

ВЕСТНИК  
РОССИЙСКОЙ  
АКАДЕМИИ  
МЕДИЦИНСКИХ  
НАУК

ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY  
OF MEDICAL SCIENCES



5

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ 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 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,  
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**

---

## 2018/ТОМ 73/№5

---

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»: 117335, г. Москва, ул. Вавилова, д. 81, кор. 1, <http://vestnikramn.spr-journal.ru>  
e-mail: [vestnikramn@nczd.ru](mailto:vestnikramn@nczd.ru)

Отпечатано ООО «Полиграфист и издатель». 119501, Москва, ул. Веерная, 22-3-48. Тел. +7 (499) 737-78-04.

THE RUSSIAN ACADEMY OF 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 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,  
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

---

# 2018/ 73 (5)

---

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»: 81, cor. 1, Vavilova street, Moscow, 117335, <http://vestnikramn.spr-journal.ru>  
e-mail: [vestnikramn@nczd.ru](mailto:vestnikramn@nczd.ru)

Printed by «PRINTER & PUBLISHER» Ltd, 22-3-48, Veernaya street, Moscow, 119501. Tel. +7 (499) 737-78-04.

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
БИОХИМИИ**

*Е.В. Шахристова, Е.А. Степовая, Е.В. Рудиков,  
О.С. Сушицкая, Д.О. Родионова, В.В. Новицкий*  
Участие редокс-белков в блокировании  
пролиферации клеток эпителия молочной  
железы в условиях окислительного стресса

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ВНУТРЕННИХ БОЛЕЗНЕЙ**

*Ч.С. Павлов, Д.Л. Варганова, М.Ч. Семенистая,  
Е.А. Кузнецова, А.А. Усанова, А.А. Свистунов*  
Урсодезоксихолевая кислота: эффективность и  
безопасность в лечении неалкогольной жировой  
болезни печени (метаанализ)

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ОНКОЛОГИИ**

*М.Б. Жилова, М.М. Бутарева*  
УФ-излучение как фактор риска  
немеланомного рака кожи.  
Генетические детерминанты онкогенеза

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ОРГАНИЗАЦИИ  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ**

*О.С. Кобякова, И.А. Деев, Е.С. Куликов, Р.И. Штых,  
И.Д. Пименов, О.И. Звонарёва, И.В. Мареев*  
Клинические исследования: что, где, когда?

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ПУЛЬМОНОЛОГИИ**

*В.А. Петров, И.В. Салтыкова, К.В. Невская,  
Ю.Б. Дорофеева, С.П. Лежава, Н.А. Кириллова,  
Е.С. Куликов, А.Э. Сазонов, Л.М. Огородова*  
Исследование цитокинового профиля  
и экспрессии генов *FYN*, *ZAP-70* и *LAT*  
при стимуляции конканавалином А у пациентов  
с терапевтически резистентной бронхиальной  
астмой

**BIOCHEMISTRY:  
CURRENT ISSUES**

**289** *E.A. Stepovaya, E.V. Shakhristova, E.V. Rudikov,  
O.S. Sushitskaya, D.O. Radionova, V.V. Novitsky*  
The Role of Redox Proteins  
in Arresting Proliferation of Breast Epithelial Cells  
Under Oxidative Stress

**INTERNAL DISEASES:  
CURRENT ISSUES**

**294** *C.S. Pavlov, D.L. Varganova, M.C. Semenistaya,  
E.A. Kuznetsova, A.A. Usanova, A.A. Svistunov*  
Ursodeoxycholic Acid: Efficacy and Safety in the  
Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease  
(Meta-Analysis)

287

**ONCOLOGY:  
CURRENT ISSUES**

**306** *M.B. Zhilova, M.M. Butareva*  
UV-radiation as a Risk Factor  
for Non-melanoma Skin Cancer.  
Genetic Determinants of Carcinogenesis

**HEALTH CARE MANAGEMENT:  
CURRENT ISSUES**

**314** *O.S. Kobyakova, I.A. Deev, E.S. Kulikov, R.I. Shtykh,  
I.D. Pimenov, O.I. Zvonareva, I.V. Mareev*  
Clinical Trials: What, Where, When?

**PULMONOLOGY:  
CURRENT ISSUES**

**321** *V.A. Petrov, I.V. Saltykova, K.V. Nevskaya,  
Yu.B. Dorofeeva, S.P. Lezhava, N.A. Kirillova,  
E.S. Kulikov, A.E. Sazonov, L.M. Ogorodova*  
Cytokine Profile and Expression  
of *FYN*, *ZAP-70* and *LAT*  
During Concanavalin A Stimulation  
in Patients with Resistant Bronchial  
Asthma

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ФТИЗИАТРИИ**

*А.Э. Эргешов*

Туберкулез в Российской Федерации: ситуация, проблемы и перспективы

**PHTHISIOLOGY:  
CURRENT ISSUES**

**330** *A.E. Ergeshov*

Tuberculosis in the Russian Federation: Situation, Challenges and Perspectives

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ЭНДОКРИНОЛОГИИ**

*С.В. Чигринец, Г.В. Брюхин*

Влияние эндокринного дизраптора бисфенола А на качество эякулята у мужчин

**ENDOCRINOLOGY:  
CURRENT ISSUES**

**338** *S.V. Chigrinets, G.V. Brukhin*

Environmental Exposure to Endocrine Disruptor of Bisphenol A and Semen Quality of Men

*Е.А. Шестакова, И.А. Скляник, А.С. Паневина,  
М.В. Шестакова*

С чем связано отсутствие нарушений углеводного обмена у лиц с длительным анамнезом ожирения — с низкой инсулинорезистентностью или сохранной секрецией инсулина?

**344** *E.A. Shestakova, I.A. Sklyanik, A.S. Panevina,  
M.V. Shestakova*

Is Absence of Carbohydrate Metabolism Disorders in Patients with Prolonged History of Obesity due to Low Insulin Resistance or Preserved Insulin Secretion?

Е.В. Шахристова\*, Е.А. Степовая, Е.В. Рудиков, О.С. Сушицкая,  
Д.О. Родионова, В.В. Новицкий

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

## Участие редокс-белков в блокировании пролиферации клеток эпителия молочной железы в условиях окислительного стресса

**Обоснование.** В патогенезе ряда заболеваний важную роль играет нарушение редокс-статуса клеток на фоне развития окислительного стресса. Многие внутриклеточные белки содержат свободные тиоловые группы и подвергаются редокс-регуляции, что является одним из важнейших процессов управления пролиферацией. Тиоредоксин и глутаредоксин, участвуя в поддержании внутриклеточного редокс-гомеостаза, могут рассматриваться в качестве макромолекул, способных регулировать пролиферацию, что открывает перспективы дальнейшей разработки методов диагностики и таргетной терапии заболеваний, сопровождающихся окислительным стрессом. **Цель исследования** — выявить участие редоксзависимых протеинов в молекулярных механизмах регуляции пролиферации клеток эпителия молочной железы линии HBL-100 при действии блокатора клеточного цикла росковитина на фоне развития окислительного стресса. **Методы.** Сформированы две группы исследования, включающие клетки эпителия молочной железы человека линии HBL-100, инкубируемые в течение 18 ч с добавлением 20 мкМ росковитина или без него. Определяли внутриклеточное содержание тиоредоксина с помощью специфических моноклональных антител методом вестерн-блоттинга. Методом проточной цитофлуориметрии оценивали распределение клеток по фазам клеточного цикла. Активность глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы и тиоредоксинредуктазы определяли спектрофотометрическим методом. **Результаты.** В клетках линии HBL-100 под действием росковитина отмечались остановка клеточного цикла в G<sub>2</sub>/M фазах и развитие окислительного стресса. Наряду с этим регистрировалось снижение концентрации тиоредоксина, глутаредоксина и изменение функциональной активности глутатионзависимых ферментов. **Заключение.** Использование блокатора клеточного цикла росковитина позволило в клетках эпителия молочной железы создать модель окислительного стресса на фоне ингибирования пролиферации клеток. Нами установлено, что тиоредоксин и глутаредоксин вносят вклад в нарушение пролиферации клеток эпителия молочной железы. Нарушение прохождения клеток по фазам клеточного цикла определяется способностью белков к редокс-модуляции, в том числе при развитии окислительного стресса при различных патологиях.

**Ключевые слова:** тиоредоксин, пролиферация, окислительный стресс, редокс-регуляция, клетки эпителия молочной железы.

**(Для цитирования):** Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Рудиков Е.В., Сушицкая О.С., Родионова Д.О., Новицкий В.В. Участие редокс-белков в блокировании пролиферации клеток эпителия молочной железы в условиях окислительного стресса. *Вестник РАМН.* 2018;73(5):289–293. doi: 10.15690/vramn1030

289

E.V. Shakhristova\*, E.A. Stepovaya, E.V. Rudikov, O.S. Sushitskaya,  
D.O. Radionova, V.V. Novitsky

Siberian state medical university, Tomsk, Russian Federation

## The Role of Redox Proteins in Arresting Proliferation of Breast Epithelial Cells Under Oxidative Stress

**Background:** Redox status imbalance against the backdrop of oxidative stress development underlies the pathogenesis of a whole range of diseases. Many intracellular proteins contain free thiol groups and undergo redox regulation which is one of the key processes in controlling cell proliferation. Thioredoxin and glutaredoxin are involved in maintaining intracellular redox homeostasis and act as candidates in regulating proliferation. This provides prospects for future development of methods for diagnosis and targeted therapy of socially sensitive diseases accompanied by oxidative stress. **The aim of the study** is to reveal the role of redox proteins in molecular mechanisms of regulating HBL-100 breast epithelial cell proliferation under the effect of roscovitine, a cell cycle inhibitor. **Materials and methods:** Two research groups were formed. They included HBL-100 human breast epithelial cells incubated in the presence and absence of 20 mcM roscovitine for 18 hours. The intracellular thioredoxin levels were determined using Western blot analysis with specific monoclonal antibodies. Distribution of the cells among cell cycle phases were evaluated by flow cytometry. The activity of glutathione reductase, glutathione peroxidase, and thioredoxin reductase were measured by spectrophotometry. **Results:** Under the effect of roscovitine in the HBL-100 cells, cell cycle arrest in the G<sub>2</sub>/M phases occurred and oxidative stress developed. In the meantime, the decrease in the thioredoxin and glutaredoxin concentrations was registered along with the change in the functional activity of glutathione-dependent enzymes. **Conclusions:** Application of roscovitine, a cell cycle inhibitor, allowed creating a model of oxidative stress in the breast epithelial cells against the backdrop of inhibited cell proliferation. We identified that thioredoxin and glutaredoxin contributed to impairment of cell cycle progression. It points at a possibility to regulate cell proliferation by modulating the functional features of cellular redox-dependent proteins in different pathologies accompanied by oxidative stress.

**Key words:** thioredoxin, proliferation, oxidative stress, redox-regulation, breast epithelial cells.

**(For citation):** Shakhristova EV, Stepovaya EA, Rudikov EV, Sushitskaya OS, Radionova DO, Novitsky VV. The Role of Redox Proteins in Arresting Proliferation of Breast Epithelial Cells Under Oxidative Stress. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2018;73(5):289–293. doi: 10.15690/vramn1030

## Обоснование

Одним из перспективных направлений молекулярной медицины является редокс-протеомика. В настоящее время известен целый ряд патологий, в основе патогенеза которых лежит нарушение редокс-статуса клеток на фоне развития окислительного стресса [1–3]. Многие внутриклеточные белки, в том числе транскрипционные факторы, ферменты, транспортные системы, содержат свободные тиоловые группы и подвергаются редокс-регуляции, что является одним из важнейших процессов управления пролиферацией [2, 4, 5]. Редокс-молекулы — глутатион, тиоредоксин и глутаредоксин — необходимы для поддержания внутриклеточного гомеостаза. Они участвуют в снижении продукции активных форм кислорода, изменении активности факторов транскрипции и экспрессии ряда генов, кодирующих белки-регуляторы клеточного метаболизма [5–8]. Культуры клеток могут быть использованы в качестве модельной системы для проведения *in vitro* исследований молекулярных механизмов развития различных патологических процессов, поскольку их использование позволяет исключить многие неспецифические факторы, сопровождающие редокс-регуляцию *in vivo*. Применяемый нами блокатор клеточного цикла росковитин, с одной стороны, может способствовать снижению пролиферации клеток [9], а с другой — индуцировать окислительный стресс в клетках эпителия молочной железы, что делает созданную нами экспериментальную модель окислительного стресса актуальной для изучения роли редокс-молекул, в том числе тиоредоксина, в регуляции пролиферации клеток при развитии различных патологических процессов.

**Цель исследования** — выявить участие редоксзависимых протеинов в молекулярных механизмах регуляции пролиферации клеток эпителия молочной железы линии HBL-100 при действии блокатора клеточного цикла росковитина на фоне развития окислительного стресса.

## Методы

### Дизайн исследования

Исследование являлось экспериментальным нерандомизированным, проведено *in vitro* в культуре клеток линии HBL-100.

### Критерии соответствия

В качестве материала для исследования использовали клетки эпителия молочной железы человека линии HBL-100, полученные из Российской коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Культура клеток использовалась для определения показателей исследования, если после обработки смесью растворов трипсина и версена доля жизнеспособных клеток составляла не менее 85% по результатам микроскопического теста с трипановым синим (Seriva, США).

### Условия проведения

Клетки линии HBL-100 культивировали при 37°C и 5% CO<sub>2</sub> в полной питательной среде, в состав которой входили RPMI-1640 (ПанЭко, Россия) и эмбриональная телячья сыворотка (Invitrogen, США) в соотношении 9:1, 0,3 мг/мл L-глутамин (ПанЭко, Россия) и 100 мкг/мл гентамицин (ICN, США).

### Продолжительность исследования

Клетки эпителия молочной железы культивировали до получения их необходимого количества для проведения экспериментального исследования в течение 3 недель. После этого клетки делили на 2 группы и инкубировали с добавлением росковитина или без него в течение 18 ч. По окончании периода инкубации клетки использовали для количественного определения исследуемых показателей.

### Описание медицинского вмешательства

Росковитин (Sigma Aldrich, США) — блокатор клеточного цикла — вносили в лунку культурального планшета в конечной концентрации 20 мкМ [9], и клетки в его присутствии инкубировали в течение 18 ч при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. К интактным клеткам линии HBL-100 добавляли в том же объеме, что и блокатор, культуральную среду и инкубировали в тех же условиях.

### Исходы исследования

#### Основной исход исследования

После 18 ч инкубации клеток линии HBL-100 с росковитином, блокирующим АТФ-связывающий домен белков-регуляторов пролиферации циклинзависимых протеинкиназ 2, 5, 7 [10], проводили внутриклеточное определение следующих параметров: концентрации тиоредоксина, активности тиоредоксинредуктазы, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы и распределения клеток по фазам клеточного цикла.

**Дополнительные исходы исследования** не установлены.

### Анализ в подгруппах

Были сформированы 2 группы исследования:

- 1-я — интактные клетки линии HBL-100, инкубированные в питательной среде без внесения дополнительных веществ (*n*=6);
- 2-я — клетки линии HBL-100, культивируемые в питательной среде с добавлением росковитина (*n*=6).

### Методы регистрации исходов

Культивирование клеток линии HBL-100 осуществлялось адгезионным методом в полной питательной среде, как описано ранее, с использованием культуральных флаконов (Jet Biofil, Китай) со специфической обработанной высокоадгезивной полистероловой поверхностью.

