоптоз клеток в инфицированном организме [36]. Так, D. McCole и соавт. провели исследование, в котором подтвердили изменение апоптотической активности эпителиальных клеток, непосредственно инфицированных криптоспориidiaми [37]. Сведения, касающиеся участия криптоспориидий в регуляции апоптоза иммунокомпетентных клеток, являются единичными. Так, в исследовании А.-У. Gong и соавт. показано, что со-

вместное культивирование инфицированных криптоспориidiaми эпителиальных клеток с активированными Т-клетками запускало процесс апоптотической гибели последних [38]. Исследование влияния криптоспориидий на программированную гибель непосредственно хелперного паттерна лимфоцитов (CD4⁺) не проводилось. Подтверждение факта изменения апоптотической активности Т-лимфоцитов-хелперов при криптоспориidioзе будет являться основанием к поиску механизмов проли антиапоптотического действия паразита и подходов к управлению данными эффектами с целью усиления реакций антипаразитарного иммунитета.

Принимая во внимание тот факт, что тяжелое течение криптоспориidioза характерно для лиц с измененным иммунным статусом, на наш взгляд, необходимо сосредоточить исследования на изучении особенностей иммунопатогенеза заболевания с целью поиска факторов и расшифровки механизмов, способствующих формированию протективного баланса цитокинпродуцирующей и апоптотической активности иммунокомпетентных клеток организма-хозяина.

Подходы к лечению и профилактике криптоспориidioза

Для большинства иммунокомпетентных лиц характерно непродолжительное течение заболевания с неярко выраженной диареей и спонтанным выздоровлением в течение 1–2 нед. В этом случае основу терапии составляют препараты патогенетической терапии, включая регидратацию. Оправданным является использование препаратов со специфическим действием у больных криптоспориidioзом детей и лиц, страдающих иммунодефицитом. Несмотря на наличие широкого спектра противопаразитарных препаратов, терапевтические подходы к медикаментозному лечению криптоспориidioза весьма ограничены [39]. Низкая эффективность применяемых медикаментозных схем при криптоспориidioзе, вероятно, обусловлена тем, что паразит локализуется в щеточной каемке ворсинок кишечника. Такое расположение криптоспориидий обеспечивает их недоступность как для действия лизосомальных ферментов клеток хозяина, так и для факторов иммунной системы. Кроме того, как упоминалось выше, в литературе активно дискутируется вопрос принадлежности криптоспориидий к грегаринам, что объясняет отсутствие эффекта от препаратов, действующих при инфицировании другими споровиками. Таким образом, для обеспечения антипаразитарного эффекта при лечении криптоспориidioза необходимы лекарственные препараты со специфическим действием, оказывающим эффект на расположенных внутриклеточно паразитов.

В России не разработаны клинические рекомендации и протоколы лечения криптоспориidioза у детей и взрослых без инфицирования ВИЧ. При выявлении данного агента у ВИЧ-инфицированных пациентов используются противопаразитарные лекарственные средства, такие как паромомицин, нитазоксанид, имеющие ограничение по применению у детей раннего возраста [40].

В настоящее время для лечения криптоспориidioза Управлением по контролю за лекарственными средствами (США) одобрен нитазоксанид (Алиния, Romark Laboratories). Данное вещество является производным тиазолидового ряда с широкой антипаразитарной активностью. Лимитированное число источников сообщает об эффективности нитазоксанида у иммуноком-

прометированных пациентов и детей [41]. При этом прекращение диареи наблюдалось в 56% случаев с использованием нитазоксанида по сравнению с 23% при приеме плацебо. В трех исследованиях с вовлечением ВИЧ-инфицированных пациентов нитазоксанид не влиял на течение заболевания при отсутствии антиретровирусной терапии [42].

Эффективность в отношении криптоспоридий в экспериментах *in vitro*, экспериментальных исследованиях с участием животных и клинических исследованиях продемонстрировали спирамидин и азитромицин [43], тогда как паромомицин показал низкую эффективность при купировании симптомов и слущивании ооцист в двух рандомизированных плацебоконтролируемых исследованиях [44].

Для пациентов с нарушениями иммунной системы наилучшей стратегией лечения является улучшение функции клеточного иммунного ответа (например, антиретровирусная терапия при криптоспориidioзе у пациентов с ВИЧ-инфекцией на стадии поздних осложнений в комбинации с антипаразитарными препаратами) [45].

Основу для разработки новой стратегии таргетной медикаментозной терапии криптоспориidioза составляют результаты геномного секвенирования и исследования функциональной геномики криптоспоридий [46–48]. Согласно молекулярно-генетическому исследованию, консервативным семейством ферментов у растений и ряда споровиков, включая криптоспориидии, являются кальцийзависимые протеинкиназы [49]. Структурный анализ показал, что данное семейство ферментов содержит глицин в участке связывания аденозинтрифосфата, что делает изучаемый гидрофобный регион более доступным для ингибиторов данных киназ с целью воздействия на жизненный цикл криптоспориидий [50, 51]. Формирование микрофиламентов является другой потенциальной мишенью для терапевтического воздействия. Установлено, что динитроанилины, включая трифлуралин, ингибируют формирование микротрубочек и рост криптоспориидий *in vitro* и *in vivo* [52].

Как уже было отмечено выше, криптоспориидии обладают ограниченной способностью синтезировать необходимые вещества *de novo*, включая аминокислоты, нуклеозиды и жирные кислоты. Многие гены, ассоциированные с метаболизмом, не представлены у споровиков, в том числе митохондриальная дыхательная цепь, а также пути, ассоциированные с апикопластом. Анаэробный гликолиз является основным источником энергии для криптоспориидий и протекает с образованием лактата в качестве конечного продукта. Благодаря этому факту ингибиторы гексокиназы и лактатдегидрогеназы эффективно подавляют жизнедеятельность криптоспориидий [53].

На мембране паразитофорных вакуолей криптоспориидий были обнаружены несколько протеинов, вовлеченных в метаболизм жирных кислот. Установлено, что триасцин С и ряд других веществ ингибируют ацил-КоА-связывающие протеины и приводят к уменьшению образования ооцист криптоспориидий у мышей и в эксперименте *in vitro* [54].

Особое внимание ряда исследователей направлено на разработку вакцин против криптоспориidioза [55–58]. Ученые показали, что у взрослых пациентов, проживающих в эндемических по криптоспориidioзу зонах и перенесших заболевание, развивается иммунитет, предотвращающий повторное заражение [59]. Исследования на добровольцах демонстрируют, что инфицирующая доза

возбудителя для повторного развития заболевания должна быть значительно выше в случае, если пациент когда-либо уже перенес криптоспориidioз [60].

В настоящее время идентифицирован 31 подвид криптоспориидий. По результатам исследований, наиболее частой причиной реинфекции у детей являлось инфицирование различными видами и подвидами криптоспориидий [15]. Таким образом, важной задачей при разработке вакцины является предотвращение инфицирования любым из подвидов возбудителя. На сегодняшний день результаты исследований применения экспериментальных вакцин у животных показывают неполную межвидовую протекцию при инфицировании *S. parvum* и *S. hominis*.

В качестве вакцин апробированы несколько антигенов криптоспориидий [55]. Одними из них являются продукты расщепления полипептида gp 60 — протеины gp15 и gp40, экспрессируемые на поверхности спорозита. Установлено, что *in vitro* оба протеина стимулируют продукцию IFN γ мононуклеарными лейкоцитами периферической крови. Применение gp15 для иммунизации детей в Республике Бангладеш приводило к более легкому течению инфекции, а также к повышению продукции невидоспецифичных антител (IgA) [56].

Заключение

Несмотря на значительные успехи в изучении биологической природы криптоспориидий, основ их вирулентности и иммуногенности, а также клинических особенностей заболевания при инфицировании отдельными видами возбудителя, многие аспекты, необходимые для эффективного контроля над заболеваемостью криптоспориidioзом, остаются невыясненными.

Эпидемиологические исследования демонстрируют высокую значимость криптоспориидий в качестве инфекционного агента при вспышках гастроэнтеритов. Поскольку основные симптомы криптоспориidioза неспецифичны, диагностический поиск, направленный на выявление паразита, проводится крайне редко, и только в случаях, когда исключены вирусная и бактериальная этиология заболевания. При этом молекулярно-генетические методы детекции криптоспориидий являются наиболее перспективными для диагностики, однако данные методические подходы требуют стандартизации применения и широкого внедрения в клинико-лабораторную диагностику протозоозов на всей территории Российской Федерации.

Изучение особенностей антипаразитарного иммунного ответа, а также закономерностей реагирования систем врожденного и приобретенного иммунитета на этапах инфицирования и реинфицирования криптоспориидиями должно быть направлено на поиск факторов, способствующих формированию протективного баланса цитокин-продуцирующей и апоптотической активности иммунокомпетентных клеток организма-хозяина. Изучение функциональной геномики криптоспориидий позволит создать основу для разработки методов специфической иммунопрофилактики и таргетной медикаментозной терапии криптоспориidioза.

Несомненно, разработка и внедрение методов диагностики криптоспориidioза, а также интенсификация исследований, направленных на разработку лекарственных средств против криптоспориидий, должны быть основаны на понимании значимости данной инфекции для общественного здоровья.

Источник финансирования

Поисково-аналитическая работа выполняется при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых, договор № 14W01.17.3455-МД.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Участие авторов

При работе со статьей авторами к.м.н. Ковшириной Ю.В. и Шубиной Н.И. был подготовлен раздел «Подходы к лечению и профилактике криптоспоридиоза». Д.м.н. Старикова Е.Г. подготовила разделы «Эпидемиология криптоспоридиоза и генетическая вариабельность возбудителя», «Патогенетические особенности кишечного криптоспоридиоза», «Введение» и «Заключение». Профессор, д.м.н. Воронкова О.В. работала над разделом «Патогенетические особенности кишечного криптоспоридиоза», осуществляла концептуальное осмысление информации.

ЛИТЕРАТУРА

- Rossle NF, Latif B. Cryptosporidiosis as threatening health problem: a review. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2013;3(11):916–924. doi: 10.1016/S2221-1691(13)60179-3.
- Petry F, Jakobi V, Tessema TS. Host immune response to Cryptosporidium parvum infection. *Exp Parasitol.* 2010;126(3):304–309. doi: 10.1016/j.exppara.2010.05.022.
- McDonald V, Korbelt DS, Barakat FM, et al. Innate immune responses against Cryptosporidium parvum infection. *Parasite Immunol.* 2013;35(2):55–64. doi: 10.1111/pim.12020.
- Caccio SM, Sannella AR, Mariano V, et al. A rare Cryptosporidium parvum genotype associated with infection of lambs and zoonotic transmission in Italy. *Vet Parasitol.* 2013;191(1–2):128–131. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.08.010.
- Robertson LJ, Chalmers RM. Foodborne cryptosporidiosis: is there really more in Nordic countries? *Trends Parasitol.* 2013;29(1):3–9. doi: 10.1016/j.pt.2012.10.003.
- Egorov A, Frost F, Muller T, et al. Serological evidence of Cryptosporidium infections in a Russian city and evaluation of risk factors for infections. *Ann Epidemiol.* 2004;14(2):129–136. doi: 10.1016/S1047-2797(03)00122-4.
- Kucerova Z, Sokolova OI, Demyanov AV, et al. Microsporidiosis and Cryptosporidiosis in HIV/AIDS patients in St. Petersburg, Russia: serological identification of microsporidia and Cryptosporidium parvum in sera samples from HIV/AIDS patients. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2011;27(1):13–15. doi: 10.1089/aid.2010.0132.
- Osman M, El Safadi D, Benamrouz S, et al. Initial data on the molecular epidemiology of cryptosporidiosis in Lebanon. *PLoS One.* 2015;10(5):e0125129. doi: 10.1371/journal.pone.0125129.
- Puleston RL, Mallaghan CM, Modha DE, et al. The first recorded outbreak of cryptosporidiosis due to Cryptosporidium cuniculus (formerly rabbit genotype), following a water quality incident. *J Water Health.* 2014;12(1):41–50. doi: 10.2166/wh.2013.097.
- Levine ND. Taxonomy and review of coccidia genus Cryptosporidium (Protozoa, Apicomplexa). *J Protozool.* 1984;31(1):94–98. doi: 10.1111/j.1550-7408.1984.tb04296.x.
- Clode PL, Koh WH, Thompson RC. Life without a host cell: what is Cryptosporidium? *Trends Parasitol.* 2015;31(12):614–624. doi: 10.1016/j.pt.2015.08.005.
- Ryan U. Cryptosporidium in birds, fish and amphibians. *Exp Parasitol.* 2010;124(1):113–120. doi: 10.1016/j.exppara.2009.02.002.
- Isaza JP, Galván AL, Polanco V, et al. Revisiting the reference genomes of human pathogenic Cryptosporidium species: reannotation of C. parvum Iowa and a new C. hominis reference. *Sci Rep.* 2015;5:16324. doi: 10.1038/srep16324.
- Nichols GL, Chalmers RM. *Molecular epidemiology of human cryptosporidiosis.* In: Caccio SM, Widmer G, editors. *Cryptosporidium: parasite and disease.* Vienna: Springer; 2014. pp. 81–147.
- Cama VA, Bern C, Roberts J, et al. Cryptosporidium species and subtypes and clinical manifestations in children, Peru. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(10):1567–1574. doi: 10.3201/eid1410.071273.
- Cama VA, Ross JM, Crawford S, et al. Differences in clinical manifestations among Cryptosporidium species and subtypes in HIV-infected persons. *J Infect Dis.* 2007;196(5):684–691. doi: 10.1086/519842.
- Johansen OH, Hanevik K, Thrana F, et al. Symptomatic and asymptomatic secondary transmission of Cryptosporidium parvum following two related outbreaks in schoolchildren. *Epidemiol Infect.* 2015;143(8):1702–1709. doi: 10.1017/S095026881400243X.
- Hunter PR, Hadfield SJ, Wilkinson D, et al. Subtypes of Cryptosporidium parvum in humans and disease risk. *Emerg Infect Dis.* 2007;13(1):82–88. doi: 10.3201/eid1301.060481.
- Asma I, Sim BL, Brent RD, et al. Molecular epidemiology of Cryptosporidium in HIV/AIDS patients in Malaysia. *Trop Biomed.* 2015;32(2):310–322.
- Berahmat R, Spotin A, Ahmadpour E, et al. Human cryptosporidiosis in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Parasitol Res.* 2017;116(4):1111–1128. doi: 10.1007/s00436-017-5376-3.
- Xiao L. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. *Exp Parasitol.* 2010;124(1):80–89. doi: 10.1016/j.exppara.2009.03.018.
- Bushkin GG, Motari E, Carpentieri A, et al. Evidence for a structural role for acid-fast lipids in oocyst walls of Cryptosporidium, Toxoplasma, and Eimeria. *MBio.* 2013;4(5):e00387–00313. doi: 10.1128/mBio.00387-13.
- Karanis P, Kimura A, Nagasawa H, et al. Observations on Cryptosporidium life cycle stages during excystation. *J Parasitol.* 2008;94(1):298–300. doi: 10.1645/GE-1185.1.
- Singh P, Mirdha BR, Srinivasan A, et al. Identification of invasion proteins of Cryptosporidium parvum. *World J Microbiol Biotechnol.* 2015;31(12):1923–1934. doi: 10.1007/s11274-015-1936-9.
- Swapna LS, Parkinson J. Genomics of apicomplexan parasites. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2017;52(3):254–273. doi: 10.1080/10409238.2017.1290043.
- Perez-Cordon G, Yang G, Zhou B, et al. Interaction of Cryptosporidium parvum with mouse dendritic cells leads to their activation and parasite transportation to mesenteric lymph nodes. *Pathog Dis.* 2014;70(1):17–27. doi: 10.1111/2049-632X.12078.
- Lean IS, Lacroix-Lamande S, Laurent F, McDonald V. Role of tumor necrosis factor alpha in development of immunity against Cryptosporidium parvum infection. *Infect Immun.* 2006;74(7):4379–4382. doi: 10.1128/IAI.00195-06.
- Zhou R, Hu G, Liu J, et al. NF-kappaB p65-dependent transactivation of miRNA genes following Cryptosporidium parvum infection stimulates epithelial cell immune responses. *PLoS Pathog.* 2009;5(12):e1000681. doi: 10.1371/journal.ppat.1000681.

29. Nordone SK, Gookin JL. Lymphocytes and not IFN-gamma mediate expression of iNOS by intestinal epithelium in murine cryptosporidiosis. *Parasitol Res.* 2010;106(6):1507–1511. doi: 10.1007/s00436-010-1837-7.
30. Starikova EG, Tashireva LA, Novitsky VV, Ryazantseva NV. Nitric oxide donor NOC-5 increases XIAP and Aven level in Jurkat cells. *Cell Biol Int.* 2014;38(7):799–802. doi: 10.1002/cbin.10262.
31. Ehigiator HN, McNair N, Mead JR. Cryptosporidium parvum: the contribution of Th1-inducing pathways to the resolution of infection in mice. *Exp Parasitol.* 2007;115(2):107–113. doi: 10.1016/j.exppara.2006.07.001.
32. Якушенко Е.В., Лопатникова Ю.А., Сенников С.В. Интерлейкин 18 и его роль в иммунном ответе // *Медицинская иммунология.* — 2005. — Т.7. — №4 — С. 355–364. [Yakushenko EV, Lopatnikova JA, Sennikov SV. IL-18 and immunity. *Meditsinskaya Immunologiya.* 2005;7(4):355–364. (In Russ).]
33. Чурина Е.Г., Уразова О.И., Новицкий В.В., и др. Роль $\gamma\delta$ T- и NK-клеток в иммунном ответе // *Бюллетень сибирской медицины.* — 2010. — Т.9. — №5 — С. 138–142. [Churina YeG, Urazova OI, Novitskiy VV, et al. The role of $\gamma\delta$ T- and NK-cells in immune response. *Bulletin of Siberian medicine.* 2010;9(5):138–142. (In Russ).]
34. Bedi B, Mead JR. Cryptosporidium parvum antigens induce mouse and human dendritic cells to generate Th1-enhancing cytokines. *Parasite Immunol.* 2012;34(10):473–485. doi: 10.1111/j.1365-3024.2012.01382.x.
35. DeLeo FR. Modulation of phagocyte apoptosis by bacterial pathogens. *Apoptosis.* 2004;9(4):399–413. doi: 10.1023/B:APPT.0000031448.64969.fa.
36. Lendner M, Dausgies A. Cryptosporidium infections: molecular advances. *Parasitology.* 2014;141(11):1511–1532. doi: 10.1017/S0031182014000237.
37. McCole DF, Eckmann L, Laurent F, Kagnoff MF. Intestinal epithelial cell apoptosis following Cryptosporidium parvum infection. *Infect Immun.* 2000;68(3):1710–1713. doi: 10.1128/iai.68.3.1710-1713.2000.
38. Gong AY, Zhou R, Hu GK, et al. Cryptosporidium parvum induces B7-H1 expression in cholangiocytes by down-regulating microRNA-513. *J Infect Dis.* 2010;201(1):160–169. doi: 10.1086/648589.
39. Roche JK, Rojo AL, Costa LB, et al. Intranasal vaccination in mice with an attenuated Salmonella enterica Serovar 908htr A expressing Cp15 of Cryptosporidium: impact of malnutrition with preservation of cytokine secretion. *Vaccine.* 2013;31(6):912–918. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.12.007.
40. Козлов С.Н., Козлов Р.С. *Современная антимикробная терапия. Руководство для врачей.* — М.: МИА; 2017. — 400 с. [Kozlov SN, Kozlov RS. *Sovremennaya antimicrobnaya terapiya. Rukovodstvo dlya vrachei.* Moscow: MIA; 2017. 400 p. (In Russ).]
41. Abubakar II, Aliyu SH, Arumugam C, et al. Prevention and treatment of cryptosporidiosis in immunocompromised patients. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007;(1):CD004932. doi: 10.1002/14651858.CD004932.pub2.
42. Amadi B, Mwiya M, Sianongo S, et al. High dose prolonged treatment with nitazoxanide is not effective for cryptosporidiosis in HIV positive Zambian children: a randomised controlled trial. *BMC Infect Dis.* 2009;9:195. doi: 10.1186/1471-2334-9-195.
43. Cabada MM, White AC. Treatment of cryptosporidiosis: do we know what we think we know? *Curr Opin Infect Dis.* 2010;23(5):494–499. doi: 10.1097/QCO.0b013e328333de052.
44. Hewitt RG, Yiannoutsos CT, Higgs ES, et al. Paromomycin: no more effective than placebo for treatment of cryptosporidiosis in patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis.* 2000;31(4):1084–1092. doi: 10.1086/318155.
45. Giacometti A, Cirioni O, Barchiesi F, et al. Activity of nitazoxanide alone and in combination with azithromycin and rifabutin against Cryptosporidium parvum in cell culture. *J Antimicrob Chemother.* 2000;45(4):453–456. doi: 10.1093/jac/45.4.453.
46. Abrahamsen MS, Templeton TJ, Enomoto S, et al. Complete genome sequence of the apicomplexan, Cryptosporidium parvum. *Science.* 2004;304(5669):441–445. doi: 10.1126/science.1094786.
47. Xu P, Widmer G, Wang YP, et al. The genome of Cryptosporidium hominis. *Nature.* 2004;431(7012):1107–1112. doi: 10.1038/nature02977.
48. Aurecochea C, Barreto A, Brestelli J, et al. EuPathDB: the eukaryotic pathogen database. *Nucleic Acids Res.* 2013;41(D1):D684–D691. doi: 10.1093/nar/gks113.
49. Larson ET, Ojo KK, Murphy RC, et al. Multiple determinants for selective inhibition of apicomplexan calcium-dependent protein kinase CDPK1. *J Med Chem.* 2012;55(6):2803–2810. doi: 10.1021/jm201725v.
50. Murphy RC, Ojo KK, Larson ET, et al. Discovery of potent and selective inhibitors of calcium-dependent protein kinase 1 (CDPK1) from C. parvum and T. gondii. *ACS Med Chem Lett.* 2010;1(7):331–335. doi: 10.1021/ml100096t.
51. Castellanos-Gonzalez A, White AC, Ojo KK, et al. A novel calcium-dependent protein kinase inhibitor as a lead compound for treating Cryptosporidiosis. *J Infect Dis.* 2013;208(8):1342–1348. doi: 10.1093/infdis/jit327.
52. Arrowood MJ, Mead JR, Xie LT, You XD. In vitro anticryptosporidial activity of dinitroaniline herbicides. *FEMS Microbiol Lett.* 1996;136(3):245–249. doi: 10.1111/j.1574-6968.1996.tb08056.x.
53. Madern D, Cai XM, Abrahamsen MS, Zhu G. Evolution of Cryptosporidium parvum lactate dehydrogenase from malate dehydrogenase by a very recent event of gene duplication. *Mol Biol Evol.* 2004;21(3):489–497. doi: 10.1093/molbev/msh042.
54. Fritzier JM, Zhu G. Novel anti-Cryptosporidium activity of known drugs identified by high-throughput screening against parasite fatty acyl-CoA binding protein (ACBP). *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(3):609–617. doi: 10.1093/jac/dkr516.
55. Mead JR. Prospects for immunotherapy and vaccines against Cryptosporidium. *Hum Vaccin Immunother.* 2014;10(6):1505–1513. doi: 10.4161/hv.28485.
56. Allison GM, Rogers KA, Borad A, et al. Antibody responses to the immunodominant Cryptosporidium gp15 antigen and gp15 polymorphisms in a case-control study of cryptosporidiosis in children in Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg.* 2011;85(1):97–104. doi: 10.4269/ajtmh.2011.11-0043.
57. Ehigiator HN, Romagnoli P, Priest JW, et al. Induction of murine immune responses by DNA encoding a 23-kDa antigen of Cryptosporidium parvum. *Parasitol Res.* 2007;101(4):943–950. doi: 10.1007/s00436-007-0565-0.
58. Benitez AJ, McNair N, Mead JR. Oral Oral immunization with attenuated Salmonella enterica serovar Typhimurium encoding Cryptosporidium parvum Cp23 and Cp40 antigens induces a specific immune response in mice. *Clin Vaccine Immunol.* 2009;16(9):1272–1278. doi: 10.1128/Cvi.00089-09.
59. Okhuysen PC, Chappell CL, Sterling CR, et al. Susceptibility and serologic response of healthy adults to reinfection with Cryptosporidium parvum. *Infect Immun.* 1998;66(2):441–443.
60. Chappell CL, Okhuysen PC, Sterling CR, et al. Infectivity of Cryptosporidium parvum in healthy adults with pre-existing anti-C. Parvum serum immunoglobulin G. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;60(1):157–164. doi: 10.4269/ajtmh.1999.60.157.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Старикова Елена Григорьевна, доктор медицинских наук, доцент кафедры биологии и генетики Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, **тел.:** +7 (3811) 90-11-01 доб. 16-93, **e-mail:** elena.g.starikova@yandex.ru, **SPIN-код:** 2669-7130, **ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-8899-0795>

Воронкова Ольга Владимировна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры биологии и генетики Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, **тел.:** +7 (3811) 90-11-01 доб. 19-45, **e-mail:** voronkova-ov@yandex.ru, **SPIN-код:** 8005-8110, **ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-9478-3429>

Ковширина Юлия Викторовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, **тел.:** +7 (3811) 90-11-01 доб. 16-80, **e-mail:** yulia.v.kovshirina@gmail.com, **SPIN-код:** 2821-7165, **ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-6818-9792>

Шубина Наталья Ивановна, врач-инфекционист Областного государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Медико-санитарная часть № 2»

Адрес: 634041, Томск, ул. Бела Куна, д. 3, **тел.:** +7 (3822) 90-73-62, **e-mail:** natalya.i.shubina@gmail.com, **SPIN-код:** 7476-6479, **ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0003-4736-3370>

DOI: 10.15690/vramn860

Р.Е. Тулеутаева¹, А.Е. Мусина¹, Н.А. Чеботаренко², А.Р. Махатова¹

¹ Государственный Медицинский Университет города Семей, Семей, Республика Казахстан

² Всемирная Организация Здравоохранения, Кишинев, Молдова

Структура фармакотерапии артериальной гипертензии и приверженность у лиц молодого возраста

Цель исследования — определить показатели приверженности к медикаментозной терапии артериальной гипертензии у пациентов молодого возраста и их взаимосвязь с назначенной терапией. **Материалы и методы.** В исследование включены 514 пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией в возрасте от 25 до 45 лет. Исследованы структура медикаментозной антигипертензивной терапии, приверженность к ней с использованием теста Мориски–Грина и оригинального опросника. При этом больные распределялись в зависимости от степени повышения артериального давления, проводимого лечения, возраста, экономического фактора, источника получения препаратов. **Результаты.** Уровень приверженности по результатам теста Мориски–Грина составил 36,8%; по оригинальному опроснику уровень полной приверженности показал 38,3%, неполной приверженности — 33,7%, отсутствие приверженности — 28,0%. В структуре лечения преобладала монотерапия ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента, применение фиксированных комбинаций было более характерно для артериальной гипертензии 2-й степени, сочетания препаратов — для 3-й ст. Наиболее высокой оказалась приверженность к лечению больных артериальной гипертензией 3-й ст., получающих сочетания отдельных медикаментозных форм. Уровень жизни респондентов и источник получения препаратов не оказывали существенного влияния на приверженность. **Заключение.** У больных молодого возраста имеются особенности структуры факторов, определяющих приверженность к фармакотерапии артериальной гипертензии.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, молодой возраст, фармакотерапия, приверженность.

(Для цитирования: Тулеутаева Р.Е., Мусина А.Е., Чеботаренко Н.А., Махатова А.Р. Структура фармакотерапии артериальной гипертензии и приверженность у лиц молодого возраста. *Вестник РАМН.* 2017;72 (6):428–434. doi: 10.15690/vramn860)

Обоснование

Эссенциальная артериальная гипертензия является заболеванием, преимущественно распространенным у лиц старших возрастных групп. Действительно, частота этой патологии минимальна у лиц моложе 30 лет и достигает максимума в возрастных группах старше 50 лет [1, 2]. В то же время результаты исследований последних десятилетий говорят о наличии тенденции к «омоложению» артериальной гипертензии (АГ), т.е. повышению ее распространенности среди лиц молодого возраста и их вкла-

да в структуру заболеваемости [3, 4]. Значительная часть таких больных нуждается в медикаментозной терапии.

Известно, что приверженность к приему медикаментов у лиц молодого возраста при многих заболеваниях уступает среднепопуляционным показателям [5, 6]. Для артериальной гипертензии, особенно в странах постсоветского пространства, аспекты приверженности и их взаимосвязи с составом назначенной антигипертензивной терапии остаются малоизученными.

Цель исследования — определить показатели приверженности к медикаментозной терапии артериальной

R.Ye. Tuleutayeva¹, A.Ye. Musina¹, N.A. Cebotarenko², A.R. Makhatova¹

¹ Semey State Medical University, Semey, Kazakhstan

² Coalition on Rational Drug Use, World Health Organization, Chisinau, Moldova

The structure of pharmacotherapy of arterial hypertension and adherence in young patients

Aim: To determine the indicators of adherence to drug therapy in young patients with arterial hypertension (AH) and the correlation between the indicators and therapy management. **Materials and methods:** The study enrolled 514 patients aged 25 to 45 years diagnosed with essential hypertension. We studied the structure of antihypertensive pharmacotherapy and adherence to treatment using the Moriski–Green test and the original questionnaire. The patients were distributed depending on the degree of blood pressure increase, administered treatment, age, economic factor, and drug source. **Results:** The adherence level by Moriski–Green test was 36.8%; according to the original questionnaire: high adherence level was 38.3%, incomplete adherence — 33.7%, and poor adherence — 28.0%. The monotherapy with ACE inhibitors predominated in the majority of cases; the fixed combinations were more typical for the treatment of the stage II AH, drug combinations — for stage III AH. The highest therapy adherence was registered in patients with stage III AH receiving treatment with combinations of drugs in a single dosage form. The life quality of respondents and the drug source did not influence the adherence significantly. **Conclusion:** In young patients with arterial hypertension, some features of treatment structure determine the therapy adherence.

Key words: arterial hypertension, young age, pharmacotherapy, adherence, compliance.

(For citation: Tuleutayeva RYe, Musina AYe, Cebotarenko NA, Makhatova AR. Factors Influencing Adherence to Antihypertensive Therapy in Patients with Arterial Hypertension in East Kazakhstan. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2017;72 (6):428–434. doi: 10.15690/vramn860)

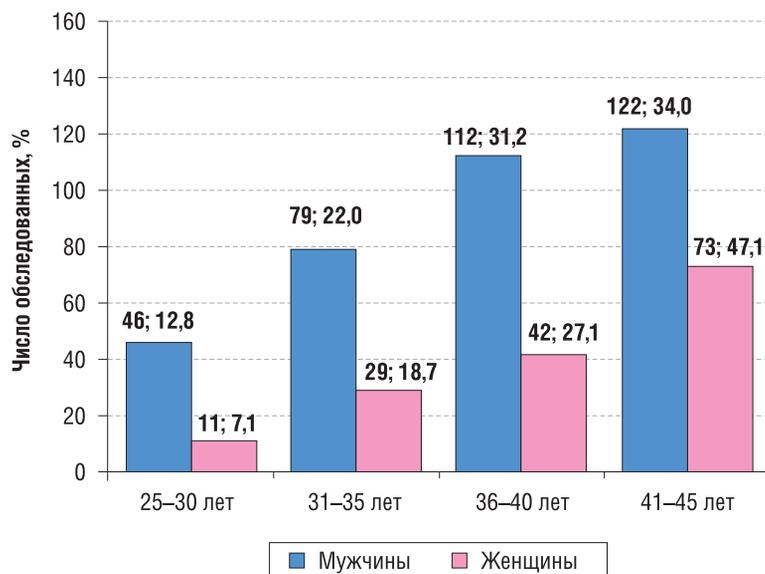


Рис. 1. Распределение обследованных по полу и пятилетиям жизни

гипертензии среди пациентов молодого возраста и их взаимосвязь с назначенной терапией.

Методы

Дизайн исследования

Проведено одномоментное поперечное исследование. Исследование выполнялось с использованием методов эпидемиологического, статистического и социологического анализа путем анкетирования.

В исследование включены 514 пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией в возрасте от 25 до 45 лет. Их распределение по возрасту и полу представлено на рис. 1.

В группе преобладали лица мужского пола (359; 69,8%), в возрастном плане — представители категории 41–45 лет (195; 37,9%). Среди мужчин был более высоким процент — 12,8% — относительно молодых обследованных в категории 25–30 лет и 22,0% — 31–35 лет против 7,1 и 18,7% у женщин. Данный фактор мог оказать влияние на показатели приверженности, поэтому мы провели сравнительный анализ таковой в зависимости от пола.

Распределение больных по степени повышения артериального давления (АД) представлено на рис. 2.

429

Критерии соответствия

Критерии включения:

- наличие верифицированного в соответствии с критериями Всемирной организации здравоохранения и Международного общества гипертонии диагноза первичной (эссенциальной) артериальной гипертензии;
- назначение медикаментозной терапии;
- наличие информированного согласия больного на участие в исследовании.

Критерии исключения:

- возраст моложе 25 лет и старше 45 лет;
- наличие признаков вторичной артериальной гипертензии;
- наличие тяжелых сопутствующих соматических заболеваний (в том числе сосудистых, системных, онкологических) в стадии субкомпенсации/декомпенсации, препятствующих обследованию и/или использованию отдельных групп антигипертензивных препаратов;

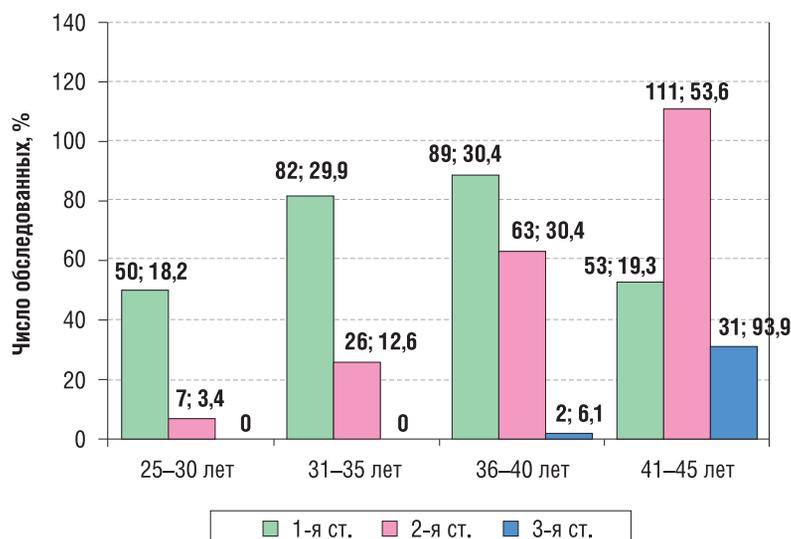


Рис. 2. Распределение обследованных по возрасту и степени повышения артериального давления

- наличие психической патологии, препятствующей полноценному обследованию; неполнота данных, полученных при обследовании;
- отказ от участия в исследовании на любом этапе до завершения обработки полученных данных.

Условия проведения

В исследовании приняли участие Государственный медицинский университет г. Семей и семейно-врачебные амбулатории г. Семей.

Были проанкетированы пациенты амбулаторного звена, так как, согласно протоколам диагностики и лечения Республиканского центра развития здравоохранения Республики Казахстан, лечение артериальной гипертензии осуществляется в амбулаторных условиях.

Продолжительность исследования

Данное исследование проведено в период с 2014 по 2016 г.

Методы регистрации исходов

Степень и форму АГ определяли на основании комплексного обследования (тонометрия в соответствии с клиническими рекомендациями Всемирной организации здравоохранения и Международного общества гипертензии, по показаниям — суточное мониторирование АД, эхо- и электрокардиографические исследования).

Степень приверженности больных к медикаментозному лечению определяли путем анкетного опроса, для которого использовали четырехвопросную версию теста Мориски–Грина [7] и оригинальный опросник, разработанный для проведения исследования. Тест Мориски–Грина предполагает бинарный вариант результата, дополнительный опросник — 3 градации — полную, неполную и отсутствующую приверженность. Отсутствию приверженности соответствовало отсутствие приема антигипертензивных препаратов либо периодический их прием в связи с клинически манифестированным повышением АД. Частичная приверженность определялась в случае регулярного приема антигипертензивных препаратов, назначенных лечащим врачом, или альтернативных с наличием нечастых (не более 3 раз/мес) нарушений режима приема и/или дозировки. Полная приверженность соответствовала регулярному приему назначенных врачом препаратов без нарушений дозировки.

Состав назначенной медикаментозной терапии определялся по листам врачебных назначений, реально принимаемых препаратов — из данных анкетного опроса.

Экономический статус обследованных определялся по данным анкетирования, распределение на подгруппы — относительно медианы среднемесячного дохода. Лица со значением показателя равным медиане относились к подгруппе низкого дохода.

Этическая экспертиза

Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Государственного Медицинского Университета г. Семей (№ 2 от 14.11.2014 г). До включения в исследование от всех участников было получено письменное информированное согласие на процедуру проведения опроса и анализ данных амбулаторной карты.

Статистический анализ

Анализ статистической значимости различий (*p*) между выделенными в зависимости от основных факторов группами осуществлялся с использованием критерия Пирсона (χ^2), при численности любой сформированной подгруппы <10 — с использованием точного критерия Фишера (*t*). Для определения взаимосвязей показателей осуществлялся расчет коэффициентов ранговой корреляции Кендала (τ). Проводился факторный анализ (закрытый вариант метода главных компонент с варимаксным вращением факторной матрицы) [8]. Для опровержения нулевой гипотезы принимали *p*<0,05. Статистическая обработка данных произведена при помощи пакета программ STATISTICA Enterprise (StatSoft Inc., США).

Результаты

На рис. 3 представлено распределение пациентов в зависимости от приверженности к антигипертензивной терапии по данным теста Мориски–Грина и разработанного для исследования опросника.

При определении приверженности с помощью теста Мориски–Грина наличие таковой было определено только в 36,8% случаев, что является довольно низким показателем [9].

Использование оригинального опросника дало распределение пациентов на 3 неравных группы — полной приверженности (38,3%), неполной приверженности (33,7%) и отсутствия приверженности (28,0%). Соответствие наличия приверженности по опроснику Мориски–Грина и полной приверженности по разработанному опроснику составило 95,8%.

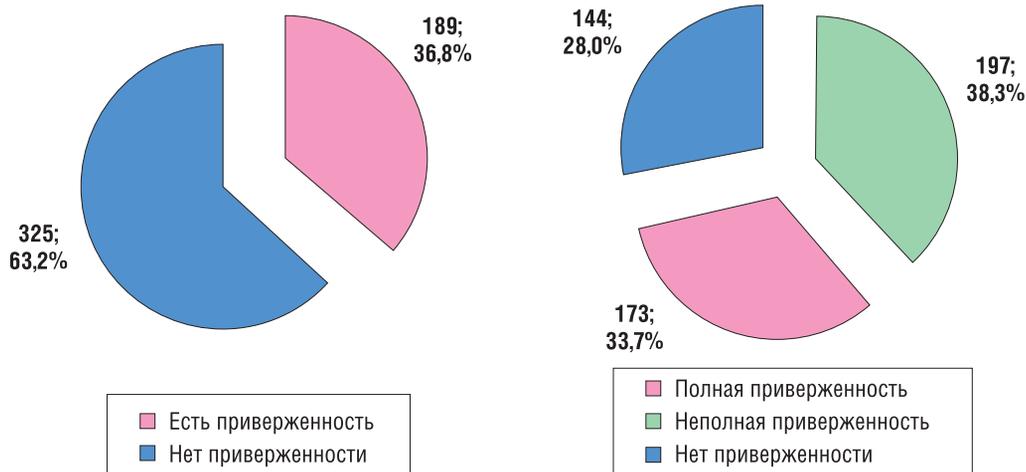


Рис. 3. Приверженность обследованных больных артериальной гипертензией (*n*=514) к антигипертензивной терапии

В табл. 1 представлено распределение больных в зависимости от степени повышения АД и назначенных антигипертензивных препаратов.

Монотерапия была назначена при АГ 1-й ст. во всех случаях, при 2-й ст. — в 63,8%, при 3-й ст. — в 33,3%. При 1-й ст. АГ в структуре назначений преобладали ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) и диуретики, на третьем месте находились антагонисты рецепторов ангиотензина. При АГ 2-й ст. ингибиторы АПФ также оказались наиболее распространенным вариантом терапии. Почти в таком же числе случаев назначались фиксированные комбинации антигипертензивных препаратов. Антагонисты рецепторов ангиотензина также оказались на третьем месте и назначались с той же частотой, как и при АГ 1-й ст. АГ 3-й ст. чаще всего лечили путем назначения сочетаний препаратов, на втором месте оказались фиксированные комбинации, на третьем — бета-адреноблокаторы. В целом по группе, за счет большей численности пациентов с АГ 1-й ст., преобладали ингибиторы АПФ (42,8%). Диуретики назначались в 15,4% случаев, на третьем месте оказались фиксированные комбинации (13,0%).

Таким образом, назначенную терапию в целом трудно считать соответствующей современным требованиям, в первую очередь за счет достаточно частого изолированного назначения диуретиков, даже при АГ 2-й ст. Недостаточно часто использовалась медикаментозная терапия

в виде наиболее эффективных и удобных для применения фиксированных комбинаций.

В табл. 2 сведены данные о зависимости приверженности к антигипертензивной терапии от назначенных препаратов в целом по группе.

Анализ приверженности пациентов к лечению был проведен при их распределении по разработанной трехступенчатой шкале. При этом выявлено, что наиболее высокая частота полной приверженности была при использовании сочетаний медикаментозных препаратов, что неудивительно, учитывая структуру назначений в зависимости от степени повышения АД. Различия с показателем при монотерапии в целом были значимыми ($\chi^2=9,453$; $p=0,022$). Также наиболее низким оказался показатель отсуствия приверженности, составивший 16,7%.

Наихудшие результаты были выявлены в отношении бета-адреноблокаторов. Отсутствие приверженности наблюдалось в 42,9% случаев, а полная приверженность — только в 28,6%. Следует отметить, что это распределение было проведено на небольшом числе случаев. Немного выше, чем у бета-адреноблокаторов, была частота полной приверженности у пациентов, которым назначали ингибиторы АПФ. Однако значительно большей была доля больных, отнесенных к категории неполной приверженности. Следует указать на более высокие показатели полной приверженности у пациентов, получавших

Таблица 1. Распределение обследованной группы в зависимости от степени повышения артериального давления и антигипертензивной медикаментозной терапии

Антигипертензивная терапия	АГ 1-й ст., n=274		АГ 2-й ст., n=207		АГ 3-й ст., n=33		Всего, n=514	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Монотерапия:	274	100,0	132	63,8	11	33,3	417	81,1
1) бета-адреноблокаторы	3	1,1	7	3,4	4	12,1	14	2,7
2) антагонисты кальциевых каналов	20	7,3	16	7,7	2	6,1	38	7,4
3) ингибиторы АПФ	155	56,6	64	30,9	1	3,0	220	42,8
4) антагонисты рецепторов ангиотензина	33	12,0	23	11,1	2	6,1	58	11,3
5) диуретические средства	62	22,6	17	8,2	-	-	79	15,4
6) агонисты II-имидазолиновых рецепторов	1	0,4	5	2,4	2	6,1	8	1,6
Сочетания	-	-	18	8,7	12	36,4	30	5,8
Фиксированные комбинации	-	-	57	27,5	10	30,3	67	13,0

Примечание. АГ — артериальная гипертензия, ст. — степень, АПФ — ангиотензинпревращающий фермент.

Таблица 2. Зависимость приверженности к медикаментозной антигипертензивной терапии от препаратов

Антигипертензивная терапия, n=514	Приверженность					
	Полная, n=197		Неполная, n=173		Нет, n=144	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Монотерапия, n=417	147	35,3	146	35,0	124	29,7
1) бета-адреноблокаторы, n=14	4	28,6	4	28,6	6	42,9
2) антагонисты кальциевых каналов, n=38	16	42,1	14	36,8	8	21,1
3) ингибиторы АПФ, n=220	72	32,7	86	39,1	62	28,2
4) антагонисты рецепторов ангиотензина, n=58	27	46,6	15	25,9	16	27,6
5) диуретические средства, n=79	25	31,6	24	30,4	30	38,0
6) агонисты II-имидазолиновых рецепторов, n=8	3	37,5	3	37,5	2	25,0
Сочетания, n=30	19	63,3	6	20,0	5	16,7
Фиксированные комбинации, n=67	31	46,3	21	31,3	15	22,4

Примечание. АПФ — ангиотензинпревращающий фермент.

антагонисты рецепторов ангиотензина. Назначение диуретических средств также соответствовало невысокой приверженности (полная — только 31,6%, отсутствие — 38,0%). В табл. 3 представлены данные о связи некоторых вариантов антигипертензивной терапии и степени подъема АД с уровнем приверженности к лечению.

Как видно из табл. 3, приверженность ко всем вариантам терапии увеличивалась при более высокой степени повышения АД. Так, для монотерапии в целом полная приверженность наблюдалась в 30,7% случаев при АГ 1-й ст., в 41,7% — при 2-й ст., в 72,7% — при 3-й ст. Аналогично снижался показатель отсутствия приверженности. То же прослеживалось для каждой группы препаратов. При использовании сочетаний препаратов не было значимых различий по структуре приверженности между группами пациентов с АГ 1-й и 3-й ст. Приверженность к использованию фиксированных комбинаций оказалась выше у больных с АГ 3-й ст. по сравнению со 2-й за счет неполной приверженности.

Таким образом, влияние фактора степени повышения АД оказалось существенным для всех вариантов фармакотерапии.

У больных АГ, включенных в исследование, лишь в небольшом числе случаев имелись факторы болезни, традиционно анализируемые в плане влияния на приверженность (сопутствующие сердечно-сосудистые заболевания и осложнения АГ).

Нами не было выявлено также различий по степени приверженности, связанной с полом респондентов, — как в целом по всей группе, так и при распределении по возрастам.

Определенный интерес представляло влияние экономических факторов. Следует учитывать, что группа молодых лиц с АГ была неоднородной в этом отношении. Несмотря на то, что все лица данной возрастной категории относятся к наиболее экономически активному населению, уровень их доходов в зависимости от возраста существенно различался: был минимальным у наиболее молодых лиц и увеличивался с возрастом. В табл. 4 представлено распределение результатов исследования в зависимости от экономического статуса респондентов.

Значимых различий по частоте полной приверженности не выявлено, хотя она была несколько больше у пациентов с экономическим статусом выше среднего. Эта особенность проявлялась за счет лиц с отсутствием приверженности, которая у респондентов с экономическим статусом выше среднего выявлялась реже (на 26,0%).

У 151 больного применялись только препараты, получаемые в организациях здравоохранения в рамках гарантированного объема бесплатной медицинской помощи, а 243 лечились исключительно за свой счет. Несмотря на то, что наиболее высоким оказался показатель приверженности у лиц, получавших бесплатное лекарственное обеспечение, статистически значимых различий между

Таблица 3. Влияние варианта антигипертензивной терапии на приверженность в зависимости от степени повышения артериального давления

Антигипертензивная терапия	Приверженность	АГ 1-й ст.		АГ 2-й ст.		АГ 3-й ст.	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
Монотерапия, n=417, в т.ч.:	Полная	84/274	30,7	55/132	41,7	8/11	72,7
	Неполная	100/274	36,5	43/132	32,6	3/11	27,3
	Нет	90/274	32,8	34/132	25,8	-	-
1) бета-адреноблокаторы, n=14	Полная	1/3	33,3	1/7	14,3	3/4	75,0
	Неполная	1/3	33,3	2/7	28,6	1/4	25,0
	Нет	1/3	33,3	4/7	57,1	-	-
2) антагонисты кальциевых каналов, n=38	Полная	6/20	30,0	8/16	50,0	2/2	100
	Неполная	8/20	40,0	6/16	37,5	-	-
	Нет	6/20	30,0	2/16	12,5	-	-
3) ингибиторы АПФ, n=220	Полная	46/155	29,7	26/64	40,6	-	-
	Неполная	62/155	40,0	23/64	35,9	1/1	100
	Нет	47/155	30,3	15/64	23,4	-	-
4) антагонисты рецепторов ангиотензина, n=58	Полная	12/33	36,4	13/23	56,5	2/2	100
	Неполная	10/33	30,3	5/23	21,7	-	-
	Нет	11/33	33,3	5/23	21,7	-	-
5) диуретические средства, n=79	Полная	19/62	30,6	6/17	35,3	-	-
	Неполная	18/62	29,0	6/17	35,3	-	-
	Нет	25/62	40,3	5/17	29,4	-	-
6) агонисты имидазолиновых рецепторов, n=8	Полная	-	-	1/5	20,0	1/2	50,0
	Неполная	1/1	100	1/5	20,0	1/2	50,0
	Нет	-	-	3/5	60,0	-	-
Сочетания, n=30	Полная	-	-	10/18	66,6	9/12	75,0
	Неполная	-	-	4/18	22,2	2/12	16,7
	Нет	-	-	4/18	22,2	1/12	8,3
Фиксированные комбинации, n=67	Полная	-	-	24/57	42,1	7/10	70,0
	Неполная	-	-	20/57	35,1	1/10	10,0
	Нет	-	-	13/57	22,8	2/10	20,0

Примечание. АГ — артериальная гипертензия, ст. — степень, АПФ — ангиотензинпревращающий фермент.

Таблица 4. Зависимость приверженности от экономического статуса

Экономический статус	Полная приверженность		Неполная приверженность		Нет приверженности	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Ниже среднего, n=295	105	35,6	97	32,9	93	31,5
Выше среднего, n=219	92	42,0	76	34,7	51	23,3

Таблица 5. Зависимость приверженности от источника препаратов антигипертензивной терапии

Источник препаратов	Полная приверженность		Неполная приверженность		Нет приверженности	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Обеспечение в рамках ГОБМП, n=151	68	45,0	44	29,1	39	25,8
Смешанный, n=120	47	39,2	43	35,8	30	25,0
Средства пациентов, n=243	82	33,7	86	35,4	75	30,9

Примечание. ГОБМП — гарантированный объем бесплатной медицинской помощи.

Таблица 6. Вклад исследованных факторов (%) в показатели дисперсии приверженности в общей группе и в зависимости от степени повышения артериального давления

Факторы	Группа обследованных			
	Общая	АГ 1-й ст.	АГ 2-й ст.	АГ 3-й ст.
Степень повышения АД	47,43	-	-	-
Вариант медикаментозной фармакотерапии	15,66	38,75	51,30	43,25
Экономический статус	10,07	16,52	12,19	9,75
Возраст	9,45	27,61	23,85	29,60
Источник препаратов	8,04	13,95	10,60	15,40
Пол	2,35	3,17	2,06	2,00

Примечание. АГ — артериальная гипертензия, ст. — степень, АД — артериальное давление.

всеми группами не обнаружено. В табл. 5 представлены данные о зависимости приверженности от источника антигипертензивных препаратов.

В общей группе обследованных ведущим фактором, влияющим на приверженность, оказался уровень повышения АД: его вклад в структуру составил 47,43%. Далее факторы распределились следующим образом: вариант медикаментозной терапии — экономический статус — возраст — источник препаратов. Однако при распределении по группам в зависимости от степени повышения АД структура факторов по значимости выглядела по-иному. Во всех подгруппах ведущим оказался вариант медикаментозной терапии, охватывающий от 38,75 до 51,30% дисперсии. Наиболее высоким вклад этого фактора оказался при АГ 2-й ст. На втором месте в группах оказался фактор возраста, а не экономический статус: вклад в дисперсию его находился в пределах 23,85–29,60% и был наибольшим при АГ 3-й ст. На третьем месте в подгруппах АГ 1-й и 2-й ст. оказался экономический статус, при 3-й ст. — источник препаратов. Минимальное значение в каждой из подгрупп, как и в группе в целом, имел гендерный фактор (табл. 6).

Обсуждение

Структура факторов приверженности к медикаментозной терапии является достаточно хорошо изученной в различных популяциях. Однако в большинстве исследований анализируются группы населения, страдающего артериальной гипертензией в целом, без выделения популяционных подгрупп по тем или иным факторам, в т.ч. возрастным. Молодые пациенты с артериальной гипертензией в этом отношении наименее обследованы, хотя в последние годы получены данные зарубежных ученых [10, 11]. Следует указать, однако, на то, что в условиях

различных экономических систем, систем здравоохранения вклад факторов, влияющих на приверженность терапии, существенно различается [12]. На этом основании мы выделили группу молодых пациентов с АГ в условиях казахстанского здравоохранения.

Для анализа приверженности мы использовали данные оригинального опросника, позволяющего выделить 3 градации — полную, неполную приверженность и ее отсутствие. Учитывая критерии распределения пациентов в использованной методике и характеристики современной медикаментозной терапии АГ, мы полагаем, что это деление более адекватно, чем тест Мориски–Грина, относящий к отсутствию приверженности даже однократные пропуски приема препарата.

Распределение приверженности к лечению в зависимости от примененных фармакопрепаратов оказалось отличным от результатов большинства проведенных ранее исследований [13]: в частности, отмечен очень низкий уровень приверженности к приему бета-адреноблокаторов, ингибиторов АПФ, диуретиков. Не было значимых различий по частоте полной приверженности между использованием монотерапии и фиксированных комбинаций антигипертензивных препаратов, несмотря на преимущественное назначение последних у пациентов с серьезным течением АГ. Обращает на себя внимание наиболее высокий уровень комплаенса при использовании сочетаний медикаментов.

Как и ожидалось, наибольший вклад в формирование приверженности вносили степень повышения АД, а также вариант проводимой медикаментозной терапии.

Не было выявлено существенного влияния на приверженность экономического статуса обследованных и, что кажется парадоксальным в условиях преобладания невысокого экономического статуса пациентов, источника антигипертензивных препаратов.

Заключение

В целом были выявлены характеристики структуры фармакотерапии и некоторые особенности приверженности к фармакотерапии артериальной гипертензии у лиц молодого возраста, в частности достаточно редкое применение фиксированных комбинаций препаратов, низкая приверженность у пациентов с АГ 1-й степени к применению бета-адреноблокаторов, ингибиторов АПФ, диуретиков, наиболее высокая — к приему сочетаний нескольких антигипертензивных препаратов.

Полученные в результате исследования данные могут быть использованы в системе здравоохранения для формирования рекомендаций по повышению комплаенса среди молодых пациентов с артериальной гипертензией. В частности, следует учитывать негативную реакцию молодых пациентов на лекарственные препараты отдельных групп и невысокую степень связи приверженности с бесплатным медикаментозным обеспечением, а также с экономическим статусом респондентов. Вероятно, решающую роль играют психологические характеристики молодых пациентов, учет которых является как предметом отдельного исследования, так и фактором, дифференцирующим степень потребности в контроле и стимуляции лечения со стороны медицинских работников.

Источник финансирования

Исследование проведено и опубликовано за счет личных средств авторского коллектива.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Shin J, Park JB, Kim KI, et al. 2013 Korean Society of Hypertension guidelines for the management of hypertension: part I-epidemiology and diagnosis of hypertension. *Clin Hypertens*. 2015;21:1. doi: 10.1186/s40885-014-0012-3.
- Steffen HM. [Epidemiology of hypertension: prevalence, awareness and treatment. (In German).] *MMW Fortschr Med*. 2016;158(17):63–70. doi: 10.1007/s15006-016-8781-0.
- Battistoni A, Canichella F, Pignatelli G, et al. Hypertension in young people: epidemiology, diagnostic assessment and therapeutic approach. *High Blood Press Cardiovasc Prev*. 2015;22(4):381–388. doi: 10.1007/s40292-015-0114-3.
- Dalal J, Sethi KK, Kerker PG, et al. Vascular disease in young Indians (20–40 years): role of hypertension. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(8):OE01–06. doi: 10.7860/JCDR/2016/20204.8258.
- Tavares NU, Bertoldi AD, Mengue SS, et al. Factors associated with low adherence to medicine treatment for chronic diseases in Brazil. *Rev Saude Publica*. 2016;50(suppl 2):10s. doi: 10.1590/S1518-8787.2016050006150.
- Khayyat SM, Khayyat SM, Hyat Alhazmi RS, et al. Predictors of medication adherence and blood pressure control among Saudi hypertensive patients attending primary care clinics: a cross-sectional study. *PLoS One*. 2017;12(1):e0171255. doi: 10.1371/journal.pone.0171255.
- Лукина Ю.В., Марцевич С.Ю., Кутишенко Н.П. Шкала Мориски-Грина: плюсы и минусы универсального теста, работа над ошибками // *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. — 2016. — Т.12. — №1 — С. 63–65. [Lukina YuV, Martsevich SYu, Kutishenko NP. The Moriscos-Green scale: the pros and cons of universal test, correction of mistakes. *Rational pharmacotherapy in cardiology*. 2016;12(1):63–65. (In Russ).]
- Гланц С. *Медико-биологическая статистика*. Пер. с англ. — М.: Практика; 1998. — 459 с. [Glants S. *Mediko-biologicheskaya statistika*. Translated from English. Moscow: Praktika; 1998. 459 p. (In Russ).]
- Козловский В.И., Симанович А.В. Приверженность к терапии у пациентов с артериальной гипертензией II степени. Обзор литературы и собственные данные // *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. — 2014. — Т.13. — №2 — С. 6–16. [Kozlovskii VI, Simanovich AV. Priv'erzhennost' k terapii u patsientov s arterial'noi gipertenziei II stepeni. Obzor literatury i sobstvennyye dannye. *Vestnik VGMU*. 2014;13(2):6–16. (In Russ).]
- Lotsch F, Auer-Hackenberg L, Groger M, et al. Adherence of patients to long-term medication: a cross-sectional study of antihypertensive regimens in Austria. *Wien Klin Wochenschr*. 2015;127(9–10):379–384. doi: 10.1007/s00508-015-0782-y.
- Johnson HM, Warner RC, Bartels CM, LaMantia JN. “They’re younger... it’s harder.” Primary providers’ perspectives on hypertension management in young adults: a multicenter qualitative study. *BMC Res Notes*. 2017;10(1):9. doi: 10.1186/s13104-016-2332-8.
- Cunningham CT, Sykes LL, Metcalfe A, et al. Ethnicity and health literacy: a survey on hypertension knowledge among Canadian ethnic populations. *Ethn Dis*. 2014;24(3):276–282.
- Шальнова С., Кукушкин С., Манюшкина Е., Тимофеева Т. Артериальная гипертензия и приверженность терапии // *Врач*. — 2009. — №12 — С. 39–42. [Shalnova S, Kukushkin S, Manoshkina E, Timofeyeva T. Arterial hypertension and therapy adherence. *Vrach*. 2009;(12):39–42. (In Russ).]

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Тулетаева Райхан Есенжановна, кандидат медицинских наук, профессор РАЕ РФ, заведующая кафедрой фармакологии и доказательной медицины Государственного Медицинского Университета г. Семей

Адрес: 071400, Восточно-Казахстанская область, г. Семей, ул. Абая, д. 103, тел.: +7 (7222) 52-20-94, e-mail: raikhan65@mail.ru, ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-0462-5230>

Мусина Айгерим Еркибулановна, PhD-докторант кафедры фармакологии и доказательной медицины Государственного Медицинского Университета г. Семей

Адрес: 071400, Восточно-Казахстанская область, г. Семей, ул. Абая, д. 103, тел.: +7 (7222) 52-20-94, e-mail: musina_med@mail.ru, ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-0114-5397>

Чеботаренко Наталья Александровна, MD, PhD, руководитель коалиции ВОЗ по рациональному использованию лекарственных средств CORSUM

Адрес: MD 2068 Молдова, Кишинев, ул. Богдан Воевода 2А, e-mail: corsumnews@gmail.com, ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-4619-4421>

Махатова Асем Рамазановна, PhD-докторант кафедры фармакологии и доказательной медицины, Государственного Медицинского Университета г.Семей

Адрес: 071400, Восточно-Казахстанская область, г. Семей, ул. Абая, д. 103, тел.: +7 (7222) 52-20-94, e-mail: asem_ram@mail.ru, ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-4127-7279>

Особенности депрессии у больных с разными хронотипами

Обоснование. До 30–40% случаев депрессии сопровождаются резистентностью или незначительной реакцией на терапию. Биологические ритмы, задействованные в патогенезе заболевания, будучи уникальной характеристикой индивида, открывают новые возможности для персонализированной медицины. **Цель исследования** — установить особенности клинической картины и фармакотерапии депрессии у больных с разными хронотипами. **Методы.** В проспективном исследовании в качестве критерия эффективности учитывали долю больных, достигших терапевтического ответа (снижение исходного балла шкалы Монтгомери–Асберга, MADRS, более чем на 50% к 8-й нед терапии), и динамику тяжести депрессии (dMADRS). Для оценки состояния использовали шкалы HDRS-21, PSQI, MEQ, TOB, расчет «индивидуальной минуты». **Статистическая обработка:** пакет Excel, Statistica 13.0. **Результаты.** Больные ($n=100$, 48 ± 16 лет) на основании опросника MEQ были разделены на подгруппы по хронотипу: при вечернем — тяжесть депрессии исходно и спустя 8 нед терапии была выше, антидепрессанты назначались чаще в первой половине дня, при утреннем — во второй ($p<0,00001$); такая закономерность назначения была ассоциирована с более высокой редукцией баллов по MADRS ($p<0,05$); различия в синдромальной структуре достоверны ($p<0,05$). При вечернем хронотипе эффективнее было назначение селективных ингибиторов обратного захвата серотонина ($R=72\%$), при утреннем — других классов ($R=100\%$), вне зависимости от хронотипа — препаратов сбалансированного действия ($F=4,62$, $p=0,032$). Для установления роли хронотипа как фактора, значимого в выделении больных депрессией, близких по клинико-anamnestическим характеристикам и особенностям фармакотерапии, были проведены дисперсионный и кластерный анализы. В кластере 1 с высокой долей утреннего хронотипа (19%) терапевтический ответ был достигнут в 81% случаев ($43,4\pm 17,7$ лет; первый эпизод, dMADRS $16,9\pm 2,7$; монотерапия антидепрессантом — 23%), в кластере 3 с высокой представленностью вечернего хронотипа (80%) — в 50% ($40,4\pm 15,2$; ранее начало; dMADRS $15,23\pm 2,29$; монотерапия — 7%). **Заключение.** Больные депрессией с разными хронотипами имеют значимые различия в клинической картине, течения заболевания и эффективности антидепрессантов разных классов. Вечерний хронотип больного следует рассматривать как прогностически неблагоприятный фактор. Настоящая работа может быть отнесена к исследованиям, указывающим на возможность учета хронотипа для дифференцированного подбора фармакотерапии.

Ключевые слова: депрессия, терапия, антидепрессант, хронотип.

(Для цитирования: Герасимчук М.Ю. Особенности депрессии у больных с разными хронотипами. Вестник РАМН. 2017;72 (6):435–441. doi: 10.15690/vramn881)

M.Yu. Gerasimchuk

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University),
Moscow, Russian Federation

Characteristics of Depression in Patients with Different Chronotypes

Background: Approximately 30–40% of depressive patients does not improve or show a partial response. Since biological rhythm involved in the pathogenesis of mood disorders is regarded as a unique characteristic of a person, it opens new opportunities for personalized medicine. **Aim:** to evaluate clinical characteristics and treatment effectiveness in depressive patients with different chronotypes. **Materials and methods:** In prospective, hospital-based study MADRS was performed weekly (dMADRS), therapeutic response (R) was defined as a 50% or greater decrease from baseline in the score. Chronotype was evaluated using the Morningness–Eveningness Questionnaire (MEQ). Participants completed a questionnaire package: HDRS-21, PSQI, TOB, «individual minute». Statistical analysis was performed using Excel for Windows, Statistica 13.0. **Results:** All patients ($n=100$, mean age 48 ± 16 yrs) were divided into groups based on their circadian type: evening types (ETs) had more severe condition; antidepressants (SSRIs; $R=72\%$) were effective given at morning in ETs, at evening (other; $R=100\%$) — in morning types (MTs) ($p<0.00001$) with a greater reduction in depressive symptoms ($p<0.05$). Prescribing drugs with balanced potency were effective in both groups ($F=4.62$, $p=0.032$). Cluster analysis on 25 clinical, biological, and therapeutic variables to establish the role of chronotype as a factor important for identifying patients with similar socio-demographic, clinical, and health characteristics was conducted. Cluster 1 achieved a reduction of depression severity (19% MTs; $R=81\%$; 43.4 ± 17.7 yrs; single episode; dMADRS 16.9 ± 2.7 ; 23% monotherapy). Cluster 3 (80% ETs; $R=50\%$; 40.4 ± 15.2 ; early onset dMADRS 15.23 ± 2.29 ; 7% monotherapy) was the most unfavorable prognostic group. **Conclusions:** Depressive patients with morning/evening chronotypes have significant differences in clinical presentation, the course of the illness and efficacy of antidepressants. Evening chronotype was found to be associated with poor prognosis. Circadian typology should be considered when choosing the appropriate therapeutic options.

Key words: depression, treatment, antidepressant, morningness–eveningness.

(For citation: Gerasimchuk MYu. Characteristics of Depression in Patients with Different Chronotypes. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2017;72 (6):435–441. doi: 10.15690/vramn881)

Обоснование

Развитие современной науки определяется ее трансляционной направленностью, переносом (трансляцией) результатов фундаментальных исследований в практику (B2B-концепция: bench-to-bedside, bedside-to-bench) [1–4]. Клинико-фармакологический эффект препарата зависит как от аффинитета (от лат. *affinitas* — родство, связь) к области действия и концентрации, так и биологического статуса больного [5]. Возрастающий интерес к проблеме биологических ритмов связан с доказанной устойчивой десинхронизацией при аффективных расстройствах, характеризующейся такими клиническими проявлениями, как нарушение ритма сна-бодрствования, изменение восприятия времени, а также закономерностями манифестации (хронопатология рецидивов) [6, 7]. Регулирующее влияние парных супрахиазматических ядер гипоталамуса реализуется посредством гормона мелатонина [8, 9]. Присуждение в 2017 г. Нобелевской премии по физиологии и медицине за открытие механизмов, контролируемых циркадными ритмами, отражает актуальность изучения колебаний интенсивности биологических процессов. В зарубежных клинических исследованиях для описания суточной периодизации психофизиологического состояния больного широко используется утренне-вечерний опросник Morningness–Eveningness Questionnaire (MEQ) [9, 10]. Изучение ритмов как черты, присущей конкретному индивиду, открывает потенциально новые возможности развития персонализированной медицины.

Цель исследования — установить особенности клинической картины и фармакотерапии депрессии у больных с разными хронотипами.

Методы

Дизайн исследования

Проведено моноцентровое выборочное проспективное наблюдательное исследование.

Критерии соответствия

Критерии включения:

- депрессивный эпизод: единичный, в рамках биполярного аффективного, рекуррентного депрессивного расстройств (коды МКБ-10: F31.3–F31.5, F32, F33);
- возраст старше 18 лет;
- письменное информированное согласие на исследование.

Критерии не включения:

- депрессия в рамках шизофрении, органического поражения центральной нервной системы, болезни зависимости (алкоголизм, наркомания);
- беременность, кормление грудью.

Критерии исключения:

- отказ от дальнейшего участия;
- декомпенсирующие заболевания внутренних органов.

Условия проведения

Исследование проводилось в Клинике психиатрии имени С.С. Корсакова УКБ №3 ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось в 2014–2017 гг.

Описание медицинского вмешательства

Длительность наблюдения составляла не менее 8 нед; больные получали антидепрессанты различных классов, при недостаточной эффективности назначалась комплексная терапия в соответствии с требованиями актуального состояния. В настоящем исследовании больные принимали трициклические антидепрессанты (амитриптилин — по 25–200 мг/сут, кломипрамин — по 50–250 мг/сут, имипрамин — по 25–200 мг/сут, пипофезин — по 25–200 мг/сут), селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (пароксетин — по 20–40 мг/сут, флуоксетин — по 20–40 мг/сут, флувоксамин — по 25–200 мг/сут, эсциталопрам — 10–20 мг/сут), антидепрессанты других классов: селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина (дулоксетин — по 60–120 мг/сут, венлафаксин — по 75–225 мг/сут), селективные ингибиторы обратного захвата норадреналина (мапротилин — по 50–150 мг/сут), ингибиторы моноаминоксидазы (пирлиндол — по 50–200 мг/сут), блокаторы пресинаптических α_2 -адренорецепторов и 5-HT-рецепторов (миртазапин — по 30–60 мг/сут, миансерин — по 15–60 мг/сут); агонист M1/MT2-рецепторов и антагонист серотониновых 5-HT_{2c}-рецепторов (агомелатин — по 25–50 мг/сут).