Активность глутатионредуктазы (КФ 1.6.4.2) оценивали по НАДФН-зависимому восстановлению окисленного глутатиона (GSSG) [11]. Активность глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9) определяли по способности фермента катализировать реакцию взаимодействия восстановленного глутатиона (GSH) с гидроперекисью третбутила [12]. Активность тиоредоксинредуктазы (КФ 1.8.1.9) определяли методом, основанным на способности фермента катализировать НАДФН-зависимое восстановление дисульфидных связей субстратов [13]. Методом вестерн-блоттинга с использованием соответствующих моноклональных антител определяли внутриклеточное содержание тиоредоксина (Thermo Scientific, США) согласно инструкции фирмы-производителя. Определение содержания исследуемого белка проводили относительно концентрации референсного протеина β-актина.

Для оценки распределения клеток линии HBL-100 по фазам клеточного цикла (G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>/M, S) использовали набор CycleTest PLUS DNA Reagent Kit (Becton Dickinson, США). Принцип метода основан на детекции с помощью проточной цитофлуориметрии интенсивности флу-

оресценции изолированных ядер клеток, ДНК которых связывалась с пропидия йодидом. Для подсчета данных и их анализа использовали пакет программ ModFit LT 3.2 (Verity Software House, США).

### Этическая экспертиза

Протокол экспериментального исследования (регистрационный № 3555 от 23.12.2013) утвержден Локальным этическим комитетом ГБОУ ВПО «СибГМУ» Минздрава России.

### Статистический анализ

#### Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался.

#### Методы статистического анализа данных

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с применением пакета программ SPSS Statistics 11.0 и Microsoft Excel. Для проверки гипотезы и соответствия выборочных данных нормальному закону распределения использовали тест Шапиро–Уилка. Поскольку исследуемые параметры в группах не подчинялись нормальному закону распределения, результаты представляли в виде медианы (Me) и интерквартильных разбросов [Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>]. Достоверность различий выборок с небольшим объемом устанавливали с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни для попарно несвязанных выборок. Критическим уровнем значимости считали значение  $p < 0,05$ .

## Результаты

### Объекты (участники) исследования

В результате культивирования клеток линии HBL-100 было получено достаточное количество клеточного материала, чтобы сформировать обе группы исследования и провести инкубацию клеток в присутствии и отсутствии росковитина с последующей оценкой изучаемых параметров.

### Основные результаты исследования

При инкубации клеток эпителия молочной железы в присутствии росковитина нами ранее были получены данные нарушения пролиферации: уменьшение количества клеток в G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> фазах и увеличении в G<sub>2</sub>/M, S фазах по сравнению с показателями в интактной культуре [14], что согласуется с существующими представлени-

ями о действии блокаторов клеточного цикла [9, 10]. В клетках линии HBL-100 при действии росковитина нами ранее были установлены повышение продукции активных форм кислорода и снижение величины отношения GSH/GSSG [14], что свидетельствует о развитии окислительного стресса. Для выявления молекулярных механизмов нарушения пролиферации клеток эпителия молочной железы при действии блокатора клеточного цикла росковитина на фоне развития окислительного стресса нами была проведена оценка состояния системы тиоредоксина. Установлено, что при инкубации клеток линии HBL-100 в присутствии росковитина содержание тиоредоксина снижалось по сравнению со значениями аналогичного показателя в интактной культуре (табл.). При этом изменение активности тиоредоксинредуктазы в клетках эпителия молочной железы, инкубированных в присутствии росковитина, не отмечалось (см. табл.). Индуцированное росковитином снижение величины отношения GSH/GSSG, а значит, и редокс-потенциала системы глутатиона в клетках эпителия молочной железы, способствовало увеличению активности глутатионредуктазы и снижению глутатионпероксидазы по сравнению со значениями аналогичных показателей в интактной культуре (см. табл.).

### Дополнительные результаты исследования

Дополнительные исходы исследования не получены, анализ в подгруппах не проводился в связи с их отсутствием.

### Нежелательные явления

Нежелательные явления не регистрировались.

## Обсуждение

### Резюме основного результата исследования

Созданная нами модель окислительного стресса в клетках эпителия молочной железы с ингибированием пролиферации при действии росковитина была использована в качестве инструмента, способного одновременно управлять клеточным циклом и влиять на редокс-статус клеток [14]. Снижение внутриклеточной концентрации редокс-белков приводило к нарушению редокс-гомеостаза клеток линии HBL-100, что повлекло изменение в дитиолдисульфидной структуре внутриклеточных белков, их пространственной конфигурации, необходимой для взаимодействия с молекулами-регуляторами проли-

Таблица. Результат инкубации клеток эпителия молочной железы в присутствии росковитина, Me [Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>]

Редокс-молекулы	Группы	
	Интактные HBL-100	HBL-100 + росковитин
Тиоредоксин, усл. ед.	1,78 [1,76; 1,79]	1,64* [1,62; 1,65]
Тиоредоксинредуктаза, нмоль НАДФН / мин × мг белка	5,35 [4,91; 5,49]	6,33 [5,69; 6,65]
Глутатионпероксидаза, нмоль НАДФН / мин × мг белка	220,11 [214,76; 223,31]	104,66* [91,89; 140,40]
Глутатионредуктаза, мкмоль НАДФН / мин × мг белка	54,64 [51,99; 56,29]	150,13* [146,02; 151,09]

Примечание. \* —  $p < 0,01$  по сравнению с интактными клетками HBL-100; # —  $p < 0,05$  по сравнению с интактными клетками линии HBL-100.



ферации, и в конечном итоге снизило пролиферативную активность клеток.

### **Обсуждение основного результата исследования**

Пролиферация клеток — сложно регулируемый процесс, требующий своевременной наработки и деградации ряда белковых молекул, основная роль среди которых принадлежит циклинам и циклинзависимым протеинкиназам. Воздействие активирующих или ингибирующих молекул способствует либо запуску пролиферации и прохождению точки рестрикции с последующим вступлением в синтетический период (S-фазу), либо остановке клеточного деления и пребыванию клетки в фазе покоя ( $G_0$ ). Используемый нами росковитин приводил к остановке клеточного цикла в  $G_2/M$  фазах [14] вследствие схождения в химическом строении блокатора и молекул АТФ, что способствовало конкурентному вытеснению макроэргического соединения из АТФ-связывающих участков циклинзависимых протеинкиназ со снижением их каталитической активности [10].

Как было установлено нами в предыдущих исследованиях, росковитин способствовал индукции окислительного стресса в клетках эпителия молочной железы [14]. На фоне снижения редокс-потенциала системы глутатиона генерированные активные формы кислорода могут приводить к повреждению макромолекул, в том числе белков-регуляторов пролиферации. В защите внутриклеточных протеинов и поддержании редокс-гомеостаза важную роль играют редокс-белки — тиоредоксин и глутаредоксин [5, 8, 15]. Оба этих протеина необходимы для сохранения как дитиолдисульфидной структуры внутриклеточных белков, так и их пространственной конфигурации, необходимой для взаимодействия с молекулами-регуляторами пролиферации. Снижение концентрации тиоредоксина, как и установленное ранее уменьшение содержания глутаредоксина [14], в клетках линии HBL-100 при действии росковитина могло способствовать окислительной модификации различных белковых молекул [16], в том числе циклинов и циклинзависимых протеинкиназ, что приводило к снижению пролиферативной активности клеток. Для поддержания редокс-белков в их восстановленной форме необходимы GSH и глутатионзависимые ферменты — глутатионредуктаза и глутатионпероксидаза. GSH использовался глутатионпероксидазой, катализирующей восстановление пероксидов, образующихся при развитии окислительного стресса. Установленное нами снижение активности этого фермента в клетках эпителия молочной железы при действии росковитина было связано с недостатком восстановленной формы глутатиона, интенсивно используемой во внутриклеточных реакциях при окислительном стрессе. В клетках эпителия молочной железы на фоне индуцированного росковитином окислительного стресса увеличивалась активность глутатионредуктазы, восстанавливающей GSSG, что было связано со снижением редокс-статуса системы глутатиона. При этом GSH интенсивно расходовался в реакциях непосредственного восстановления окисленного глутаредоксина и опосредованной регенерации тиоредоксиндисульфида, катализируемой тиоредоксинредуктазой. Тиоредоксин играет важную роль в пролиферации, поскольку этот белок используется в качестве кофермента рибонуклеотидредуктазой, осуществляющей синтез дезоксирибонуклеотидов, необходимых для репликации молекул ДНК в S-фазу [5]. Снижение концентрации тиоредоксина и его регенерации в восстановленную форму в клетках линии HBL-100, инкубированных в присутствии росковитина,

приводит к снижению пролиферативной активности клеток. Таким образом, тиоредоксин и глутаредоксин играют важную роль в поддержании редокс-статуса клеток, способствуют сохранению пространственной структуры и функций молекул-регуляторов пролиферации в клетках линии HBL-100 при индуцированном росковитином окислительном стрессе.

### **Ограничения исследования**

В исследование не включали клеточную культуру, в которой доля жизнеспособных клеток в трипановом тесте составляла менее 85%.

### **Заключение**

Использование блокатора клеточного цикла росковитина позволило создать модель окислительного стресса в клетках эпителия молочной железы с ингибированием пролиферации клеток. Нами установлено, что тиоредоксин вносит вклад в нарушение пролиферации клеток эпителия молочной железы. Нарушение прогрессии фаз клеточного цикла определяется способностью белков к редокс-модуляции, в том числе при развитии окислительного стресса при различных патологиях. Полученные данные в области редокс-протеомики могут быть использованы для таргетной терапии заболеваний, сопровождающихся окислительным стрессом и нарушением редокс-статуса.

### **Источник финансирования**

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (отделение гуманитарных и общественных наук) в рамках научного проекта № 17-36-01029.

### **Конфликт интересов**

Представленный в статье материал является частью диссертационной работы Е.В. Шахристовой (предполагаемый срок защиты — 2018 г.). Авторы подтверждают отсутствие иных явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

### **Участие авторов**

Е.В. Шахристова — разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания, проведение практической части исследования, анализ и интерпретация данных, написание рукописи статьи; Е.А. Степовая — разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, написание рукописи статьи, окончательное утверждение для публикации рукописи; Е.В. Рудиков — проведение практической части исследования, анализ и интерпретация данных, написание рукописи статьи; О.С. Сушицкая, Д.О. Родионова — проведение практической части исследования; В.В. Новицкий — проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., и др. *Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания*. — Новосибирск: АРТА; 2008. — 284 с. [Menshchikova EB, Zenkov NK, Lankin VZ, et al. *Okislitel'nyi stress: patologicheskie sostoyaniya i zabolevaniya*. Novosibirsk: ARTA; 2008. 284 p. (In Russ).]
2. Butterfield DA, Dalle-Donne I. Redox proteomics: from protein modifications to cellular dysfunction and disease. *Mass Spectrom Rev*. 2014;33(1):1–6. doi: 10.1002/mas.21404.
3. Klaunig JE, Wang Z. Oxidative stress in carcinogenesis. *Curr Opin Toxicol*. 2018;7:116–121. doi: 10.1016/j.cotox.2017.11.014.
4. Зенков Н.К., Кожин П.М., Чечушков А.В., и др. Лабиринты регуляции Nrf2 // *Биохимия*. — 2017. — Т.82. — №5 — С. 749–759. [Zenkov NK, Kozhin PM, Cheshushkov AV, et al. Mazes of Nrf2 regulation. *Biochemistry*. 2017;82(5):749–759. (In Russ).]
5. Harris IS, Treloar AE, Inoue S, et al. Glutathione and thioredoxin antioxidant pathways synergize to drive cancer initiation and progression. *Cancer Cell*. 2015;27(2):211–222. doi: 10.1016/j.ccell.2014.11.019.
6. Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal*. 2012;24(5):981–990. doi: 10.1016/j.cellsig.2012.01.008.
7. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutr Rev*. 2012;70(5):257–265. doi: 10.1111/j.1753-4887.2012.00476.x.
8. Lu J, Holmgren A. The thioredoxin antioxidant system. *Free Radic Biol Med*. 2014;66:75–87. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.036.
9. Rajnai Z, Méhn D, Beéry E, et al. ATP-binding cassette B1 transports seliciclib (R-roscovitine), a cyclin-dependent kinase inhibitor. *Drug Metab Dispos*. 2010;38(11):2000–2006. doi: 10.1124/dmd.110.032805.
10. Cappellini A, Chiarini F, Ognibene A, et al. The cyclin-dependent kinase inhibitor roscovitine and the nucleoside analog sangivamycin induce apoptosis in caspase-3 deficient breast cancer cells independent of caspase mediated P-glycoprotein cleavage: implications for therapy of drug resistant breast cancers. *Cell Cycle*. 2009;8(9):1421–1425. doi: 10.4161/cc.8.9.8323.
11. Worthington DJ, Rosemeyer MA. Glutathione reductase from human erythrocytes. Catalytic properties and aggregation. *Eur J Biochem*. 1976;67(1):231–238. doi: 10.1111/j.1432-1033.1976.tb10654.x.
12. *Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике*: в 2 т. / В.В. Алексеев и др.; под ред. А.И. Карпищенко. 3-е изд., перераб. и доп. — Т. 2. — М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013. 792 с. [Alekseev V.V. *Meditsinskie laboratornye tekhnologii: rukovodstvo po klinicheskoi laboratornoi diagnostike*. Ed by A.I. Karpishchenko. 3rd ed., revised and updated. Moscow: GEOTAR-Media; 2013. 792 pp. (In Russ).]
13. Tamura T, Stadtman TC. A new selenoprotein from human lung adenocarcinoma cells: purification, properties, and thioredoxin reductase activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(3):1006–1011. doi: 10.1073/pnas.93.3.1006.
14. Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., и др. Глутаредоксин и глутатион как молекулы-регуляторы пролиферации клеток эпителия молочной железы при индуцированном росковитином окислительном стрессе // *Сибирский научный медицинский журнал*. — 2017. — Т.37. — №5 — С. 5–10. [Shakhristova EV, Stepovaya EA, Nosareva OL, et al. Glutaredoxin and glutathione as the molecules regulating breast epithelial cell proliferation under roscovitine-induced oxidative stress. *Siberian scientific medical journal*. 2017;37(5):5–10. (In Russ).]
15. Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., и др. Глутатион и глутаредоксин в росковитин-опосредованном ингибировании пролиферации клеток аденокарциномы молочной железы // *Вестник Российской академии медицинских наук*. — 2017. — Т.72. — №4 — С. 261–267. [Shakhristova EV, Stepovaya EA, Nosareva OL, et al. Glutathione and glutaredoxin in roscovitine-mediated inhibition of breast cancer cell proliferation. *Annals Russian Academy Medical Sciences*. 2017;72(4):261–267. (In Russ).] doi: 10.15690/vramn849.
16. Патент РФ на изобретение № 2017118700А/ 23.04.2018. Бюл. № 12. Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., и др. Способ оценки степени окислительного стресса по содержанию карбонилированного тиоредоксина в клетках. [Patent RUS № 2017118700А/ 23.04.2018. Byul. № 12. Shakhristova EV, Stepovaya EA, Nosareva OL, et al. Sposob otsenki stepeni okislitel'nogo stressa po sodержaniyu karbonilirovanogo tioredoksina v kletkakh. (In Russ).] Доступно по: <https://patents.google.com/patent/RU2652336C1/ru>. Ссылка активна на 12.02.2018.

293

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

\***Шахристова Евгения Викторовна**, к.м.н., доцент [Evgeniya V. Shakhristova, MD, PhD];  
**адрес:** 634050, Томск, Московский тракт, д. 2 [address: 2, Moscovsky tract, 634050 Tomsk, Russia],  
**тел.:** +7 (3822) 90-11-01 доб. 1853, **e-mail:** shaxristova@yandex.ru, **SPIN-код:** 8125-6414,  
**ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-2938-1137>

**Степовая Елена Алексеевна**, д.м.н., профессор [Elena A. Stepovaya, MD, PhD, Professor];  
**e-mail:** muir@mail.ru, **SPIN-код:** 5562-4522, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9339-6304>

**Рудиков Евгений Валерьевич** [Evgeniy V. Rudikov]; **e-mail:** korvin\_w@mail.ru, **SPIN-код:** 5559-4313,  
**ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-3283-3616>

**Сушицкая Ольга Сергеевна** [Olga S. Sushitskaya]; **e-mail:** sushitsckaya.olya@yandex.ru, **SPIN-код:** 2936-0198,  
**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0441-0325>

**Родионова Дарья Олеговна** [Daria O. Rodionova]; **e-mail:** rodionova.darya@yandex.ru, **SPIN-код:** 5669-1967,  
**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7568-6444>

**Новицкий Вячеслав Викторович**, д.м.н., профессор, академик РАН [Vyacheslav V. Novitsky, MD, PhD, Professor];  
**e-mail:** patfizssmu@yandex.ru, **SPIN-код:** 7160-6881, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9577-8370>

Ч.С. Павлов<sup>1</sup>, Д.Л. Варганова<sup>1,2</sup>, М.Ч. Семенистая<sup>1</sup>,  
Е.А. Кузнецова<sup>1</sup>, А.А. Усанова<sup>3</sup>, А.А. Свистунов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Ульяновская областная клиническая больница, Ульяновск, Российская Федерация

<sup>3</sup> Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева, Саранск, Российская Федерация

## Урсодезоксихолевая кислота: эффективность и безопасность в лечении неалкогольной жировой болезни печени (метаанализ)

**Обоснование.** Рост заболеваемости хроническими диффузными заболеваниями печени, среди которых одно из лидирующих мест занимает неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП), диктует необходимость поиска эффективной и безопасной стратегии лечения. В комплексной терапии НАЖБП рекомендованы к использованию различные гепатопротекторы, одним из которых является препарат урсодезоксихолевой кислоты (УДХК). Использование УДХК патогенетически оправдано за счет цитопротективных, антиапоптотических, антиоксидантных, гипогликемических свойств. **Цель** — оценить эффективность и безопасность препаратов УДХК в терапии НАЖБП.

**Методы.** Поиск рандомизированных клинических исследований (РКИ) проводился в российских и международных электронных базах данных (май 2018). Отбирались РКИ со взрослыми участниками, сравнивающие терапию УДХК и плацебо (контрольную группу), допускалась идентичная сопутствующая терапия в обеих группах. Мы использовали методологию Кокрейна, Кокрейновской гепатобилиарной группы. Метаанализы выполнены с использованием программного обеспечения Review Manager 5 и последовательного экспертного анализа.

**Результаты.** Идентифицированы 4 РКИ, соответствующие критериям включения; проведен метаанализ результатов (254 участника принимали УДХК, 256 — плацебо). Препараты УДХК назначались внутрь участникам от 18 до 75 лет с различной стадией заболевания в среднем на 18 мес. Качество доказательств оценено как низкое по шкале GRADE, а уровень ошибки — как высокий. Назначение препаратов УДХК не влияло на смертность, гистологические параметры; не сопровождалось увеличением частоты серьезных нежелательных (относительный риск 1,45; 95% доверительный интервал 0,65–3,21; участников 292; исследований 2;  $I^2=0\%$ ; модель случайных эффектов) и нежелательных (ОР 1,5; 95% ДИ 0,73–3,16; участников 510; исследований 4;  $I^2=36\%$ ; модель случайных эффектов) явлений, что подтверждено результатами последовательного экспертного анализа. Динамика биохимических показателей цитолиза достоверно не отличалась между группами терапии и контроля, а нормализация показателей холестаза, в частности гамма-глутамилтранспептидазы, отмечена достоверно чаще в группе терапии УДХК ( $p<0,0001$ ). Данные по влиянию на качество жизни не были представлены ни в одном из исследований. Все РКИ были спонсированы фармацевтическими фирмами. **Заключение.** Малое количество исследований с высоким риском ошибки и низким качеством доказательств, по данным которых имелся высокий профиль безопасности, не позволяет однозначно оценивать влияние препаратов УДХК на гистологические и биохимические показатели при НАЖБП. Для оценки эффективности применения препаратов УДХК необходимы дальнейшие исследования с низким риском ошибки и высоким качеством исследований.

**Ключевые слова:** урсодезоксихолевая кислота, неалкогольная жировая болезнь печени, рандомизированные клинические исследования, стеатоз, стеатогепатит.

(Для цитирования: Павлов Ч.С., Варганова Д.Л., Семенистая М.Ч., Кузнецова Е.А., Усанова А.А., Свистунов А.А. Урсодезоксихолевая кислота: эффективность и безопасность в лечении неалкогольной жировой болезни печени (метаанализ). Вестник РАМН. 2018;73(5):294–305. doi: 10.15690/vramn975)

### Актуальность

В последние десятилетия отмечается неуклонный рост заболеваемости хроническими диффузными заболеваниями печени, среди которых лидирующее место занимает неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП). Частота заболеваемости НАЖБП высока во всем мире и, по оценкам Всемирной организации здравоохранения, колеблется от 15 до 40% в популяции, а смертность от осложнений данного заболевания составляет от 1,6 до 6,8% [1]. В Российской Федерации, по данным первого скринингового исследования, заболеваемость НАЖБП составила 27% [2]. В нашей стране в структуре заболеваний печени данная нозологическая форма занимает первое место — 71,6% [2]. НАЖБП характеризуется избыточным накоплением жира в гепатоцитах (пороговое значение >5% гепатоцитов определяется как стеатоз). У некоторых

пациентов кроме стеатоза имеются признаки воспаления и фиброза ткани печени различной степени выраженности (неалкогольный стеатогепатит). При длительном течении неалкогольного стеатогепатита формируется цирроз печени с возможной трансформацией в рак [3].

При рассмотрении патогенеза НАЖБП целесообразно остановиться на нескольких ключевых моментах, а именно на повышении синтеза медиаторов липогенеза в жировой ткани, увеличении поступления свободных жирных кислот в печень и уменьшении активности  $\beta$ -окисления липидов в митохондриях гепатоцитов, что приводит к замедлению элиминации триглицеридов из печени. В комплексной терапии НАЖБП рекомендован к использованию ряд препаратов с потенциальной активностью на перечисленные звенья патогенеза, в том числе эссенциальные фосфолипиды, *s*-адеметионин, урсодезоксихолевая кислота (УДХК) [3]. В человеческом

## Методы

организме УДХК содержится в небольшом количестве (1–2%) в составе желчи. На фоне приема препаратов, содержащих УДХК, ее доля среди остальных желчных кислот возрастает до 60%, что, учитывая ее биологические свойства, возможно, снижает насыщенность желчи холестерином, умеренно подавляет экспрессию НЛА-антигенов класса I на гепатоцитах и продукцию провоспалительных цитокинов, уменьшает фагоцитоз и активность перекисного окисления липидов. Экспериментальные и клинические данные позволяют предположить, что, замещая цитотоксические желчные кислоты, УДХК поддерживает нормальную функциональную активность митохондрий гепатоцитов и пролиферацию эпителия желчных протоков, а также активирует клеточные антиапоптотические механизмы [4, 5]. Результаты проведенных исследований говорят о важной роли УДХК в обменных процессах. Она активирует липидный и углеводный обмен, соединяясь с ядерными фарнезидными рецепторами X (farnesoid X receptor) клеток тонкой кишки и печени. Предполагается, что УДХК влияет на секрецию глюкагоноподобного пептида-1 и нормализует секрецию инсулина, взаимодействуя с G-белком на клеточных мембранах гепатоцитов и энтероцитов [6]. Таким образом, анализируя основные свойства УДХК, изученные на экспериментальных моделях, аргументированно применение УДХК в качестве эффективного препарата для лечения НАЖБП.

В данной статье представлен систематический обзор результатов рандомизированных клинических исследований, проведенных с целью оценки эффективности и безопасности применения УДХК в лечении неалкогольной жировой болезни печени.

### Идентификация исследований

Мы провели систематизированный поиск литературных источников для обнаружения рандомизированных клинических исследований по применению УДХК в терапии НАЖБП. Стратегия поиска включала изучение всей доступной информации, опубликованной в Кокрейновской библиотеке гепатобилиарной группы, в системах CENTRAL, MEDLINE, EMBASE, SCIE, LILACS, eLIBRARY за период с 1990 по май 2018 г.

Для поиска использовались следующие ключевые слова: урсодезоксихолевая кислота, контролируемое клиническое исследование и неалкогольная жировая болезнь печени (UDCA, randomized clinical trial, NAFLD).

### Анализ данных

Данные анализировались с использованием принципов, изложенных в руководстве Кокрейна, для проведения метаанализов и при помощи программы Review Manager 5.3 [7]. Для оценки результатов исследований, включенных в базу данных, использовался последовательный экспертный анализ — Trial Sequential Analysis, разработанный Кокрейновской гепатобилиарной группой [8, 9]. Качество и уровень доказательной базы оценивались по шкале GRADE (RevMan, 2014). Для анализа результатов, представленных как дихотомические исходы, использовали метод относительных рисков (ОР), а результаты непрерывных исходов оценивали с использованием средней разницы (СР). Для оценки баз данных применяли как модель с фиксированным эффектом, так и метаанализ с использованием моделей случайных эф-

295

C.S. Pavlov<sup>1</sup>, D.L. Varganova<sup>1,2</sup>, M.C. Semenistaya<sup>1</sup>, E.A. Kuznetsova<sup>1</sup>, A.A. Usanova<sup>3</sup>, A.A. Svistunov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Ulyanovsk Regional Clinical Hospital, Ulyanovsk, Russian Federation

<sup>3</sup> National Research Mordovian State University named after N.P. Ogareva, Saransk, Russian Federation

## Ursodeoxycholic Acid: Efficacy and Safety in the Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (Meta-Analysis)

**Background:** Non-alcoholic liver disease (NAFLD) is a widely spread disease that needs an effective and safe treatment strategy. One of pharmacological treatments for people with NAFLD is ursodeoxycholic acid (UDCA). The use of UDCA is pathogenetically justified because of its cytoprotective, antiapoptotic, antioxidant, and hypoglycemic properties. **Aim:** Our meta-analysis (M-A) aimed to assess the benefits and harms of UDCA in people with NAFLD. **Material and methods:** We identified trials through electronic searches in the Cochrane Hepato-Biliary (CHB) Controlled Trials Register, CENTRAL, MEDLINE, Embase, SCI, LILACS, eLibrary (May 2018). We considered for inclusion randomised clinical trials (RCTs) assessing URSO versus placebo/no intervention in adult participants with NAFLD. We allowed co-interventions in the trial groups if they were similar. We followed Cochrane methodology, CHB Group methodology using Review Manager 5 and Trial Sequential Analysis to perform meta-analysis (M-A), assessed bias risk of the trials, quality of evidence using GRADE. **Results:** Four RCT, at high bias risk, low quality of evidence, provided data for analysis: 254 participants at different stages of NAFLD received oral UDCA (median of 18 months), 256 — placebo/no intervention; age 18 to 75 years. We found no evidence of effect on mortality (there were no deaths) and on histological parameters such as steatosis (MD -0.13; CI -0.40–0.13; participants 323; trials 3;  $I^2=43%$ ), fibrosis (MD 0.00; CI -0.00–0.22; participants 323; trials 3;  $I^2=0%$ ), and inflammation (MD -0.05; CI -0.20–0.10; participants 325; trials 3;  $I^2=0%$ ). Also we found no evidence for significant influence of UDCA on occurrence of serious adverse events (RR 1.45, 95% CI 0.65–3.21; participants 292; trials 2;  $I^2=0%$ ), adverse events (RR 1.52, 95% CI 0.73–3.16; participants 510; trials 4;  $I^2=36%$ ) neither with traditional M-A (random-effects), nor with TSA SAE (CI 0.56–2.91; participants 292; trials 2;  $I^2=0%$ ,  $D^2=0%$ ), AE (CI 0.77–2.21; participants 510; trials 4;  $I^2=0%$ ,  $D^2=0%$ ). There was no evidence of effect on cytotoxicity, but beneficial effect of UDCA on cholestasis (GGTP) (data from two trials only) ( $p<0.0001$ ). We found no data on quality of life. All the trials were funded by the industry. **Conclusion:** Based on the small number of trials at high risk of bias, low quality, despite the safety profile observed with our M-A, we can neither recommend nor reject the use of UDCA for people with NAFLD. Further trials with low risk of bias and high quality are required to assess the benefits and harms of UDCA.

**Key words:** UDCA, randomized clinical trial, NAFLD, steatosis, steatohepatitis, meta-analysis.

(For citation) Pavlov CS, Varganova DL, Semenistaya MC, Kuznetsova EA, Usanova AA., Svistunov A.A. Ursodeoxycholic Acid: Efficacy and Safety in the Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (Meta-Analysis). *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2018;73(5):294–305. doi: 10.15690/vramn975)

фектов. Если результаты при применении двух подходов отличались, то для дальнейшего анализа использовался наиболее консервативный результат (ближайший к нулевой гипотезе). При получении равнозначных оценок использовали результат с самым широким доверительным интервалом (ДИ) в качестве основного результата. Значения показателя  $p \leq 0,025$  рассматривали как статистически значимые. Гетерогенность данных оценивали с использованием статистической  $I^2$  [10]. При наличии данных отдельных участников исследования проводили индивидуальный анализ, а при их отсутствии анализ проводился по протоколу. Риски ошибок оценивали с использованием соответствующей шкалы. Для контроля случайных ошибок проводили последовательный экспертный анализ (Trial sequential analysis, TSA). Качество доказательной базы оценивалось по шкале GRADE (RevMan, 2014).

### Отбор исследований

#### Критерии включения

Для исследований, пациентов и параметров оценки выработаны следующие критерии включения в метаанализ:

для исследований: только рандомизированные двойные слепые плацебоконтролируемые клинические исследования, сравнивающие терапию УДХК и плацебо либо контрольную группу с допущением одинаковой сопутствующей терапии в обеих группах;

- для пациентов: возрастная группа от 18 до 75 лет, мужского и женского пола, подписавшие информированное согласие, с гистологически верифицированным диагнозом НАЖБП на различных стадиях заболевания — от стеатоза, стеатогепатита до фиброза печени; с повышением аланинаминотрансферазы (АЛТ) до 1,5 и более норм на скрининге; употребляющие менее 40 г этанола в течение недели; не имеющие цирроза, аутоиммунных, вирусных, наследственных и иных заболеваний печени. Пациенты женского пола в период беременности или лактации, пациенты младше 18 и старше 75 лет не соответствовали критериям включения;
- параметрами оценки определены смертность; изменение гистологической картины печени; серьезные нежелательные явления, нежелательные явления; качество жизни; динамика биохимических показателей — аспаратаминотрансферазы (АСТ), АЛТ, гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП), щелочной фосфатазы.