Исходы исследования

Основной исход исследования

В качестве критерия эффективности фармакотерапии определяли долю больных, достигших терапевтического ответа, который оценивался как снижение исходного суммарного числа баллов по шкале Монтгомери–Асберга (Montgomery–Asberg Depression Rating Scale, MADRS) более чем на 50% к 8-й нед терапии. Выбор MADRS определялся ее широким использованием и рядом преимуществ: учетом основных симптомов депрессии, меньшим числом пунктов и более точной регистрацией динамики состояния по сравнению с другими шкалами [11].

Дополнительные исходы исследования

Степень снижения тяжести депрессии определяли как разность $dMADRS = PreMADRS - PostMADRS$, где PreMADRS и PostMADRS — показатели выраженности тяжести депрессии в баллах до и после лечения.

Анализ в подгруппах

Для формирования подгрупп использовался хронотип больного. Сравнение эффективности фармакотерапии проводилось по времени назначения препарата (в первой половине дня: утром в 10.00, днем в 14.00; во второй: вечером в 18.00, на ночь), дополнительному эффекту (седативный, стимулирующий, сбалансированный) и классу антидепрессанта (трициклические, селективные ингибиторы обратного захвата серотонина / селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина, селективные ингибиторы обратного захвата норадреналина, ингибиторы моноаминоксидазы, блокаторы пресинаптических α_2 -адренорецепторов и 5-HT-рецепторов, агонист M1/MT2-рецепторов и антагонист серотониновых 5-HT_{2c}-рецепторов).

Методы регистрации исходов

Для оценки тяжести состояния использовали шкалу Монтгомери–Асберга, анкету балльной оценки субъективных характеристик сна, Питтсбургский опросник (Pittsburgh Sleep Quality Index, PSQI), тест осознания времени. Суточные колебания определяли по шкале Гамильтона (Hamilton Rating Scale for Depression, HDRS-21

пункт 18а), длительность индивидуальной минуты — по методу Halberg, объективно — с помощью секундомера. Критерии разделения на хроноотипы: с помощью опросника MEQ были выделены лица с утренним хроноотипом (суммарный балл MEQ — 16–41) с ранними подъемами (6.00–7.00) и отходом ко сну (21.00–22.00), промежуточным (42–58 баллов) и вечерним (59–86 баллов) с поздними подъемами (10.00–11.30) и отходом ко сну (2.00–3.00) [12].

Этическая экспертиза

Исследования проводили с соблюдением этических норм, изложенных в Хельсинкской декларации и Директивах Европейского сообщества (86/609ЕС). Все больные добровольно подписывали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования утвержден локальным комитетом по этике ФГА-ОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (выписка из протокола № 13–14 от 12.10.2014).

Статистическая обработка

Методы статистического анализа данных: пакет Excel для Windows XP, Statistica 13.0 (StatSoft Inc., США). Качественные признаки описывались с помощью абсолютных и относительных показателей (доля, выраженная в процентном соотношении), количественные — значениями среднего и среднеквадратичного отклонения ($M \pm SE$) при нормальном распределении признака, медианы и процентилей ($Me [Q1; Q3]$) — в остальных случаях. При оценке пар независимых переменных применяли тест Манна–Уитни, трех и более — Краскела–Уоллиса, пар зависимых переменных — тест Вилкоксона. При анализе двух независимых групп по бинарному признаку — точный критерий Фишера (F), многопольных таблиц — критерий хи-квадрат Пирсона с указанием степеней свободы (χ^2). Для кластерного анализа (древовидная кластеризация) было использовано 25 характеристик, каждой из которых присваивалось значение от «0» до «5» в зависимости от степени выраженности конкретного параметра: возраст; пол; диагноз; единичный или повторный эпизод; ведущий клинический синдром; наследственная отягощенность по аффективным расстройствам (реактивные депрессии, послеродовые депрессии, депрессии позднего возраста, установленный диагноз аффективного заболевания) и другим психическим расстройствам (алкоголизм, шизофрения, эпилепсия, нейродегенеративные заболевания, сочетание); возраст начала заболевания; монотерапия антидепрессантом; число назначаемых препаратов; класс и дополнительный эффект антидепрессанта; баллы по шкале MADRS при поступлении (PreMADRS) и спустя 8 нед терапии (PostMADRS); dMADRS; терапевтический ответ; число перенесенных эпизодов депрессии (без учета настоящего), средняя продолжительность депрессивного эпизода в анамнезе (месяцы) и заболевания (годы); хроноотип; суточные колебания настроения; длительность индивидуальной минуты (в секундах); балл по тесту осознания времени; пре- и постсомнические расстройства.

Результаты

Объекты (участники) исследования

Обследованы 100 больных в возрасте от 18 до 77 лет (средний возраст 48 ± 16 лет, женщины — 68%) с депрессией различной психопатологической структуры в рамках расстройств с моно- и биполярным течением: с биполярным аффективным расстройством, текущим эпизодом

депрессии [F.31] ($n=20$), депрессивным эпизодом [F.32] ($n=27$), рекуррентным депрессивным расстройством [F.33] ($n=53$). Продолжительность заболевания составила от 1 мес до 53 лет (6 [1,5 года; 13,5 года]), за этот период больные перенесли от 0 до 25 эпизодов депрессии (3 [0; 6]).

Основные результаты исследования

В исследуемой выборке баллы MEQ были распределены следующим образом: $M=47,25$, $Me=48,0$, стандартная ошибка асимметрии и коэффициент асимметрии по модулю примерно равны ($-0,23$ и $0,24$), как и эксцесс и стандартная ошибка эксцесса ($-0,33$ и $0,48$), критерий Колмогорова–Смирнова — $p>0,2$, критерий Шапиро–Уилка — $>0,05$. Категоризация на подгруппы по опроснику MEQ позволила выделить больных с утренним (12%), промежуточным (58%) и вечерним (30%) типами.

При вечернем хроноотипе тяжесть депрессии исходно была выше, чем при утреннем ($30,23 \pm 1,6$ и $27,5 \pm 1,2$; $p<0,00001$), а спустя 8 нед доля больных, достигших терапевтического ответа, — ниже ($p=0,485$). При вечернем хроноотипе антидепрессанты чаще назначались в первой половине дня (92%), при утреннем — во второй (52%) ($p<0,00001$): подобная закономерность приема, по сравнению с противоположной, обеспечивала более высокую редукцию баллов (dMADRS $17,4 \pm 2,5$ и $15,8 \pm 1,8$ баллов, $p=0,039$; dMADRS $17,73 \pm 2,1$ и $13 \pm 0,5$ баллов, $p=0,006$) (рис. 1).

Психопатологическая структура депрессии различалась у лиц с исходно разными хроноотипами: для лиц с утренним были характерны тревожные (58%), а с вечерним — меланхолические (30%), анестетические (17%) и апатические (17%) депрессии ($\chi^2=7,745$; степень свободы — 2, $p<0,05$).

Больные с утренним типом получали антидепрессанты с седативным (67%) и сбалансированным действием (100%), с вечерним типом — в дополнение к перечисленным выше со стимулирующим действием (соответственно 33; 47 и 20%). На 8-й нед терапии у пациентов с утренним типом сбалансированные антидепрессанты были более эффективны (терапевтический ответ — 100 и 64%; $F=0,277$, $p>0,05$) (рис. 2). Вне зависимости от хроноотипа больные чаще принимали антидепрессанты других классов (58 против 43% соответственно), что было оправдано клиническим улучшением (терапевтический ответ — 100 и 70%; $F=4,62$, $p=0,032$); доля больных, достигших терапевтического ответа при вечернем хроноотипе, была выше при применении селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (терапевтический ответ — 72%; $p>0,05$). Спустя 8 нед повторная оценка показала увеличение суммарного балла MEQ на $3,82 \pm 6,45$ балла ($p=0,004$).

Для установления роли хроноотипа как фактора, значимого в выделении больных депрессией, близких по клинико-анамнестическим характеристикам и особенностям фармакотерапии, был проведен кластерный анализ. Использование способа иерархической классификации и дендрограммы анализируемых параметров позволили выявить наиболее важные факторы, определяющие своеобразие состояния больных депрессией, — диагноз, динамику депрессии в процессе лечения (по MADRS) и хроноотип больного (рис. 3). Таким образом, были выделены три кластера с достоверными различиями по распределению хроноотипов, синдромальной структуре депрессивного эпизода, динамике состояния и фармакотерапии (рис. 4, табл.). Методом k-средних показано, что наиболее близки по евклидову расстоянию ($0,498784$ усл. ед.) кластеры 1 и 2, удалены — 2 и 3 ($0,948105$ усл. ед.).

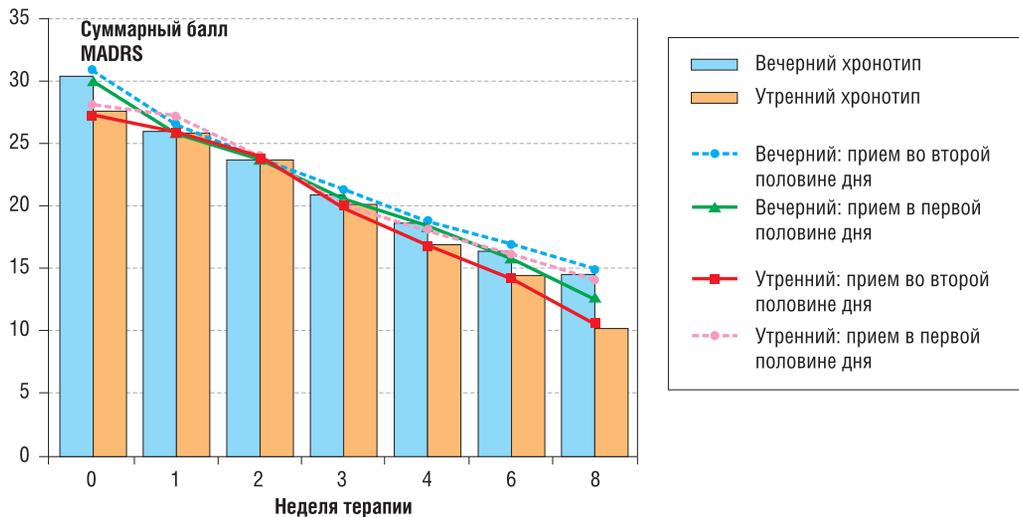


Рис. 1. Динамика тяжести депрессии при фармакотерапии у больных с утренним и вечерним хронотипами в среднем и в зависимости от времени назначения антидепрессанта

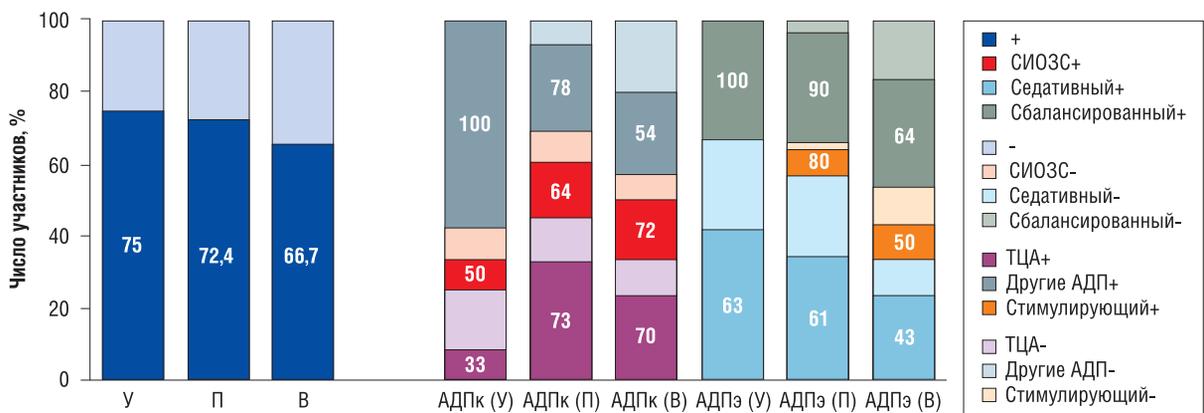


Рис. 2. Доля больных с разными хронотипами, достигших терапевтического ответа спустя 8 нед терапии, в целом и в зависимости от класса и дополнительного эффекта антидепрессанта

Примечание. «+/-» — доля больных, достигших / не достигших терапевтического ответа; У, П, В — в целом доля больных с утренним / промежуточным / вечерним хронотипами, достигших терапевтического ответа; АДПк (У) / АДПк (П) / АДПк (В) — доля больных с утренним / промежуточным / вечерним хронотипами, достигших терапевтического ответа, принимавших антидепрессанты разных классов; АДПэ (У) / АДПэ (П) / АДПэ (В) — доля больных с утренним / промежуточным / вечерним хронотипами, достигших терапевтического ответа, принимавших антидепрессанты с разным дополнительным эффектом; ТЦА — трициклические антидепрессанты; СИОЗС — селективные ингибиторы обратного захвата серотонина; другие АДП — антидепрессанты других классов.

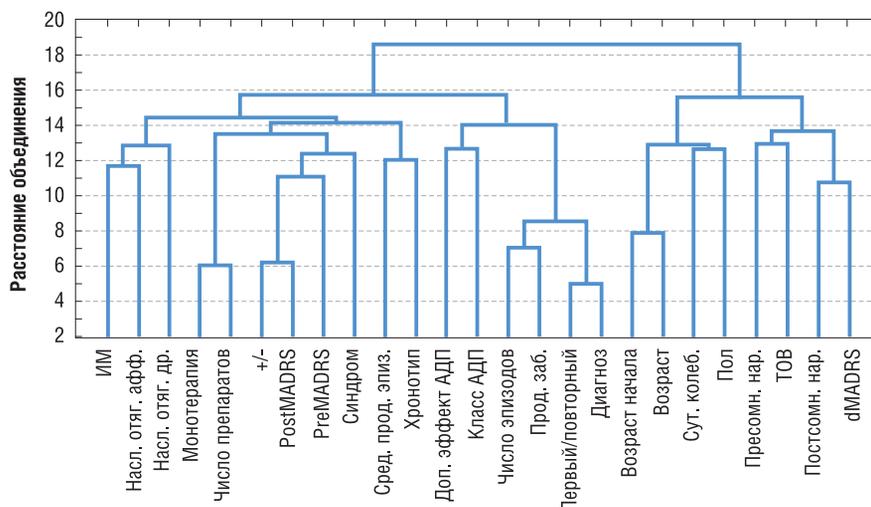


Рис. 3. Дендрограмма для 25 показателей исследуемых больных депрессией

Примечание. ИМ — индивидуальная минута, «+/-» — доля больных, достигших / не достигших терапевтического ответа, АДП — антидепрессант, ТОВ — тест осознания времени, dMADRS — разница в баллах шкалы до (PreMADRS) и после лечения (PostMADRS).

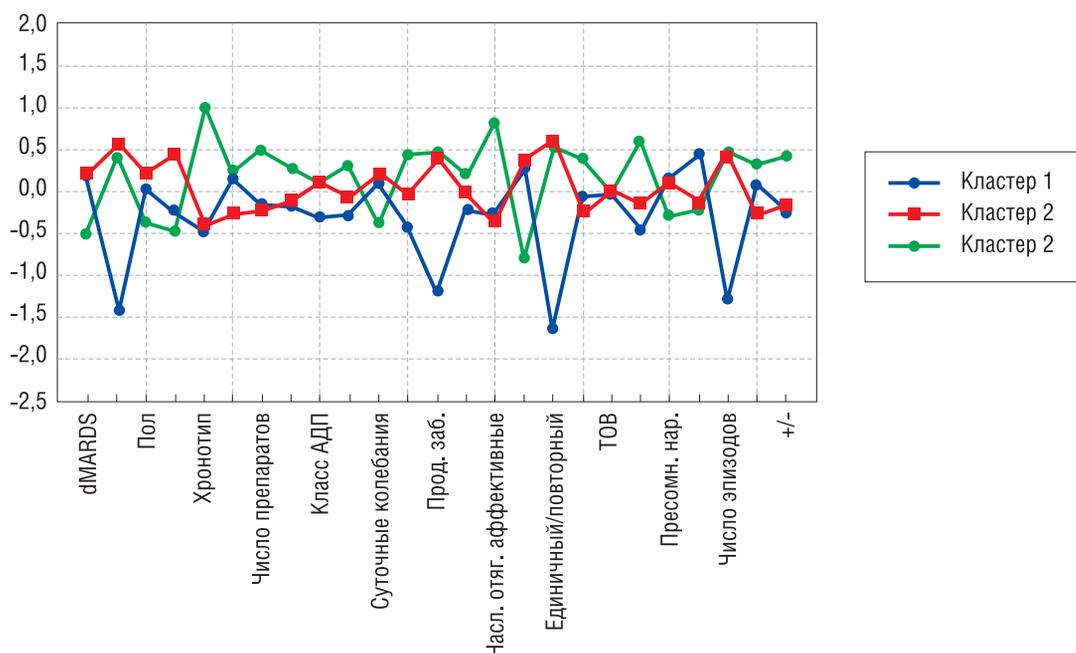


Рис. 4. Средние значения анализируемых параметров для кластеров исследуемых больных депрессией

Примечание. ИМ — индивидуальная минута, «+/-» — доля больных, достигших / не достигших терапевтического ответа, АДП — антидепрессант, ТОВ — тест осознания времени, dMADRS — разница в баллах шкалы до (PreMADRS) и после лечения (PostMADRS).

Таблица. Описательная статистика параметров для кластеров

Изучаемые параметры	Кластер 1 (n=26)	Кластер 2 (n=44)	Кластер 3 (n=30)	p
dMADRS, балл	16,88±2,69	17,02±2,37	15,23±2,29	0,0048
Диагноз (ДЭ/БАР/РДР), %	Только ДЭ	2/23/75	3/33/64	0,0000
Пол, %				
• мужчины	35	25	53	0,014
• женщины	65	75	47	
Возраст, лет	43,38±17,71	55,98±12,38	40,4±15,17	0,001
Хронотип, %				0,0000
• утренний	19	16	1	
• промежуточный	73	75	19	
• вечерний	8	9	80	
Клинический синдром, %				0,001
• тревожный	23	25	23	
• меланхолический	23	52	13	
• анестетический	15	5	17	
• апато-адинамический	15	5	27	
• ипохондрический	23	14	20	
Количество препаратов, %				0,106
• 1 (монотерапия АДП)	23	20	7	
• 2	59	64	43	
• 3	19	16	50	
Дополнительный эффект АДП, %				0,031
• седативный	66	55	33	
• стимулирующий	8	9	17	
• сбалансированный	27	36	50	
PreMADRS, балл	28,23±2,07	29,3±2,02	30,03±2,5	0,0018
Длительность заболевания, лет	0,43±0,38	12,32±10,16	14,13±11,92	0,0000
Наследственная отягощенность по аффективным расстройствам, %	12	9	60	0,0000
Возраст начала заболевания	42,62±17,56	43,43±11,89	26,23±8,94	0,0000
Единичный/повторный эпизод	Единичный	Повторный	Повторный	0,0000

Таблица. Описательная статистика параметров для кластеров (Окончание)

Исследуемые параметры	Кластер 1 (n=26)	Кластер 2 (n=44)	Кластер 3 (n=30)	p
Индивидуальная минута (сек)	43,37±11,99	41,84±16,21	49,66±15,29	0,049
PostMADRS, балл	11,35±3,15	12,27±3,11	14,8±2,92	0,001
Число перенесенных эпизодов	0	5,11±3,42	5,6±4,97	0,0000
Средняя продолжительность эпизода депрессии, мес	0	2,78±2,12	4,32±4,62	0,044
Терапевтический ответ, %	81	77	50	0,0161

Примечание. dMADRS — разница в баллах шкалы до (PreMADRS) и после лечения (PostMADRS). ДЭ — депрессивный эпизод, БАР — биполярное аффективное расстройство, РДР — рекуррентное депрессивное расстройство, АДП — антидепрессант.

Нежелательных явлений, которые могли бы повести за собой выход из исследования, не отмечено: все больные, включенные в исследование, его завершили.

Обсуждение

В настоящем исследовании был выделен параметр, отражающий изменение суточных биоритмов больных с депрессией — хронотип. Несмотря на актуальность темы, исследования биологических ритмов ведутся в направлении разработки препаратов со специфическим действием, эндогенной предрасположенности (clock genes) и экзогенных влияний (social zeitgebers), клиническое же описание и особенности терапии ограничиваются сравнением состояний с моно-/биполярным течением и констатацией необходимости более интенсивной терапии у больных с вечерним хронотипом [13–16].

В проведенном анализе хронотип был ассоциирован с предпочтительным назначением антидепрессанта по времени приема, классу и дополнительному эффекту, что отчасти можно объяснить исходными различиями психопатологической картины, определяющей выбор профиля психотропной активности: так, препараты с седативным компонентом назначаются обычно во второй половине дня, стимулирующие — в первой.

Кластерный анализ продемонстрировал важность учета хронотипа как фактора, ассоциированного с индивидуальными особенностями течения аффективных расстройств.

В 81% случаев терапевтический ответ был достигнут в кластере 1 с высокой долей утреннего хронотипа (19%), который расценивается рядом иностранных авторов как обладающий «защитным эффектом» к десинхронизации ритмов организма [17]. Среди больных с высокой представленностью вечернего хронотипа (80%) в кластере 3 был получен значимо меньший уровень терапевтического ответа (50%).

Другие авторы предлагают рассматривать переход от утреннего к промежуточному хронотипу в качестве корре-

лята развивающейся депрессии [18], а учитывая, что большинство имеющихся опубликованных работ направлены на выявление хронотипа в донозологическом периоде как предиктора развития аффективных расстройств [19], динамику баллов MEQ на фоне улучшения состояния, вероятно, можно связать с ресинхронизирующим влиянием терапии антидепрессантами независимо от их механизма действия.

Ограничения исследования

Ограничения исследования, связанные с составом выборки, отражают возрастную и гендерную специфику депрессивных расстройств.

Заключение

Больные депрессией с разными хронотипами имеют значимые различия в клинической картине, течениях заболеваний и эффективности антидепрессантов разных классов. Работа может быть отнесена к исследованиям, указывающим на возможность учета данного параметра для оптимизации диагностических мероприятий и дифференцированного подбора фармакотерапии. При проведении дополнительных исследований результаты могут быть использованы как прогностические модели.

Источник финансирования

Исследование и публикация настоящей статьи осуществлены только за личные средства авторского кол-лектива.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дедов И.И., Тюльпаков А.Н., Чехонин В.П., и др. Персонализированная медицина: современное состояние и перспективы // Вестник Российской академии медицинских наук. — 2012. — Т.67. — №12 — С. 4–12. [Dedov II, Tyul'pakov AN, Chekhonin VP, et al. Personalized medicine: state-of-the-art and prospects. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2012;67(12):4–12. (In Russ).] doi: 10.15690/vramn.v67i12.474.
2. Ушаков И.Б., Богомоллов А.В. Информатизация программ персонализированной адаптационной медицины // Вестник Российской академии медицинских наук. — 2014. — Т.69. — №5–6 — С. 124–128. [Ushakov IB, Bogomolov AV. Informatization of personalized adaptation medicine programs. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2014;69(5–6):124–128. (In Russ).] doi: 10.15690/vramn.v69i5-6.1056.
3. Чазов Е.И. Защитные системы организма как основа поиска и разработки новых оригинальных лекарственных средств // Вестник Российской академии медицинских наук. — 2012. — Т.67. — №5 — С. 6–7. [Chazov EI. Protective systems of the human organism as a basis of search and development of new original medical drugs. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2012;67(5):6–7. (In Russ).] doi: 10.15690/vramn.v67i5.264.

4. Hampton T. Bench to bedside and back again may be key to clinical breakthroughs. *JAMA*. 2017;318(1):16–17. doi: 10.1001/jama.2017.7276.
5. Психиатрия: руководство для врачей / Под ред. Тиганова А.С. — М.: Издательство «Медицина»; 2012. [*Psikhiatriya: rukovodstvo dlya vrachei*. Ed by Tiganov A.S. Moscow: Meditsina; 2012. (In Russ).]
6. Wirz-Justice A. Diurnal variation of depressive symptoms. *Dialogues Clin Neurosci*. 2008;10(3): 337–343.
7. Borbély AA, Daan S, Wirz-Justice A, Deboer T. The two-process model of sleep regulation: a reappraisal. *J Sleep Res*. 2016;25(2):131–143. doi: 10.1111/jsr.12371.
8. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Липатенкова А.К. Современная нейроэндокринология // Вестник Российской академии медицинских наук. — 2012. — Т.67. — №8 — С. 7–13. [Dedov II, Mel'nichenko GA, Lipatenkova AK. Modern neuroendocrinology. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2012;67(8):7–13. (In Russ).] doi:10.15690/vramn.v67i8.343.
9. Герасимчук М.Ю. Депрессия: перспективы дифференцированной психофармакотерапии // Архив внутренней медицины. — 2016. — №4 — С. 8–13. [Gerasimchuk MYu. Towards personalized treatment of depression. *Archive of internal medicine*. 2016;(4):8–13. (In Russ).] doi: 10.20514/2226-6704-2016-6-4-8-13.
10. Kantermann T, Sung H, Burgess HJ. Comparing the Morningness-Eveningness Questionnaire and Munich ChronoType Questionnaire to the dim light melatonin onset. *J Biol Rhythms*. 2015;30(5):449–453. doi: 10.1177/0748730415597520.
11. Carmody TJ, Rush AJ, Bernstein I, et al. The Montgomery Asberg and the Hamilton ratings of depression: a comparison of measures. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2006;16(8):601–611. doi: 10.1016/j.euroneuro.2006.04.008.
12. Horne JA, Ostberg O. A self-assessment questionnaire to determine Morningness-Eveningness in human circadian rhythms. *Int J Chronobiol*. 1976;4(2):97–110.
13. Alloy LB, Ng TH, Titone MK, Boland EM. Circadian rhythm dysregulation in bipolar spectrum disorders. *Curr Psychiatry Rep*. 2017;19(4):21. doi: 10.1007/s11920-017-0772-z.
14. Kryger MH, Roth T, Dement WC, editors. *Principles and practice of sleep medicine*. St. Louis, MO: Elsevier; 2016.
15. Melo MC, Abreu RL, Linhares Neto VB, et al. Chronotype and circadian rhythm in bipolar disorder: a systematic review. *Sleep Med Rev*. 2017;34:46–58. doi: 10.1016/j.smrv.2016.06.007.
16. Merikanto I, Kronholm E, Peltonen M, et al. Circadian preference links to depression in general adult population. *J Affect Disord*. 2015;188:143–148. doi: 10.1016/j.jad.2015.08.061.
17. Lee SJ, Park CS, Kim BJ, et al. Association between morningness and resilience in Korean college students. *Chronobiol Int*. 2016;33(10):1391–1399. doi: 10.1080/07420528.2016.1220387.
18. Müller MJ, Cabanel N, Olschinski C, et al. Chronotypes in patients with nonseasonal depressive disorder: distribution, stability and association with clinical variables. *Chronobiol Int*. 2015;32(10):1343–1351. doi: 10.3109/07420528.2015.1091353.
19. Au J, Reece J. The relationship between chronotype and depressive symptoms: a meta-analysis. *J Affect Disord*. 2017;218:93–104. doi: 10.1016/j.jad.2017.04.021.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Герасимчук Мария Юрьевна, аспирант кафедры психиатрии и наркологии ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **тел.:** +7 (495) 609-14-00, **e-mail:** mygerasimchuk@gmail.com,
SPIN-код: 8156-2706, **ORCID iD:** <http://orcid.org/0000-0001-9365-0667>

DOI: 10.15690/vramn890

В.А. Бывальцев^{1, 2, 3, 4, 5}, И.А. Степанов¹, А.И. Кичигин^{1, 5}, В.В. Каныгин^{5, 6}, В.В. Ступак⁷

¹ Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Российская Федерация

² Дорожная клиническая больница на ст. Иркутск-Пассажирский, Иркутск, Российская Федерация

³ Иркутский научный центр хирургии и травматологии, Иркутск, Российская Федерация

⁴ Иркутская государственная академия последипломного образования, Иркутск, Российская Федерация

⁵ Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН, Новосибирск, Российская Федерация

⁶ Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Российская Федерация

⁷ Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна, Новосибирск, Российская Федерация

Роль диффузионно-взвешенной магнитно-резонансной томографии в дифференциальной диагностике и прогнозировании выживаемости пациентов с метастазами в головной мозг

442

Обоснование. Метастазы в головной мозг составляют до 40% всех внутричерепных опухолей. Некоторые виды метастатических опухолей вызывают затруднения в дифференциальной диагностике, так как имеют схожие сигнальные характеристики с другими патологическими образованиями при нейровизуализации. Очевидным является использование дополнительных методов диагностики для определения прогноза и тактики дальнейшего ведения данной группы пациентов. **Цель исследования** — изучение роли диффузионно-взвешенной магнитно-резонансной томографии (МРТ) в дифференциальной диагностике и прогнозировании выживаемости пациентов с метастатическими опухолями головного мозга. **Методы.** В исследование включены данные МРТ и патоморфологических исследований 23 пациентов с метастазами в головной мозг. Полученные значения измеряемого коэффициента диффузии (ИКД) опухолей сопоставляли с их гистологическим типом, клеточной плотностью и индексом пролиферативной активности Ki-67. Кроме того, проводили оценку влияния значений ИКД на общую выживаемость пациентов. **Результаты.** Установлена достоверная обратная корреляционная зависимость значений ИКД и индекса пролиферативной активности Ki-67 для различных типов метастатических опухолей головного мозга ($r = -0,774$, $p = 0,014$). Показана зависимость значений ИКД и общей выживаемости пациентов с метастазами в головной мозг. Общая выживаемость пациентов со значением ИКД опухоли более $947,2 \text{ мм}^2/\text{сек}$ составила 9,8 мес (95% доверительный интервал 8,6–11,3), а при ИКД метастазов в головной мозг менее $947,2 \text{ мм}^2/\text{сек}$ — 6,4 мес (95% ДИ 3,7–9,1). **Заключение.** Методика диффузионно-взвешенной МРТ играет важную роль в дифференциальной диагностике метастазов в головной мозг, может использоваться в комплексной оценке предоперационного планирования хирургического лечения, а также в качестве прогностического фактора общей выживаемости для данной группы пациентов.

Ключевые слова: метастазы в головной мозг, диффузионно-взвешенная МРТ, измеряемый коэффициент диффузии, клеточная плотность, индекс пролиферативной активности Ki-67, общая выживаемость.

(Для цитирования): Бывальцев В.А., Степанов И.А., Кичигин А.И., Каныгин В.В., Ступак В.В. Роль диффузионно-взвешенной магнитно-резонансной томографии в дифференциальной диагностике и прогнозировании выживаемости пациентов с метастазами в головной мозг. *Вестник РАМН.* 2017;72 (6):442–449. doi: 10.15690/vramn890

Введение

Согласно данным мировой литературы, заболеваемость метастазами в головной мозг составляет 8,3 случая на 100 000 населения в год [1]. Метастатическое поражение головного мозга встречается в 37% случаев. При этом метастазы в головной мозг встречаются в 40% случаев всех внутричерепных опухолей [2]. Диагностика данной группы опухолей, как правило, не вызывает затруднений и основана на анализе клинко-неврологического обследования пациента и данных магнитно-резонансной томографии (МРТ) с проведением контрастного усиления. Тем не менее некоторые виды метастатических опухолей вызывают затруднения в дифференциальной диагностике, так как имеют схожие сигнальные характеристики на стандартных T1- и T2-взвешенных изображениях (T1-, T2-ВИ) с глиомами высокой степени злокачественности, лимфомами, абсцессами, псевдотуморозной формой рас-

сеянного склероза и подострым инфарктом вещества головного мозга [3, 4].

Доказано, что гистологический тип опухоли головного мозга влияет на интенсивность сигнала, получаемого на T1- и T2-ВИ [5, 6]. Более того, внутриопухолевые изменения (кровоизлияние, некроз, формирование кистозных полостей) также способны приводить к изменению интенсивности сигнала. Известно несколько исследований, посвященных изучению роли диффузионно-взвешенной МРТ (ДВ МРТ) в дифференциальной диагностике различных опухолей головного мозга [7–17]. ДВ МРТ — это инструментальный метод, позволяющий получать изображения опухолевой ткани, взвешенные по диффузии свободных молекул воды на клеточном уровне. При этом степень диффузии молекул воды можно оценить с помощью численного значения в виде измеряемого коэффициента диффузии (ИКД). Множество значений ИКД для данной биологической структуры представляет

собой функциональную карту диффузионно-взвешенных изображений (ДВИ) [18].

Исследования, посвященные применению ДВ МРТ при опухолях головного мозга, в том числе при метастазах, немногочисленны. Ряд авторов отмечает, что для определенных гистологических типов опухолей характерна корреляционная зависимость между значением ИКД, их клеточной плотностью и значением индекса пролиферативной активности Ki-67 [9, 10, 19]. Другие авторы в своих работах данной зависимости не отмечают [11, 12]. Учитывая высокую частоту встречаемости метастазов в головной мозг и их морфологическое разнообразие, представляется необходимым верифицировать данное заболевание уже на этапе выполнения первичного нейровизуализационного исследования с целью дальнейшего планирования вида, объема хирургического и/или радиохирургического вмешательства, а также выбора адекватной лечебной тактики ведения данной группы пациентов.