Таким образом, в метаанализ включали рандомизированные клинические исследования с использованием двойного слепого плацебоконтролируемого метода, проведенные в группах взрослых пациентов в возрасте от 18 до 75 лет с НАЖБП вне зависимости от места, года проведения и языка публикации. Дополнительный прием препаратов допускался при условии его приема в обеих группах.

#### Извлечение данных

Данные исследований заимствовались из опубликованных авторами соответствующих протоколов и статей. По каждому из исследований фиксировались следующие сведения: страна проведения исследования, наблюдаемая популяция (пол, возраст, количество включенных лиц), первичные параметры оценки, вторичные параметры оценки и режимы лечения (дозы, длительность, кратность приема и сопутствующая терапия). Эффективность УДХК оценивалась по влиянию на показатели смертности, морфологической картины ткани печени, био-

химических параметров функции печени (лабораторные значения АСТ, АЛТ, ГГТП, щелочной фосфатазы), качества жизни. Безопасность препаратов УДХК оценивалась по частоте серьезных нежелательных и нежелательных явлений.

### Анализируемые показатели эффективности и безопасности

Оценивались следующие основные параметры эффективности:

- смертность;
- гистологическая картина ткани печени.

Основные параметры безопасности:

- серьезные нежелательные явления.

Дополнительные параметры оценки эффективности:

- динамика лабораторных (суррогатных) показателей [11];
- изменения АЛТ;
- изменения АСТ;
- динамика ГГТП;
- динамика щелочной фосфатазы;
- качество жизни.

Дополнительные параметры оценки безопасности:

- нежелательные явления.

Методология проведения исследований, включенных в анализ, оценена по следующим параметрам:

- ошибки выборки;
- заслепление;
- полнота представления данных;
- наличие конфликта интереса;
- риск публикационного смещения.

## Результаты

Поиск доступных информационных источников выявил 594 ссылки (рис. 1), из них предварительно отобрано 38 статей. После тщательного изучения (двумя авторами независимо друг от друга) в метаанализ отобраны 5 статей [12–16], относящихся к 4 плацебоконтролируемым двойным слепым рандомизированным исследованиям, полностью соответствующим критериям включения.

### Характеристика клинических исследований, включенных в анализ

Четыре рандомизированных клинических исследования [12–14, 16] полностью соответствовали критериям включения, были проведены с 1996 по 2010 г. и включали в себя 510 участников в возрасте от 18 до 75 лет обоих полов из Германии, Греции, Канады, США, Франции, Швейцарии. Диагноз НАЖБП был верифицирован клинико-лабораторными и инструментальными методами (ультразвуковое и морфологическое исследование ткани печени). Длительность терапии УДХК составила от 12 до 24 мес, период наблюдения закончился во всех исследованиях одновременно с окончанием терапии. Из всех участников исследований 254 пациента получали УДХК, 256 — плацебо.

### Терапия

Препарат УДХК назначался внутрь однократно или в несколько приемов в дозировке 13–15 мг/кг [12, 14] либо в высоких дозах — 23–28 [13] или 28–35 мг/кг [16].

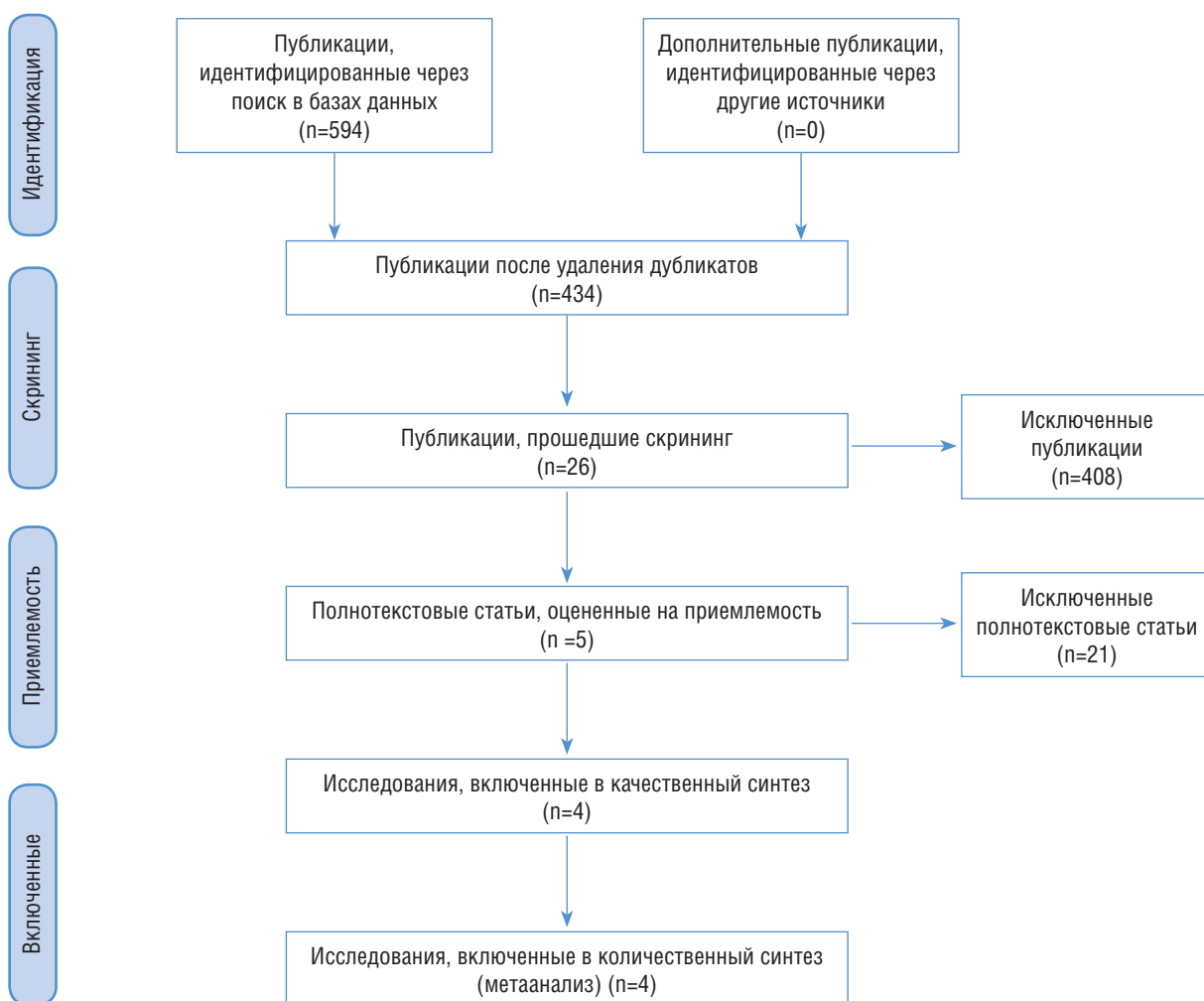


Рис. 1. Стратегия отбора статей для анализа

Средняя продолжительность терапии (медиана) составила 18 мес, с минимальным сроком 12 мес [16] и максимальным — 2 года [12, 14] (табл. 1).

Во всех исследованиях пациенты групп контроля получали идентичное плацебо.

**Характеристика клинических исследований, исключенных из анализа**

Были исключены 22 клинических исследования, не соответствующих критериям включения. Причины исключения подробно представлены в табл. 2.

Таблица 1. Характеристика клинических исследований, включенных в анализ

РКИ (автор, год)	Страна	Группы	Кол-во участников (возраст, лет)	Терапия	Длительность терапии, мес	Период наблюдения (после рандомизации), мес
Dufour, 2006 [12]	Швейцария	УДХК	18 (47±12)	УДХК 12–15 мг/кг в сутки ежедневно (капсулы по 250 мг) + плацебо	24	24
		Контроль	15 (44±14)	Плацебо + плацебо		
Leuschner, 2010 [13]	Германия, Греция	УДХК	94 (18–75)	УДХК 23–28 мг/кг в 3 приема ежедневно (500 мг, таблетки)	18	18
		Контроль	91 (18–75)	Плацебо		
Lindor, 2004 [14]	США, Канада	УДХК	80 (18–75)	УДХК 13–15 мг/кг в сутки внутрь (таблетки)	24	24
		Контроль	86 (18–75)	Плацебо		
Ratziu, 2011 [16]	Франция	УДХК	62 (>18)	УДХК 28–35 мг/кг в сутки внутрь (500 мг, таблетки)	12	12
		Контроль	64 (>18)	Плацебо		

Примечание. РКИ — рандомизированное клиническое исследование, УДХК — урсодезоксихолевая кислота.

**Таблица 2.** Характеристика клинических исследований, исключенных из анализа

РКИ (автор, год)	Причина исключения
Adams, 2005 [19]	Последовательное исследование биопсий печени у пациентов, включенных в РКИ с разными режимами терапии
Balmer, 2009 [20, 21]	РКИ уровней адипонектина и апоптоза в 3 группах терапии НАЖБП: 1-я группа — УДХК + витамин Е; 2-я группа — УДХК, 3-я группа — плацебо
Cicek, 2004 [22]	РКИ; 2 группы терапии: УДХК и гемфиброзил
Cruz, 2012 [23]	РКИ; 2 группы терапии: УДХК и пробиотики
Ersoz, 2005 [24]	РКИ; 2 группы терапии: 1-я группа — витамин Е + витамин С, 2-я группа — УДХК
Fan, 2008 [25]	РКИ; 2 группы терапии: УДХК и препараты китайской медицины
Gianturco, 2013 [26]	РКИ; 2 группы терапии: УДХК и диета в гериатрической популяции в отсутствии биопсии
Kiyici, 2003 [27]	РКИ; 2 группы терапии: УДХК и аторвастатин
Klyarytskaya, 2015 [28]	Открытое проспективное исследование: 1-я группа — УДХК, витамин Е, аторвастатин, 2-я группа — УДХК, витамин Е, аторвастатин, лозартан
Lanzoni, 2004 [29]	РКИ; 2 группы терапии: УДХК и плацебо, несоответствие критериям включения — отсутствие биопсии
Laurin, 1996 [30]	РКИ; 2 группы терапии: УДХК и клофибрат
Lee, 2014 [31]	РКИ; 2 группы терапии: УДХК и бифенил диметил дикарбоксилат
Marschall, 2011 [32]	РКИ применения УДХК при морбидном ожирении
Méndez-Sánchez, 2004 [33]	РКИ; 2 группы терапии: УДХК и плацебо, несоответствие критериям включения — отсутствие биопсии
Mudaliar, 2013 [34]	РКИ использования обетихоловой кислоты
Mueller, 2012 [35]	РКИ; 2 группы терапии: УДХК и контроля у пациентов с морбидным ожирением с оценкой фармакодинамики препаратов, несоответствие критериям включения обетихоловой кислоты, отсутствие биопсии
Oh, 2016 [36]	РКИ применения УДХК с примесями у пациентов с НАЖБП при отсутствии морфологического исследования
Oliveira, 2017 [37]	РКИ применения N-ацетилцистеина в комбинации с УДХК и/или метформином
Parikh, 2015 [38, 39]	Открытое сравнительное исследование витамина Е и УДХК при НАЖБП
Popescu, 2015 [40]	РКИ; 2 группы терапии: УДХК и рифаксимин
Virstyuk, 2015 [41]	РКИ; 2 группы терапии: УДХК и пиоглитазон
Zhang, 2008 [42]	РКИ; 2 группы терапии: УДХК и препарат китайской медицины (травы)

*Примечание.* РКИ — рандомизированное клиническое исследование, НАЖБП — неалкогольная жировая болезнь печени, УДХК — урсодезоксихолевая кислота.

**Оценка качества исследований, включенных в анализ** (табл. 3)

- *Ошибки выборки.* В трех клинических исследованиях отсутствовало четкое описание процедуры рандомизации и только в двух исследованиях [12, 14] метод

выборки описан подробно: блочная рандомизация и рандомизация с использованием схем, в результате чего риск ошибки был расценен как низкий.

- *Ослепление.* Во всех исследованиях процедура описана четко с минимально возможным уровнем ошибки.

**Таблица 3.** Риск ошибки

РКИ (автор, год)	Генерация случайной последовательности	Маскировка	Заслепление персонала и участников	Заслепление данных	Неполные данные	Выборочное представление данных	Конфликт интересов	Риск ошибки									
Lindor, 2004 [14]	Неопределенный	Низкий	Низкий	Низкий	Высокий	Высокий	Высокий										
Dufour, 2006 [12]	Неопределенный	Низкий	Низкий	Низкий	Высокий	Высокий	Высокий										
Leuschner, 2010 [13]	Неопределенный	Неопределенный	Низкий	Низкий	Низкий	Низкий	Низкий	Высокий									
Ratziu, 2011 [16]	Неопределенный	Неопределенный	Низкий	Низкий	Низкий	Низкий	Низкий	Высокий									

*Примечание.* РКИ — рандомизированное клиническое исследование.

- *Полнота представления данных.* Неполные и выборочно представленные данные отмечены в двух клинических исследованиях [12, 14], в связи с чем риск ошибки в них расценен как высокий, в исследованиях [13] и [16] — как низкий.
- *Наличие конфликта интереса.* Все исследования проведены при спонсорской поддержке фармацевтических компаний, которые предоставляли исследуемый препарат, поэтому уровень ошибки оценен как высокий.
- *Риск публикационного смещения.* С учетом малого количества РКИ (менее 10) построение воронкообразного графика неинформативно [17].

**Эффекты терапии**

**Основные показатели оценки**

1. Эффективность.