Известно, что общая выживаемость пациентов является одним из важнейших критериев в современной нейроонкологии. Под термином «общая выживаемость» принято понимать время от момента начала исследования (рандомизации, включения в исследование, начала приема препарата и т.п.) до смерти пациента от любой причины. Стоит отметить, что общая выживаемость пациентов представляет собой основную конечную точку при проведении крупных рандомизированных клинических исследований. Анализ данных мировой литературы показал наличие лишь нескольких работ, посвященных изучению зависимости между значениями ИКД и общей выживаемостью пациентов со злокачественными опухолями головного мозга (глиомами высокой степени

злокачественности и метастатическими опухолями), тем не менее результаты данных исследований во многом противоречивы [13–17, 19–22].

Цель исследования — оценить роль ДВ МРТ в дифференциальной диагностике и прогнозировании выживаемости пациентов с метастатическими опухолями головного мозга путем сопоставления полученных значений ИКД опухолей с их гистологическим типом, клеточной плотностью и индексом пролиферативной активности Ki-67.

Методы

Дизайн исследования

Выполнено моноцентровое ретроспективное когортное исследование.

Критерии соответствия

В исследование включены случаи одиночных метастазов в головной мозг, подтвержденные данными патоморфологического исследования.

Критериями исключения из исследования являлись случаи множественных метастазов в головной мозг, а также пациенты после проведенных курсов химио- и радиотерапии.

Условия проведения

Исследование выполнено на базе Центра нейрохирургии НУЗ «Дорожная клиническая больница на станции Иркутск-Пассажирский» ОАО «РЖД-Медицина» (Иркутск, Российская Федерация).

V.A. Byvaltsev^{1, 2, 3, 4, 5}, I.A. Stepanov¹, A.I. Kichigin^{1, 5}, V.V. Kanigin^{5, 6}, V.V. Stupak⁷

¹ Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

² Railway Clinical Hospital on the station Irkutsk-Passazhirskiy of Russian Railways Ltd., Irkutsk, Russian Federation

³ Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russian Federation

⁴ Irkutsk State Academy of Postgraduate Education, Irkutsk, Russian Federation

⁵ Institute of Nuclear Physics n.a. G.I. Budker of the SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation

⁶ Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

⁷ Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya. L. Tsvivan, Novosibirsk, Russian Federation

The Role of Diffusion-weighted MRI in Differential Diagnosis and Prediction of Survival in Patients with Brain Metastases

Background: Brain metastases are observed in up to 40% of all intracranial tumors. Some types of metastatic tumors cause difficulties in differential diagnosis, since they have similar signal characteristics with other pathological entities in neuroimaging. Obviously, the additional diagnostic methods to determine the prognosis and tactics of further management of this group of patients should be implemented. **Aim:** To study the role of diffusion-weighted magnetic resonance imaging (MRI) in differential diagnostics and predicting the survival rate in patients with brain metastases. **Materials and methods:** The study included data from MRI and morphological studies of 23 patients with brain metastases. The obtained values of the apparent diffusion coefficient (ADC) of tumors were compared with their histological type, cell density, and the index of proliferative activity Ki-67. In addition, the influence of ADC values on the overall survival rate was assessed. **Results:** A reliable inverse correlation of ADC values and the index of proliferative activity for various types of brain metastases ($r = -0.74$, $p = 0.014$) was established. The dependence of ADC values and overall survival rate of patients with metastases in the brain is presented. The overall survival rate in patients with an ADC value greater than $947.2 \text{ mm}^2/\text{sec}$ was 9.8 months (95% CI: 8.6–11.3), and with ADC value less than $947.2 \text{ mm}^2/\text{sec}$ — 6.4 months (95% CI: 3.7–9.1). **Conclusion:** The technique of diffusion-weighted MRI plays an important role in the differential diagnosis of brain metastases; it can be used as a tool of comprehensive preoperative assessment when planning the surgery and as a prognostic factor of overall survival rate for this group of patients.

Key words: brain metastases, diffusion-weighted MRI, apparent diffusion coefficient, cell density, Ki-67 proliferative activity index, overall survival. (For citation: Byvaltsev VA, Stepanov IA, Kichigin AI, Kanigin VV, Stupak VV. The Role of Diffusion-weighted MRI in Differential Diagnosis and Prediction of Survival in Patients with Brain Metastases. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017;72 (6):442–449. doi: 10.15690/vramn890)

Продолжительность исследования

Исследование проводилось в период с июля 2015 по август 2017 г.

Описание медицинского вмешательства

Всем пациентам в предоперационном периоде выполнялось МРТ-исследование головного мозга с внутривенным контрастированием в различных режимах. Во всех случаях удаление опухолей выполнено одной хирургической бригадой с максимально возможной степенью радикальности при помощи микронейрохирургической техники и под увеличением операционного микроскопа OPMI Pentero 900 (Carl Zeiss, Германия). При удалении метастазов в головной мозг во всех случаях использованы флуоресцентная навигация с препаратом 5-аминолевулиновой кислоты Аласенс (НИОПИК, Россия) в режиме визуализации Blue-400, согласно современным клиническим рекомендациям [23], а также система интраоперационной нейронавигации CURVE (Brainlab, Германия). Удаленные объемные образования подвергались патоморфологическому исследованию. После получения данных МРТ-исследования и патоморфологического заключения, последние сопоставлялись между собой. Общая выживаемость пациентов оценивалась от момента включения пациента в исследование и до смерти от любой причины.

Исходы исследования

Основной исход исследования

Определены значения ИКД, индексов Ki-67 и клеточной плотности для различных гистологических типов метастатических опухолей головного мозга, а также корреляционная зависимость между указанными параметрами.

Дополнительные исходы исследования

В результате проведенного исследования выявлено, что ИКД является достоверным прогностическим фактором выживаемости пациентов с метастазами в головной мозг.

Методы регистрации исходов

МРТ-граммы (T1-, T2-ВИ и ДВИ) для всех пациентов, включенных в исследование, получены с помощью аппарата МРТ Siemens Magnetom Essenza 1,5 T (Германия) до и после введения контрастного вещества Ультравист (Bayer Schering Pharma AG, Германия) (рис. 1, А–В). При исследовании в T1-ВИ использовались следующие параметры: матрица 384×387, TR (время повторения) — 650, TE (время эхо) — 9,6, NEX (число возбуждений) — 1, толщина среза — 4 мм, FOV (поле зрения) — 30×30. Для T2-ВИ: матрица 384×288, TR — 4000, TE — 43, NEX — 1, толщина среза — 4 мм, FOV — 30×30. Для получения ДВИ использовался следующий набор параметров опции ДВ МРТ с SE-эхо-планарным изображением (EPI): матрица 160×128, TR — 7500, TE — 83, NEX — 6, толщина среза — 4 мм, FOV — 30×30. Использованы значения b-фактора равные 400 и 800 сек/мм². Время сканирования в среднем составило 6 мин 30 сек.

ИКД вычислялся на нескольких ДВИ с наибольшими диаметрами объемного образования, в область интереса не были включены кистозные и некротические зоны опухолей. Подсчет ИКД производился с помощью программы RadiAnt DICOM Viewer.

Все удаленные объемные образования исследованы опытными патоморфологами. При морфологическом исследовании метастатических опухолей головного мозга оценивались следующие параметры: гистологический тип опухоли, значение индекса пролиферативной активности Ki-67 с помощью моноклональных антител MIB-1

444

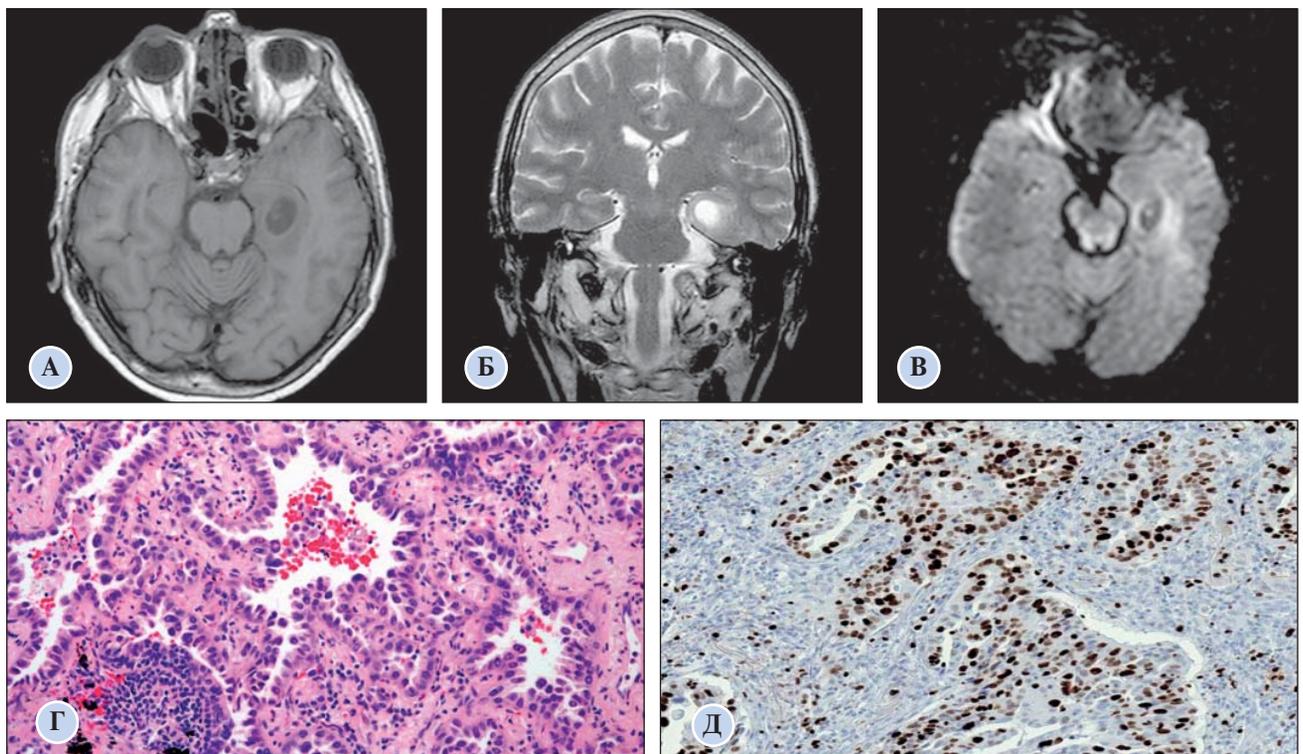


Рис. 1. МРТ и патоморфологическая картина метастаза аденокарциномы легкого в медиобазальную область левой височной доли

Примечание. А — T1-ВИ, аксиальный срез; Б — T2-ВИ, фронтальный срез; В — диффузионно-взвешенные изображения, измеряемый коэффициент диффузии равен 864 мм²/сек; Г — световая микроскопия, окраска гематоксилином-эозином, картина метастаза папиллярной аденокарциномы, клеточная плотность — 1239 кл./мм³; Д — окраска моноклональными антителами MIB-1, индекс пролиферативной активности Ki-67 — 37%.

Таблица. Гистологические типы метастазов в головной мозг

Гистологический тип	Число случаев, <i>n</i>	Источник метастазирования
Мелкоклеточный рак	3	Легкое
Папиллярная аденокарцинома	2	Легкое
Перстневидноклеточный рак	1	Легкое
Немелкоклеточный рак	6	Легкое
Тубулярная аденокарцинома	1	Молочная железа
Плоскоклеточный рак	2	Молочная железа
Веретенноклеточная меланома	1	Кожа
Эпителиоидная меланома	1	Кожа
Почечно-клеточный рак	2	Почка
Светлоклеточная аденокарцинома	1	Почка
Муцинозная аденокарцинома	2	Восходящая ободочная кишка
Стромальная саркома	1	Яичник

(DakoCytomation, Дания), а также клеточная плотность опухолевой ткани (рис. 1, Г, Д). Подсчет клеточной плотности осуществляли с применением программы Image J при общем увеличении микроскопа AxioLab (Carl Zeiss, Германия) в 400 раз по методу М. Абергсромбие [24], значение плотности выражали в виде клеток/мм³ (кл./мм³).

Этическая экспертиза

Протокол исследования одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» (протокол № 7 от 10.02.17). Исследование проводилось в соответствии с принципами надлежащей клинической практики и Хельсинкской декларации. Перед началом исследования пациенты представили письменное информированное согласие.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2010. Все измерения проверены на нормальность с помощью теста Колмогорова–Смирнова. Полученные данные оценены с помощью методов описательной статистики (абсолютных и относительных величин). Категориальные переменные выражены в процентах. Анализ общей выживаемости проводили с использованием нескорректированной модели регрессионного анализа пропорциональных рисков Кокса [25] для оценки 95% доверительных

интервалов (95% ДИ). Кривые Каплана–Мейера применяли для оценки общей выживаемости [26]. Сравнительный анализ значений ИКД, индексов Ki-67 и клеточной плотности выполнен с помощью U-теста Манна–Уитни. Для оценки корреляционной зависимости между значением ИКД опухолей, клеточной плотностью и значением индекса Ki-67 использован коэффициент Спирмена. Порог значимости *p* выбран равным 0,05.

Результаты

Участники исследования

В исследование включены МРТ-граммы с ДВИ 23 пациентов с метастатическими опухолями головного мозга, прооперированных в Центре нейрохирургии ЧУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Иркутск-Пассажирский» ОАО «РЖД-Медицина» в период с июля 2015 по август 2017 г. Среди пациентов было 12 женщин и 11 мужчин, возраст которых варьировал от 29 до 74 лет (средний возраст составил 54,7±11,3 года). Гистологические типы опухолей представлены в табл.

Основные результаты исследования

При сравнении средних значений ИКД различных типов метастатических опухолей отмечено достоверное различие (*p*<0,01) (рис. 2). При этом наибольшее

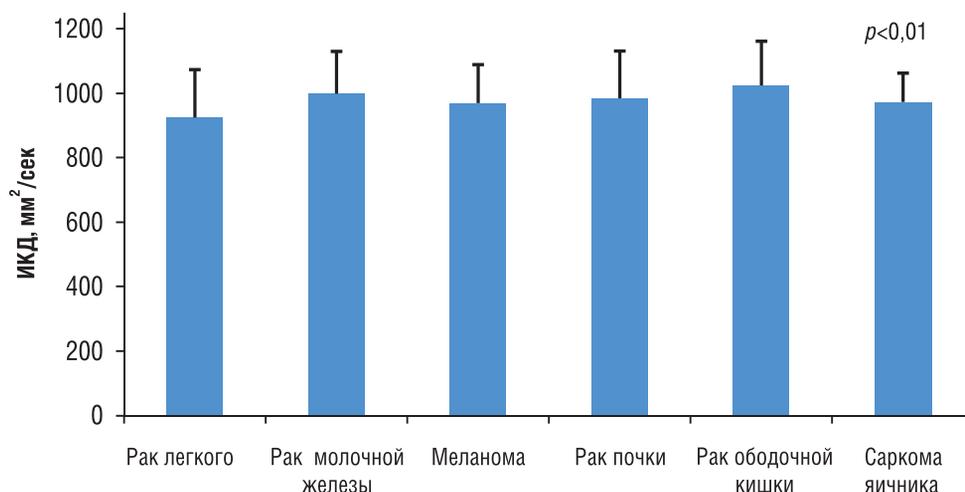


Рис. 2. Средние значения ИКД различных типов метастатических опухолей головного мозга

Примечание. ИКД — измеряемый коэффициент диффузии.

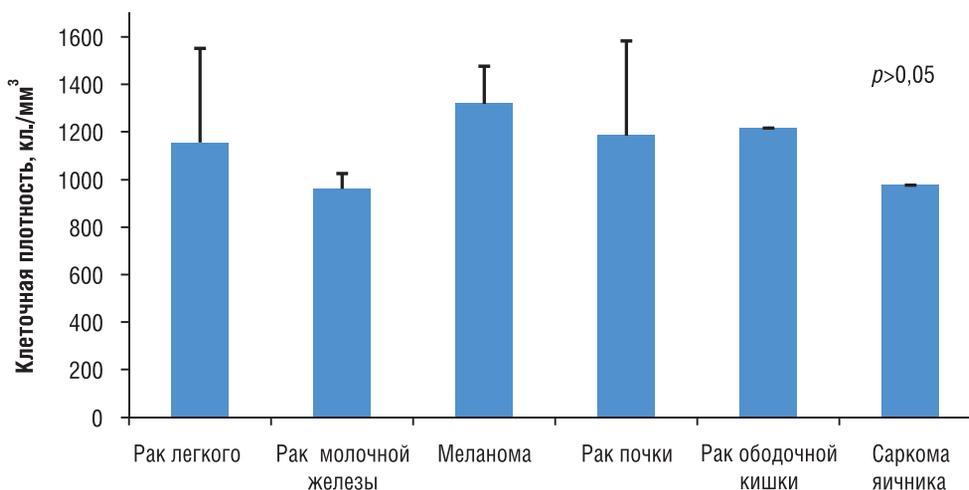


Рис. 3. Средние значения клеточной плотности в различных типах метастатических опухолей головного мозга

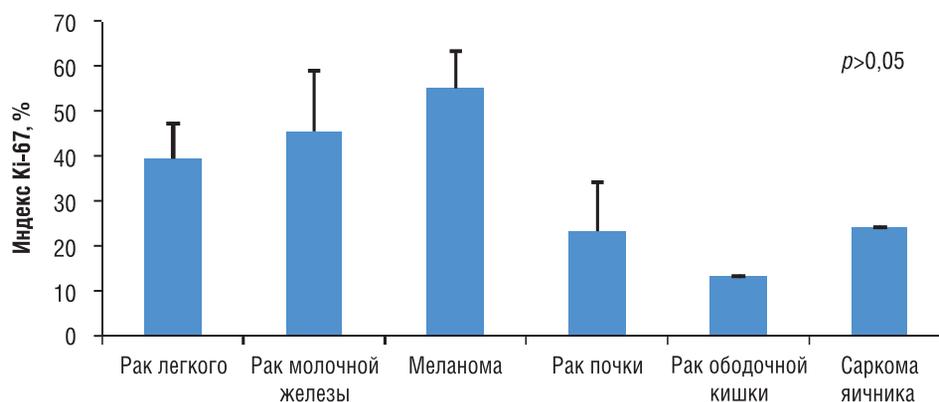


Рис. 4. Средние значения индекса пролиферативной активности Ki-67 различных типов метастатических опухолей головного мозга

среднее значение ИКД имели метастазы аденокарциномы молочной железы, почки и восходящей ободочной кишки (1097,3±88,3, 1087,6±105,8 и 1013±119,6 мм²/сек соответственно). Наименьшие средние значения ИКД отмечены в случаях метастазов в головной мозг меланомы кожи и немелкоклеточного рака легкого (714±103,3 и 895,4±117,6 мм²/сек соответственно).

Средние значения клеточной плотности метастатических опухолей головного мозга различных гистологических типов составили для метастазов злокачественных опухолей легкого 1156,2±396,1 кл./мм³, молочной железы — 961,5±64,3 кл./мм³, меланомы кожи — 1319±158,3 кл./мм³, метастазов рака почки — 1185,5±398,1 кл./мм³, аденокарциномы ободочной кишки — 1217 кл./мм³, саркомы яичника — 977 кл./мм³. При сравнении средних значений клеточной плотности различных типов метастатических опухолей головного мозга статистически значимых различий не отмечено ($p>0,05$) (рис. 3).

Средние значения индекса пролиферативной активности Ki-67 для различных типов метастатических опухолей варьировали в широких пределах: для метастазов злокачественных опухолей легкого — 39,2±7,9%, молочной железы — 45,5±13,4%, меланомы кожи — 55±8,4%, метастазов рака почки — 23±11,3 кл./мм³, аденокарциномы ободочной кишки — 27%, саркомы яичника — 39%. Сравнение средних значений индекса пролиферативной активности различных типов метастазов в головной мозг также не показало достоверных различий ($p>0,05$) (рис. 4).

Анализ корреляционной зависимости между значениями ИКД и клеточной плотностью различных типов метастатических опухолей головного мозга показал отсутствие статистически значимой зависимости ($r=0,322$; $p=0,251$).

При оценке корреляции между ИКД и значениями индекса пролиферативной активности Ki-67 отмечена достоверная обратная зависимость ($r=-0,774$; $p=0,014$) (рис. 5).

Дополнительные результаты исследования

Оценка влияния значений ИКД на общую выживаемость пациентов показала: при значении ИКД метастатических опухолей головного мозга более 947,2 мм²/сек общая выживаемость пациентов составила в среднем 9,8 мес (95% ДИ 8,6–11,3), при значении ИКД менее 947,2 мм²/сек общая выживаемость данной группы пациентов достоверно ниже и в среднем составила 6,4 мес (95% ДИ 3,7–9,1; $p=0,019$). Общая выживаемость пациентов в зависимости от значения ИКД метастатических опухолей представлена на рис. 6.

Обсуждение

Доказано, что значения ИКД коррелируют с клеточной плотностью и гистологическим типом различных интра- и экстракраниальных опухолей, тем самым косвенно отражая гисто- и цитоархитектонику последних [20, 21, 27–29]. К примеру, для анапластических астроцитом и глиобластом низкие значения ИКД соответствуют зонам с высокой клеточной плотностью и преобладанием цитоплазмы над ядерным компонентом клетки [20, 29]. Для некоторых злокачественных экстракраниальных опухолей (рак легкого, молочной железы и прямой кишки) также имеет место корреляционная зависимость между низкими значениями ИКД и степенью дифференциации [20, 21]. В отношении метастатических опухолей голов-

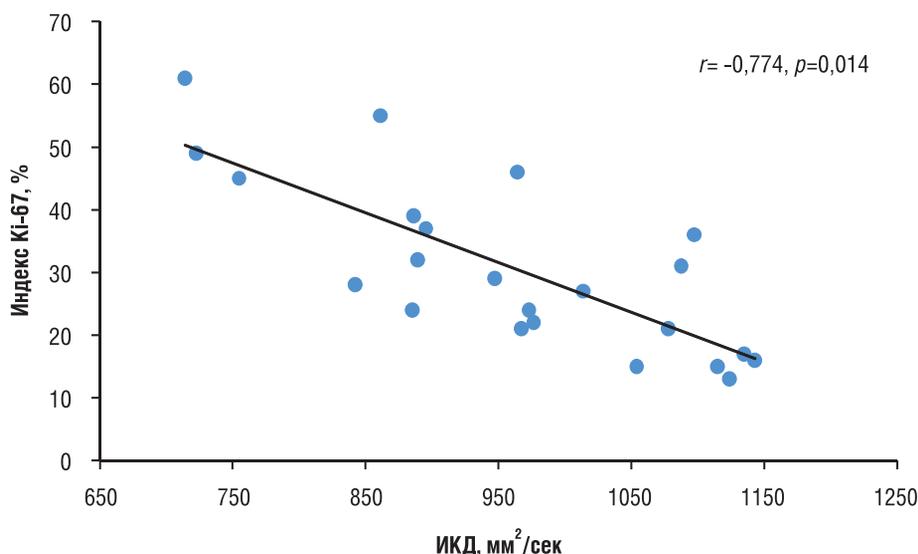


Рис. 5. Анализ корреляционной зависимости между значениями ИКД и индексом пролиферативной активности Ki-67 метастатических опухолей головного мозга: кривая корреляции демонстрирует достоверную обратную зависимость

Примечание. ИКД — измеряемый коэффициент диффузии.

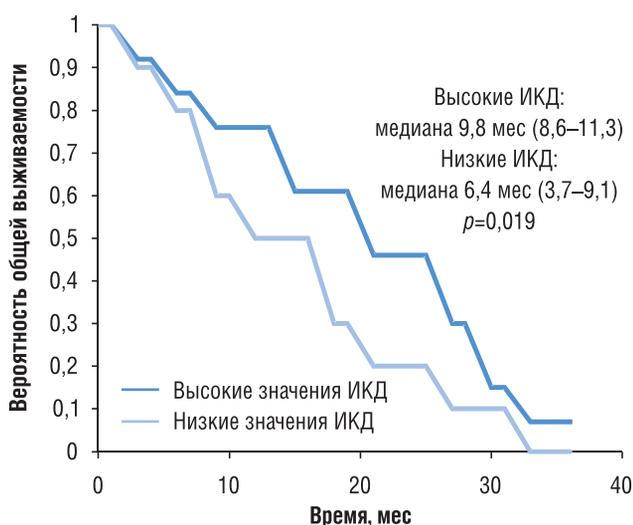


Рис. 6. Кривые Каплана–Мейера для низких и высоких значений ИКД показывают общую выживаемость пациентов с метастатическими опухолями головного мозга

Примечание. ИКД — измеряемый коэффициент диффузии.

ного мозга показано, что низкие значения ИКД ассоциированы с высокой клеточной плотностью и низкой дифференцировкой опухолей [7, 8]. Нами не обнаружено достоверной корреляционной зависимости между значениями ИКД и клеточной плотностью метастазов в головной мозг. Мы считаем, что полученные низкие значения ИКД для некоторых опухолей связаны с особенностями их биологии и микроструктурного строения. Богатая коллагеновыми и ретикулиновыми волокнами опухолевая строма значительно ограничивает диффузию свободных молекул воды, что в конечном итоге находит свое отражение в низких значениях ИКД. Этого же мнения придерживаются и некоторые исследователи [30, 31].

Как известно, ядерный белок Ki-67 определяет степень пролиферативной активности клеток, что является важнейшим моментом в определении агрессивности опухоли. Максимальный уровень белка Ki-67 в клетке регистрируется в митозе. В G1-фазе клеточного цикла про-

исходит падение его уровня, сменяющееся постепенным возрастанием в ходе фазы S и достижением максимума к следующему митозу [32]. Для многих злокачественных опухолей высокий индекс пролиферативной активности Ki-67 связан с агрессивностью опухоли и, как правило, неблагоприятным прогнозом для выживаемости пациентов [33]. В международных базах данных PubMed, Medline и eLIBRARY нами найдены единичные сообщения, посвященные изучению зависимости между значениями ИКД и индексом Ki-67 различных экстра- и интракраниальных опухолей. Так, в работе G. Zheng с соавт. [34] отмечено, что у пациентов с диагнозом рака желудка имеет место достоверная отрицательная корреляционная зависимость между значениями ИКД и индексом Ki-67. Z. Huang с соавт. [35] подтверждают указанные данные в отношении пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой. Для опухолей головного мозга зависимость между значениями ИКД и индексом Ki-67 является неоднозначной. К примеру, некоторые авторы [9, 10] в своих исследованиях отмечают статистически значимую корреляцию между значениями ИКД и индексом Ki-67 как в группе менингиом G=I, так и в группах менингиом G=II и G=III. С другой стороны, в сообщении D. Ginat с соавт. [11] достоверной корреляции между ИКД и индексом Ki-67 для менингиом G=III не отмечено. Z. Fatima с соавт. [12] в своем наблюдении также не отметили достоверной корреляции между значением ИКД и индексом Ki-67. Подобных исследований в отношении метастатических опухолей головного мозга нами не найдено. Согласно собственным данным, для метастазов в головной мозг отмечена достоверная обратная корреляционная зависимость между значениями ИКД и индексом пролиферативной активности Ki-67 ($r=-0,774; p=0,014$).

На сегодняшний день известно несколько работ, посвященных изучению зависимости между значениями ИКД злокачественных опухолей и общей выживаемостью пациентов. Так, в клинической серии L. Curvo-Semedo с соавт. [22] показано, что низкие значения ИКД при колоректальном раке ассоциированы с высокой степенью агрессивности опухоли, плохим ответом пациентов на проводимую терапию и низкой общей выживаемостью. Аналогичные результаты получены при исследовании данных параметров у пациентов с диагнозом рака легкого

и молочной железы [20, 21]. В случае ряда опухолей головного мозга (лимфомы и макроаденомы гипофиза) полученные высокие значения ИКД являются неблагоприятными прогностическими факторами для выживаемости данной группы пациентов [13, 14]. С другой стороны, в исследовании R. Zakaria с соавт. [15] наглядно продемонстрировано, что при значении ИКД метастатических опухолей головного мозга более 919,4 мм²/сек отмечается достоверное увеличение общей выживаемости пациентов — 9,7 мес (95% ДИ 8,5–11,0) против 6,2 мес (95% ДИ 3,7–8,8; $p=0,049$). С.-С. Lee с соавт. [16] в своей клинической серии из 42 пациентов с метастазами в головной мозг не получили достоверных различий в общей выживаемости больных с различными значениями ИКД после проведенных курсов радиохимиотерапии. В нашем исследовании выявлена статистически значимая корреляционная зависимость между значениями ИКД и общей выживаемостью пациентов с метастазами в головной мозг, что согласуется с некоторыми литературными данными. При этом общая выживаемость пациентов со значением ИКД опухоли более 947,2 мм²/сек составила 9,8 мес (95% ДИ 8,6–11,3), а при ИКД метастазов в головной мозг менее 947,2 мм²/сек — 6,4 мес (95% ДИ 3,7–9,1).

Ограничения исследования

Настоящее исследование имеет ряд ограничений, которые необходимо обозначить. Исследование имеет ретроспективный характер и основано на данных, полученных в одном центре с малым количеством исследуемых пациентов, что не могло не отразиться на мощности статистического анализа. Кроме того, значения ИКД, полученные

в нашей клинической серии, сложно сравнивать с результатами других исследований, что связано с использованием различных аппаратов МРТ и программ для подсчета ИКД.

Заключение

Проведенное исследование продемонстрировало достоверную корреляционную зависимость между индексом пролиферативной активности Ki-67 и ИКД метастатических опухолей головного мозга. Кроме того, ИКД является статистически значимым прогностическим фактором для общей выживаемости пациентов с метастазами в головной мозг. Безусловно, требуется проведение дальнейших крупных мультицентровых исследований на большем количестве пациентов с исследованием различных гистологических типов метастазов в головной мозг, а также применение унифицированных протоколов подсчета ИКД для данной группы опухолей головного мозга.

Источник финансирования

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 14-32-00006).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Caffo M, Barresi V, Caruso G, et al. Innovative therapeutic strategies in the treatment of brain metastases. *Int J Mol Sci*. 2013;14(1):2135–2174. doi: 10.3390/ijms14012135.
- Бывальцев В.А., Сороковиков В.А., Панасенков С.Ю., и др. Редкий случай интравентрикулярного рецидива метастаза меланомы, удаленного с использованием эндоскопической ассистенции // *Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко*. — 2010. — №2 — С. 29–33. [Byvaltsev VA, Sorokovikov VA, Panasenkov SYu, et al. A rare case of intraventricular recurrence of melanoma metastasis treated by endoscope-assisted surgery. *Zh Vopr Neurokhir Im NN Burdenko*. 2010;(2):29–32. (In Russ).]
- Kyritsis AP, Markoula S, Levin VA. A systematic approach to the management of patients with brain metastases of known or unknown primary site. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2012;69(1):1–13. doi: 10.1007/s00280-011-1775-9.
- El-Habashy SE, Nazief AM, Adkins CE, et al. Novel treatment strategies for brain tumors and metastases. *Pharm Pat Anal*. 2014;3(3):279–296. doi: 10.4155/ppa.14.19.
- Egelhoff JC, Ross JS, Modic MT, et al. MR imaging of metastatic GI adenocarcinoma in brain. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1992;13(4):1221–1224.
- Carrier DA, Mawad ME, Kirkpatrick JB, Schmid MF. Metastatic adenocarcinoma to the brain: MR with pathologic correlation. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1994;15(1):155–159.
- Duygulu G, Ovali GY, Calli C, et al. Intracerebral metastasis showing restricted diffusion: correlation with histopathologic findings. *Eur J Radiol*. 2010;74(1):117–120. doi: 10.1016/j.ejrad.2009.03.004.
- Hayashida Y, Hirai T, Morishita S, et al. Diffusion-weighted imaging of metastatic brain tumors: comparison with histologic type and tumor cellularity. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2006;27(7):1419–1425.
- Tang Y, Dundamadappa SK, Thangasamy S, et al. Correlation of apparent diffusion coefficient with Ki-67 proliferation index in grading meningioma. *AJR Am J Roentgenol*. 2014;202(6):1303–1308. doi: 10.2214/AJR.13.11637.
- Бывальцев В.А., Степанов И.А., Кичигин А.И., Антипина С.Л. Возможности диффузионно-взвешенной МРТ в дифференциальной диагностике степени злокачественности менингиом головного мозга // *Сибирский онкологический журнал*. — 2017. — Т.16. — №3 — С. 19–26. [Byvaltsev VA, Stepanov IA, Kichigin AI, Antipina SL. Diffusion-weighted MRI in the differential diagnosis of brain meningiomas. *Siberian journal of oncology*. 2017;16(3):19–26. (In Russ).] doi: 10.21294/1814-4861-2017-16-3-19-26.
- Ginat DT, Mangla R, Yeane G, Wang HZ. Correlation of diffusion and perfusion MRI with Ki-67 in high-grade meningiomas. *AJR Am J Roentgenol*. 2010;195(6):1391–1395. doi: 10.2214/AJR.10.4531.
- Fatima Z, Motosugi U, Waqar AB, et al. Associations among q-space MRI, diffusion-weighted MRI and histopathological parameters in meningiomas. *Eur Radiol*. 2013;23(8):2258–2263. doi: 10.1007/s00330-013-2823-0.
- Boxerman JL, Rogg JM, Donahue JE, et al. Preoperative MRI evaluation of pituitary macroadenoma: imaging features predictive of successful transsphenoidal surgery. *AJR Am J Roentgenol*. 2010;195(3):720–728. doi: 10.2214/Ajr.09.4128.
- Barajas RF Jr, Rubenstein JL, Chang JS, et al. Diffusion-weighted MR imaging derived apparent diffusion coefficient is predictive of clinical outcome in primary central nervous system lymphoma. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2010;31(1):60–66. doi: 10.3174/ajnr.A1750.
- Zakaria R, Das K, Radon M, et al. Diffusion-weighted MRI characteristics of the cerebral metastasis to brain boundary predicts patient outcomes. *BMC Med Imaging*. 2014;14:26. doi: 10.1186/1471-2342-14-26.
- Lee CC, Wintermark M, Xu ZY, et al. Application of diffusion-weighted magnetic resonance imaging to predict the intracranial metastatic tumor response to gamma knife radiosurgery. *J Neurooncol*. 2014;118(2):351–361. doi: 10.1007/s11060-014-1439-9.

17. Тоноян А.С., Пронин И.Н., Пицхелаури Д.И., и др. Диффузионно-куртозисная МРТ в диагностике злокачественности глиом головного мозга // *Медицинская визуализация*. — 2015. — №1 — С. 7–18. [Tonoyan AS, Pronin IN, Pitshkelauri DI, et al. Diffusion kurtosis imaging in diagnostics of brain glioma malignancy. *Meditsinskaya vizualizatsiya*. 2015;(1):7–18. (In Russ).]
18. Byvaltsev VA, Stepanov IA, Kalinin AA, Shashkov KV. Diffusion-weighted magnetic resonance tomography in the diagnosis of intervertebral disk degeneration. *Biomed Eng (NY)*. 2016;50(4):253–256. doi: 10.1007/s10527-016-9632-0.
19. Пронин И.Н., Тоноян А.С., Шульц Е.И., и др. Диффузионно-куртозисная МРТ в оценке Ki-67/MIB-1 LI глиальных опухолей // *Медицинская визуализация*. — 2016. — №5 — С. 6–17. [Pronin IN, Tonoyan AS, Shults EI, et al. Diffusion kurtosis MRI in assesment of Ki-67/MIB-1 LI in gliomas. *Meditsinskaya vizualizatsiya*. 2016;(5):6–17. (In Russ).]
20. Nakajo M, Kajiya Y, Kaneko T, et al. FDG PET/CT and diffusion-weighted imaging for breast cancer: prognostic value of maximum standardized uptake values and apparent diffusion coefficient values of the primary lesion. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2010;37(11):2011–2020. doi: 10.1007/s00259-010-1529-7.
21. Ohno Y, Koyama H, Yoshikawa T, et al. Diffusion-weighted MRI versus 18F-FDG PET/CT: performance as predictors of tumor treatment response and patient survival in patients with non-small cell lung cancer receiving chemoradiotherapy. *AJR Am J Roentgenol*. 2012;198(1):75–82. doi: 10.2214/AJR.11.6525.
22. Curvo-Semedo L, Lambregts DMJ, Maas M, et al. Diffusion-weighted MRI in rectal cancer: apparent diffusion coefficient as a potential noninvasive marker of tumor aggressiveness. *J Magn Reson Imaging*. 2012;35(6):1365–1371. doi: 10.1002/jmri.23589.
23. Teixidor P, Arráz M, Villalba G, et al. Safety and efficacy of 5-aminolevulinic acid for high grade glioma in usual clinical practice: a prospective cohort study. *PLoS One*. 2016;11(2):e0149244. doi: 10.1371/journal.pone.0149244.
24. Abercrombie M. Estimation of nuclear population from microtome sections. *Anat Rec*. 1946;94:239–247. doi: 10.1002/ar.1090940210.
25. Cox DR, Snell EJ. *Analysis of binary data*. 2nd ed. London, UK: Chapman & Hall; 1989.
26. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc*. 1958;53(282):457–481. doi: 10.2307/2281868.
27. Ramli N, Khairy AM, Seow P, et al. Novel application of chemical shift gradient echo in- and opposed-phase sequences in 3 T MRI for the detection of H-MRS visible lipids and grading of glioma. *European Radiology*. 2016;26:2019–2029. doi: 10.1007/s00330-015-4045-0.
28. Sugahara T, Korogi Y, Kochi M, et al. Usefulness of diffusion-weighted MRI with echo-planar technique in the evaluation of cellularity in gliomas. *J Magn Reson Imaging*. 1999;9(1):53–60. doi: 10.1002/(SICI)1522-2586(199901)9:1<53::AID-JMRI7>3.0.CO;2-2.
29. Fan GG, Deng QL, Wu ZH, Guo QY. Usefulness of diffusion/perfusion-weighted MRI in patients with non-enhancing supratentorial brain gliomas: a valuable tool to predict tumour grading? *Br J Radiol*. 2006;79(944):652–658. doi: 10.1259/bjr/25349497.
30. Langley RR, Fidler IJ. The seed and soil hypothesis revisited — the role of tumor-stroma interactions in metastasis to different organs. *Int J Cancer*. 2011;128(11):2527–2535. doi: 10.1002/ijc.26031.
31. Moorman AM, Vink R, Heijmans HJ, et al. The prognostic value of tumour-stroma ratio in triple-negative breast cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2012;38(4):307–313. doi: 10.1016/j.ejso.2012.01.002.
32. Inwald EC, Klinkhammer-Schalke M, Hofstadter F, et al. Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: results of a large population-based cohort of a cancer registry. *Breast Cancer Res Treat*. 2013;139(2):539–552. doi: 10.1007/s10549-013-2560-8.
33. Rosell R, Tian Y, Ma Z, et al. Clinicopathological and prognostic value of Ki-67 expression in bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2016;11(7):e0158891. doi: 10.1371/journal.pone.0158891.
34. Zheng G, Cheng X, Wang L, et al. [Correlation of MRI apparent diffusion coefficient with molecular marker Ki-67 in gastric cancer. (In Chinese).] *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi*. 2017;20(7):803–808.
35. Huang ZQ, Xu XQ, Meng XJ, et al. Correlations between ADC values and molecular markers of Ki-67 and HIF-1 alpha in hepatocellular carcinoma. *Eur J Radiol*. 2015;84(12):2464–2469. doi: 10.1016/j.ejrad.2015.09.013.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Бывальцев Вадим Анатольевич, доктор медицинских наук, главный нейрохирург Дирекции здравоохранения ОАО «РЖД»; руководитель Центра нейрохирургии Дорожной клинической больницы на ст. Иркутск-Пассажирский ОАО «РЖД-Медицина»; заведующий курсом нейрохирургии Иркутского государственного медицинского университета; заведующий научно-клиническим отделом нейрохирургии и ортопедии Иркутского научного центра хирургии и травматологии; профессор кафедры травматологии, ортопедии и нейрохирургии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования; ведущий научный сотрудник Института ядерной физики им. Г.И. Будкера

Адрес: 664082, Иркутск, ул. Боткина, д. 10, тел.: +7 (3952) 63-85-28, e-mail: byval75vadim@yandex.ru, SPIN-код: 5996-6477, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4349-7101>

Степанов Иван Андреевич, аспирант курса нейрохирургии Иркутского государственного медицинского университета
Адрес: 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, д. 14, тел.: +7 (3952) 63-88-30, e-mail: edmoilers@mail.ru, SPIN-код: 5485-5316, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9039-9147>

Кичигин Александр Иванович, аспирант курса нейрохирургии Иркутского медицинского университета, стажер-исследователь Института ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН
Адрес: 664003, Иркутск, ул. Боткина, д. 10, тел.: +7 (3952) 63-85-78, e-mail: sam@211.ru, SPIN-код: 4321-2422, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8763-2905>

Каныгин Владимир Владимирович, врач-нейрохирург, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий лабораторией медико-биологических проблем бор-нейтронзахватной терапии Новосибирского государственного университета
Адрес: 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, д. 2, тел.: +7 (3833) 63-43-33, e-mail: kanigin@mail.ru, SPIN-код: 4211-2417, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3533-6076>

Ступак Вячеслав Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, руководитель клиники нейрохирургии Новосибирского научно-исследовательского института травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна
Адрес: 630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, д. 17, тел.: +7 (3833) 63-31-31, e-mail: vstupak@niito.ru, SPIN-код: 4111-2527, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6074-6248>

Циркулирующие опухолевые клетки: клиническое значение при раке молочной железы (обзор литературы)

Многие исследователи рассматривают циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) в качестве одного из вариантов материала для «жидкостной биопсии в реальном времени». В данном обзоре обсуждаются клиническое значение ЦОК при раке молочной железы и, в частности, их прогностическая и предиктивная значимость при ранних стадиях и при метастатическом раке молочной железы, а также патогенетическая роль ЦОК в венозной тромбоземболии. В настоящее время существует проблема широкого клинического использования детекции ЦОК в крови онкологических больных из-за отсутствия стандартизированных методов их обнаружения. Технологии, одобренные FDA, такие как CellSearch (Veridex, Warren, NJ, США), RCCT (Janssen Diagnostics, США), используют для детекции ЦОК в крови антитела к EpCam или к цитоцератинам 8, 18 и 19. Недостатком данных технологий является отсутствие в панели маркеров стволовости и эпителиально-мезенхимального перехода опухолевых клеток и их переходных состояний, а также маркеров, позволяющих выявлять атипичные субпопуляции ЦОК. Оценка различных характеристик ЦОК является перспективной для изучения новых биомаркеров и мишеней для таргетной терапии. Особое клиническое значение имеет определение гетерогенности ЦОК и, в частности, стволовой субпопуляции данных клеток, клеток с признаками эпителиально-мезенхимального перехода, без признаков стволовости и с сочетанием этих признаков. Следует отметить, что наличие опухолевых клеток в циркуляции и в местах метастазирования не является достаточным условием для развития макрометастаза. Процесс метастазирования определяется не только свойствами опухолевых клеток, но и условиями среды («почвы»), которые обеспечивают их выживание и пролиферацию в отдаленных органах и тканях.

Ключевые слова: циркулирующие опухолевые клетки, стволовые опухолевые клетки, рак молочной железы, жидкостная биопсия, венозная тромбоземболия, опухолевая гетерогенность.

(Для цитирования: Кайгородова Е.В. Циркулирующие опухолевые клетки: клиническое значение при раке молочной железы (обзор литературы). Вестник РАМН. 2017;72 (6):450–457. doi: 10.15690/vramn833)

450

Актуальность

Принято считать, что циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) представляют собой популяцию клеток опухоли, которые попали в кровеносное русло. Увеличивающийся объем данных свидетельствует о том,

что небольшая популяция ЦОК имеет характеристики стволовых опухолевых клеток [1–3]. Эти стволовые циркулирующие опухолевые клетки могут обладать специфическими особенностями, позволяющими им выживать в кровотоке и вызывать метастатические поражения [2].

Е.В. Kaigorodova^{1, 2}

¹ Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

² Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Circulating Tumor Cells: Clinical Significance in Breast Cancer (Review)

Circulating tumor cells (CTCs) constitute a heterogeneous population. Some tumor cells are cancer stem cells (CSCs), while others are in the process of the epithelial-mesenchymal transition (EMT); however, most CTCs are neither stem cells nor participants in the EMT. There is increasing interest in the study of the molecular biological characteristics of CTCs. Many researchers consider circulating tumor cells (CTC) as one of the variants of «liquid biopsy in real time». In this review, we discuss the clinical significance of CTCs in breast cancer and in particular the prognostic and predictive significance both in early stage and metastatic breast cancer, as well as the pathogenetic role of CTCs in venous thromboembolism. Evaluation of various characteristics of CTCs is promising for the study of new biomarkers and targets for targeted therapies. The clinical importance involves the determination of the heterogeneity of the CTC and in particular of the stem subpopulation of these cells, cells with signs of EMT, with no evidence of stem cells, and with a combination of these features.

Key words: circulating tumor cells (CTCs), cancer stem cells (CSCs), breast cancer, liquid biopsy in real time, venous thromboembolism, tumor heterogeneity.

(For citation: Kaigorodova EV. Circulating Tumor Cells: Clinical Significance in Breast Cancer (Review). *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017;72 (6):450–457. doi: 10.15690/vramn833)

Таблица 1. Маркеры стволовости и эпителиально-мезенхимального перехода опухолевых клеток рака молочной железы

Маркеры стволовости		Маркеры EMT	
CD44+CD24-/low	[7–12]	TWIST1	[13, 14]
ALDH1	[11, 15]	Akt2	[16]
ANTXR1	[17]	PI3Ka	[16]
CD133	[18, 19]	Vimentin	[14]
Bmi1	[19]	N-cadherin	[20]
CD44	[21]	SNAIL1	[16]
-	-	ZEB1	[16]
-	-	TG2	[16]
-	-	Fibronectin	[16]
-	-	SLUG	[13, 16]

Примечание. EMT — эпителиально-мезенхимальный переход.

В настоящее время существуют две гипотезы в отношении происхождения стволовых ЦОК. Первая предполагает, что стволовые ЦОК образуются уже в первичной опухоли [4], вторая — что они могут на самом деле возникать из диссеминированных опухолевых клеток [5].

Популяции стволовых опухолевых клеток имеют ряд молекулярных маркеров, к которым относятся антигены CD44, CD24, CD133, CD166, фермент ALDH1 (альдегиддегидрогеназа 1), белки семейства ABC-транспортёров (ABCG2, ABCB5), адгезивная молекула эпителиоцитов EpCam (Epithelial cell adhesion molecule), корецептор CXCR4, белок Nestin [6].

В табл. 1 представлены маркеры стволовости и эпителиально-мезенхимального перехода, определяемые в опухолевых клетках рака молочной железы.

Известно, что популяция ЦОК гетерогенна (рис.). Наличие ЦОК не всегда сопровождается формированием метастазов, по всей видимости, потому что не все опухолевые клетки, попавшие в кровеносное русло, обладают достаточными для формирования метастаза свойствами. Часть опухолевых клеток является стволовыми (Cancer stem cells), часть находится в состоянии эпителиально-ме-

зэнхимального перехода (Epithelial-mesenchymal transition, EMT), и большая часть ЦОК не имеет признаков стволовости и EMT [3, 14]. Стволовые ЦОК могут быть в состоянии EMT [3, 14, 22], однако нет четких характеристик указанных субпопуляций, позволяющих судить об инвазивных свойствах и способности этих клеток образовывать метастазы. Предполагается, что именно стволовые опухолевые клетки являются основой для развития метастазов, не исключено также, что для развития метастазов в отдаленных органах важно сочетание свойств стволовости и EMT в одних и тех же клетках [23].

Отдельные исследователи рассматривают ЦОК в качестве нового многообещающего диагностического маркера, получившего название жидкостной биопсии в реальном времени [24, 25].

В настоящее время существуют различные подходы и методы для определения ЦОК в крови онкологических больных (на основе определения маркеров EpCam, цитокератинов, размера опухолевых клеток и т.п.), но, к сожалению, до сих пор нет унифицированных методов и стандартов для широкого применения их в клинической практике. В зависимости от используемых маркеров для детекции ЦОК отмечаются значительные колебания в их количестве при определении на одних и тех же стадиях развития опухоли [7, 24].

В процессе эпителиально-мезенхимального перехода клетки меняют свой эпителиальный фенотип (частично или полностью) на мезенхимальный [20]. Этот процесс, наблюдаемый в органогенезе и при заживлении ран, интенсивно изучается применительно к ЦОК. Высказано предположение, что эпителиально-мезенхимальный переход сочетается с агрессивностью рака и может повышать способность клеток к миграции [24]. Показано, что в RAS- или HER2-гиперэкспрессирующих опухолевых клетках субпопуляция с признаком стволовости CD44+/CD24- имеет повышенный потенциал к EMT [26, 27].

Также установлено, что в опухолевых клетках рака молочной железы (PMЖ) CD44+/CD24-/low определяется субтип с фенотипом claudin-low, для которого характерна экспрессия многих EMT-ассоциированных генов, таких как *FoxC2*, *Zeb* и *N-cadherin* [28, 29].

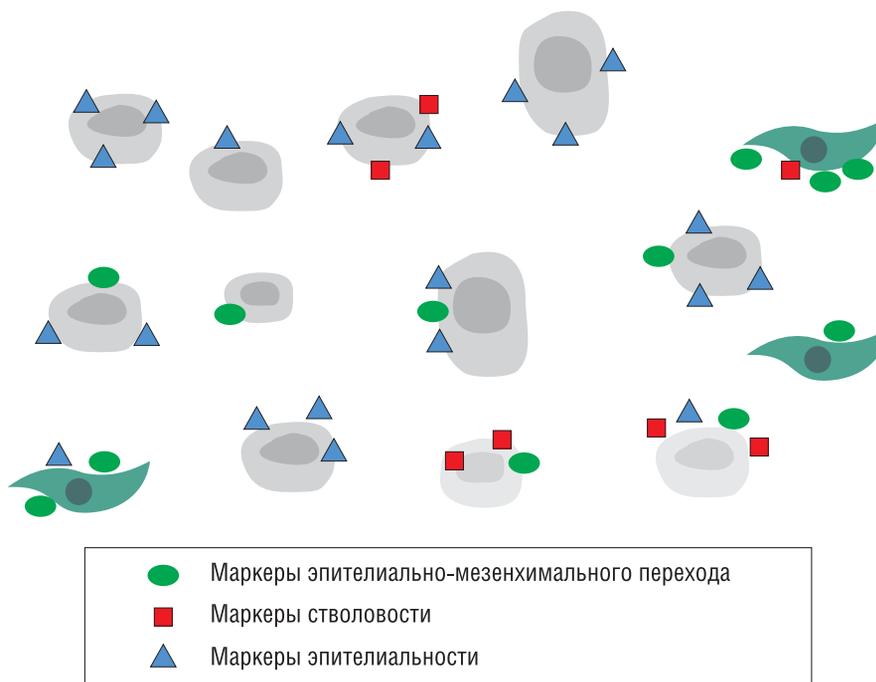


Рис. Гетерогенность циркулирующих опухолевых клеток

Экспрессия виментина — одного из маркеров мезенхимности — свидетельствует о неблагоприятном прогнозе безрецидивной и общей выживаемости больных с трижды негативным* РМЖ [30].

Важно отметить, что индукторы ЕМТ могут обуславливать стволовые характеристики клеток [31, 32]. S. Mani и соавт. впервые показали, что ЕМТ может приводить к образованию популяции клеток с онкогенными и метастатическими свойствами [32].

Следует отметить, что ЕМТ возникает не спонтанно, а регулируется сигналами микроокружения. Контроль пластичности ЕМТ, скорее всего, зависит от нормальных клеток микроокружения опухоли (микроокружение опухоли — это клетки и структуры, простые химические вещества и сложные макромолекулы, окружающие опухолевые клетки), в том числе опухоляссоциированных клеток стромы, таких как клетки иммунной системы, фибробласты и эндотелиальные клетки [33].

В целом, существует острая необходимость в комплексных исследованиях гетерогенности ЦОК и разработке более надежных методов их обнаружения, которые позволят выделять отдельные пулы ЦОК и выбирать для исследования конкретные субпопуляции.

Связь между циркулирующими и диссеминированными опухолевыми клетками

Исследования показали, что показатели конкордантности синхронного определения ЦОК в крови и диссеминированных опухолевых клеток в костном мозге у больных РМЖ достоверно коррелируют между собой — от 66 до 94% [34, 35].

Диссеминированные опухолевые клетки и микрометастазы могут многие годы оставаться в состоянии покоя (dormancy) после полного удаления первичной опухоли, до того как метастазы проявят свой рост [36]. Диссеминированные опухолевые клетки, происходящие из таких метастазов, могут циркулировать в кровотоке и колонизировать другие органы, приводя к образованию вторичных метастазов [36].

В экспериментах на животных показано, что диссеминированные опухолевые клетки, преобразованные в ЦОК, могут возвращаться в первичную опухоль (это называют самоосеменением опухоли, или перекрестным осеменением), вызывая образование агрессивных вариантов метастазов [37]. Такие ЦОК обладают потенциалом для развития локальных рецидивов [24, 37], хотя эта гипотеза нуждается в подтверждении у больных раком.

При раке молочной железы была установлена прямая связь между маркерами ЕМТ в первичных и диссеминированных опухолевых клетках костного мозга и агрессивным клиническим поведением опухоли [38, 39].

C. Vock и соавт. показали гетерогенность экспрессии маркеров стволовости (CD133) и ЕМТ (N-cadherin) на ЦОК, обнаруженных в образцах крови 26 пациенток с метастатическим РМЖ [40]. M. Meigo и соавт. в своих исследованиях обнаружили ЦОК с признаками ЕМТ у 26% пациентов с метастатическим раком молочной железы: высокий уровень экспрессии маркеров ЕМТ в этих слу-

чаях предсказывал короткий период выживаемости без прогрессирования [13].

Клетки, подвергающиеся ЕМТ, были обнаружены в крови 7% пациентов с негативным статусом ЦОК [7]. Аналогичные выводы для первичного рака молочной железы были представлены S. Kasimir-Bauer и соавт., показавшими наличие ЕМТ маркеров у 72% ЦОК-положительных и 18% ЦОК-отрицательных пациентов [8]. Эти данные свидетельствуют о том, что в дополнение к ЦОК, экспрессирующим эпителиальные антигены, может существовать фракция ЦОК с исключительно мезенхимальным фенотипом, и, таким образом, они остаются незаметными для анализов, основанных на эпителиальных маркерах этих клеток.

Процесс, обратный ЕМТ, называемый мезенхимально-эпителиальным переходом (МЕТ), как предполагают, играет фундаментальную роль в закреплении ЦОК в удаленном органе и образовании метастазов в новом микроокружении [41].

В связи с вышесказанным, имеется потребность в оптимизации методов обнаружения ЦОК, лишенных эпителиальных признаков в процессе выраженного ЕМТ, путем поиска маркеров, которые связаны с «эпителиальным прошлым» опухолевых клеток и не подавляются при ЕМТ.

Прогностическая роль ЦОК при ранних стадиях рака молочной железы

Показано, что даже локализованные опухоли без клинически видимых метастазов вызывают образование ЦОК [3, 42].

Клиническое значение определения ЦОК при раннем раке молочной железы противоречиво. Одни ученые обнаруживают связь наличия ЦОК в крови больных ранней формой РМЖ со снижением общей и безметастатической выживаемости, другие авторы не находят такой связи (табл. 2). В предоперационном периоде ЦОК обнаруживаются с частотой 5–29% [54, 55].

G. Kallergi и соавт. при исследовании ранних и метастатических форм РМЖ показали, что среди больных ранним РМЖ ЕМТ маркеры Vimentin и TWIST1 (Twist-related protein 1) встречались в 77 и 73% цитокератинположительных ЦОК, а у пациентов с метастатическим РМЖ оба варианта цитокератин+ЦОК встречались в 100% случаев [14]. Эти данные подтверждают значимость эпителиально-мезенхимального перехода опухолевых клеток в процессе метастазирования.

Показано, что наличие ЦОК служит предиктором раннего рецидива и снижения общей выживаемости на ранних стадиях рака молочной железы [55]. K. Rachmann и соавт. показали, что у пациентов с ранними стадиями рака молочной железы увеличение уровня ЦОК при адьювантной химиотерапии является предиктором рецидива [56].

При использовании лейкофереза в сочетании с тестом на циркулирующие опухолевые клетки (Circulating Tumor Cell Test, CellSearch), у 90% пациентов с ранними стадиями РМЖ уровень ЦОК коррелировал со стадией рака [57]: чем выше был уровень ЦОК в крови больных РМЖ, тем выше была стадия рака.

F. Bidard и соавт. показали, что у пациентов, перенесших неoadьювантную химиотерапию, обнаружение ЦОК является независимым прогностическим фактором снижения безметастатической и общей выживаемости [58].

* Трижды негативный РМЖ считается агрессивным подтипом, на долю которого приходится 10–15% всех случаев рака молочной железы. Термин «трижды негативный» означает, что опухоль в минимальном количестве продуцирует 3 рецептора — эстроген, прогестерон и эпидермальный фактор роста.

Таблица 2. Прогностическое значение циркулирующих опухолевых клеток при раке молочной железы

Показатель и наличие значимости с уровнем ЦОК		Ранние формы РМЖ		Метастатический РМЖ	
		Объем выборки (n), молекулярный тип РМЖ	Источник	Объем выборки (n), молекулярный тип РМЖ	Источник
Безметастатическая выживаемость	Есть значимости	n=57, ТНР	[43]	n=177, все типы	[44]
		n=52, HER2-положительный РМЖ	[45]	n=185, все типы	[46]
		n=115, все типы	[47]	n=468, все типы	[48]
		n=63, все молекулярные типы РМЖ	[49]	n=236, все типы	[50]
		n=115, все типы			
	Нет значимости	n=95, все молекулярные типы РМЖ	[51]	n=65, все молекулярные типы РМЖ	[52]
		n=77, все молекулярные типы РМЖ	[53]	-	-
Общая выживаемость	Есть значимости	n=57, ТНР	[43]	n=177, все молекулярные типы РМЖ	[44]
		n=52, HER2-положительный РМЖ	[45]	n=185, все молекулярные типы РМЖ	[46]
		n=115, все молекулярные типы РМЖ	[47]	n=468, все молекулярные типы РМЖ	[48]
		-	-	n=236, все молекулярные типы РМЖ	[50]
	Нет значимости	n=77, все молекулярные типы РМЖ	[53]	n=65, все молекулярные типы РМЖ	[52]
		n=63, все молекулярные типы РМЖ	[49]	-	-

Примечание. ЦОК — циркулирующие опухолевые клетки, РМЖ — рак молочной железы, ТНР — трижды негативный рак молочной железы.

Исследования с использованием технологии CellSearch, одобренной Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA, США), не выявили никакой связи наличия ЦОК с ответом на терапию [47, 59, 60], что является достаточно необычным результатом. Так, логично предположить, что при наличии ответа на неoadъювантную химиотерапию уровень ЦОК в крови должен уменьшаться и, наоборот, увеличиваться или не изменяться при отсутствии ответа на нее. Следует отметить, что система CellSearch не учитывает гетерогенность ЦОК, она не позволяет выделять отдельные пулы ЦОК с признаками ЕМТ или стволовые циркулирующие опухолевые клетки.

В исследованиях, проведенных с использованием цитологической системы детекции ЦОК Maintrack, показаны высокие концентрации ЦОК в крови больных неметастатическим РМЖ (до 100 ЦОК в мм³ крови), которые соизмеримы с количеством моноцитов. Данные исследования продемонстрировали, что снижение уровня ЦОК при неoadъювантной химиотерапии были связаны с полным патологическим ответом [56].

Результаты исследования, полученные при адъювантной химиотерапии РМЖ, также свидетельствуют о значимой прогностической роли определения ЦОК с помощью CellSearch. Так, мультицентровое исследование в Германии (SUCCESS) с участием более чем 2000 пациентов, у которых проводилась адъювантная химиотерапия, показало, что 21,5% случаев выявления ЦОК до начала лечения (у 435 из 2026 участников) были связаны со статусом лимфатических узлов (у 136 из 692, 19,7%, и у 299 из 1334, 22,4%, при отсутствии и наличии лимфогенных метастазов соответственно). С другими характеристиками опухоли связи не обнаружено. По завершении адъювантной химиотерапии в 22,1% случаев (у 330 из 1493) были выявлены уровни ЦОК, аналогичные их ис-

ходному уровню до лечения [61]. ЦОК-позитивность до химиотерапии была предложена в качестве независимого прогностического маркера для общей выживаемости при данном заболевании. В другом исследовании с участием 304 больных неметастатическим РМЖ уровень обнаружения ЦОК составил 24%, и также была показана значимая связь ЦОК-позитивности со снижением уровня общей выживаемости и ранним рецидивированием [55].

Важно отметить, что значение уровня ЦОК после терапии как маркера оценки индивидуального риска рецидивирования и смертности больных РМЖ не уступает обычным прогностическим факторам, применяемым в настоящее время (размер опухоли, стадия, распространение, вовлеченность лимфатических узлов). Уровень ЦОК имеет независимое прогностическое значение как до, так и после адъювантной химиотерапии, что было показано в большом проспективном исследовании пациентов с первичным раком молочной железы [61].

Результаты исследования J. Pierga и соавт. с участием 52 пациенток с HER2-положительным РМЖ показали 68% уровень трехлетней безметастатической выживаемости, который был тесно связан с уровнем ЦОК до начала терапии. ЦОК-отрицательные пациентки до начала неoadъювантной химиотерапии имели высокую трехлетнюю безметастатическую выживаемость. Изменение уровня ЦОК во время лечения не имело прогностического значения [45].

Следует заметить, что работ по изучению ЦОК при ранних формах РМЖ значительно меньше, чем число аналогичных исследований при метастатических формах РМЖ, при этом большинство из них основаны на оценке общего количества ЦОК без учета их гетерогенности. Факт обнаружения ЦОК при ранних формах РМЖ свидетельствует в пользу гипотезы, что наличие опухолевых клеток в циркуляции и в местах метастазирования не является достаточным условием для развития макрометастаза.

Прогностическая роль ЦОК при метастатическом раке молочной железы

Большие многоцентровые проспективные исследования демонстрируют, что оценка ЦОК при метастатическом раке молочной железы может служить независимым предиктором безметастатической и общей выживаемости [46, 48]. В исследовании М. Cristofanilli и соавт. использовали технологию CellSearch у 177 пациентов: оценивали тип терапии, ее линию (первую или последующую), время появления метастазов, рецепторный статус (ER и HER2) и ЦОК-позитивность: последняя была самым сильным предиктором безметастатической и общей выживаемости. Количество ЦОК >5 в 7,5 мл крови оказалось предиктором неблагоприятного прогноза [44].

Проспективное многоцентровое исследование с участием 468 пациенток с метастатическим раком молочной железы показало, что ЦОК-позитивность наблюдается достоверно чаще у ER-положительных, чем ER-негативных больных. ЦОК-позитивность отмечалась в 46% ER-положительных, 37% Her2-положительных и 36% случаев трижды негативного РМЖ [48].

Пациенты с одновременными метастазами в кости и висцеральные органы имели более высокий уровень ЦОК по сравнению с теми, у которых наблюдались единичные метастазы только в кости или только в висцеральные органы [62].

ЦОК также может играть определенную роль в ранней прогрессии. Так, М. Liu и соавт. при помощи рентгенографии показали, что у пациенток с метастатическим РМЖ количество ЦОК связано с прогрессированием заболевания: повышение уровня ЦОК предсказывало прогрессирование заболевания за 7–9 нед до появления его визуальных признаков [62].

Номограммы, которые сочетают в себе уровень ЦОК с другими прогностическими переменными, такими как возраст, опухолевый фенотип, наличие висцеральных метастазов и общее состояние, предлагаются для оценки выживаемости пациентов с метастатическим РМЖ [50].

Количество ЦОК может иметь прогностическое значение при оценке ответа на лечение. Например, при метастатическом раке молочной железы ЦОК являются сильным прогностическим индикатором у пациентов, получающих гормоно- или химиотерапию: в обеих группах высокий уровень ЦОК был связан с плохим исходом, особенно у пациентов, получающих гормонотерапию. При ЦОК <5 медиана выживаемости без прогрессирования составляла 14,1 против 3,5 мес для пациентов с уровнем ЦОК ≥5. Однако в других исследованиях (при назначении таксанов или бевацизумаба) уровень ЦОК не был связан с выживаемостью [63].

Определение уровня ЦОК может быть использовано для выбора стратегии индивидуализированной терапии. В настоящее время только FDA одобрило систему CellSearch как медицинское устройство для определения ЦОК в клинической практике, в частности для оценки ответа на лечение при метастатическом раке молочной железы [50].

Многие исследования показывают, что ЦОК с признаками ЕМТ коррелируют с высокой агрессивностью РМЖ, а ЦОК с признаками стволовости и ЕМТ ассоциированы с устойчивостью к химиотерапии [64, 65].

L. Zhang и соавт. показали, что ЦОК с молекулярным фенотипом EpCAM-/ALDH1+/HER2+/EGFR+/HPSE+/Notch1+ способны метастазировать в головной мозг [66], а I. Vascelli и соавт. в своих исследованиях утверждают, что ЦОК с фенотипом EpCam+ / CD44+ /

CD47+ / MET+ способны инициировать метастазирование, и их уровень коррелирует с низкой общей выживаемостью [67].

Показано, что ЦОК, экспрессирующие TWIST1 и Vimentin, наиболее часто выявляются у больных РМЖ с метастазами, чем у пациентов с ранней стадией болезни [14].

M. Yu и соавт. выделили пять категорий ЦОК по количественной экспрессии эпителиальных [keratins — 5, 7, 8, 18 и 19; EpCAM; CDH1 (cadherin 1)] и мезенхимальных [FN1 (fibronectin 1), CDH2 (cadherin 2), SERPINE1/PAI1 (serpin peptidase inhibitor, clade E)] маркеров [68]. Это ЦОК, экспрессирующие только эпителиальные маркеры (E), промежуточные формы (E>M, E=M, M>E) и исключительно мезенхимальные (M). У 41% пациентов с метастатическим РМЖ наблюдались ЦОК с признаками ЕМТ, у пациентов с трижды негативным РМЖ — в основном ЦОК с мезенхимальными маркерами [68].

Таким образом, существующая противоречивость данных о прогностической значимости ЦОК (см. табл. 2) в крови больных РМЖ связана как с отсутствием унифицированных методов их обнаружения, так и подходов, которые определяют (качественно или количественно) циркулирующие опухолевые клетки по одному или двум маркерам без учета их гетерогенности.

ЦОК и венозная тромбоэмболия

Венозная тромбоэмболия, которая включает глубокий тромбоз вен и тромбоэмболию легочной артерии, является частым осложнением у пациентов со злокачественными заболеваниями и, в частности, РМЖ. Появляется все больше доказательств тесной взаимосвязи между ЦОК и системой гемостаза. Опухолевые клетки способствуют гиперкоагуляции, в частности за счет избыточной экспрессии основного инициатора — тканевого фактора.

У 290 пациентов с метастатическим раком молочной железы было показано, что наличие ЦОК привело более чем к четырехкратному увеличению заболеваемости венозной тромбоэмболией по сравнению с теми, у которых ЦОК обнаружены не были. При раке предстательной железы количество ЦОК коррелирует с уровнем D-димера плазмы — конечного продукта и маркера активации свертывания крови [69].

Взаимосвязь между раком и гемостатической системой имеет сложный характер. Тканевый фактор обеспечивает выживание ЦОК путем ингибирования апоптоза (anoikis) через PI3K/Akt путь, способствуя ЕМТ. Тромбин индуцирует ЕМТ, возможно, путем индукции экспрессии TWIST1, а прямое взаимодействие опухолевых клеток с тромбоцитами индуцирует ЕМТ путем позитивной регуляции транскрипционных факторов Snail и виментин [70].

Лиганды, экспрессируемые активированными тромбоцитами, непосредственно взаимодействуют с опухолевыми клетками. Тромбоцитарный интегрин αIIbβ3 связывается с рецептором опухолевых клеток, таким как avb3. CD44, экспрессирующийся на опухолевых клетках, связывается с фибрином и усиливает опухольтромбоцитарное взаимодействие, которое способствует адгезии к эндотелию [71]. Было показано, что активация тромбоцитов и образование фибрина способствуют формированию защитной «тромбоцитарной площадки», которая ограждает ЦОК от естественных киллеров и может способствовать задержке ЦОК в микрососудах, облегчая таким образом экстравазацию [72].