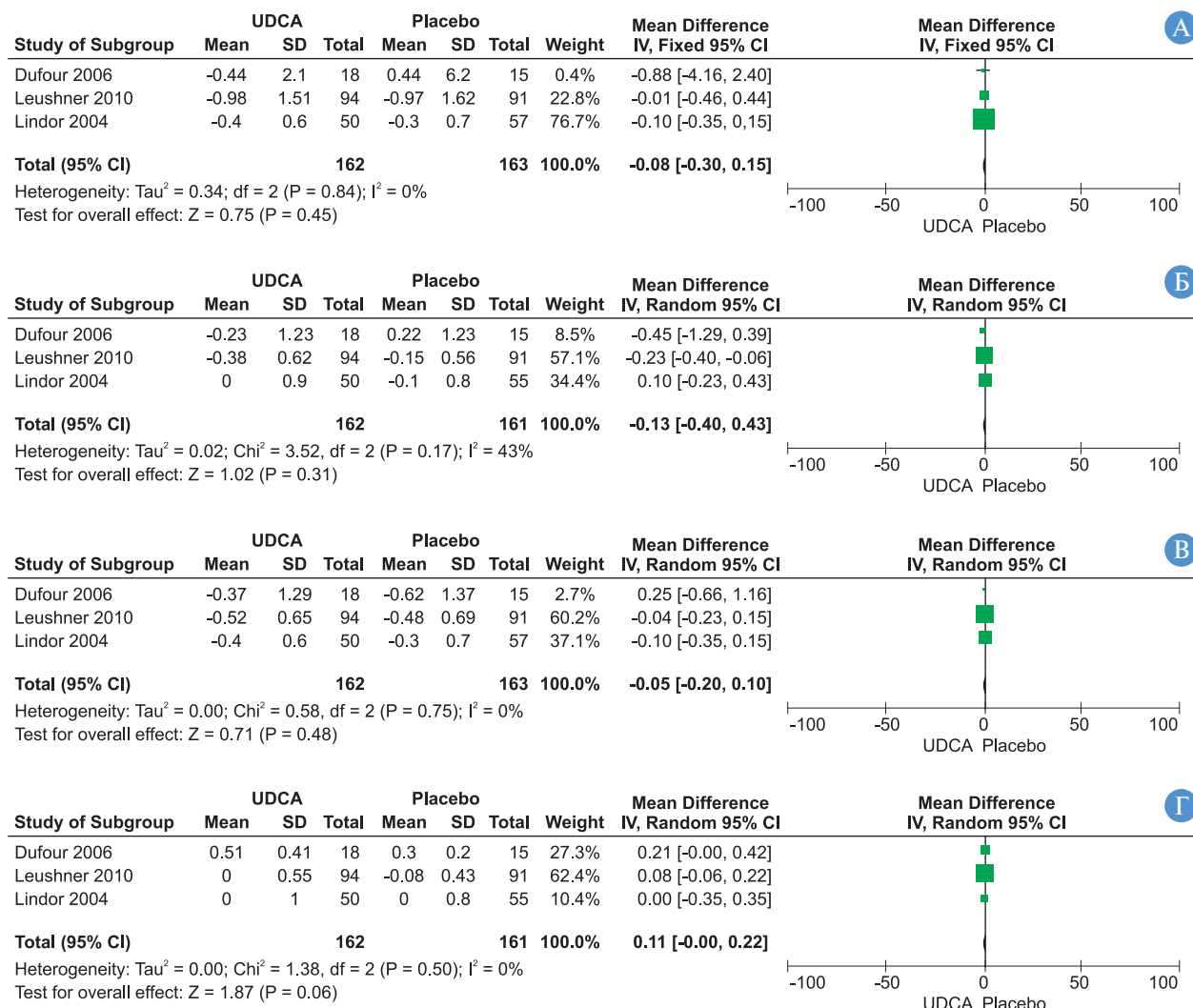
*Смертность.* В клинических исследованиях, включенных в анализ, зафиксирован единственный случай смерти пациента от инфаркта миокарда без указания, в какую группу он был включен — терапии или контроля [14].

*Гистологическая картина ткани печени.* Для оценки гистологической активности НАЖБП авторы исследований использовали шкалу Brunt и Matteoni (1999) или модифицированную шкалу Brunt — Шкалу оценки активности НАЖБП (NAFLD-activity score, NAS), принятую в 2005 г. на основе консенсуса экспертов (CRN) морфологов. Данная шкала удобна для клинической оценки морфологических изменений ткани печени на фоне терапии [18]. Только в трех исследованиях [12–14] была представлена и использована для анализа морфологическая динамика (рис. 2).

Результаты исследования [14] не выявили изменений в степени выраженности воспаления, стеатоза и фиброза в группах терапии и контроля.

Данные исследования [12] не продемонстрировали значимой положительной динамики морфологических показателей фиброза и воспалительной активности к концу терапии в основной и контрольной группе.

Оценка результатов гистологических изменений на фоне терапии в обеих группах — терапии и контроля — была сопоставимой [13], достоверно значимая разница



**Рис. 2.** Морфологические изменения ткани печени на фоне терапии [12–14]

*Примечание.* А — динамика гистологической картины; Б — динамика воспаления; В — динамика стеатоза; Г — динамика фиброза. UDCA — УДХК; Placebo — плацебо; Mean difference — средняя разница; Study or subgroup — исследование или подгруппа; Total (95% CI) — итог (95% ДИ); Heterogeneity — гетерогенность; Test for overall effect — оценка суммарного эффекта; Mean — значение; SD — стандартное отклонение; Weight — вес, доля; Fixed — фиксированный эффект; Random — случайный эффект; IV (Inverse Variance) — метод взвешивания обратных дисперсий.



была получена только в уменьшении лобулярного воспаления в группе терапии препаратами УДХК ( $p=0,002$ ) при отсутствии значимого влияния на стеатоз и фиброз печени.

В одном исследовании [16] биопсия печени проводилась только в начале исследования, а через 6 и 12 мес терапии повторная оценка фиброза морфологическим методом не проводилась, а использовались неинвазивные методы (Fibrotest, Actitest). По результатам неинвазивных тестов, уровень фиброза в группе терапии уменьшился на 18% к 6-му и на 10,5% к 12-му мес лечения, а в группе контроля зафиксировано дальнейшее прогрессирование фиброзных изменений.

2. Безопасность.

*Серьезные нежелательные явления.* Данные о серьезных нежелательных явлениях были представлены только в двух исследованиях [14, 16]. В группе терапии УДХК серьезные нежелательные явления развились у 13 (9,2%) из 142 участников, а в группе контроля — у 9 (6%) из 150. Таким образом, между группами терапии и контроля не было получено достоверных различий в частоте побочных эффектов (ОР 1,45; 95% ДИ 0,65–3,21; число участников 292; исследований 2;  $I^2=0\%$ ). Проведя экспертный последовательный анализ (TSA), мы получили подтверждение того факта, что применение УДХК достоверно не сопровождается серьезными нежелательными явлениями (ДИ 0,56–2,91; число участников 292; исследований 2;  $I^2=0\%$ ,  $D^2=0\%$ ) (рис. 3).

Основные результаты с оценкой по шкале GRADE представлены в табл. 4. Качество доказательной базы данных было расценено как низкое.

**Дополнительные показатели оценки**

1. Эффективность.

*Динамика лабораторных показателей*

Динамика лабораторных показателей на фоне терапии отражена на рис. 4. Данные о динамике лабораторных показателей до и в конце терапии представлены в исследованиях [13, 14, 16].

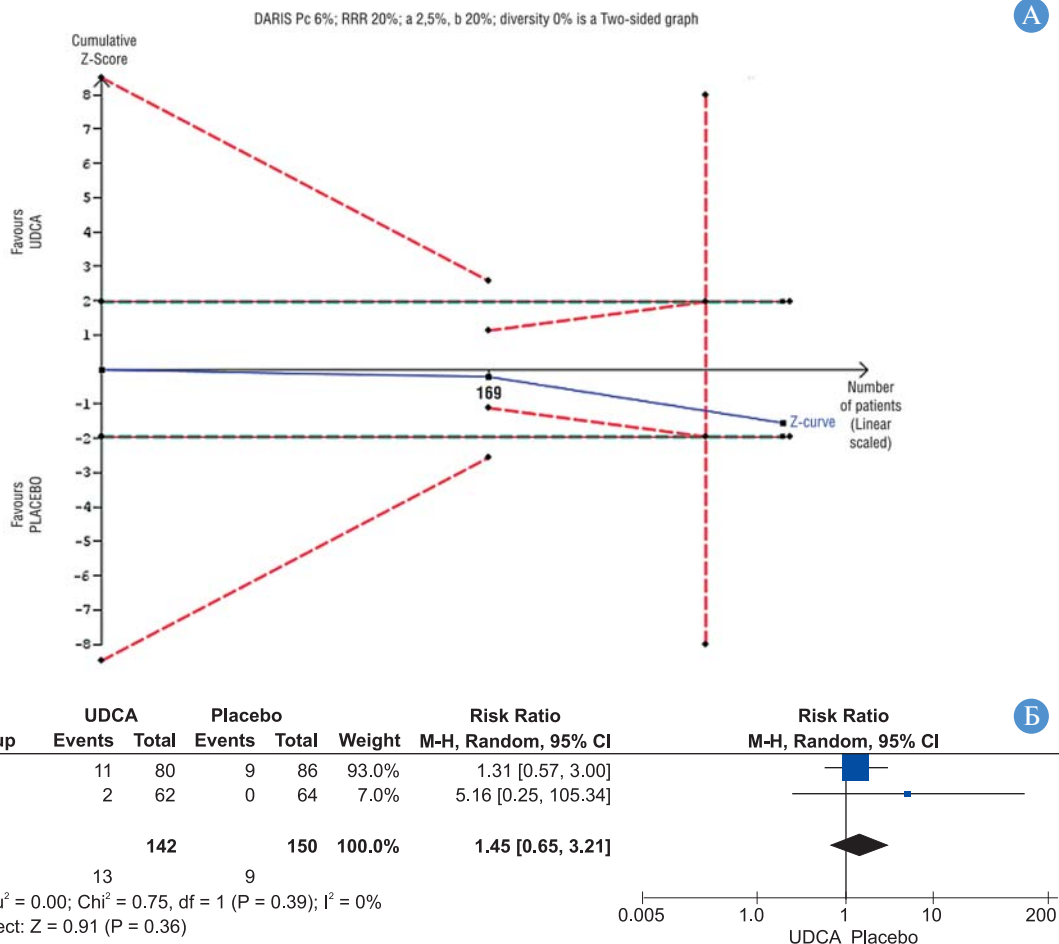
*Изменения АЛТ.* Показатель АЛТ до и после окончания терапии достоверно не отличался в группах лечения и контроля [13, 14] (MD -11,27; ДИ -28,79–-6,24; число участников 428; исследований 3;  $I^2=0\%$ ,  $p=0,21$ ; модель случайных эффектов). В исследовании [16] зафиксировано значимое изменение активности (нормализация) АЛТ в группе терапии УДХК по сравнению с плацебо ( $p<0,001$ ).

*Изменения АСТ.* Динамика АСТ достоверно не отличалась в группе терапии и контроля на фоне терапии (MD -1,94; ДИ -9,67–-5,80; число участников 304; исследований 2;  $I^2=0\%$ ,  $p=0,62$ , модель случайных эффектов) и представлена только в 2 клинических исследованиях [13, 14].

*Динамика ГГТП.* Показатель ГГТП достоверно чаще нормализовался в группе терапии УДХК по сравнению с группой контроля по результатам, представленным в двух клинических исследованиях [13, 14] (MD -33,16; ДИ -49,12– -17,21; число участников 249; исследований 2;  $I^2=0\%$ ,  $p<0,0001$ , модель случайных эффектов).

*Динамика щелочной фосфатазы.* Изменение уровня щелочной фосфатазы также было представлено в 2 клинических исследованиях [13, 14], и статистически достоверной разницы между группами терапии и контроля

300



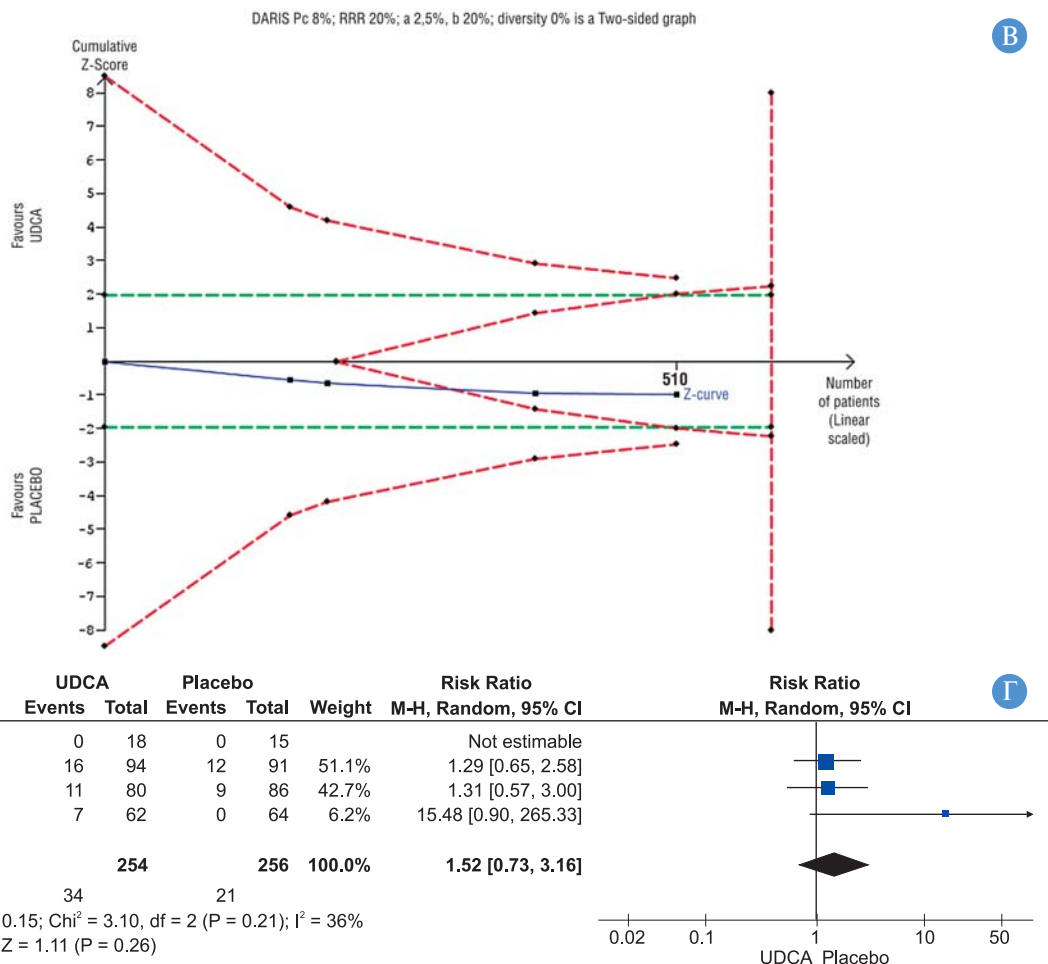


Рис. 3. Частота побочных эффектов [14, 16].

Примечание. А — серьезные нежелательные явления (последовательный экспертный анализ, TSA); Б — серьезные нежелательные явления; В — нежелательные явления (последовательный экспертный анализ, TSA); Г — нежелательные явления. DARIS (Diversity Adjusted Required Information Size) — необходимый размер выборки с учетом неоднородности; RRR (relative risk reduction) — снижение относительного риска; а — ошибка I типа; b — ошибка II типа; diversity — гетерогенность; cumulative Zscore — суммарная Z-шкала; number of patients — количество пациентов; Z-curve — кривая Z, two sided graph — двухсторонний график; linear scale — линейная шкала. UDCA — УДХК; Placebo — плацебо; Risk ratio — относительный риск; Study or subgroup — исследование или подгруппа; Events — случаи; Total — всего; Total (95% CI) — итога (95% ДИ); Total events — всего случаев; Heterogeneity — гетерогенность; Test for overall effect — оценка суммарного эффекта; Random — случайный эффект; M-H (Mantel-Haenszel) — метод Мантела-Ханзела.

Таблица 4. Шкала GRADE оценки уровня доказательств

Показатели	Сравнительные риски* (95% ДИ)		Относительный эффект (95% ДИ)	Количество исследований, участников	Качество доказательств
	Предполагаемый	Соответствующий			
	Плацебо	УДХК			
Серьезные нежелательные явления	60 на 1000	91 на 1000	1,45 (ДИ 0,65–3,21)	292 (2 РКИ)	⊕⊕⊖⊖ Низкое <sup>1</sup>
Нежелательные эффекты	82 на 1000	134 на 1000	1,52 (ДИ 0,73–3,16)	510 (4 РКИ)	⊕⊕⊖⊖ Низкое <sup>2</sup>

Примечания. \* — предполагаемый риск (средний риск группы контроля во всех исследованиях) представлен в примечании ниже. Соответствующий риск (и его 95% ДИ) основан на предполагаемом риске в сравниваемой группе и относительном эффекте терапии (и его 95% ДИ).

GRADE (Рабочая группа уровней доказательств):

- **высокое качество:** исследование дает очень хорошее указание на вероятный эффект; вероятность того, что эффект будет существенно отличаться, низкая;
- **умеренное качество:** это исследование дает хорошее представление о вероятном эффекте; вероятность того, что эффект будет существенно отличаться, является умеренной;
- **низкое качество:** это исследование дает некоторые указания на вероятный эффект, однако вероятность того, что он будет существенно отличаться, высока;
- **очень низкое качество:** это исследование не дает надежного указания на вероятный эффект; вероятность того, что эффект будет существенно отличаться, очень высока.

<sup>1</sup> — снижено на 2 уровня: 1 — высокий уровень методологической ошибки в РКИ, 2 — несогласованность результатов исследований (широкие доверительные интервалы).

<sup>2</sup> — снижено на 2 уровня: 1 — высокий уровень методологической ошибки в РКИ, 2 — несогласованность результатов исследований (широкие доверительные интервалы).

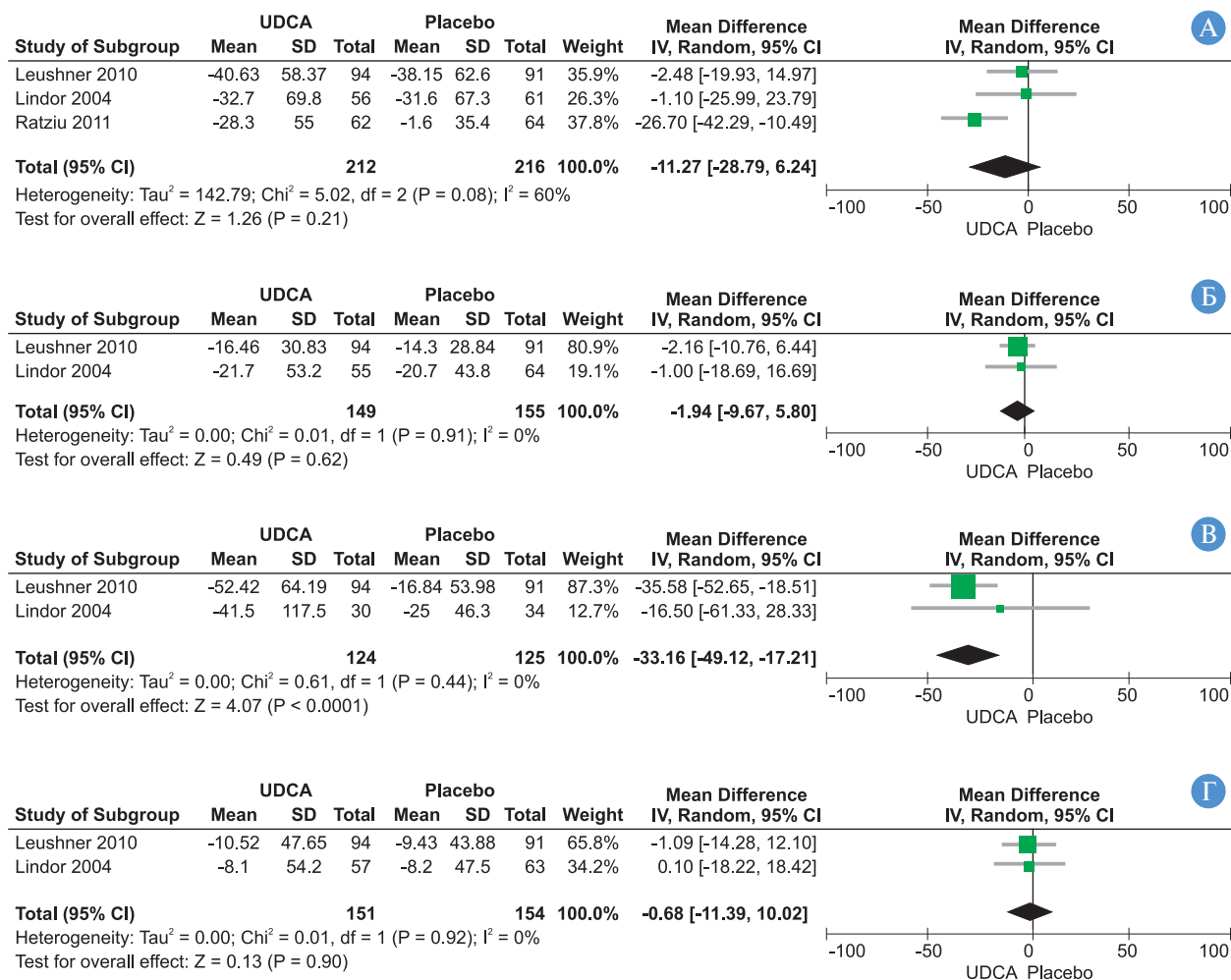


Рис. 4. Изменение лабораторных показателей на фоне терапии [13, 14, 16].

*Примечание.* А — динамика АЛТ; Б — динамика АСТ; В — динамика ГГТП; Г — динамика щелочной фосфатазы. UDCA — УДХК; Placebo — плацебо; Mean difference — средняя разница; Study or subgroup — исследование или подгруппа; Total (95% CI) — итоговое (95% ДИ); Heterogeneity — гетерогенность; Test for overall effect — оценка суммарного эффекта; Mean — значение; SD — стандартное отклонение; Weight — вес, доля; Random — случайный эффект; IV (Inverse Variance) — метод взвешивания обратных дисперсий. АЛТ — аланинаминотрансфераза, АСТ — аспартатаминотрансфераза, ГГТП — гамма-глутамилтранспептидаза.

не было получено (MD -0,68; ДИ -11,39--10,02; число участников 305; исследований 2; I<sup>2</sup>=0%, p=0,90, модель случайных эффектов).

Анализ показателей биохимической активности был затруднен ввиду отсутствия индивидуальных данных пациентов, включенных в исследования.

*Качество жизни* не оценивалось ни в одном из исследований.

2. Безопасность.

*Нежелательные явления.* Нежелательные явления регистрировались и отражались во всех исследованиях. В группе терапии УДХК нежелательные явления развились у 34 (13,4%) из 254 человек, а в группе контроля — у 21 (8,2%) из 256 (см. рис. 3). Таким образом, количество нежелательных явлений в группе терапии оказалось больше, но данный показатель не имел статистической силы (ОР 1,52; 95% ДИ 0,73–3,16; участников 510; исследований 4; I<sup>2</sup>=36%). При проведении экспертного последовательного анализа (TSA) получено убедительное подтверждение того факта, что применение УДХК достоверно не сопровождается нежелательными явлениями (ДИ 0,77–2,21; число участников 510; исследований 4; I<sup>2</sup>=0%, D<sup>2</sup>=0%).

Обсуждение

Мы проанализировали 4 рандомизированных клинических исследования, сравнивающих терапию препаратами УДХК и плацебо. При проведении метаанализа нами не получено убедительных данных, показывающих преимущество назначения УДХК по сравнению с плацебо при НАЖБП.

Мы не нашли данных о влиянии препаратов УДХК на смертность. Частота серьезных нежелательных и нежелательных явлений на фоне терапии препаратами УДХК в группе терапии сопоставима с плацебо, что подтверждено результатами последовательного экспертного анализа. Среди нежелательных явлений наиболее часто встречались диарея, абдоминальный дискомфорт, вздутие живота и астения. Данные о влиянии терапии препаратами УДХК на качество жизни отсутствуют.

Гистологические изменения на фоне терапии УДХК достоверно не отличались от изменений в контрольной группе, кроме исследования [13], в котором было получено достоверное уменьшение признаков лобулярного воспаления на фоне терапии препаратами УДХК. Изученные данные говорят об отсутствии влияния препаратов УДХК

на гистологические параметры, а вопрос о возможной регрессии стеатоза и фиброза на фоне терапии остается открытым.

Получены данные о положительном влиянии препаратов УДХК на биохимический показатель ГГТП, который достоверно нормализовался в группе терапии в двух представленных РКИ [13, 14]. По данным [16] отмечена нормализация показателя АЛТ, на динамику которого, по данным двух других исследований, препараты УДХК не повлияли, что, вероятно, обусловлено назначением УДХК в исследовании [16] в высокой дозе (28–35 мг/кг), хотя [43] объясняет это тем фактом, что [16] включал пациентов с трехкратными эпизодами повышения АЛТ в течение 12 мес, в то время как [13] включал в исследование пациентов со стойким повышением АЛТ в течение 3 мес, что, по мнению автора [43], не отражает истинного положительного влияния высоких доз УДХК на уровень АЛТ, а связано с «флуктуацией» данного показателя. Динамика показателей щелочной фосфатазы и АСТ в группах терапии и плацебо была сопоставима, что говорит об отсутствии влияния УДХК на их уровень.

Анализ данных, включенных в настоящую публикацию, проведен в соответствии с принципами, изложенными в руководстве Кокрейна для проведения метаанализов, с применением последовательного экспертного анализа и оценки качества доказательств по шкале GRADE. Основываясь на методологическом подходе, качество доказательств расценено как низкое, поскольку риск ошибки высок, в первую очередь ввиду нечеткого описания процедуры рандомизации, несогласованности результатов исследований (широкие доверительные интервалы; гетерогенность  $I^2=36\%$ ), выборочного представления данных, а также вследствие малого количества участников и исследований. Несмотря на длительный временной интервал проведения клинических исследований (с 1996 по 2010 г.), высокую распространенность и актуальность НАЖБП, количество исследований и пациентов, включенных в них, оказалось небольшим. Кроме того, качество доказательств невысоко ввиду того, что все исследования проведены при поддержке фармацевтических компаний. Оценка риска публикационного смещения не могла быть проведена ввиду малого количества включенных исследований, что исключает возможность правильной оценки воронкообразного графика или регрессионную модель. Безусловно, качество приведенной доказательной базы отражает качество включенных в анализ исследований.

Таким образом, малое количество клинических исследований и небольшое количество участников в них, выборочное представление данных исследований и погрешности в дизайне исследований диктуют необходимость проведения новых РКИ, соответствующих требованиям международного руководства (SPIRIT) [44].

## Заключение

По результатам проведенного метаанализа выявлено отсутствие данных о влиянии УДХК на выживаемость и качество жизни пациентов с НАЖБП. Статистически значимое отсутствие разницы между количеством серьезных нежелательных явлений и нежелательных явлений в группе терапии и контроля указывает на хорошую переносимость и высокий профиль безопасности препаратов УДХК.

Анализ данных морфологического исследования ткани печени до и после проведения терапии УДХК не выявил значимых изменений, кроме достоверного уменьшения признаков лобулярного воспаления в одном РКИ на фоне приема высоких доз УДХК. На фоне терапии УДХК (в двух РКИ) отмечена значимая динамика биохимического показателя ГГТ, а динамика биохимического показателя АЛТ зафиксирована в одном РКИ в группе, получавшей высокие дозы препаратов УДХК.

Таким образом, целесообразно предоставление индивидуальных, обезличенных данных пациентов для проведения метаанализа с целью ответа на вопрос об эффективности применения препаратов УДХК у пациентов с НАЖБП.

## Источник финансирования

Проведенная поисково-аналитическая работа и публикация статьи осуществлены на личные средства авторского коллектива.

## Конфликт интересов

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

## Участие авторов

Ч.С. Павлов: автор идеи и дизайна метаанализа, написание и редактирование текста; Д.Л. Варганова: автор дизайна, проведение анализов, написание текста; М.Ч. Семенистая: сбор и обработка данных исследований; Е.А. Кузнецова: сбор и обработка данных исследований; А.А. Усанова: проведение анализов, редактирование текста; А.А. Свистунов: проведение анализов, редактирование текста. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и написание статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Глобальные практические рекомендации Всемирной гастроэнтерологической организации. *Неалкогольная жировая болезнь печени и неалкогольный стеатогепатит* [интернет]. World Gastroenterology Organisation; 2012. [World gastroenterology organisation global guidelines. *Non-alcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis*. World Gastroenterology Organisation; 2012. (In Russ).] Доступно по: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/naflid-nash-russian-2012.pdf>. Ссылка активна на 12.09.2018.
2. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М., Шульпекова Ю.О. *Диагностика и лечение неалкогольной жировой болезни печени: методические рекомендации*. — М.: М-Вести; 2009. — 20 с. [Ivashkin VT, Drapkina OM, Shulpekova YO. *Diagnostika i lechenie nealkogol'noi zhirovoi bolezni pecheni: metodicheskie rekomendatsii*. Moscow: M-Vesti; 2009. 20 p. (In Russ).]
3. Российское общество по изучению печени. *Диагностика и лечение неалкогольной жировой болезни печени (Методические рекомендации для врачей)*. / Под ред. акад. РАН, проф. В.Т. Ивашкина. — М.; 2015. [Rossiiskoe obshchestvo po