Взаимодействие ЦОК с системой свертывания крови приводит к возможности использования ряда антикоагулянтов в комплексной терапии рака: так, на мышинных моделях показано, что ингибиторы тканевого фактора и тромбина снижают вероятность возникновения метастазов рака молочной железы [73].

Гепарин также снижает риск возникновения метастазов у мышей путем ингибирования тромбоцитарно-эндотелиального взаимодействия. С 2012 года моноклональное антитело ALT-836 против тканевого фактора проходит фазу клинических испытаний при местных (локальных) и метастатических солидных опухолях [74].

Существующие проблемы

В настоящее время в клинической онкологии существуют множество проблем и нерешенных вопросов. Процесс метастазирования — многофакторный и многоступенчатый, и лишь небольшое подмножество ЦОК способно давать метастазы. Выделяют небольшую популяцию ЦОК, которая имеет свойства стволовых опухолевых клеток и высокую инвазивность. На сегодняшний день данные об этих клетках очень скудны.

Кроме того, существует проблема широкого клинического использования детекции ЦОК в крови онкологических больных из-за отсутствия стандартизированных методов их обнаружения. Технологии, одобренные FDA, такие как CellSearch (Veridex, Warren, NJ, США), RCST (Janssen Diagnostics, США), используют для детекции ЦОК в крови антитела к EpCam или к цитокератинам 8, 18 и 19. Недостатком данных технологий является отсутствие в панели маркеров стволовости и EMT опухолевых клеток и их переходных состояний, а также маркеров, позволяющих выявлять атипичные субпопуляции ЦОК, присутствие которых подробно описано в работе M. Lustberg и соавт. [75].

Заключение

Таким образом, оценка различных характеристик ЦОК является перспективным направлением для поиска новых

биомаркеров наличия опухоли, вероятности развития гематогенных метастазов и мишеней для таргетной терапии. Особое клиническое значение имеет определение гетерогенности ЦОК и, в частности, стволовой субпопуляции данных клеток, клеток с признаками EMT и их сочетания.

Циркулирующие опухолевые клетки — важные, но не единственно необходимые элементы метастазирования. Следует отметить, что наличие опухолевых клеток в циркуляции и в местах метастазирования не является достаточным условием для реализации макрометастаза. Процесс метастазирования определяется не только свойствами опухолевых клеток, но и условиями среды, которые обеспечивают их подвижность, миграцию и выживание.

Такие основные направления исследований клинической значимости ЦОК, как оценка риска метастазов, стратификация и мониторинг в реальном времени лечения, идентификация терапевтических мишеней и механизмов резистентности, предупреждение венозной тромбоэмболии, требуют дальнейших исследований и проверки высказываемых предположений.

Источник финансирования

Поисково-аналитическая работа проведена при поддержке гранта Российского научного фонда (грант РНФ № 16-15-10221).

Конфликт интересов

Автор данной статьи подтвердила отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Выражение признательности

Автор выражает благодарность профессору В.М. Перельмутеру за консультацию в написании данного обзора.

ЛИТЕРАТУРА

- Theodoropoulos PA, Polioudaki H, Agelaki S, et al. Circulating tumor cells with a putative stem cell phenotype in peripheral blood of patients with breast cancer. *Cancer Lett.* 2010;288(1):99–106. doi: 10.1016/j.canlet.2009.06.027.
- Scatena R, Bottoni P, Giardina B. Circulating tumour cells and cancer stem cells: a role for proteomics in defining the interrelationships between function, phenotype and differentiation with potential clinical applications. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1835(2):129–143. doi: 10.1016/j.bbcan.2012.12.002.
- Kaigorodova EV, Tarabanovskaya NA, Staheeva MN, et al. Effect of small and radical surgical injury on the level of different populations of circulating tumor cells in the blood of breast cancer patients. *Neoplasma.* 2017;64(3):437–443. doi: 10.4149/neo_2017_315.
- Hermann PC, Huber SL, Herrler T, et al. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer. *Cell Stem Cell.* 2007;1(3):313–323. doi: 10.1016/j.stem.2007.06.002.
- Oskarsson T, Battle E, Massague J. Metastatic stem cells: sources, niches, and vital pathways. *Cell Stem Cell.* 2014;14(3):306–321. doi: 10.1016/j.stem.2014.02.002.
- Liao WT, Ye YP, Deng YJ, et al. Metastatic cancer stem cells: from the concept to therapeutics. *Am J Stem Cells.* 2014;3(2):46–62.
- Aktas B, Tewes M, Fehm T, et al. Stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers are frequently overexpressed in circulating tumor cells of metastatic breast cancer patients. *Breast Cancer Res.* 2009;11(4):R46. doi: 10.1186/bcr2333.
- Kasimir-Bauer S, Hoffmann O, Wallwiener D, et al. Expression of stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers in primary breast cancer patients with circulating tumor cells. *Breast Cancer Res.* 2012;14(1):R15. doi: 10.1186/bcr3099.
- Chekun SV, Zadvorny TV, Tymovska YO, et al. CD44+/CD24- markers of cancer stem cells in patients with breast cancer of different molecular subtypes. *Exp Oncol.* 2015;37(1):58–63.
- Balic M, Lin H, Young L, et al. Most early disseminated cancer cells detected in bone marrow of breast cancer patients have a putative breast cancer stem cell phenotype. *Clin Cancer Res.* 2006;12(19):5615–5621. doi: 10.1158/1078-0432.Ccr-06-0169.
- Reuben JM, Lee BN, Gao H, et al. Primary breast cancer patients with high risk clinicopathologic features have high percentages of bone marrow epithelial cells with ALDH activity and

- CD44(+)/CD24(lo) cancer stem cell phenotype. *Eur J Cancer*. 2011;47(10):1527–1536. doi: 10.1016/j.ejca.2011.01.011.
12. Abraham BK, Fritz P, McClellan M, et al. Prevalence of CD44(+)/CD24(-/low) cells in breast cancer may not be associated with clinical outcome but may favor distant metastasis. *Clin Cancer Res*. 2005;11(3):1154–1159.
 13. Mego M, Gao H, Lee BN, et al. Prognostic value of EMT-circulating tumor cells in metastatic breast cancer patients undergoing high-dose chemotherapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation. *J Cancer*. 2012;3:369–380. doi: 10.7150/jca.5111.
 14. Kallergi G, Papadaki MA, Politaki E, et al. Epithelial to mesenchymal transition markers expressed in circulating tumour cells of early and metastatic breast cancer patients. *Breast Cancer Res*. 2011;13(3):R59. doi: 10.1186/bcr2896.
 15. Raimondi C, Gradilone A, Naso G, et al. Epithelial-mesenchymal transition and stemness features in circulating tumor cells from breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2011;130(2):449–455. doi: 10.1007/s10549-011-1373-x.
 16. Liu F, Gu LN, Shan BE, et al. Biomarkers for EMT and MET in breast cancer: an update. *Oncol Lett*. 2016;12(6):4869–4876. doi: 10.3892/ol.2016.5369.
 17. Barriere G, Tartary M, Rigaud M. Epithelial mesenchymal transition: a new insight into the detection of circulating tumor cells. *ISRN Oncol*. 2012;2012:382010. doi: 10.5402/2012/382010.
 18. Armstrong AJ, Marengo MS, Oltean S, et al. Circulating tumor cells from patients with advanced prostate and breast cancer display both epithelial and mesenchymal markers. *Mol Cancer Res*. 2011;9(8):997–1007. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-10-0490.
 19. Chen K, Huang YH, Chen JL. Understanding and targeting cancer stem cells: therapeutic implications and challenges. *Acta Pharmacol Sin*. 2013;34(6):732–740. doi: 10.1038/aps.2013.27.
 20. Thiery JP, Acloque H, Huang RYJ, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*. 2009;139(5):871–890. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.007.
 21. Senbanjo LT, Chelliah MA. CD44: a multifunctional cell surface adhesion receptor is a regulator of progression and metastasis of cancer cells. *Front Cell Dev Biol*. 2017;5:18. doi: 10.3389/fcell.2017.00018.
 22. Broersen LH, van Pelt GW, Tollenaar RA, Mesker WE. Clinical application of circulating tumor cells in breast cancer. *Cell Oncol (Dordr)*. 2014;37(1):9–15. doi: 10.1007/s13402-013-0160-6.
 23. Bonnomet A, Syne L, Brysse A, et al. A dynamic in vivo model of epithelial-to-mesenchymal transitions in circulating tumor cells and metastases of breast cancer. *Oncogene*. 2012;31(33):3741–3753. doi: 10.1038/onc.2011.540.
 24. Alix-Panabieres C, Pantel K. Circulating tumor cells: liquid biopsy of cancer. *Clin Chem*. 2013;59(1):110–118. doi: 10.1373/clinchem.2012.194258.
 25. Gorges TM, Tinhofer I, Drosch M, et al. Circulating tumour cells escape from EpCAM-based detection due to epithelial-to-mesenchymal transition. *BMC Cancer*. 2012;12:178. doi: 10.1186/1471-2407-12-178.
 26. Thompson EW, Haviv I. The social aspects of EMT-MET plasticity. *Nat Med*. 2011;17(9):1048–1049. doi: 10.1038/nm.2437.
 27. Wang KH, Kao AP, Lin TC, et al. Promotion of epithelial-mesenchymal transition and tumor growth by 17 beta-estradiol in an ER+/HER2(+) cell line derived from human breast epithelial stem cells. *Biotechnol Appl Biochem*. 2012;59(3):262–267. doi: 10.1002/bab.1022.
 28. Bhat-Nakshatri P, Goswami CP, Badve S, et al. Identification of FDA-approved drugs targeting breast cancer stem cells along with biomarkers of sensitivity. *Sci Rep*. 2013;3:2530. doi: 10.1038/srep02530.
 29. Klefstrom J, Morel A-P, Lièvre M, et al. Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition. *PLoS One*. 2008;3(8):e2888. doi: 10.1371/journal.pone.0002888.
 30. Creighton CJ, Li XX, Landis M, et al. Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(33):13820–13825. doi: 10.1073/pnas.0905718106.
 31. Yamashita N, Tokunaga E, Kitao H, et al. Vimentin as a poor prognostic factor for triple-negative breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2013;139(5):739–746. doi: 10.1007/s00432-013-1376-6.
 32. Mani SA, Guo W, Liao MJ, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell*. 2008;133(4):704–715. doi: 10.1016/j.cell.2008.03.027.
 33. Asiedu MK, Ingle JN, Behrens MD, et al. TGFbeta/TNF(alpha)-mediated epithelial-mesenchymal transition generates breast cancer stem cells with a claudin-low phenotype. *Cancer Res*. 2011;71(13):4707–4719. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4554.
 34. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646–674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
 35. Schindlbeck C, Andergassen U, Hofmann S, et al. Comparison of circulating tumor cells (CTC) in peripheral blood and disseminated tumor cells in the bone marrow (DTC-BM) of breast cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2013;139(6):1055–1062. doi: 10.1007/s00432-013-1418-0.
 36. Bidard FC, Proudhon C, Pierga JY. Circulating tumor cells in breast cancer. *Mol Oncol*. 2016;10(3):418–430. doi: 10.1016/j.molonc.2016.01.001.
 37. Uhr JW, Pantel K. Controversies in clinical cancer dormancy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(30):12396–12400. doi: 10.1073/pnas.1106613108.
 38. Kim MY, Oskarsson T, Acharyya S, et al. Tumor self-seeding by circulating cancer cells. *Cell*. 2009;139(7):1315–1326. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.025.
 39. Blanco MJ, Moreno-Bueno G, Sarrio D, et al. Correlation of Snail expression with histological grade and lymph node status in breast carcinomas. *Oncogene*. 2002;21(20):3241–3246. doi: 10.1038/sj.onc.1205416.
 40. Bock C, Rack B, Huober J, et al. Distinct expression of cytokeratin, N-cadherin and CD133 in circulating tumor cells of metastatic breast cancer patients. *Future Oncol*. 2014;10(10):1751–1765. doi: 10.2217/fon.14.58.
 41. Bednarz-Knoll N, Alix-Panabieres C, Pantel K. Plasticity of disseminating cancer cells in patients with epithelial malignancies. *Cancer Metastasis Rev*. 2012;31(3–4):673–687. doi: 10.1007/s10555-012-9370-z.
 42. Yang MH, Imrali A, Heeschen C. Circulating cancer stem cells: the importance to select. *Chin J Cancer Res*. 2015;27(5):437–449. doi: 10.3978/j.issn.1000-9604.2015.04.08.
 43. Hall C, Karhade M, Laubacher B, et al. Circulating tumor cells after neoadjuvant chemotherapy in stage I-III triple-negative breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2015;22 Suppl 3:552–558. doi: 10.1245/s10434-015-4600-6.
 44. Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med*. 2004;351(8):781–791. doi: 10.1056/NEJMoa040766.
 45. Pierga JY, Petit T, Lévy C, et al. Pathological response and circulating tumor cell count identifies treated HER2+ inflammatory breast cancer patients with excellent prognosis: BEVERLY-2 survival data. *Clin Cancer Res*. 2015;21(6):1298–1304. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1705.
 46. Dawood S, Broglio K, Valero V, et al. Circulating tumor cells in metastatic breast cancer: from prognostic stratification to modification of the staging system? *Cancer*. 2008;113(9):2422–2430. doi: 10.1002/cncr.23852.
 47. Bidard FC, Belin L, Delaloge S, et al. Time-dependent prognostic impact of circulating tumor cells detection in non-metastatic breast cancer: 70-month analysis of the REMAGUS02 study. *Int J Breast Cancer*. 2013;2013:130470. doi: 10.1155/2013/130470.
 48. Wallwiener M, Hartkopf AD, Baccelli I, et al. The prognostic impact of circulating tumor cells in subtypes of metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2013;137(2):503–510. doi: 10.1007/s10549-012-2382-0.

49. Hall CS, Karhade M, Laubacher BA, et al. Circulating tumor cells and recurrence after primary systemic therapy in stage III inflammatory breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2015;107(11):djv250. doi: 10.1093/jnci/djv250.
50. Giordano A, Egleston BL, Hajage D, et al. Establishment and validation of circulating tumor cell-based prognostic nomograms in first-line metastatic breast cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2013;19(6):1596–1602. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3137.
51. Horiguchi J, Takata D, Rokutanda N, et al. Change of circulating tumor cells before and after neoadjuvant chemotherapy in patients with primary breast cancer. *Cancer Res.* 2012;72(24 Suppl):P3-06-29. doi: 10.1158/0008-5472.SABCS12-P3-06-29.
52. Бжадуг О.Б., Тюляндин С.А., Гривцова Л.Ю., и др. Клиническое значение определения циркулирующих опухолевых клеток в крови больных распространенным раком молочной железы // *Иммунология гемопоза.* — 2007. — №2 — С. 72–101. [Bzhadug OB, Tyulyandin SA, Gritsova LY, et al. Die klinische bedeutung derbestimmung von den zirkulierendentumorzellen bei den patienten mit demdisseminierten mammakarzinom. *Immunologiya gemopoeza.* 2007;(2):72–101. (In Russ).]
53. Mego M, Giordano A, De Giorgi U, et al. Circulating tumor cells in newly diagnosed inflammatory breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2015;17:2. doi: 10.1186/s13058-014-0507-6.
54. Sandri MT, Zorzino L, Cassatella MC, et al. Changes in circulating tumor cell detection in patients with localized breast cancer before and after surgery. *Ann Surg Oncol.* 2010;17(6):1539–1545. doi: 10.1245/s10434-010-0918-2.
55. Lucci A, Hall CS, Lodhi AK, et al. Circulating tumour cells in non-metastatic breast cancer: a prospective study. *Lancet Oncol.* 2012;13(7):688–695 doi: 10.1016/S1470-2045(12)70209-7.
56. Pachmann K, Camara O, Kavallaris A, et al. Monitoring the response of circulating epithelial tumor cells to adjuvant chemotherapy in breast cancer allows detection of patients at risk of early relapse. *J Clin Oncol.* 2008;26(8):1208–1215. doi: 10.1200/JCO.2007.13.6523.
57. Fischer JC, Niederacher D, Topp SA, et al. Diagnostic leukapheresis enables reliable detection of circulating tumor cells of nonmetastatic cancer patients. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(41):16580–16585. doi: 10.1073/pnas.1313594110.
58. Bidard FC, Mathiot C, Delalogue S, et al. Single circulating tumor cell detection and overall survival in nonmetastatic breast cancer. *Ann Oncol.* 2010;21(4):729–733. doi: 10.1093/annonc/mdp391.
59. Pierga JY, Bidard FC, Mathiot C, et al. Circulating tumor cell detection predicts early metastatic relapse after neoadjuvant chemotherapy in large operable and locally advanced breast cancer in a phase II randomized trial. *Clin Cancer Res.* 2008;14(21):7004–7010. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0030.
60. Onstenk W, Kraan J, Mostert B, et al. Improved circulating tumor cell detection by a combined EpCAM and MCAM CellSearch enrichment approach in patients with breast cancer undergoing neoadjuvant chemotherapy. *Mol Cancer Ther.* 2015;14(3):821–827. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0653.
61. Rack B, Schindlbeck C, Jückstock J, et al. Circulating tumor cells predict survival in early average-to-high risk breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(5):dju066. doi: 10.1093/jnci/dju066.
62. Liu MC, Shields PG, Warren RD, et al. Circulating tumor cells: a useful predictor of treatment efficacy in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27(31):5153–5159. doi: 10.1200/JCO.2008.20.6664.
63. Giuliano M, Giordano A, Jackson S, et al. Circulating tumor cells as prognostic and predictive markers in metastatic breast cancer patients receiving first-line systemic treatment. *Breast Cancer Res.* 2011;13(3):R67. doi: 10.1186/bcr2907.
64. Ansieau S. EMT in breast cancer stem cell generation. *Cancer Lett.* 2013;338(1):63–68. doi: 10.1016/j.canlet.2012.05.014.
65. Dave B, Mittal V, Tan NM, Chang JC. Epithelial-mesenchymal transition, cancer stem cells and treatment resistance. *Breast Cancer Res.* 2012;14(1):202. doi: 10.1186/bcr2938.
66. Zhang L, Ridgway LD, Wetzel MD, et al. The identification and characterization of breast cancer CTCs competent for brain metastasis. *Sci Transl Med.* 2013;5(180):180ra48. doi: 10.1126/scitranslmed.3005109.
67. Baccelli I, Schneeweiss A, Riethdorf S, et al. Identification of a population of blood circulating tumor cells from breast cancer patients that initiates metastasis in a xenograft assay. *Nat Biotechnol.* 2013;31(6):539–544. doi: 10.1038/nbt.2576.
68. Yu M, Bardia A, Wittner BS, et al. Circulating breast tumor cells exhibit dynamic changes in epithelial and mesenchymal composition. *Science.* 2013;339(6119):580–584. doi: 10.1126/science.1228522.
69. Khoury JD, Adcock DM, Chan F, et al. Increases in quantitative D-dimer levels correlate with progressive disease better than circulating tumor cell counts in patients with refractory prostate cancer. *Am J Clin Pathol.* 2010;134(6):964–969. doi: 10.1309/AJCPH92SXYLIKKT5.
70. Zhong YC, Zhang T, Di W, Li WP. Thrombin promotes epithelial ovarian cancer cell invasion by inducing epithelial-mesenchymal transition. *J Gynecol Oncol.* 2013;24(3):265–272. doi: 10.3802/jgo.2013.24.3.265.
71. Gay LJ, Felding-Habermann B. Contribution of platelets to tumour metastasis. *Nat Rev Cancer.* 2011;11(2):123–134. doi: 10.1038/nrc3004.
72. Palumbo JS, Talmage KE, Massari JV, et al. Tumor cell-associated tissue factor and circulating hemostatic factors cooperate to increase metastatic potential through natural killer cell-dependent and-independent mechanisms. *Blood.* 2007;110(1):133–141. doi: 10.1182/blood-2007-01-065995.
73. Defeo K, Hayes C, Chernick M, Ryn JV, Gilmour SK. Use of dabigatran etexilate to reduce breast cancer progression. *Cancer Biol Ther.* 2010;10(10):1001–1008. doi: 10.4161/cbt.10.10.13236.
74. Hong H, Zhang Y, Nayak TR, et al. Immuno-PET of tissue factor in pancreatic cancer. *J Nucl Med.* 2012;53(11):1748–1754. doi: 10.2967/jnumed.112.105460.
75. Lustberg MB, Balasubramanian P, Miller B, et al. Heterogeneous atypical cell populations are present in blood of metastatic breast cancer patients. *Breast Cancer Res.* 2014;16(2):R23. doi: 10.1186/bcr3622.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Кайгородова Евгения Викторовна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения патологической анатомии и цитологии Научно-исследовательского института онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

Адрес: 634050, Томск, пер. Кооперативный, д. 5, e-mail: kaigorodova@oncology.tomsk.ru,

SPIN-код: 8286-3757, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4378-6915>

Группы крови по системе АВ0 и злокачественные новообразования ободочной и прямой кишки различных локализаций: ретроспективный анализ 1570 случаев заболевания

458

Обоснование. Детерминанты антигена, соответствующего групповой принадлежности крови по системе АВ0, неоднородно представлены в разных отделах толстого кишечника, обуславливая так называемый проксимально-дистальный градиент экспрессии. В подавляющем большинстве исследований по изучению связи между группами крови и колоректальным раком данная особенность не учитывалась. Возможно, это отразилось на том, что убедительные результаты работ в этом направлении до сих пор не были отражены в научных публикациях. Обоснованный подход к изучению связи между колоректальным раком и группами крови требует учета особенностей антигенного распределения в толстом кишечнике и, соответственно, локализации злокачественных опухолей в нем. **Цель исследования** — оценка возможной связи между группами крови по системе АВ0 и злокачественными новообразованиями, локализованными в различных отделах толстой кишки. **Методы.** Выполнено исследование по типу случай-контроль с ретроспективным изучением медицинской документации о случаях заболевания (случаи) и пациентах, неотягощенных им (контроли). Необходимые сведения были получены в областных онкологических центрах Южно-Казахстанской, Карагандинской, Восточно-Казахстанской и Мангистауской областей. В исследование включался каждый третий случай колоректального рака, зарегистрированный в 2011–2016 гг. Наличие ассоциации оценивалось при помощи критерия хи-квадрат. Для расчета отношения шансов (ОШ) использовалась мультиномиальная логистическая регрессия, которая учитывала влияние известных вмешивающихся факторов. Доли в выборках сравнивались при помощи t-критерия Стьюдента. Критический уровень статистической значимости (p) принимался равным 0,05. **Результаты.** Сравнимые группы включали по 1570 пациентов. Половозрастной и этнический состав статистически значимо не отличался в обеих группах (p>0,4 для всех случаев сравнения). При соотношении распределений групп крови сравниваемых пациентов независимо от локализации злокачественного процесса значимых отличий не выявлено (p=0,141). Когда аналогичные расчеты были применены относительно отдельных локализаций опухоли, была показана ассоциация между I группой крови и злокачественными новообразованиями, локализованными в дистальных отделах ободочной кишки (p=0,0002). По результатам расчетов отношений шансов на возникновение изучаемого заболевания в левом фланге толстого кишечника (при помощи мультиномиальной логистической регрессии) были получены следующие результаты: 1,518 (p=0,004) для I группы крови, 0,781 (p=0,099) для II, 0,785 (p=0,143) для III и 0,965 (p=0,884) для IV. **Заключение.** Результаты данного исследования показали наличие статистической связи между I группой крови по системе АВ0 и новообразованиями, локализованными в дистальных отделах ободочной кишки.

Ключевые слова: антигены групп крови, злокачественные новообразования толстой и прямой кишки, ассоциация, отношение шансов.

(Для цитирования: Керимов Р.А., Сексенбаев Б.Д., Галимов О.В., Нурмашев Б.К., Жантеев М.Е. Группы крови по системе АВ0 и злокачественные новообразования ободочной и прямой кишки различных локализаций: ретроспективный анализ 1570 случаев заболевания. Вестник РАМН. 2017;72 (6):458–465. doi: 10.15690/vramn884)

Обоснование

Антигены групп крови по системе АВ0¹ экспрессируются на поверхности клеточных мембран форменных элементов крови, эндотелия и эпителия; также они обнаружены в различных секретах организма. Данные субстраты играют важную роль в механизмах клеточной адгезии, иммунных реакций и мембранного сигналинга. Было показано, что перечисленные процессы в той или иной мере участвуют в карциногенезе² [1]. Более того, М. Yuan и соавт. в своей работе показали, что детерминанты групп крови по системе АВ0 могут считаться

антигенами, вовлеченными в развитие онкологического процесса [2].

Вместе с тем исследования, направленные на изучение связи между различными онкологическими заболеваниями и группами крови, начались задолго до появления сведений, касавшихся биомолекулярных аспектов, — в середине XX в. Так, по результатам выполненных работ были опубликованы данные о некоторых корреляциях: показано, например, что рак желудка больше ассоциирован со II группой крови, чем с I [3]. Данные большого проспективного исследования В. Wolpin и соавт. свидетельствуют, что носители II, III и IV групп крови имели

¹ Система АВ0 предложена ученым Карлом Ландштейнером в 1900 г. В плазме крови человека могут содержаться агглютинины α и β, в эритроцитах — агглютиногены А и В, при этом из белков А и α содержится один и только один, то же самое — для белков В и β. Таким образом, существуют четыре допустимые комбинации: α и β — I (0), А и β — II (А), В и α — III (В), А и В — IV (АВ).

² Карциногенез (от лат. *carcinogenesis*) — возникновение и развитие злокачественной опухоли из нормальной клетки.

более высокий риск развития рака поджелудочной железы, чем лица с I группой [4]. Обнаруженные корреляции были вполне ожидаемыми в свете того, что поджелудочная железа и желудок содержат эпителиальную ткань, экспрессирующую агглютиногены групп крови системы АВ0, которые, как указывалось выше, играют определенную роль в карциногенезе. В этой связи ожидалось, что злокачественные новообразования другого гастроинтестинального эпителиального органа — толстого кишечника — продемонстрируют аналогичную связь. Однако, несмотря на наличие этиопатогенетических предпосылок ассоциации между колоректальным раком и группами крови, различные работы в данном направлении до сих пор не показали убедительных статистических данных в пользу данной связи. Так, Н. Khalili и соавт. наблюдали незначительную ассоциацию между III группой крови и раком толстой кишки, но эта связь была погранична с критическим уровнем статистической значимости и, по мнению самих авторов, могла быть обусловлена случаем [5]. Другие ученые показали, что распределение групп крови пациентов с данным заболеванием не отличалось от такового среди здоровых доноров крови [6, 7].

Несмотря на то, что результаты более ранних работ не показали явной связи между группами крови и колоректальным раком, мы считаем, что во многих исследованиях не учитывались некоторые важные особенности толстого кишечника. Так, в отличие от поджелудочной железы и желудка, для злокачественных новообразований которых была найдена определенная связь с группами крови, толстая кишка имеет большую протяженность, состоит из многих отделов, которые отличаются друг от друга антигенной структурой вдоль всей ее длины. Так, уже в 1985 г. было показано, что изначально ободочная кишка человеческого эмбриона экспрессирует на сво-

ей слизистой оболочке агглютиногены групп крови по системе АВ0 однородно по всей своей протяженности. Однако во взрослом состоянии данные субстраты отсутствуют в дистальной части толстой кишки, а их экспрессия сохраняется только в проксимальном отделе. Таким образом, распределение детерминант агглютиногена, соответствующего групповой принадлежности крови по системе АВ0, в толстом кишечнике взрослого здорового индивида формирует проксимально-дистальный градиент [2]. И, тем не менее, дистальные отделы ободочной кишки во многих случаях развития в них злокачественных новообразований реэкспрессируют данные антигены даже у взрослых с потерей вышеотмеченного градиента (как в фетальном кишечнике): это обстоятельство указывает на то, что мембранные детерминанты групп крови выступают в роли онкофетальных антигенов для левого фланга толстого кишечника.

В свете изложенных фактов можно предположить, что неоднородная экспрессия агглютиногенов групп крови по системе АВ0 может обусловить разную силу ассоциации между ними и злокачественными колоректальными новообразованиями в зависимости от локализации последних. Стоит отметить, что в большинстве исследований, проведенных в этом направлении, не учитывались локализации опухолей в толстом кишечнике. Данный аспект был принят во внимание лишь в небольших работах с умеренной статистической мощностью, что могло сказаться на изучении корреляции между группами крови и колоректальным раком без учета локализации злокачественного процесса и скрыть их возможные связи.

Настоящая работа нацелена дополнить результаты предыдущих публикаций, прежде всего посредством анализа изучаемой связи в свете неоднородного антигенного распределения в толстом кишечнике, впервые описан-

R.A. Kerimov¹, B.D. Seksenbayev², O.V. Galimov³, B.K. Nurmashev², M.E. Zhanteyev¹

¹ Khoja Akhmet Yassawi International Kazakh-Turkish University, Turkestan, Republic of Kazakhstan

² South Kazakhstan State Pharmaceutical Academy, Shymkent, Republic of Kazakhstan

³ Bashkortostan State Medical University, Ufa, Russian Federation

AB0 Blood Types and Malignant Colorectal Neoplasms of Different Location: A Retrospective Analysis of 1570 Cases

Background: AB0 blood type antigens are unequally expressed in different portions of the colon resulting in so-called proximal-distal gradient. In most research studies considering the link between blood types and colorectal cancer, this gradient has not been taken into account. In the present context the findings of such studies are not convincing, no evidence-based results are reflected in literature. Valid studies of this association require antigenic distribution of the colon and malignant tumor location to be taken into account. **Aim:** To assess the possible relation between AB0 blood type antigens and malignant tumors located in different parts of the large intestine. **Materials and methods:** We performed a case-control study with retrospective analysis of medical records on patients with the presented disease (cases) and patients who did not suffer from it (controls). Required data was obtained from regional oncological centers of South Kazakhstan, Karaganda, East Kazakhstan, and Mangystau regions. Every third case of colorectal cancer registered in 2011–2016 years was included in the survey. The studied association was estimated by means of a chi-square test. A multinomial logistic regression was used to calculate the odds ratio (OR) with confounding risk factors to be taken into account. Shares of the samples were compared by means of Student's t-test. A critical level of statistical significance (p-value) was considered to be 0.05. **Results:** Each group included 1570 patients. Gender, age, and ethnic distribution did not differ statistically in cases and controls ($p > 0.4$ for all comparisons). When blood type distributions were compared between groups regardless of tumor locations, any significant difference was not revealed ($p = 0.141$). When similar calculations were applied to specific parts of the large intestine, the association between O blood type and malignancies of distal portions of the colon was demonstrated ($p = 0.0002$). When we calculate the odds ratio for the disease development in the colon parts (using a multinomial logistic regression), the following results were obtained: 1.518 ($p = 0.004$) for O, 0.781 ($p = 0.099$) for A, 0.785 ($p = 0.143$) for B, and 0.965 ($p = 0.884$) for AB blood types. **Conclusions:** The results of the present study revealed a statistical correlation between the O blood type and malignant tumors located in the distal portions of the colon.

Key words: blood group antigens, colorectal neoplasms, association, odds ratio.

(For citation: Kerimov RA, Seksenbayev BD, Galimov OV, Nurmashev BK, Zhanteyev ME. AB0 Blood Types and Malignant Colorectal Neoplasms of Different Location: A Retrospective Analysis of 1570 Cases. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017;72 (6):458–465. doi: 10.15690/vramn884)

ного три десятилетия назад, но до сих пор остающегося без должного внимания при проведении подобных исследований.

Цель исследования — оценка возможной связи между группами крови по системе АВ0 и злокачественными опухолями, локализованными в различных отделах толстой кишки.

Методы

Дизайн исследования

Выполнено исследование по типу случай-контроль с ретроспективным изучением медицинских записей о пациентах с изучаемым заболеванием (1-я группа) и пациентах, неотягощенных им (2-я группа). В основе анализа лежало сопоставление распределений групп крови больных с таковыми у здоровых по данному заболеванию лиц. За нулевую гипотезу принималось положение о том, что рассматриваемые распределения в изучаемых группах не имели значимых отличий.

Критерии соответствия

Критерии включения/исключения для основной группы

Среди критериев включения в 1-ю (основную) группу с изучаемым заболеванием были гистологически верифицированные впервые установленные злокачественные новообразования толстой и прямой кишки, зарегистрированные в выбранных онкологических центрах в период 2011–2016 гг.; группы крови должны были быть определены в лабораторных условиях с использованием моноклональных антител; пациенты могли быть любого возраста, пола, этнической принадлежности.

Среди критериев исключения были случаи, когда злокачественный процесс колоректальной локализации являлся вторичным (проращение из соседних органов, метастазы); первично-множественные злокачественные новообразования; пациенты с ранее проведенным химиотерапевтическим и лучевым лечением. Из обзора также исключались истории болезней, не содержащие анализируемые данные.

В соответствии с установленными критериями включения в основную группу входил каждый 3-й первичный случай рака толстой и прямой кишки, зарегистрированный в изучаемый период.

Критерии включения/исключения для контрольной группы

Критерии включения. Контрольная группа формировалась за счет данных амбулаторных карт поликлиник, заведенных на пациентов, неотягощенных онкологическими заболеваниями. В силу того, что в одних и тех же амбулаторных картах за определенный период могло регистрироваться несколько нозологий, провести целенаправленный отбор по каким-либо заболеваниям не представлялось возможным, поэтому пациенты контрольной группы могли иметь любой неонкологический диагноз, но должны были быть определенного возраста и этнической принадлежности (см. ниже). Группы крови амбулаторных пациентов определялись аналогичным образом, что и в онкологических центрах. Среди критериев исключения из контрольной группы был факт наличия диспансерного наблюдения в онкологическом центре; в контрольную группу также не включались пациенты, которые ранее проходили лечение по поводу онкологического заболевания, лица с установленными предраковыми состояниями (полипы кишечника, неспецифический

язвенный колит, болезнь Крона и др.). Таким образом, для основной группы, включавшей случаи злокачественных новообразований определенных локализаций, подбиралось тоже количество неонкологических пациентов, зарегистрированных в соответствующих географических регионах.

При наборе контрольной группы необходимо было учитывать некоторые ключевые факторы. Во-первых, каждый этнос имеет свойственное ему распределение групп крови, как правило, с преобладанием какой-либо из них. Во-вторых, подавляющее большинство пациентов с колоректальным раком было старше 50 лет. Именно поэтому во избежание смещений вследствие неоднородного распределения групп крови среди разных национальностей и влияния неоднородного возрастного состава формирование контрольной группы велось с учетом этих особенностей. Для этого вначале отбирались амбулаторные карты пациентов, соответствующих установленным критериям отбора, старше 50 лет, затем они распределялись по этническим подгруппам. Далее отбор из последних проводился механическим методом в зависимости от доли того или иного этноса в основной группе (с целью создания однородного этнического состава в сравниваемых группах и подгруппах). Дополнительно из контрольной группы были сформированы 4 подгруппы пациентов для сравнения с соответствующими локализациями злокачественного процесса основной исследовательской группы (для случаев новообразования определенной локализации случайным образом подбиралось такое же количество пациентов из контрольной группы). В силу того, что сравниваемые группы были практически однородными по этническому и возрастному составу, воздействие данных вмешивающихся факторов было минимизировано.

Условия проведения

Данные для 1-й группы исследования были собраны из историй болезней онкологических центров Южно-Казахстанской (г. Шымкент), Карагандинской (г. Караганда), Восточно-Казахстанской (г. Усть-Каменогорск) и Мангистауской (г. Актау) областей. Указанные центры являются государственными лечебно-профилактическими учреждениями, обеспечивающими диагностическую, лечебную и консультационную помощь населению, проживающему в соответствующих областях. Коечный фонд составлял 50, 200, 215 и 342 места для центров Актау, Шымкента, Усть-Каменогорска и Караганды соответственно. Выбор данных центров основан с учетом географического расположения и численности населения (выбраны центры, обслуживающие наиболее густонаселенные области центрального, южного, восточного регионов Казахстана). Среди 4 областей западного региона была выбрана Мангистауская вследствие особенностей водоснабжения (жители данной области потребляют либо опресненную морскую, либо привозную воду из открытых источников).

Информация для 2-й (контрольной) исследовательской группы была получена на основе записей амбулаторных карт пациентов, неотягощенных онкологическими заболеваниями, из 1-й городской и центральной городской поликлиники Шымкента, из аналогичных поликлиник Усть-Каменогорска, Актау и Караганды.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось поочередно в каждом из четырех онкологических центров. Анализ проводился по историям болезней с изучаемой нозологией за период 2011–2016 гг. Исходя из того, что дизайн нашего исследова-

дования (случай-контроль) не подразумевал анализ развития процесса в течение времени (как это проводится в продольных или экспериментальных исследованиях), описание промежуточных контрольных временных точек не представлялось возможным.

Исходы исследования

Основной исход исследования

Распределение (частота) групп крови по системе АВ0 среди пациентов основной и контрольной групп (в относительной и абсолютной шкалах).

Дополнительные исходы исследования

Распределение (частота) групп крови по системе АВ0 в разрезе изучаемых клинических и анамнестических показателей (пол, возраст, вес, этническая принадлежность, вредные привычки, фоновые заболевания) среди пациентов основной и контрольной групп (в относительной и абсолютной шкалах).

Анализ в подгруппах

На первом этапе исследования сравнение распределений групп крови проводилось между основной и контрольной группами. Затем каждая группа была разделена на 4 подгруппы, которые соответствовали локализациям злокачественного процесса. Далее проводилось сравнение распределений групп крови между данными подгруппами.

В рамках проведенного исследования локализации опухолей классифицировались в соответствии с рекомендациями J. Vufill (1990), учитывающими эмбриогенетическое происхождение разных отделов ободочной кишки, выделяя при этом проксимальную (слепая кишка, восходящая, печеночный угол, проксимальные 2/3 поперечной) и дистальную (дистальная 1/3 поперечной, селезеночный угол, нисходящая и сигмовидная кишка) части. Выбор в пользу подобной классификации обусловлен, прежде всего, требованием к соблюдению не столько общепринятого анатомического деления, сколько учета проксимально-дистального градиента распределения антигенов системы АВ0. Проксимальная и дистальная части ободочной кишки дополнительно были разделены на 3 подотдела (по [7]). «Правый отдел» включал в себя слепую кишку и восходящую, «поперечный отдел» — печеночный угол, поперечную ободочную кишку и селезеночный угол, «левый отдел» включал нисходящую ободочную кишку и сигмовидную. Также был выделен отдел «прямая кишка», включавший в себя ректосигмоидный отдел и собственно прямую кишку. Таким образом, толстый кишечник был поделен на части, в которых наблюдается высокая, средняя и низкая степень экспрессии антигенов системы АВ0.

Методы регистрации исходов

Вся информация для настоящего исследования извлечена из записей в медицинской документации соответствующих онкологических центров и поликлиник. Диагноз злокачественных новообразований толстой и прямой кишок основан на результатах гистологических исследований тканей, изъятых в результате хирургического вмешательства. Группы крови по системе АВ0 определялись в лабораториях онкологических центров и поликлиник с помощью моноклональных антител анти-А и анти-В (целиклоны анти-А и анти-В). При наличии агглютинации с целиклонами обоих типов (IV группа крови) проводился дополнительный тест с изотоническим раствором натрия хлорида для исключения неспецифиче-

ской агглютинации. Вес и рост измерялись стандартными методами во время первичного обращения пациентов в стационар или поликлинику. Этничность пациентов определялась по паспортным данным; наличие сахарного диабета и вредных привычек — на основании опроса, результаты которого были зафиксированы в историях болезней и амбулаторных картах.

Этическая экспертиза

Решение на проведение исследования одобрено Локальной этической комиссией АО «Южно-Казахстанская государственная фармацевтическая академия» (протокол заседания № 14 от 14 июня 2017 года).

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Минимальный размер выборки рассчитывался по стандартной формуле, которая учитывает величину z (1,96 при 95% доверительном интервале, ДИ), стандартное отклонение (0,5) и диапазон ошибки ($\pm 5\%$; 0,05).

Методы статистического анализа данных

Все расчеты проводились при помощи пакетов статистических программ MS Excel (2007) и SPSS (17 version). Количественные данные представлялись для таких переменных, как возраст и индекс массы тела, в виде непрерывных величин (средние и доли). Остальные анализируемые переменные (группа крови, пол, курение, сахарный диабет, этничность, локализация новообразования) представлялись как качественные переменные. Для проверки нулевой гипотезы рассчитывался критерий согласия хи-квадрат (χ^2). Для сравнения долей обеих групп использовался t -критерий Стьюдента. Критический уровень статистической значимости (p) принимался равным 0,05. Доверительные интервалы (95% ДИ) рассчитывались методом Уальда. Для оценки влияния известных вмешивающихся факторов была применена мультиномиальная логистическая регрессия, в которой в качестве зависимой переменной выступало наличие или отсутствие изучаемого заболевания, в качестве независимой — группа крови пациента; вмешивающиеся факторы: возраст, индекс массы тела, пол, курение, наличие сахарного диабета и этничность. При помощи данного метода были определены отношения шансов (ОШ) на возникновение изучаемого заболевания для каждой группы крови, скорректированные на влияние перечисленных вмешивающихся факторов.

Результаты

Объекты (участники) исследования

В качестве объектов исследования использовали истории болезней и амбулаторные карты пациентов обеих групп. В анализ было включено 1570 случаев колоректального рака и такое же количество пациентов из контрольной группы (доля женщин — 55 и 53,7%, средний возраст — 61,6 и 61,8 года для 1-й и 2-й групп соответственно; по 256, 527, 101 и 686 пациентов обеих групп было из Южно-Казахстанской, Восточно-Казахстанской, Мангистауской и Карагандинской областей соответственно). Этническое распределение в 1-й группе было представлено следующим образом: русские — 55,2%, казахи — 29,9%, другие — 14,9%; во 2-й — 54,8; 30 и 15,2% соответственно. Различия в обеих группах по половозрастному и этническому составу не были статистически значимыми ($p > 0,4$ во всех случаях сравнения).

Таблица 1. Основные характеристики пациентов 1-й и 2-й групп

Показатель	Число случаев, %	
	1-я группа	2-я группа
<i>Возраст, лет</i>		
30–49	220 (14)	216 (13,7)
50–69	905 (57,6)	893 (56,9)
70–89	445 (28,4)	461 (29,4)
<i>Индекс массы тела, кг/м²</i>		
Ниже нормы (<18,5)	147 (9,3)	160 (10,2)
Норма (18,5–24,9)	728 (46,4)	737 (46,9)
Выше нормы (>24,9)	695 (44,3)	673 (42,9)
<i>Курение</i>		
Да	546 (34,8)	458 (29,2)
Нет	1024 (65,2)	1112 (70,8)
<i>Сахарный диабет</i>		
Есть	150 (9,6)	118 (7,5)
Нет	1420 (90,4)	1452 (92,5)
<i>Пол</i>		
Мужской	706 (45)	734 (46,8)
Женский	864 (55)	836 (53,2)
<i>Этничность</i>		
Казахи	470 (29,9)	473 (30,1)
Русские	866 (55,2)	862 (54,9)
Другие	234 (14,9)	235 (15)
Всего	1570 (100)	1570 (100)

Таблица 2. Группы крови по системе АВ0 среди пациентов 1-й и 2-й группы

Группа крови	1-я группа (%)	2-я группа (%)
I	549 (35)	517 (32,9)
II	520 (33,1)	515 (32,8)
III	392 (25)	411 (26,2)
IV	109 (6,9)	127 (8,1)
Всего	1570	1570

Основные результаты исследования

Табл. 1 демонстрирует частоту анализируемых признаков в обеих группах исследования. Статистически значимые различия между пациентами с изучаемым заболеванием и пациентами контрольной группы были выявлены в отношении курения и наличия в анамнезе

сахарного диабета ($p=0,0008$ и $p=0,04$ соответственно), что впоследствии учитывалось при проведении многофакторного анализа. По остальным признакам (возраст, индекс массы тела, пол и этничность) статистически значимых отличий между группами не обнаружено ($p>0,3$ для всех случаев сравнений).

Частота групп крови представлена в табл. 2. Распределения обеих групп исследования статистически значимо не отличались друг от друга ($p=0,141$).

Распределение групп крови в зависимости от локализации злокачественного новообразования представлены в табл. 3: найдено статистически значимое различие между распределениями основной и контрольной групп в отношении новообразований, локализованных в левом отделе ободочной кишки ($p=0,0002$). При этом доверительный интервал исследуемой группы не перекрывал соответствующее значение контрольной группы для данной локализации злокачественного процесса. Доля I группы крови, рассчитанной для пациентов, имеющих новообразование в левом фланге ободочной кишки, статистически значимо превышала таковую, рассчитанную для всей группы с изучаемым заболеванием (42,6 и 35%; $p=0,005$).

В табл. 4 представлены результаты мультиномиальной логистической регрессии, примененной отдельно для каждой группы крови пациентов, страдающих злокачественными новообразованиями, локализованными в левом отделе ободочной кишки. В рамках данного анализа учитывались известные вмешивающиеся факторы. Табл. 4 отображает отношение шансов на возникновение заболевания для каждой из групп крови: ОШ 1,518 для I группы крови ($p=0,004$), 95% ДИ не перекрывает единицу (1,146–2,011); 95% ДИ для ОШ, рассчитанных для остальных групп крови, включал единицу; кроме того, их значения не являлись статистически значимыми ($p>0,099$ во всех остальных случаях).

Дополнительные результаты исследования

Распределения групп крови внутри основной группы по дополнительно анализируемым переменным (возраст, индекс массы тела, курение, наличие сахарного диабета в анамнезе, пол и этничность) не отличались от общего распределения групп крови (p -значение t -критерия варьировало от 0,18 до 1 для всех сравниваемых долей).

Нежелательные явления

Данное исследование являлось обсервационным аналитическим и не подразумевало наличия медицинского вмешательства со стороны исследователей, поэтому описать нежелательные явления, связанные с ними, не представляется возможным.

Таблица 3. Группы крови и различные локализации злокачественного новообразования в ободочной и прямой кишке (95% ДИ)

Группа крови	Правый отдел		Поперечный отдел		Левый отдел		Прямая кишка	
	Группа							
	1	2	1	2	1	2	1	2
I	67 (53,9–80,1)	66 (52,9–79,1)	42 (31,7–52,3)	38 (28–48)	180 (160,1–199,9)	138 (119,1–156,9)	260 (233,9–286,1)	275 (248,5–301,5)
II	79 (65,4–92,6)	69 (55,8–82,2)	34 (24,3–43,7)	37 (27–47)	119 (100,9–137,1)	142 (123–161)	288 (261,2–314,8)	267 (240,7–293,3)
III	47 (35,2–58,8)	55 (42,6–67,4)	37 (27–47)	35 (25,2–44,8)	88 (71,6–104,4)	106 (88,5–123,5)	220 (195,1–244,9)	215 (190,3–239,7)
IV	11 (4,7–17,3)	14 (6,9–21,1)	10 (4,1–15,9)	13 (6,3–19,7)	37 (25,6–48,4)	38 (26,5–49,5)	51 (37,4–64,6)	62 (47,2–76,8)
Всего	204		123		424		819	

Таблица 4. Результаты мультиномиальной логистической регрессии, примененной отдельно для каждой группы крови пациентов, страдающих злокачественными новообразованиями, локализованными в левом отделе ободочной кишки

Показатель	p	Экспонента β , ОШ e^{β}	95% ДИ для e^{β}	
			Нижняя граница	Верхняя граница
<i>I группа крови</i>				
Возраст	0,642	1,003	0,991	1,014
ИМТ	0,801	0,997	0,976	1,019
Пол	0,142	1,243	0,930	1,661
Курение	0,053	0,726	0,525	1,004
Сахарный диабет	0,243	0,757	0,475	1,208
Этничность	0,683	0,957	0,775	1,181
Группа крови (0)	0,004	1,518	1,146	2,011
<i>II группа крови</i>				
Возраст	0,520	1,004	0,992	1,016
ИМТ	0,812	0,997	0,977	1,019
Пол	0,136	1,246	0,933	1,664
Курение	0,054	0,728	0,528	1,006
Сахарный диабет	0,232	0,753	0,473	1,199
Этничность	0,620	0,948	0,768	1,170
Группа крови (A)	0,099	0,781	0,582	1,048
<i>III группа крови</i>				
Возраст	0,515	1,004	0,992	1,016
ИМТ	0,762	0,997	0,976	1,018
Пол	0,121	1,257	0,941	1,678
Курение	0,047	0,721	0,522	0,996
Сахарный диабет	0,240	0,757	0,475	1,205
Этничность	0,729	0,963	0,781	1,189
Группа крови (B)	0,143	0,785	0,568	1,085
<i>IV группа крови</i>				
Возраст	0,505	1,004	0,992	1,016
ИМТ	0,796	0,997	0,977	1,018
Пол	0,128	1,252	0,938	1,670
Курение	0,051	0,726	0,526	1,001
Сахарный диабет	0,220	0,748	0,470	1,190
Этничность	0,671	0,956	0,775	1,178
Группа крови (AB)	0,884	0,965	0,599	1,555

Примечание. ОШ — отношение шансов, ИМТ — индекс массы тела.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Результаты данного исследования подтверждают наличие статистически значимой связи между I группой крови системы АВ0 и новообразованиями, локализованными в дистальных отделах ободочной кишки.

Обсуждение основного результата исследования

В 2009 г. В. Wolpin и соавт. опубликовали результаты большого проспективного исследования по изучению ассоциаций между группами крови по системе АВ0 и раком поджелудочной железы [4]. Было показано, что пациенты с I группой крови имели меньший риск развития злокачественного процесса в поджелудочной железе, чем пациенты с другими группами. Ранее I. Aird и соавт. в своем исследовании также показали обратную корреляцию между I группой крови и раком желудка

[3]. Это могло объясняться тем, что агглютиногены А и В (отсутствующие у носителей I группы крови) играют определенную роль в механизмах онкогенеза на поверхности клеточных мембран. Однако в отличие от данных исследований, результаты нашей работы, напротив, предполагают, что носители I группы крови были более ассоциированы со злокачественными опухолями дистального отдела ободочной кишки, чем остальные пациенты. Были ли противоречия в результатах наших исследований?

На данный вопрос поможет ответить механизм, который бы интерпретировал выявленную закономерность. Если процесс развития злокачественных новообразований в дистальных отделах ободочной кишки, представленный ниже, принять во внимание, то видимые на первый взгляд противоречия между результатами данного исследования и выводами других работ могут рассматриваться, напротив, как согласующиеся.

Независимо от наличия той или иной группы крови все люди являются носителями Н-антигена, который, в свою очередь, играет роль предшественника для агглютиногенов А и В. Данный предшественник превращается в определенный антиген под воздействием соответствующей гликозилтрансферазы (А или В) [8]. Однако носители I группы крови не имеют подобной ферментативной активности, и, как следствие, предшественник (Н-антиген) остается в их организме без изменений (на мембране эритроцитов не происходит формирования соответствующих углеводных групп).

В этой связи необходимо отметить, что в последние десятилетия было показано, что структурные изменения мембранных гликанов (к которым относятся антигены групп крови) на поверхности клеток предшествовали их неопластической трансформации. В данном случае аномальное гликозилирование мембранных углеводных групп связывалось с функцией поврежденной гликозилтрансферазы [9]. На этом основании можно предположить, что до развития опухоли в ободочной кишке гликозилтрансфераза носителей I группы крови обретает ферментативную активность, которая в свою очередь начинает трансформировать предшественник в антигены групп крови А и/или В, несовместимые для данных пациентов. Действительно, М. Yuan и соавт. показали, что опухоли толстой кишки у пациентов с I группой крови экспрессировали несовместимые для данных лиц антигены системы АВ0 уже на стадии перехода в злокачественный процесс [2]. Более того, подобная аномальная экспрессия была в 4 раза более интенсивной в дистальной (левой) части ободочной кишки, чем в ее проксимальных отделах (обычно проксимально-дистальный градиент экспрессии антигенов групп крови по системе АВ0 исчезает во время развития злокачественного процесса колоректальной локализации). При этом одновременная экспрессия антигенов А и В у пациентов с I группой происходила более чем в половине случаев. В работе сообщается, что нормальная слизистая оболочка толстой кишки выделяет агглютиногены групп крови только бокаловидными клетками, но во время развития злокачественного процесса они появляются и на поверхности эпителиальных клеток. Все вышесказанное обстоятельство предопределяет повышенное содержание агглютиногенов А и В на слизистой оболочке дистальной части ободочной кишки пациентов с I группой крови. Такой механизм может объяснить найденную в исследовании ассоциацию, ведь связь между данными антигенами групп крови и карциногенезом уже была продемонстрирована в некоторых исследованиях [1, 3, 4]. Кроме того, следует иметь в виду, что экспрессия несовместимых (для носителей I группы крови) агглютиногенов на слизистой оболочке кишечника способна запустить аутоиммунные процессы, что в свою очередь может стать предтечей хронических воспалительных заболеваний толстой кишки (патологическая выработка аутоиммунных антител или размножение аутоагрессивных клонов киллерных клеток против собственных тканей приводит к развитию аутоиммунного воспаления). Роль хронических воспалительных процессов в развитии колоректального рака была показана и неоднократно обсуждалась на протяжении последних десятилетий [10–12]. Это подкрепляет положение о том, что нарушение нормального взаимодействия ферментов (гликозилтрансферазы) с соответствующими мембранными гликанами может являться одним из триггерных механизмов развития злокачественных процессов в толстом кишечнике.

Как уже отмечено, многие исследования, направленные на изучение связи между группами крови и колорек-

тальным раком, не привели к каким-либо убедительным результатам. Так, Н. Khalili и соавт. в большом проспективном исследовании (104 885 участников) не наблюдали какой-либо значимой связи [5]. Однако ученые не принимали во внимание проксимально-дистальный градиент экспрессии антигенных детерминант групп крови в толстой кишке и не учитывали различные локализации опухолей (все случаи заболевания были подразделены лишь на прямую и ободочную кишку).

G. Slater и соавт. стали одними из немногих исследователей, которые в своей работе учли различные локализации процесса [7]. Авторы показали распределение групп крови среди пациентов с новообразованиями в отношении тех же локализаций, которые нашли отражение в настоящей работе: I группа крови также являлась преобладающей в левом отделе, но в отличие от нашей работы, данный результат не был статистически значимым. При этом следует учесть, что исследование G. Slater и соавт. включало вдвое меньше пациентов, что могло отразиться на статистической мощности [7]. Другое сходство наших результатов — превалирование II группы крови среди пациентов со злокачественными новообразованиями, локализованными в прямой кишке. Однако данный результат не достиг статистической значимости ни в одной из работ.

Ограничения исследования

Представленное исследование могло иметь ограничения вследствие своей ретроспективной природы: можно было анализировать только те данные, которые были указаны в документации.

Заключение

В подавляющем большинстве исследований, направленных на изучение связи между группами крови и колоректальным раком, не учитывались локализации злокачественного процесса в толстой кишке, которая, как известно, неоднородно экспрессирует антигены групп крови по системе АВ0. Те исследования, которые учитывали данный аспект, обладали сравнительно небольшими выборками и умеренной статистической мощностью. До сих пор не получено убедительных результатов о наличии рассматриваемой связи, несмотря на все этиопатогенетические предпосылки.

Следует учесть, что и в нашем исследовании, и в исследовании G. Slater и соавт. опухоли были распределены по локализациям на 4 крупных отдела — правую, поперечную, левую ободочную и прямую кишку. В этой связи имеет смысл проведение аналогичных исследований на уровне отдельных, более мелких сегментов толстого кишечника. Очевидно, что для достижения необходимой статистической значимости подобные исследования требуют гораздо большего количества наблюдений.

Результаты нашего исследования (как и результаты других работ в данном направлении) показывают, что поиск ассоциации между группами крови и колоректальным раком без учета локализации злокачественного процесса является нецелесообразным. Напротив, изучение данной связи на уровне отдельных частей толстой кишки может выявить определенные закономерности. Так, результаты настоящего исследования демонстрируют наличие статистической связи между I группой крови по системе АВ0 и злокачественными процессами, локализованными в дистальных отделах ободочной кишки. Данная находка согласуется с описанными ранее патогенетическими механизмами, протекающими в толстом кишечнике во вре-

мя развития в нем злокачественных процессов, на уровне взаимодействия антигенов и связанных с ними ферментных систем. Дальнейшие работы в данном направлении будут полезны как для клинического использования (знание определенной группы крови может, например, в той или иной мере прогнозировать наиболее уязвимый участок толстого кишечника в развитии злокачественного процесса у пациента), так и для научного (проведение связи между развитием изучаемого заболевания и описанными ранее антигенными перестройками в толстой кишке поможет интегрировать знания об онкологическом процессе на разных уровнях).

Источник финансирования

Данное исследование было выполнено только на личные средства авторского коллектива.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Выражение признательности

Очевидно, что проведение данного исследования было бы невозможным без информационной поддержки руководителей и работников архива всех вовлеченных медицинских центров. Авторы данной статьи выражают благодарность доктору Нургали Орманову (онкоцентр в г. Шымкенте), доктору Жомарту Кенжалину, Марине Серикбаевой (онкоцентр в г. Усть-Каменогорске), доктору Нурлану Джариеву и Актолкын Джариевой (онкоцентр в г. Актау), доктору Муратбеку Жумакаеву и Косановой Розе (онкоцентр в г. Караганде).

ЛИТЕРАТУРА

1. Nakomori S. Antigen structure and genetic basis of histo-blood groups A, B and O: their changes associated with human cancer. *Biochim Biophys Acta*. 1999;1473(1):247–266. doi: 10.1016/S0304-4165(99)00183-X.
2. Yuan M, Itzkowitz SH, Palekar A, et al. Distribution of blood group antigens A, B, H, Lewisia, and Lewisib in human normal, fetal, and malignant colonic tissue. *Cancer Res*. 1985;45(9):4499–4511.
3. Aird I, Bental HH, Roberts JA. A relationship between cancer of stomach and the ABO blood groups. *BMJ*. 1953;1(4814):799–801. doi: 10.1136/bmj.1.4814.799.
4. Wolpin BM, Chan AT, Hartge P, et al. ABO blood group and the risk of pancreatic cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101(6):424–431. doi: 10.1093/jnci/djp020.
5. Khalili H, Wolpin BM, Huang ES, et al. ABO blood group and risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2011;20(5):1017–1020. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-1250.
6. Halvorsen TB. ABO blood groups, rhesus types, and colorectal adenocarcinoma. A retrospective study of 747 cases. *Scand J Gastroenterol*. 1986;21(8):979–983. doi: 10.3109/00365528608996408.
7. Slater G, Itzkowitz S, Azar S, Aufses AH, Jr. Clinicopathologic correlations of ABO and Rhesus blood type in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 1993;36(1):5–7. doi: 10.1007/bf02050293.
8. Dean L. *ABO Blood Group*. In: Pratt V, McLeod H, Dean L, et al., editors. *Medical Genetics Summaries* [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2012 [cited 2017 Sep 13]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK100894/>.
9. Ashkani J, Naidoo KJ. Glycosyltransferase gene expression profiles classify cancer types and propose prognostic subtypes. *Sci Rep*. 2016;6:26451. doi: 10.1038/srep26451.
10. Boland CR. Chronic inflammation, colorectal cancer and gene polymorphisms. *Dig Dis*. 2010;28(4–5):590–595. doi: 10.1159/000320053.
11. Rubin DC, Shaker A, Levin MS. Chronic intestinal inflammation: inflammatory bowel disease and colitis-associated colon cancer. *Front Immunol*. 2012;3:107. doi: 10.3389/fimmu.2012.00107.
12. Hu T, Li LF, Shen J, et al. Chronic inflammation and colorectal cancer: the role of vascular endothelial growth factor. *Curr Pharm Des*. 2015;21(21):2960–2967. doi: 10.2174/1381612821666150514104244.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Керимов Расим Азат-оглы, магистр медицины, PhD докторант медицинского факультета Международного Казахско-Турецкого университета им. Х.А. Ясави

Адрес: 161200, Республика Казахстан, Туркестан, пр-кт Б. Саттарханова, д. 29, e-mail: kir-2004@list.ru,

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6156-0958>

Сексенбаев Бахытжан Дерибсалиевич, доктор медицинских наук, профессор, ректор Южно-Казахстанской государственной фармацевтической академии

Адрес: 160019, Республика Казахстан, Шымкент, площадь Аль-Фараби, д. 1, тел.: +7 (7252) 40-82-08,

e-mail: rektorukgma@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2556-2360>

Галимов Олег Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней и новых технологий с курсом ИДПО Башкирского государственного медицинского университета

Адрес: 450054, Уфа, проспект Октября, д. 71/1а, тел.: +7 (3472) 37-37-19, e-mail: galimovov@mail.ru,

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4832-1682>

Нурмашев Бекайдар Калдыбаевич, PhD, ассоциированный профессор, проректор по научно-клинической работе Южно-Казахстанской государственной фармацевтической академии

Адрес: 160019, Республика Казахстан, Шымкент, площадь Аль-Фараби, д. 1, тел.: +7 (7252) 40-82-21,

e-mail: bekaidar@bk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3949-2543>

Жантеев Мурат Ендыбаевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры травматологии, ортопедии и онкологии Международного Казахско-Турецкого университета им. Х.А. Ясави

Адрес: 161200, Республика Казахстан, Туркестан, проспект Б. Саттарханова, д. 29, e-mail: zhanteev1963@mail.ru,

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5387-3476>

Полиморфизм гена *NAT2* как предиктор рецидивов после хирургического лечения пролапса тазовых органов

Обоснование. Пролапс тазовых органов (ПТО) — наиболее частое заболевание: число случаев в структуре гинекологической патологии составляет от 28 до 38,9% и продолжает увеличиваться. Большинство исследований посвящено разработке различных видов оперативного лечения распространенных форм пролапса (POP-Q III–IV), однако наличие большого количества вариантов хирургических вмешательств (около 400) в сочетании с высоким процентом их осложнений, а также высокой частотой рецидивов свидетельствуют о действительной сложности решения данной проблемы. Увеличение распространения ПТО среди пациенток репродуктивного возраста связывают с высокой частотой дисплазии соединительной ткани в популяции. В настоящее время большое значение уделяется изучению генов, контролирующих метаболизм соединительной ткани. Имеются данные о наличии генетически детерминированного нарушения катаболизма соединительной ткани вследствие полиморфизма гена *NAT2*, увеличивающего вероятность развития ПТО примерно в 2 раза. Наличие так называемого медленного ацелирования гена *NAT2*, обусловленного точечными мутациями, определяет преобладание скорости распада коллагена над его синтезом. В связи с этим возникает необходимость расширения представления о патогенезе заболевания и разработки подходов к прогнозированию возникновения рецидивов хирургического лечения, выбора правильной и своевременной тактики лечения. **Цель исследования** — изучить значение генетического полиморфизма *NAT2* как одного из возможных предикторов рецидивов после хирургического лечения пролапса тазовых органов. **Методы.** В проспективное когортное клиническое исследование было включено 140 женщин репродуктивного периода с ПТО II–III стадии по классификации POP-Q в возрасте от 28 до 42 лет, которым проводилось обследование и лечение в период с 2008 по 2014 г. Всем 140 (100%) пациенткам было выполнено хирургическое лечение ПТО, включавшее кольпоперинеорафию с леваторопластикой, у больных со стрессовым недержанием мочи (12,9%) — в сочетании с петлевой уретропексией трансобтураторным доступом (Transobturator Vaginal Tape, TVT-O). Отдаленные результаты эффективности лечения оценивали через 3–5 лет. Вычислен относительный риск связи наличия точечных мутаций гена *NAT2* с отдаленными результатами хирургического лечения. **Результаты.** Полученные данные свидетельствуют о том, что частота встречаемости точечных мутаций гена *NAT2* у пациенток с ПТО в группе неэффективного лечения была более чем в 2 раза выше и составила 61,8% против 30,6% в группе эффективного лечения. **Заключение.** Полученные в ходе настоящего исследования данные свидетельствуют о том, что носительство точечных мутаций в гене *NAT2*, определяющих преобладание катаболизма коллагена над его синтезом, является прогностически неблагоприятным фактором как наличия распространенных форм пролапса гениталий, так и предиктором рецидивов после хирургического лечения.

Ключевые слова: пролапс тазовых органов, ген *NAT2*, рецидивные формы.

(Для цитирования: Дубинская Е.Д., Колесникова С.Н., Хамошина М.Б., Лебедева М.Г., Союнов М.А., Костин И.Н., Сохова З.М. Полиморфизм гена *NAT2* как предиктор рецидивов после хирургического лечения пролапса тазовых органов. Вестник РАМН. 2017;72 (6):466–472. doi: 10.15690/vramn901)

Обоснование

Пролапс тазовых органов (ПТО) — одна из наиболее частых форм патологии тазового дна — представляет собой серьезную медико-социальную проблему среди женщин всех возрастных групп [1–3]. Развитие ПТО в случае выраженных его форм может сопровождаться недержанием мочи и кала, хроническим болевым синдромом, сексуальной дисфункцией, формированием фистул, инфекционными осложнениями, что в существенной степени снижает качество жизни, связанное со здоровьем, приводит к социальной изоляции, а также к развитию потенциально опасных для жизни осложнений [4].

Развитие ПТО начинается, как правило, в репродуктивном возрасте, зачастую уже после первых родов. В мировой литературе представлены данные о наличии пролапса более чем у половины рожавших женщин. Но ранние формы пролапса имеют крайне скудную специфическую симптоматику, что замедляет своевременную диагностику вследствие поздней обращаемости пациенток [5]. Зачастую только при появлении существенных изменений и жалоб, ухудшающих качество жизни, пациентка обращается к врачу [2]. Для пациенток ре-

продуктивного возраста с ранними стадиями пролапса тазовых органов характерны высокая частота бактериального вагиноза и рецидивирующих вагинитов (89,2%), заболеваний шейки матки (63,3%), в том числе ее дисплазии (20,0%), сексуальной дисфункции, в частности диспареунии (51,4%), и родового травматизма (50,8%), при этом выявлено отсутствие достоверной взаимосвязи развития пролапса с паритетом (до 3 родов). При этом ни пациентки, ни врачи часто не связывают вышеуказанные жалобы с наличием пролапса гениталий.

Основным методом лечения пролапса гениталий является хирургическая коррекция, при этом частота повторных операций, по некоторым данным, составляет от 13 [6] до 43,47% [7] и максимально высока у женщин в постменопаузе, а также при наличии опущения всех трех компартментов влагалища [6].

В 2016 г. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA, США) предложило считать сетчатые имплантаты для реконструктивно-пластической хирургии тазового дна средствами высокого риска, т.е. представляющими опасность для здоровья [8]. В этой связи вновь актуально использование нативных тканей для

лечения ПТО, в связи с чем некоторые авторы считают их первой линией выбора [9]. Анализ данных литературы установил, что склонность человека к различным заболеваниям определяется так называемыми генами предрасположенности [10].

В настоящее время выявлено, что одними из основных ферментов синтеза соединительной ткани являются лизилоксидаза и N-ацетилтрансфераза (NAT). Существуют два типа NAT — N-ацетилтрансфераза 1 (NAT1) и N-ацетилтрансфераза 2 (NAT2), их гены располагаются в области 8p21,3-p23,1. При низкой активности ферментов изменяются протеин-полисахаридные комплексы матриц соединительной ткани. Неметаболизированные субстраты NAT2 способны блокировать медьзависимую лизилоксидазу — фермент, стабилизирующий структуру коллагена и эластина в соединительной ткани [11]. Активность NAT2 генетически детерминирована и наследуется по аутосомно-доминантному типу. Известно, что индивидуальные различия в метаболическом статусе могут существенно влиять на предрасположенность к различным заболеваниям, а также и на восприимчивость к лечению. Одной из важных метаболических реакций является ацетилирование, опосредуемое N-ацетилтрансферазой. N-ацетилтрансфераза — конституциональный фермент, по активности которого в организме люди делятся на две группы — с фенотипом быстрого и фенотипом медленного ацетилирования. Клеточные и волокнистые элементы соединительной ткани погружены в основное внеклеточное вещество (протеогликаны), метаболизм которых определяется ферментом N-ацетилтрансферазой. У людей с фенотипом быстрого ацетилирования биосинтез внеклеточного компонента соединительной ткани превалирует над ее катаболизмом, вследствие чего процесс образования спаечных сращений превалирует над

процессом их лизиса. И, наоборот, у людей с фенотипом медленного ацетилирования замедлен биосинтез [12]. Много работ в современной литературе посвящено изучению генов, контролирующих процессы метаболизма соединительной ткани, но в доступной литературе имеются лишь немногочисленные работы, свидетельствующие о наличии генетически детерминированного нарушения катаболизма соединительной ткани вследствие полиморфизма гена *NAT2*, увеличивающего вероятность развития ПТО примерно в 2 раза. Наличие так называемого медленного ацетилирования гена *NAT2*, обусловленного точечными мутациями, определяет преобладание скорости распада коллагена над его синтезом [13]. Таким образом, анализ литературных источников показал недостаточную изученность экспрессии генов и активности ферментных систем в метаболизме соединительной ткани и их роли в патогенезе ПТО.