- izucheniyu pecheni. *Diagnostika i lechenie nealkogol'noi zhirovoi bolezni pecheni (Metodicheskie rekomendatsii dlya vrachei)*. Ed by Ivashkin VT. Moscow; 2015. (In Russ.)]
4. Beuers U. Drug insight: mechanisms and sites of action of ursodeoxycholic acid in cholestasis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*. 2006;3(6):318–328. doi: 10.1038/ncpgasthep0521.
  5. Fickert P, Zollner G, Fuchsbichler A, et al. Effects of ursodeoxycholic and cholic acid feeding on hepatocellular transporter expression in mouse liver. *Gastroenterology*. 2001;121(1):170–183. doi: 10.1053/gast.2001.25542.
  6. Murakami M, Une N, Nishizawa N, et al. Incretin secretion stimulated by ursodeoxycholic acid in healthy subjects. *Springerplus*. 2013;2(1):20. doi: 10.1186/2193-1801-2-20.
  7. Review Manager (RevMan) [Computer program]. Version 5.3. Copenhagen: The Nordic Cochrane Centre, the Cochrane Collaboration; 2014. Available from: <https://community.cochrane.org/help/tools-and-software/revman-5>. Accessed September 9, 2018.
  8. Trial Sequential Analysis (TSA) [Computer program]. Version 0.9.5.5 Beta. Copenhagen: the Nordic Cochrane Centre, the Cochrane Collaboration; 2011. Available from: <http://www.ctu.dk/tsa/>. Accessed September 9, 2018.
  9. Thorlund K, Engstrom J, Wetterslev J, et al. User manual for Trial Sequential Analysis (TSA) [Internet]. Copenhagen, Denmark: Copenhagen trial unit, Centre for clinical intervention research; 2011. pp. 1–115 [cited 2016 Feb 9]. Available from: [http://www.ctu.dk/tsa/files/tsa\\_manual.pdf](http://www.ctu.dk/tsa/files/tsa_manual.pdf).
  10. Higgins JP, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat Med*. 2002;21(11):1539–1558. doi: 10.1002/sim.1186.
  11. Gluud C, Brok J, Gong Y, Koretz RL. Hepatology may have problems with putative surrogate outcome measures. *J Hepatol*. 2007;46(4):734–742. doi: 10.1016/j.jhep.2007.01.003.
  12. Dufour JF, Oneta CM, Gonvers JJ, et al. Randomized placebo-controlled trial of Ursodeoxycholic acid with vitamin e in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4(12):1537–1543. doi: 10.1016/j.cgh.2006.09.025.
  13. Leuschner UF, Lindenthal B, Herrmann G, et al. High-dose ursodeoxycholic acid therapy for nonalcoholic steatohepatitis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Hepatology*. 2010; 52(2):472–479. doi: 10.1002/hep.23727.
  14. Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatology*. 2004;39(3):770–778. doi: 10.1002/hep.20092.
  15. Ratziu V, De Ledinghen V, Oberti F, et al. A multicentric, double-blind, randomised-controlled trial (RCT) of high dose ursodeoxycholic acid in patients with non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *J Hepatol*. 2009;50:S21. doi: 10.1016/S0168-8278(09)60049-0.
  16. Ratziu V, De Ledinghen V, Oberti F, et al. A randomized controlled trial of high-dose ursodesoxycholic acid for nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*. 2011;54(5):1011–1019. doi: 10.1016/j.jhep.2010.08.030.
  17. Higgins J, Green S, editors. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions* [Internet]. Chichester, England: John Wiley & Sons, Ltd; 2008 [cited 2018 Oct 12]. Available from: <https://www.radioterapiaitalia.it/wp-content/uploads/2017/01/cochrane-handbook-for-systematic-reviews-of-interventions.pdf>.
  18. Bedossa P. Current histological classification of NAFLD: strength and limitations. *Hepatol Int*. 2013;7 Suppl 2:765–770. doi: 10.1007/s12072-013-9446-z.
  19. Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, Angulo P. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol*. 2005;42(1):132–138. doi: 10.1016/j.jhep.2004.09.012.
  20. Balmer ML, Siegrist K, Zimmermann A, Dufour JF. Effects of ursodeoxycholic acid in combination with vitamin E on adipokines and apoptosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int*. 2009;29(8):1184–1188. doi: 10.1111/j.1478-3231.2009.02037.x.
  21. Balmer M, Schmitter K, Dufour JF. The effect of ursodeoxycholic acid (UCDA) in combination with vitamin E on adipokines in patients with NASH. *J Hepatol*. 2008;48(Suppl 2):S337. doi: 10.1016/S0168-8278(08)60900-9.
  22. Cicek B, Koksal A, Oguz D, et al. Ursodeoxycholic acid and gemfibrozil in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a randomized controlled trial. *J Hepatol*. 2004;40(Suppl 1):169–170. doi: 10.1016/S0168-8278(04)90578-8.
  23. Cruz RD, Mappala HT. The efficacy of ursodeoxycholic acid, probiotics vs. diet and exercise in the treatment of nafld: an open-labelled prospective randomized trial. *J Gastroenterol Hepatol*. 2012;27(Suppl 5):223.
  24. Ersöz G, Günşar F, Karasu Z, et al. Management of fatty liver disease with vitamin E and C compared to ursodeoxycholic acid treatment. *Turk J Gastroenterol*. 2005;16(3):124–128. doi: 10.1016/S0168-8278(03)80123-x.
  25. Ji G, Fan JG, Chen JJ, et al. Effectiveness of Danning Tablet in patients with non-alcoholic fatty liver of damp-heat syndrome type: a multicenter randomized controlled trial. *Zhong Xi Yi Ji He Xue Bao*. 2008; 6(2):128–133. doi: 10.3736/jcim20080205.
  26. Troisi G, Crisciotti F, Gianturco V, et al. The treatment with ursodeoxycholic acid in elderly patients affected by NAFLD and metabolic syndrome: a case-control study. *Clin Ter*. 2013;164(3):203–207. doi: 10.7417/CT.2013.1550.
  27. Kiyici M, Gulten M, Gurel S, et al. Ursodeoxycholic acid and atorvastatin in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Can J Gastroenterol*. 2003;17(12):713–718. doi: 10.1155/2003/857869.
  28. Кляритская И.Л., Стилиди Е.И., Максимова Е.В. Сравнение различных схем лечения у больных с неалкогольной жировой болезнью печени // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. — 2015. — №7 — С. 12–17. [Klyarytskaya IL, Stilidi EI, Maksymova EV. Comparison of different treatment regimens in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2015;(7):12–17. (In Russ.)]
  29. Santos VN, Lanzoni VP, Szejnfeld J, et al. A randomized double-blind study of the short-time treatment of obese patients with nonalcoholic fatty liver disease with ursodeoxycholic acid. *Braz J Med Biol Res*. 2003;36(6):723–729. doi: 10.1590/s0100-879x2003000600007.
  30. Laurin J, Lindor KD, Crippin JS, et al. Ursodeoxycholic acid or clofibrate in the treatment of non-alcohol-induced steatohepatitis: a pilot study. *Hepatology*. 1996;23(6):1464–1467. doi: 10.1002/hep.510230624.
  31. Lee SH, Cheon GJ, Kim HS, et al. [Comparison on the efficacy and safety of biphenyl dimethyl dicarboxylate and ursodeoxycholic acid in patients with abnormal alanine aminotransferase: multicenter, double-blinded, randomized, active-controlled clinical trial. (In Korean).] *Korean J Gastroenterol*. 2014;64(1):31–39. doi: 10.4166/kjg.2014.64.1.31.
  32. Marshall HU, Wagner M, Zollner G, et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of fatty liver disease and dyslipidemia in morbidly obese patients. *Dig Dis*. 2011;29(1):117–118. doi: 10.1159/000324146.
  33. Méndez-Sánchez N, González V, Chávez-Tapia N, et al. Weight reduction and ursodeoxycholic acid in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. A double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Hepatol*. 2004;3(3):108–112.
  34. Mudaliar S, Henry RR, Sanyal AJ, et al. Efficacy and safety of the farnesoid x receptor agonist obeticholic acid in patients with type 2 diabetes and nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2013;145(3):574–582. doi: 10.1053/j.gastro.2013.05.042.
  35. Mueller M, Thorell A, Claudel T, et al. Ursodeoxycholic acid exerts farnesoid X receptor-antagonistic effects on bile acid and lipid metabolism in morbid obesity. *J Hepatol*. 2015;62(6):1398–1404. doi: 10.1016/j.jhep.2014.12.034.

36. Oh B, Choi W, Park SB, et al. Efficacy and safety of ursodeoxycholic acid composite on fatigued patients with elevated liver function and/or fatty liver: a multi-centre, randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *Int J Clin Pract.* 2016;70(4):302–311. doi: 10.1111/ijcp.12790.
37. Oliveira C, Cotrim H, Cristina A, et al. Combination of long term N-Acetylcysteine and Ursodeoxycholic Acid in NASH: a multicenter randomized control trial. *J Hepatol.* 2017;66(1 Suppl):S152–S153. doi: 10.1016/S0168-8278(17)30577-9.
38. Parikh P, Ingle M, Patel J, et al. An open-label randomized control study to compare the efficacy of vitamin E versus ursodeoxycholic acid in nondiabetic and noncirrhotic indian NAFLD patients. *Saudi J Gastroenterol.* 2016;22(3):192–197. doi: 10.4103/1319-3767.182451.
39. Abstracts of the 24th Annual Conference of APASL, March 12–15, 2015, Istanbul, Turkey. *Hepatol Int.* 2015;9(Suppl 1):1–391. doi: 10.1007/s12072-015-9609-1.
40. Popescu AM. Pilot study of a new treatment in NAFLD/NASH, interfering intestinal microbiota and bile acids resorption and metabolism. *J Hepatol.* 2015;62 Suppl 2:S713. doi: 10.1016/s0168-8278(15)31180-6.
41. Virstyuk N, Deltsova O, Geraschenko S, Kovalchuk L. Effects of ursodeoxycholic acid and pioglitazone long therapy on hepatocytes changes in NASH patients. *J Hepatol.* 2015;62 Suppl 2:S730. doi: 10.1016/S0168-8278(15)31220-4.
42. Zhang X, Zhou M, Hu G. Clinical study on nonalcoholic steatohepatitis treated by ursodeoxycholic acid combined with human tablet. *Chin J Int Med.* 2003;13:8–9.
43. Haedrich M, Dufour JF. UDCA for NASH: end of the story? *J Hepatol.* 2011;54(5):856–858. doi: 10.1016/j.jhep.2010.10.009.
44. Chan AW, Tetzlaff JM, Altman DG, et al. SPIRIT 2013 statement: defining standard protocol items for clinical trials. *Ann Intern Med.* 2013;158(3):200–207. doi: 10.7326/0003-4819-158-3-201302050-00583.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

\***Павлов Чавдар Савович**, д.м.н. [*Chavdar S. Pavlov*, MD, PhD]; Адрес: 119881, Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1 [address: 1 bld. 1, Pogodinskaya street, 119881 Moscow, Russia], e-mail: chpavlov@mail.ru, SPIN-код: 5052-9020, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5031-9798>

**Варганова Дарья Леонидовна** [*Daria L. Varganova*, MD]; e-mail: datich@ya.ru, SPIN-код: 3689-5602, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5745-7605>

**Семенистая Марианна Чавдаровна** [*Marianna C. Semenistaya*, MD]; e-mail: marianna.semenistaia@yahoo.com, SPIN-код: 9357-3700, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1724-4760>

**Кузнецова Екатерина Алевтиновна** [*Ekaterina A. Kuznetsova*]; e-mail: fraokat@gmail.com, SPIN-код: 4830-1668, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8264-0559>

**Усанова Анна Александровна**, д.м.н., профессор [*Anna A. Usanova*, MD, PhD, Professor]; e-mail: anna61-u@mail.ru, SPIN-код: 8346-6031, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2948-4865>

**Свистунов Андрей Алексеевич**, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН [*Andrei A. Svistunov*, MD, PhD, Professor]; e-mail: svistunov@sechenov.ru, SPIN-код: 4042-9063, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1592-5703>

М.Б. Жилова\*, М.М. Бутарева

Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии, Москва, Российская Федерация

# УФ-излучение как фактор риска немеланомного рака кожи. Генетические детерминанты онкогенеза

В обзоре представлены современные данные о роли ультрафиолетового излучения (УФ) в патогенезе немеланомного рака кожи, в частности изучена проблема развития плоскоклеточного и базальноклеточного рака кожи в популяции и при многокурсовом применении методов фототерапии (ПУВА, УФВ, УФВ-311) у больных псориазом. Рассматриваются механизмы УФ-индуцированного повреждения клетки разными спектральными диапазонами (УФА, УФВ), такие как формирование фотопродуктов, повреждение геномной ДНК и других клеточных структур, нарушение регуляции сигнальных путей, развитие хронического воспаления, вторичной иммуносупрессии. Обобщены результаты крупных эпидемиологических исследований, где обсуждается роль полиморфизмов гена гомологичной репарации ДНК XRCC3, гена теломеразы TERT-CLPTM1, гена цитокина IL10, гена MTHFR, кодирующего синтез фолатов, а также генов, участвующих в пигментообразовании (MC1R, EXOC2, UBAC), в модуляции риска канцерогенного действия ультрафиолетового излучения. По мнению авторов, значительный интерес представляют данные о роли полиморфизмов гена рецептора витамина D (VDR) как возможных предикторов риска развития немеланомного рака кожи. Рассматриваются дальнейшие перспективы научных исследований по изучению совокупной роли генома и факторов внешней среды в оценке риска немеланомного рака кожи.

**Ключевые слова:** УФ-излучение, фототерапия, канцерогенез, немеланомный рак кожи, полиморфизмы генов, полиморфизмы гена рецептора витамина D.

(Для цитирования: Жилова М.Б., Бутарева М.М. УФ-излучение как фактор риска немеланомного рака кожи. Генетические детерминанты онкогенеза. Вестник РАМН. 2018;73(5):306–313. doi: 10.15690/vramn941)

306

## Введение

Ультрафиолетовое (УФ) излучение является физическим фактором, широко используемым в лечении хронических заболеваний кожи. Ведущее место занимают методы, основанные на использовании искусственных источников УФ-излучения средневолнового (280–320 нм) и длинноволнового (320–400 нм) диапазона. К ним относятся длинноволновое ультрафиолетовое излучение спектра А с применением фотосенсибилизатора (ПУВА-терапия), средневолновая широкополосная фототерапия (УФВ-терапия), узкополосная средневолновая фототерапия с длиной волны 311 нм (УФВ-311 терапия).

Методы фототерапии активно применяются для лечения среднетяжелых и тяжелых форм псориаза. Учитывая хронический рецидивирующий характер течения заболевания, большим псориазом зачастую проводятся курсы фототерапии регулярно в течение многих лет. Следует отметить, что больные псориазом широко используют гелиотерапию, подвергаясь интенсивной солнечной инсоляции с разной периодичностью.

С накоплением опыта применения методов фототерапии у больных псориазом в мире широко стала обсуждаться проблема риска развития злокачественных новообразований кожи при проведении длительно-многокурсового лечения [1]. По результатам целого ряда научных исследований, метод ПУВА-терапии

М.Б. Zhilova\*, М.М. Butareva

State Scientific Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russian Federation

## UV-radiation as a Risk Factor for Non-melanoma Skin Cancer. Genetic Determinants of Carcinogenesis

The review presents modern data on the role of ultraviolet (UV) radiation in the pathogenesis of non-melanoma skin cancer (NMSC), the problem of THE risk of developing NMSC, in particular, squamous cell and basal cell skin cancer both in the population and in long-term repeated irradiation of phototherapy (PUVA therapy, UVB therapy, UVB-311 therapy) in patients with psoriasis. The paper considers the mechanisms of UV-induced cell damage by different spectral ranges (UVA, UVB) including the formation of photoproducts, damage to genomic DNA and other cellular structures, violation of the regulation of signaling pathways, the development of chronic inflammation, secondary immunosuppression. The review summarizes the results of large epidemiological studies discussing the role of gene polymorphisms in the homologous DNA repair XRCC3, gene telomerase TERT-CLPTM1, cytokine IL10 gene, MTHFR gene, encoding the folate synthesis, genes involved in pigment formation MC1R, EXOC2, UBAC2 in the modulation of risk of carcinogenic effect of UV radiation. According to the authors' opinion, the most vital and significant is data on the role of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms as possible predictors of the risk of NMSC development. The further prospects of academic research on the cumulative role of the genome and environmental factors in the risk assessment of NMSC are revealed.

**Key words:** UV-radiation, phototherapy, carcinogenesis, nonmelanoma skin cancer, gene polymorphism, vitamin D receptor gene polymorphisms (VDR). (For citation: Zhilova MB, Butareva MM. UV-radiation as a Risk Factor for Non-melanoma Skin Cancer. Genetic Determinants of Carcinogenesis. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2018;73(5):306–313. doi: 10.15690/vramn941)

признан потенциально канцерогенным при многокурсовом применении у больных псориазом; данные по УФВ-диапазону остаются противоречивыми; спектр УФВ-311 указывается как наиболее безопасный, но с небольшой продолжительностью наблюдений [2, 3].

На сегодняшний день кумулятивное действие ультрафиолетового диапазона на кожу при естественной инсоляции рассматривается как наиболее значимый фактор риска фотостарения и развития спорадического немеланомного рака кожи [4–6].

По результатам исследований канцерогенного риска солнечного света, научно доказанной считается этиологическая роль именно УФВ-диапазона в развитии УФ-индуцированного немеланомного рака кожи, роль же диапазона УФА в оценке риска его развития остается не до конца изученной [7, 8].

В настоящее время в литературе, посвященной изучению механизмов развития немеланомного рака кожи, обсуждается роль индивидуальных факторов, определяющих устойчивость клетки к злокачественному переждению. В последние годы опубликовано большое количество работ, в которых оценивается роль полиморфизмов различных генов в повышении риска канцерогенного действия ультрафиолетового излучения на кожу или выступающих в качестве протективных факторов онкогенеза.