Цель исследования — изучить значение генетического полиморфизма *NAT2* как одного из возможных предикторов рецидивов после хирургического лечения пролапса тазовых органов.

Методы

Дизайн исследования

Одноцентровое наблюдательное проспективное нерандомизированное когортное контролируемое исследование.

Критерии соответствия

Критериями включения в исследование явились наличие пролапса II–III стадии по стандартизированной классификации пролапса гениталий (Pelvic Organ

E.D. Dubinskaya, S.N. Kolesnikova, M.B. Khamoshina, M.G. Lebedeva,
M.A. Sounov, I.N. Kostin, Z.M. Sokhova

RUDN University, Moscow, Russian Federation

***NAT2* Gene Polymorphism as a Predictor of Failure for Surgical Treatment of Pelvic Organ Prolapse: Results of a Prospective Cohort Clinical Study**

Background: Pelvic organ prolapse (POP) is the most frequent disease component in the structure of gynecological pathology (from 28 to 38.9%) and its incidence is increasing. Most of the research studies were initiated to develop various kinds of operative treatment for common prolapse cases (POP-Q III–IV); however, a large number of surgical interventions associated with a high percentage of complications and a high rate of relapses confirm the difficulty for problem-solving. In this regard, there is a need to expand ideas about the pathogenesis of the disease and develop approaches to the prediction of recurrence surgical treatment, choosing the correct and timely treatment strategy. Currently, great importance is given to the study of genetic control of connective tissue metabolism. The evidence demonstrated that polymorphism of *NAT2* gene results in genetically determined disorders of connective tissue catabolism which increases the possibility of disease development approximately in 2 times. Point mutations in *NAT2* lead to the so-called slow-acetylation which determines the predominance of the decay rate of collagen over its synthesis. **Aim:** Analyze the significance of *NAT2* polymorphism as a predictor for failure of surgical treatment of pelvic organ prolapse. **Materials and methods:** The prospective cohort clinical trial enrolled 140 women of the reproductive age (from 28 to 42 y.o.) with symptomatic prolapse (POP-Q Stage II–III) who were examined and received treatment in the period from 2008 to 2014. All patients underwent surgical treatment of POP. The treatment included colpoperineorrhaphy with levatorplasty. In 12.9% of patients who had stress urinary incontinence — in combination with a loop urethropexies transobturatory access (Transobturator Vaginal Tape, TVT-O). Long-term results of treatment effectiveness were assessed in 3–5 years. **Results:** The findings revealed that the incidence rate of point mutations of *NAT2* gene was >2-fold higher in patients with POP included in the ineffective treatment group (61.8%) if compared to the rate registered in the effective treatment group (30.6%). **Conclusions:** The obtained data indicate that the presence of point mutations in *NAT2* gene is a poor prognostic factor for general types of genital prolapse and a predictor for failure of surgical treatment.

Key words: *NAT2* gene polymorphism, pelvic organ prolapse, recurrence of pelvic organ prolapse.

(For citation: Dubinskaya ED, Kolesnikova SN, Khamoshina MB, Lebedeva MG, Sounov MA, Kostin IN, Sokhova ZM. *NAT2* Gene Polymorphism as a Predictor for Failure of Surgical Treatment of Pelvic Organ Prolapse: Results of a Prospective Cohort Clinical Study. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017;72 (6):466–472. doi: 10.15690/vramn901)

Prolapse Quantification, POP-Q); репродуктивный возраст; желание женщины проводить обследование и лечение по поводу пролапса; реализованная репродуктивная функция.

Критерии исключения из исследования: пациентки с эндокринными нарушениями; пациентки с бесплодием; нежелание женщины проводить обследование и лечение по поводу пролапса.

Условия проведения

Исследование проведено на базе 2-го гинекологического отделения ГКБ им. С.С. Юдина (ГКБ № 79) г. Москвы (клиническая база кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины ФПК МР «РУДН») и Университетской группы клиник «Я здорова» (клиническая база кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины ФПК МР «РУДН»).

Продолжительность исследования

Обследование и хирургическое лечение пролапса проводилось с 2008 по 2014 г. Сроки послеоперационного наблюдения составили от 3 до 5 лет. Оценка результатов проводили через 1 мес, 6 мес, 1 год, 3–5 лет.

Описание медицинского вмешательства

Для выполнения передней и задней кольпорафии была использована методика, описанная М. Баггишем и М. Каррамом [14]: укрепление пузырно-шеечной фасции путем наложения отдельных швов и аппликации фасции вначале по средней линии в области уретровезикального соединения, а затем в области основания мочевого пузыря, что обеспечивало поддержку шейки мочевого пузыря. В зависимости от степени пролапса накладывали один или два ряда швов, используя рассасывающиеся викриловые нити 2/0. Если выявлялись паравагинальные дефекты, использовали методику двухточечной коррекции паравагинального дефекта, при которой латеральный край оторванной фасции фиксировался отдельными швами к верхнему отделу передней стенки влагалища. Затем на переднюю стенку влагалища накладывали непрерывный шов рассасывающейся нитью 3/0. В результате обеспечивалась хорошая поддержка передней стенки влагалища с восстановлением паравагинальных дефектов. Традиционная задняя кольпорафия включает леваторопластику, перед выполнением которой выделяют периректальную фасцию и мобилизуют края бульбокавернозных мышц. Для коррекции ректоцеле идентифицировали дефекты прямокишечно-влагалищной фасции (продольные, поперечные, косые). Края дефектов сшивали в продольном или поперечном направлениях отдельными рассасывающимися нитями 2/0. Подход к леваторопластике был индивидуальным в зависимости от степени расхождения мышц. Как известно, целью леваторопластики является уменьшение промежутка между разошедшимися мышцами и уменьшение входа во влагалище, устранение его зияния. Для этого накладывали несколько швов (от 1 до 3) в горизонтальном направлении, соединяющих леваторы по средней линии, и формировали вход во влагалище, пропускающий 2 пальца хирурга. Таким образом, мы увеличивали высоту сухожильного центра, создавали заднюю спайку, поддерживающую заднюю стенку влагалища и обеспечивали адекватную емкость влагалища. Оперативное лечение выполняли под спинальной анестезией. Интраоперационных и ранних послеоперационных осложнений (ранение мочевого пузыря, образование гематом в области операционной зоны

или под кожей, острая задержка мочи при установлении петли) не выявлено ни в одном случае. Все оперативные вмешательства выполнены в первую фазу менструально-го цикла одним хирургом.

Исходы исследования

Основной исход исследования: конечной точкой считался рецидив пролапса или его отсутствие в течение 5 лет наблюдения. Конечной суррогатной точкой считали анатомические характеристики тазового дна, полученные при его ультразвуковом исследовании.

Методы регистрации исходов

Обследование пациенток включало стандартный клинический комплекс исследований, оценку мышц тазового дна и их тонуса по методике В.Е. Радзинского [2].

Для объективной оценки метаболизма соединительной ткани были проанализированы точечные мутации гена *NAT2* у пациенток в зависимости от эффективности проведенного лечения. Материалом для этого исследования служили образцы ДНК, выделенной из лейкоцитов периферической крови пациенток. В качестве консерванта использовали 1 мл 0,5М ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота), pH 8.0.

Для оценки степени ПТО применяли систему классификации POP-Q [15]. Клинический диагноз формулировался согласно статистической классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10).

Пациенткам проводилось трансвагинальное, транслабиальное и трансперинеальное ультразвуковое исследование на аппарате Voluson E8 Expert (GE Healthcare, США) с использованием высокочастотного внутривагинального датчика с частотами сканирования 4,5–11,9 МГц 4D. Ультразвуковое исследование и эхографическая оценка строения структур тазового дна осуществлялись по общепринятым методикам трансвагинального сканирования [16].

Этическая экспертиза

Проведена этическая экспертиза протокола исследования (протокол № 10 от 20.02.2012, комитет по этике Медицинского института РУДН). При госпитализации пациентки подписывали информированное согласие, в котором отмечено, что данные из истории болезни могут использоваться в научных целях.

Статистический анализ

Статистическая обработка данных была выполнена на индивидуальном компьютере с помощью электронных таблиц Microsoft Excel и пакета прикладных программ Statistica for Windows v. 8.0 (StatSoft Inc., США).

Количественные показатели при нормальном распределении данных представлены в виде среднего значения (M) \pm среднее квадратическое отклонение (SD), в случае неподчинения закону нормального распределения — в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха ($Q1-Q3$); качественные данные — в виде количества и частоты (%).

Перед проведением сравнительного анализа количественных данных в исследуемых группах определяли вид распределения данных (тест Колмогорова–Смирнова, графический анализ данных). При нормальном виде распределения данных для оценки различий в группах применялись методы параметрической статистики (t -критерий Стьюдента). При отсутствии нормального распределения данных применялись методы непараметрической статистики — U -тест Манна–Уитни.

При оценке качественных признаков использовался критерий χ^2 Пирсона. В случае если абсолютные частоты в клетках таблицы сопряженности были менее 10, использовали поправку Йейтса на непрерывность. При условии, когда объем выборки не превышал 5 случаев, использовали точный критерий Фишера для небольших выборок. В случае невозможности использовать критерий χ^2 применялся критерий Стьюдента для долей, в том числе поправка для концевых точек (0 или 100%).

Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$ (95% уровень значимости).

Результаты

Объекты (участники) исследования

В исследование было включено 140 женщин репродуктивного периода со II–III стадиями ПТО, оцененных с помощью классификации POP-Q, в возрасте от 28 до 42 лет, которым в период с 2008 по 2014 г. проводилось обследование и хирургическое лечение пролапса. Всем 140 (100%) пациенткам было выполнено хирургическое лечение ПТО, включавшее кольпоперинеорафию с леваторопластикой, у больных со стрессовым недержанием мочи (12,9%) — в сочетании с петлевой уретропексией трансобтураторным доступом.

По результатам оценки отдаленных результатов лечения через 3–5 лет больные были разделены на 2 группы — эффективного и неэффективного лечения. Лечение считали эффективным у тех пациенток, у которых по итогам лечения были выявлены 0–I стадия ПТО (уменьшение ПТО как минимум на одну стадию), отсутствие клинических симптомов пролапса и зияния половой щели. Лечение признавали неэффективным, если диагностировали II–III стадию ПТО (сохранение или увеличение ПТО как минимум на одну стадию) или прогрессирование в более тяжелые стадии (III–IV). Отдаленные результаты эффективности лечения, оцененные через 3–5 лет, включали анализ жалоб пациенток, а также анатомических соотношений при клиническом осмотре, проведение функциональных проб и ультразвукового исследования.

Для объективной оценки метаболизма соединительной ткани у всех пациенток был проведен анализ наличия или отсутствия точечных мутаций гена *NAT2* в зависимости от эффективности проведенного лечения.

Пациентки были сопоставимы по возрасту: средний возраст пациенток составил $39,2 \pm 2,6$ года. Большинство женщин имели отягощенную наследственность по изучаемому заболеванию. Так, наличие ПТО у родственников первой линии выявлено у 69/140 (49,3%) женщин. Проведенное исследование позволило установить, что количество родов не оказывает существенного влияния на формирование ПТО. У всех пациенток в анамнезе преобладали вагинальные роды в сочетании с высокой частотой родового травматизма (у 82/140; 58,6%). Опухоли и опухолевидные образования (миома матки, эндометриоз, кисты яичников различного генеза в анамнезе) отмечены в 39 (27,9%) случаях ($p > 0,05$).

Основные результаты исследования

Через 3–5 лет после проведенного лечения у 101/140 (72,1%) пациентки отмечено улучшение состояния промежности: при осмотре у них выявлена 0–I стадия ПТО; в 39 (27,9%) случаях, напротив, наблюдали прогрессирование симптомов заболевания (POP-Q III–IV стадии). При этом группу эффективного лечения составили

82/101 (81,2%) пациентки, прооперированные на стадии POP-Q II, и 19/101 (18,8%) женщин с исходной стадией POP-Q III. В группу неэффективного лечения вошли 14/39 (35,9%) женщин, прооперированных на стадии POP-Q II, и 25 (64,1%) женщин с исходной стадией POP-Q III.

Учитывая цели исследования, проанализирована частота встречаемости точечных мутаций гена *NAT2* в аллелях *c.341T>C*, *c.481C>T*, *c.590G>A*, *c.857G>A* и *c.803A>G* у пациенток в зависимости от эффективности проведенного лечения ПТО (табл.). В целом выявлено, что частота встречаемости гетерозиготных точечных мутаций гена *NAT2* в аллельных вариантах *c.341T>C*, *c.481C>T* и *c.803A>G* составляла 72,5% для пациенток с ПТО, при этом точечные мутации гена *NAT2* обнаружены у 67,8% больных, имеющих фенотипические признаки дисплазии соединительной ткани.

Полученные данные свидетельствуют о том, что частота встречаемости точечных мутаций гена *NAT2* у пациенток с ПТО в группе неэффективного лечения была более чем в 2 раза выше и составила 61,8% против 30,6% у пациенток группы эффективного лечения.

При анализе сочетания точечных мутаций обнаружено, что в группе неэффективного лечения частота встречаемости точечных мутаций в аллельных вариантах *c.341T>C*, *c.481C>T* и *c.803A>G* (3 и более) в 2 раза выше (25; 64,1% против 32; 31,7%), чем в группе эффективного лечения ($p < 0,001$). Две и более точечные мутации в аллельных вариантах *c.341T>C*, *c.481C>T* и *c.803A>G*

469

Таблица. Распределение различных вариантов точечных замен в гене *NAT2* у пациенток с пролапсом тазовых органов в зависимости от эффективности лечения

Генотипы	Группа эффективного лечения		Группа неэффективного лечения		P
	n=101		n=39		
	Абс.	Частота, %	Абс.	Частота, %	
<i>c.341 T>C</i>					
ТТ	78*	77,2	23	59,0	0,0308
СТ	18*	17,8	14	35,9	0,0224
СС	5	5,0	2	5,1	0,9655
<i>c.481 C>T</i>					
СС	83*	82,2	21	53,8	0,0017
СТ	14*	13,9	15	38,5	0,0045
ТТ	4	4,0	3	7,7	0,4273
<i>c.590 G>A</i>					
GG	86*	85,1	24	61,5	0,0066
GA	9*	8,9	15	38,5	0,0005
AA	6	5,9	6	15,5	0,7198
<i>c.803 A>G</i>					
AA	81	80,2	24	61,5	0,0223
AG	14	13,9	13	33,3	0,0088
GG	6	5,9	2	5,1	0,8527
<i>c.857 G>A</i>					
GG	101	100	39	100	-
GA	0	0	0	0	-
AA	0	0	0	0	-

*Примечание.** — достоверность различий в сравнении с группой неэффективного лечения ($p < 0,05$).

в группе эффективного лечения выявлены только у 14/101 (13,9%) пациенток, тогда как в группе неэффективного лечения у 16/39 (41,9%) женщин было по 2 и более мутаций ($p=0,0019$). При этом частота точечных мутаций по аллельным вариантам *c.590 G>A* достоверно не отличалась.

Нежелательные явления

Нежелательных явлений не было.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Таким образом, эффективность хирургического лечения пациенток с пролапсом тазовых органов определяется стадией, на которой проведено оперативное лечение, а также наличием точечных мутаций гена *NAT2*. Изучение полиморфизма генов ферментов соединительной ткани имеет значение для понимания звеньев патогенеза ПТО. Обнаружение определенных генов и их аллелей позволяет выявлять группы риска по развитию данной патологии, прогнозировать клиническое течение заболевания, оптимизировать методы профилактики и оперативного лечения. Наличие точечных мутаций гена *NAT2* может служить маркером для своевременного выбора сроков и метода лечения ПТО (возможно, с использованием сетчатых имплантатов), однако необходимы дальнейшие исследования для разработки четких рекомендаций с учетом выявленных факторов риска.

Обсуждение основного результата исследования

К настоящему времени получены доказательства, что дефекты синтеза и распада коллагена, генетически обуславливающие слабость тканей, увеличивают риск развития несостоятельности тазового дна после родов. Коллаген и эластин являются основными белками, составляющими внеклеточный матрикс соединительной ткани. Коллаген отвечает за прочность и целостность ткани при растяжении, в то время как эластин обеспечивает эластичность и упругость тканей. Количество коллагена и эластина в соединительной ткани структур тазового дна является важным фактором, влияющим на тяжесть акушерской травмы, а также степень устойчивости тканей к воздействию повышенного внутрибрюшного давления. Генетически обусловленные изменения в метаболизме коллагена и эластина могут приводить к снижению способности соединительной ткани тазового дна к репарации при повреждении и, как следствие, возникновению ПТО [17].

Выявлено, что гомеостаз экстрацеллюлярного матрикса поддерживается согласованностью процессов биосинтеза и биодеградации его компонентов. Существуют доказательства, что дефицит синтеза и/или деградации коллагеновых и эластических волокон могут быть ассоциированы с ПТО. Среди белков, участвующих в этих процессах, наибольшее внимание исследователей привлекли белки, ответственные за биогенез экстрацеллюлярного матрикса, в том числе BMP1, семейство LOXS, фибулины, ламинины и фибриллины, а также белки, участвующие в ремоделировании экстрацеллюлярного матрикса, такие как матриксные металлопротеиназы (matrix metalloproteinases, MMP) и их ингибиторы (Tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs), эластазы нейтрофилов, ингибитор альфа-1-антитрипсина и катепсины [18–20]. Кроме того, в настоящее время обсуждается роль полиморфизмов генов рецептора витамина D и генов фазы II системы детоксикации в патогенезе ПТО.

Эпидемиологические исследования тазовых расстройств показывают, что некоторые женщины могут быть фенотипически или генотипически предрасположены к развитию ПТО. Например, в литературе имеются данные о различиях в распространенности пролапса среди разных этнических групп, а также о семейных случаях ПТО [21, 22]. Считается, что одним из возможных факторов риска развития ПТО является гипермобильность суставов. Синдром гипермобильности суставов представляет собой генерализованную дисплазию соединительной ткани и встречается примерно у 10% взрослых женщин [23]. Проведенные исследования по типу случай-контроль показали, что наличие гипермобильности суставов как проявление нарушения метаболизма соединительной ткани ассоциировано с тазовыми расстройствами [24].

К настоящему времени получены данные, что активация коллагенолиза и эластолитической деятельности ассоциирована с развитием ПТО [20]. По всей вероятности, генетическая предрасположенность к данным метаболическим нарушениям предопределяет не только формирование пролапса тазовых органов, но и является фактором, обуславливающим сложность и неэффективность большинства методов лечения.

Генетическая предрасположенность со временем может дополняться другими факторами, которые в комбинации с родовыми повреждениями усугубляют процесс опущения промежности.

Пожалуй, наиболее важные выводы относительно роли метаболизма коллагена и эластина при ПТО были получены в исследованиях на животных моделях с нокаутом соответствующих генов. М. Khadzhieva и соавт. показали, что правильный синтез и сборка эластичных волокон имеют решающее значение для восстановления поддерживающего аппарата тазового дна после вагинальных родов [25]. Кроме того, выявлено, что у мышей с нокаутом гена фибулина-5 (*FBLN5*) отмечаются снижение толерантности тканей к максимальному напряжению, повышенная растяжимость и снижение жесткости тканей, сходные проявления наблюдаются и у пациенток с ПТО. Как и в случае дефицита *LOXL1*, у животных с полиморфизмом фибулина-5 наблюдались опущение стенок влагалища с формированием цисто- и ректоцеле, а также возникновение паховых грыж.

По данным литературы, причинами высокой заболеваемости ПТО могут быть социально-демографические факторы, образ жизни женщин, а также внутривидовая генетическая изменчивость, что приводит к индивидуальным изменениям структуры и функции компонентов тазового дна [21]. Теория о роли генетической изменчивости и наследственности в развитии ПТО также была представлена в ряде эпидемиологических исследований. Выявлено, что семейный анамнез заболеваемости ПТО наблюдается у 60% женщин. С помощью методов генетического картирования к настоящему времени проведено большое количество исследований, посвященных изучению генов, участвующих в патогенезе ПТО. По результатам работ выявлено, что в хромосоме 9q21 содержатся гены, ответственные за предрасположенность к ПТО. Некоторые из них кодируют структурные белки и экспрессируются на высоком уровне в мышцах. Изменение генетической регуляции генов может дополнительно способствовать нарушению баланса катаболизма соединительной ткани [26].

В последнее время выполнено несколько исследований, которые выявили геномные различия, ответственные за экспрессию генов у женщин с ПТО и стрессовым недержанием мочи. Геномный анализ подтверждает

вклад генов-кандидатов (*LAMC1*, хромосома 9q21) в патогенез ПТО. Считается, что эти полиморфизмы могут также влиять на экспрессию стероидных рецепторов и, следовательно, приводить к изменению чувствительности тканей к половым гормонам [26].

Полученные в ходе настоящего исследования данные свидетельствуют о том, что носительство точечных мутаций в гене *NAT2*, определяющих преобладание катаболизма коллагена над его синтезом, является прогностически неблагоприятным фактором как наличия распространенных форм пролапса гениталий, так и предиктором неудач (рецидивов) хирургического лечения [1]. В группе неэффективного лечения, в которой через 3–5 лет не был получен полностью удовлетворительный результат, частота встречаемости точечных мутаций гена *NAT2* была более чем в 2 раза выше при сравнении с пациентками, лечение которых было эффективным.

Ограничения исследования

Исследование имеет ряд ограничений, связанных с продолжительностью наблюдения. Результаты исследования следует с осторожностью экстраполировать на другие возрастные группы женщин.

Патогенетические особенности развития изучаемой патологии указывают на то, что выявленные связи имеют долгосрочные механизмы развития, для реализации которых необходимо более длительное наблюдение.

Заключение

Проведенное исследование расширяет представления о патогенезе пролапса тазовых органов с учетом наличия точечных мутаций гена *NAT2*. Анализ полученных данных позволяет рассматривать генетический полиморфизм *NAT2* как один из возможных предикторов прогрессирования пролапса тазовых органов, а также рецидивов после хирургического лечения.

Полученные результаты подтверждают также наибольшую эффективность оперативных вмешательств по поводу ПТО, выполненных на ранних стадиях заболева-

ния (POP-Q I–II) с использованием нативных тканей: эффективность хирургической коррекции пролапса на II стадии (POP-Q) в течение 3–5 лет наблюдения составила 81,8%, при стадии III (POP-Q) — 18,8%. Очевидно, распространенные формы пролапса гениталий требуют расширенных оперативных вмешательств, видимо, с использованием сетчатых имплантатов.

Расширение программы обследования больных ПТО путем включения в стандарт исследования точечных мутаций гена *NAT2* наряду с выявлением пациенток, имеющих ранние формы заболевания, позволит существенно улучшить качество оказания медицинской помощи данной когорте больных.

В настоящем исследовании представлены данные, свидетельствующие о неоднородности группы пациенток с пролапсом тазовых органов: работа должна стать основой для усовершенствования хирургической техники, прогнозирования вероятности формирования синдрома недержания мочи, а также, возможно, поиска лекарственных средств, влияющих на метаболизм коллагена с учетом генетического полиморфизма *NAT2*.

Источник финансирования

Исследование и публикация настоящей работы осуществлены только на личные средства авторского коллектива.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Выражение признательности

Авторы статьи выражают благодарность Чугуевой Ирине Александровне за помощь в статистической обработке данных настоящего исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Русина Е.И. Смешанное и сочетанное с пролапсом тазовых органов недержание мочи у женщин: патогенез, диагностика, лечение: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. — СПб.; 2015. — 40 с. [Rusina EI. *Smeshannoe i sochetannoe s prolapsom tazovykh organov nederzhanie mochi u zhenshchin: patogenez, diagnostika, lechenie*. [dissertation abstract] St. Petersburg; 2015. 40 p. (In Russ).]
2. Радзинский В.Е., Шалаев О.Н., Дурандин Ю.М., и др. Опущение и выпадение половых органов. Перинеология. — М.: РУДН; 2008. — 256 с. [Radzinskii VE, Shalaev ON, Durandini YuM, et al. *Opushchenie i vyupadenie polovykh organov. Perineologiya*. Moscow: RUDN; 2008. 256 p. (In Russ).]
3. Колесникова С.Н., Дубинская Е.Д., Бабичева И.А. Влияние ранних форм пролапса тазовых органов на качество жизни женщин репродуктивного возраста // Академический журнал Западной Сибири. — 2016. — Т.12. — №1 — С. 65–67. [Kolesnikova SN, Dubinskaya ED, Babicheva IA. Vliyanie rannikh form prolapsa tazovykh organov na kachestvo zhizni zhenshchin reproduktivnogo vozrasta. *Akademicheskii zhurnal Zapadnoi Sibiri*. 2016;12(1):65–67. (In Russ).]
4. Walker GJA, Gunasekera P. Pelvic organ prolapse and incontinence in developing countries: review of prevalence and risk factors. *Int Urogynecol J*. 2011;22(2):127–135. doi: 10.1007/s00192-010-1215-0.
5. Дубинская Е.Д., Бабичева И.А., Колесникова С.Н., и др. Клинические особенности и факторы риска ранних форм пролапса тазовых органов // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2015. — Т.14. — №6 — С. 5–11. [Dubinskaya ED, Babicheva IA, Kolesnikova SN, et al. Clinical specificities and risk factors of early forms of pelvic organ prolapse. *Problems of gynecology, obstetrics, and perinatology*. 2015;14(6):5–11. (In Russ).]
6. Lowenstein E, Moller LA, Laigaard J, Gimbel H. Reoperation for pelvic organ prolapse: a Danish cohort study with 15-20 years' follow-up. *Int Urogynecol J*. 2017;6. doi: 10.1007/s00192-017-3395-3.
7. Costa J, Towobola B, McDowel C, Ashe R. Recurrent pelvic organ prolapse (POP) following traditional vaginal hysterectomy with or without colporrhaphy in an Irish population. *Ulster Med J*. 2014;83(1):16–21.
8. fda.gov [Internet]. FDA strengthens requirements for surgical mesh for the transvaginal repair of pelvic organ prolapse to address safety risks [cited 2017 Nov 1]. Available from: <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm479732.htm>.
9. Dallenbach P. To mesh or not to mesh: a review of pelvic organ reconstructive surgery. *Int J Womens Health*. 2015;7:331–343. doi: 10.2147/IJWH.S71236.
10. Pontiroli AE, Cortelazzi D, Morabito A. Female sexual dysfunction and diabetes: a systematic review and meta-analysis. *J Sex Med*. 2013;10(4):1044–1051. doi: 10.1111/jsm.12065.
11. Lucero HA, Kagan HM. Lysyl oxidase: an oxidative enzyme and effector of cell function. *Cell Mol Life Sci*. 2006;63(19–20):2304–2316. doi: 10.1007/s00018-006-6149-9.

12. Родионова Л.В., Сороковиков В.А., Кошкарева З.В. Активность ферментных систем и метаболизм соединительной ткани в патогенезе стенозирующего процесса позвоночного канала // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. — 2015. — №1 — С. 77–83. [Rodionova LV, Sorokovikov VA, Koschkareva ZV. Enzyme systems activity and connective tissue metabolism as pathogenetic factors of spinal stenosis (literature review). *Bull Vost Sib Nauch Sent.* 2015;(1):77–83. (In Russ).]
13. Русина Е.И., Беженарь В.Ф., Иващенко Т.Э., и др. Особенности полиморфизма генов NAT2, GST t1, GST m1 у женщин с пролапсом тазовых органов и стрессовым недержанием мочи // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. — 2014. — Т.1. — №2 — С. 36–40. [Rusina EI, Bezhenar VF, Ivashchenko TE, et al. NAT2, GST T1, and GST M1 gene polymorphisms in women with pelvic organ prolapse and stress urinary incontinence. *Arkhiv akusherstva i ginekologii im. V.F. Snegireva.* 2014;1(2):36–40. (In Russ).]
14. Баггиш М.С., Каррам М.М. Атлас анатомии таза и гинекологической хирургии. Пер. с англ. Е.Л. Яроцкой. — Лондон; 2009. [Baggish MS, Karram MM. *Atlas of pelvic. Anatomy and gynecologic surgery.* 2nd ed. Transl from English by E.L. Yarotskaya, L. Adamyam. Moscow: Elsevier Ltd; 2009. 1184 p. (In Russ).]
15. Bump RC, Mattiasson A, Bo K, et al. The standardization of terminology of female pelvic organ prolapse and pelvic floor dysfunction. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;175(1):10–17. doi: 10.1016/S0002-9378(96)70243-0.
16. Чечнева М.А., Буянов С.Н., Попов А.А., Краснополянская И.В. Ультразвуковая диагностика пролапса гениталий и недержания мочи у женщин / Под общей ред. В.И. Краснополянского. — М.: МЕДпресс-информ; 2016. — 136 с. [Chechneva MA, Buyanov SN, Popov AA, Krasnopol'skaya IV. *Ul'trazvukovaya diagnostika prolapsa genitalii i nederzhaniya mochi u zhenshchin.* Ed by V.I. Krasnopol'skii. Moscow: MEDpress-inform; 2016. 136 p. (In Russ).]
17. Han LY, Wang L, Wang Q, et al. Association between pelvic organ prolapse and stress urinary incontinence with collagen. *Exp Ther Med.* 2014;7(5):1337–1341. doi: 10.3892/etm.2014.1563.
18. Neupane R, Sadeghi Z, Fu R, et al. Mutation screen of LOXL1 in patients with female pelvic organ prolapse. *Female Pelvic Med Reconstr Surg.* 2014;20(6):316–321. doi: 10.1097/Spv.000000000000108.
19. Dal Moro F. The role of lysyl oxidase-like 1 and fibulin-5 in the development of atherosclerosis and pelvic organ prolapse. *J Biomed Res.* 2013;27(3):242. doi: 10.7555/JBR.27.20130045.
20. Alarab M, Kufaishi H, Lye S, et al. Expression of extracellular matrix-remodeling proteins is altered in vaginal tissue of premenopausal women with severe pelvic organ prolapse. *Reprod Sci.* 2014;21(6):704–715. doi: 10.1177/1933719113512529.
21. Norton PA, Allen-Brady K, Wu J, et al. Clinical characteristics of women with familial pelvic floor disorders. *Int Urogynecol J.* 2015;26(3):401–406. doi: 10.1007/s00192-014-2513-8.
22. Buchsbaum GM, Duecy EE. Incontinence and pelvic organ prolapse in parous/nulliparous pairs of identical twins. *Neurourol Urodyn.* 2008;27(6):496–498. doi: 10.1002/nau.20555.
23. Knoepp LR, McDermott KC, Munoz A, et al. Joint hypermobility, obstetrical outcomes, and pelvic floor disorders. *Int Urogynecol J.* 2013;24(5):735–740. doi: 10.1007/s00192-012-1913-x.
24. Derpapas A, Cartwright R, Upadhyaya P, et al. Lack of association of joint hypermobility with urinary incontinence subtypes and pelvic organ prolapse. *BJU Int.* 2015;115(4):639–643. doi: 10.1111/bju.12823.
25. Khadzhieva MB, Kamoeva SV, Chumachenko AG, et al. Fibulin-5 (FBLN5) gene polymorphism is associated with pelvic organ prolapse. *Maturitas.* 2014;78(4):287–292. doi: 10.1016/j.maturitas.2014.05.003.
26. Allen-Brady K, Norton PA, Farnham JM, et al. Significant linkage evidence for a predisposition gene for pelvic floor disorders on chromosome 9q21. *Am J Hum Genet.* 2009;84(5):678–682. doi: 10.1016/j.ajhg.2009.04.002.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Дубинская Екатерина Дмитриевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины факультета постдипломного образования Российского университета дружбы народов Минобрнауки России

Адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8, тел.: +7 (495) 434-10-60, e-mail: eka-dubinskaya@yandex.ru, SPIN-код: 9462-1471, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-8311-0381>

Колесникова Светлана Николаевна, аспирант кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины факультета постдипломного образования Российского университета дружбы народов Минобрнауки России

Адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8, тел.: +7 (495) 434-10-60, e-mail: ksnmed@mail.ru, SPIN-код: 7257-6027, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-9575-0274>

Хамошина Марина Борисовна, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Российского университета дружбы народов Минобрнауки России

Адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8, тел.: +7 (495) 434-10-60, e-mail: khamoshina@mail.ru, SPIN-код: 6790-4499, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-1663-5265>

Лебедева Марина Георгиевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Российского университета дружбы народов Минобрнауки России

Адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8, тел.: +7 (495) 434-10-60, e-mail: lebedeva1108@rambler.ru, SPIN-код: 2487-9285, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-7236-9486>

Союнов Мухамедназар Аманович, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Российского университета дружбы народов Минобрнауки России

Адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8, тел.: +7 (495) 434-10-60, e-mail: msouinov@mail.ru, SPIN-код: 4159-5812, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-9156-6936>

Костин Игорь Николаевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Российского университета дружбы народов Минобрнауки России

Адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8, тел.: +7 (495) 434-10-60, e-mail: bigbee62@mail.ru, SPIN-код: 2058-8535, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3108-7044>

Сохова Залина Михайловна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Российского университета дружбы народов Минобрнауки России

Адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8, тел.: +7 (495) 434-10-60, e-mail: zalyasokh@yandex.ru, SPIN-код: 9498-5400, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3807-6153>