Рак кожи является наиболее частым видом рака у людей со светлой кожей во всем мире, а немеланомный рак кожи составляет до 90% всех злокачественных опухолей кожи [9]. В то же время заболеваемость базальноклеточным и плоскоклеточным раком кожи составляет 99% в структуре немеланомного рака кожи.

Ежегодно в мире диагностируется 3,5 млн новых случаев рака кожи немеланомного генеза, при этом на долю базальноклеточного рака кожи приходится 80–85%, на долю плоскоклеточного — 15–20% [10].

По данным официальной государственной статистики за 2015 г., злокачественные новообразования кожи (без меланомы) в Российской Федерации занимают лидирующее место в структуре общей онкологической заболеваемости, составляя 12,5%. Среди лиц мужского населения России злокачественные опухоли кожи (без меланомы) занимают третье место (10,0%), уступая опухолям трахеи, бронхов, легкого (17,8%) и предстательной железы (14,4%). Среди лиц женского пола злокачественные новообразования кожи занимают второе место с показателем 14,6%. Кумулятивный риск развития рака кожи (кроме меланомы) за последние 10 лет также существенно увеличился (с 2,76 до 3,16%) [11].

Заболеваемость в Европе и США продолжает оставаться на высоком уровне. За последние 30 лет показатели заболеваемости плоскоклеточным раком кожи возростали на 3–10% в год, базальноклеточным — на 20–80% [12]. Стандартизированное соотношение частоты базальноклеточного рака кожи к плоскоклеточному составило ~4:1,2 [13].

Почти 80% всех случаев немеланомного рака кожи приходится на лиц старше 60 лет и пожилых людей, однако тревожным является тот факт, что растет заболеваемость среди пациентов моложе 35 лет [14, 15]. При этом следует указать на достаточно высокий уровень осведомленности населения во всех странах о необходимости ограничения интенсивной солнечной инсоляции и широкого применения солнцезащитных средств.

В совокупности эти факты демонстрируют важность понимания путей развития немеланомного рака кожи

для поиска индивидуальных прогностических факторов, определяющих риск онкогенеза при кумулятивном воздействии УФ-излучения.

### Источники данных

В основу работы положен анализ результатов научных исследований, посвященных оценке канцерогенного риска разных спектральных диапазонов УФ-излучения, в том числе в разных популяционных группах населения, а также у больных псориазом, длительно получающих курсы фототерапии. Рассматривается роль полиморфизмов отдельных генов как потенциальных маркеров риска развития немеланомного рака кожи. Анализ данных проводился с использованием баз данных PubMed за период с 1982 по 2017 г.

### Механизмы фотоповреждения и вопросы патогенеза немеланомного рака кожи

Механизмы УФ-повреждения клетки разнообразны и включают главным образом воздействие на нуклеиновые кислоты, мембранные липиды, протеины и другие клеточные структуры. Воздействие УФВ-диапазона приводит к повреждению ДНК с образованием циклобутановых пиримидиновых димеров, 6-4-фотопродуктов, поперечных сшивок ДНК, одиночных разрывов или двойных разрывов нитей ДНК [16]. Предполагается, что 6-4-фотопродукты повышают риск УФ-индуцированного канцерогенеза несущественно, так как эффективно удаляются системой эксцизионной репарации ДНК [17], тогда как циклобутан-пиримидиновые димеры (cyclobutane pyrimidine dimers) являются более мутагенными и устойчивыми к апоптозу, вызывая около 80% УФ-индуцированных мутаций [18, 19].

Механизм фотоповреждения ДНК клетки УФА-спектром является опосредованным. В результате поглощения УФА внутриклеточными хромофорами (меланин, порфирины, белки и др.) развиваются фотохимические реакции с формированием активных форм кислорода. Альтерация в клетках окислительных потенциалов инициирует образование повреждений в виде модификации азотсодержащих соединений в цепочке ДНК, повреждая в первую очередь гуанин, окисление которого приводит к образованию 7,8-дигидро-8-оксигуанина (8-oxoG). Оксидативный стресс приводит к генерации медиаторов воспаления — хемокинов, фактора некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor, TNF), интерлейкина (interleukin, IL) 8, гистамина, свободных радикалов, метаболитов арахидоновой кислоты, простагландинов, лейкотриенов [20]. При этом фактор трансдукции AP-1 (активирующий протеин-1), играющий ключевую роль в регуляции экспрессии генов, которые участвуют в развитии процессов воспаления, пролиферации и иммунного ответа, изменяет их экспрессию и может вовлекаться в опухолевую прогрессию [21]. Под воздействием УФА также было установлено развитие мутаций гена-супрессора опухоли *TP53*, формирование циклобутан-пиримидиновых димеров [22, 23].

УФ-индуцированное повреждение ДНК активирует механизмы удаления повреждений ДНК путем репарации или индукцию апоптоза при активации транскрипции гена *TP53* [24, 25]. Примерно 80 000 пиримидиновых димеров индуцируются в эпидермисе человека за 1 час воздействия солнечного света [26]. Наличие большого числа репарационных систем ДНК позволяет эф-



фективно удалять циклобутан-пиримидиновые димеры и 6-4-фотопродукты в эпидермальных кератиноцитах, клетках Лангерганса, меланоцитах, дермальных фибробластах [27]. Необратимо поврежденные клетки после воздействия УФ-излучения, способные спровоцировать онкогенные мутации, удаляются путем активации апоптоза.

Смерть клетки, или апоптоз, — естественный физиологический процесс, регулирующий процессы роста и развития, а также защиту организма от повреждающего воздействия. Нарушение механизмов апоптоза может повлечь пошаговые мутации в трех категориях генов — протоонкогенах, генах-супрессорах опухолей, генах репарации ДНК. Мутация в одной из этих групп генов или в любой комбинации способна вызвать неопластическое состояние [28]. Если повреждения ДНК, вызванные УФ-излучением, не устранены при репликации клетки, в геном вводится постоянная мутация [29]. Появление мутаций *C→T* и *CC→TT* гена-супрессора опухоли *TP53* считается одной из основных причин развития плоскоклеточного рака кожи. Клетки с единственной мутацией *TP53* своевременно не уходят в апоптоз, продолжают жить и размножаться, что позволяет клетке в конечном итоге стать злокачественной [30]. Мутации гена *TP53* обнаружены у 90% больных плоскоклеточным раком кожи и 54% больных базальноклеточным раком. Поскольку рак кожи не развивается сразу после воздействия ультрафиолетового излучения, мутированные гены могут оставаться латентными в течение длительного времени [31].

В соответствии с законом Гротгуса–Дрейпера фотохимический эффект УФ-излучения прямо пропорционален количеству поглощенной энергии, ввиду чего действие УФ-излучения на человеческий организм характеризуется развитием целого ряда фотохимических реакций, биологические эффекты которых зависят от длины волны и поглощенной дозы. До сих пор нет ясности в вопросе о наиболее мутагенных дозах хронического УФ-облучения.

Известно, что в группу риска по развитию рака кожи входят люди с 1-м и 2-м фототипом кожи, а спектральный диапазон и кумулятивная доза облучения определяют эффекты фотоповреждения [32]. Однако изучение частоты развития базально- и плоскоклеточного рака кожи при воздействии очень высоких, высоких и низких кумулятивных доз солнечной инсоляции показало, что частота их развития у лиц, получавших очень высокие кумулятивные дозы, была ниже, чем у лиц, получавших высокие кумулятивные дозы инсоляции, на основании чего автор предположил, что УФ-индуцированный канцерогенез не всегда зависит от текущих доз облучения [33].

По результатам исследования, проведенного в 2007 г., скорость роста УФВ-индуцированной опухоли у мышей не увеличивалась при воздействии УФА-диапазона, что может указывать на различные пути онкогенеза при облучении УФА и УФВ светом [34].

Важно отметить, что УФ-облучение может инициировать опухолевый рост, индуцируя пути выживания в кератиноцитах, которые противодействуют апоптозу, тем самым позволяя поврежденным клеткам выжить. Ультрафиолет может активировать эти пути путем прямого повреждения ДНК генов критических мишеней [35], развития воспаления в коже, вторичной иммуносупрессии [36–38].

Помимо прямого повреждения ДНК, УФ-индуцированная трансдукция сигнальных путей может также играть центральную роль в инициировании не-

меланомного рака кожи, способствуя выживанию потенциально раковых клеток [4]. В частности, установлено нарушение регуляции протеинкиназ АТМ и АТР, участвующих в активации белка-супрессора опухоли *TP53* при повреждениях ДНК, а также вовлечение белка активатора транскрипции *STAT3*, обеспечивающего быструю передачу активационного сигнала с мембраны клетки в ядро, и внутриклеточного сигнального пути *NF-κB*, играющего важную роль в развитии клеточной пролиферации, воспалительной реакции, апоптоза [39–42].

Рецепторы фактора роста с тирозинкиназной активностью (RTK; высокоаффинные рецепторы факторов роста, цитокинов, гормонов, находящиеся на клеточной мембране, регулирующие процессы пролиферации и дифференцировки клеток) также активируются в ответ на УФ-излучение и могут вовлекаться в патогенез заболевания [43, 44]. К ключевым рецепторам, которые индуцируются в ответ на УФ-излучение, также относят инсулиновые рецепторы (IR), рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1R), рецептор эпидермального фактора роста EGFR [45]. Активация RTK в кератиноцитах преимущественно инициирует антиапоптотический и клеточный пролиферативный ответ, которые являются критическими процессами для инициирования немеланомного рака кожи и его прогрессии [18].

Установлено вовлечение в патогенез немеланомного рака кожи системы сигнального пути *mTOR* (mammalian target of rapamycin), которая контролирует различные аспекты клеточных функций, включая доступность питательных веществ, метаболизм, рост, пролиферацию. Сигнальный путь *mTOR* представлен в виде двух различных сигнальных комплексов — рапамицинчувствительного *mTOR* комплекса 1 (*mTORC1*) и рапамицинрезистентного комплекса 2 (*mTORC2*), оба из которых имеют важное значение в развитии немеланомного рака кожи в ответ на воздействие УФ-излучения. Активация *mTORC1* имеет причинно-следственную связь с развитием опухоли: в частности, на этапах перехода от нормальных кератиноцитов к предраковым при актиническом кератозе и развитии базально- и плоскоклеточного рака кожи присутствуют более высокие уровни как *mTORC1*, так и *mTORC2* [46–48].

Важное место в патогенезе базальноклеточного рака кожи уделяется нарушению функционирования сигнального пути *Hedgehog*, участвующего в регуляции дифференцировки клеток в эмбрионах, а также стволовых клеток во многих тканях взрослых людей (в 70% случаев базальноклеточного рака кожи выявлены мутации генов трансмембранных белков *PTCH1* и *SMO* сигнального пути *Hedgehog*) [49].

Таким образом, механизм фотоповреждения клетки и последующего канцерогенеза является сложным и многоступенчатым с развитием цепи последовательных реакций, включающих формирование фотопродуктов, реактивных форм кислорода; повреждение геномной ДНК и других клеточных структур; формирование мутаций; нарушение регуляции сигнальных путей, апоптоза; развитие хронического воспаления, вторичной иммуносупрессии.

### Фототерапия у больных псориазом: эффективность и безопасность

Методы фототерапии, обладая доказанной эффективностью, уже более 60 лет успешно применяются в дерматологии. Они включены в российские и международные

рекомендации по лечению больных псориазом. Наиболее эффективным признан метод ПУВА-терапии (от psoralen+ultraviolet A; длинноволновое ультрафиолетовое излучение в диапазоне 320–400 нм с применением фотосенсибилизатора), применяемый для лечения тяжелых форм псориаза. Его применение позволяет достичь терапевтического эффекта у 75–98% больных [50, 51]. Для лечения среднетяжелых форм бляшечного псориаза широко используются методы УФВ и УФВ-311 терапии с эффективностью до 75% [52, 53].

Механизм действия методов фототерапии при псориазе направлен на основные звенья иммунопатогенеза заболевания и заключается в подавлении гиперпролиферации кератиноцитов, индукции апоптоза в кератиноцитах, дендритных клетках, Т-лимфоцитах, ингибировании Th1- и Th17-путей [54]. Однако при длительном многокурсовом применении кумулятивное действие УФ-излучения на кожу вызывает ее хроническое фотоповреждение и может запускать механизмы неопластической трансформации.

Наиболее детально риск развития немеланомного рака кожи изучен при многократном курсовом лечении методом ПУВА-терапии у больных псориазом. По данным масштабного проспективного исследования по изучению отдаленных побочных эффектов ПУВА-терапии, проведенного в США с 1975 по 2002 г., риск развития плоскоклеточного рака кожи у больных, получивших менее 100 процедур ПУВА-терапии или кумулятивную дозу облучения 1000 Дж/см<sup>2</sup>, был в 14 раз ниже, чем у больных, получивших 200 и более процедур с кумулятивной дозой облучения 2000 Дж/см<sup>2</sup> [2]. При дальнейшем динамическом наблюдении за больными псориазом в течение 30 лет (1975–2005 гг.) было установлено, что риск развития плоскоклеточного рака кожи был наибольшим при получении 350 процедур и сохранялся после прекращения лечения [1, 55]. Результаты европейских популяционных исследований по оценке отдаленных побочных эффектов многокурсового применения ПУВА-терапии с периодом наблюдения более 10–15 лет также подтвердили повышение риска злокачественной трансформации [56–58].

В ряде исследований было отмечено, что у больных псориазом, получивших более 100 процедур УФВ/УФВ-311 риск развития злокачественных опухолей кожи увеличивался пропорционально количеству ранее проведенных процедур [59, 60]. Однако результаты системного анализа многокурсового применения средневолнового диапазона широкого и узкого спектров у больных псориазом не подтвердили повышения риска развития немеланомного рака кожи [1]. Данный факт может объясняться относительно небольшими кумулятивными дозами УФВ-излучения, получаемыми больными псориазом, назначением субэритемных доз в соответствии с предварительной оценкой врачом фототипа кожи и стадии ее фотоповреждения.

В настоящее время в медицинской литературе отсутствуют рекомендации о максимально допустимом количестве процедур ПУВА, УФВ и УФВ-311 терапии. Отдельные профессиональные медицинские сообщества рекомендуют установить максимальное количество процедур и суммарную кумулятивную дозу облучения для каждого метода, однако не учитывают другие источники ультрафиолетового излучения, в частности интенсивность и частоту солнечной инсоляции, посещение соляриев, применение других видов фототерапии. Можно предположить, что использование больными псориазом помимо терапевтического воздействия других источни-

ков УФ-излучения может дополнительно влиять на повышение риска развития немеланомного рака кожи.

По данным первого метаанализа по оценке взаимосвязи между клиническими симптомами фотостарения кожи и риском развития базальноклеточного рака кожи было установлено, что наличие актинического кератоза ассоциировано с пятикратным повышением риска базальноклеточного рака кожи. Другие симптомы фотоповреждения, включая солнечный эластоз, солнечное лентиго, телеангиэктазии, также ассоциировались с 1,5-кратным повышением риска базальноклеточного рака кожи [61]. При этом следует отметить, что мутации гена *TP53* у больных с предраковыми состояниями кожи были обнаружены в 80% случаев [8].

### Генетические детерминанты немеланомного рака кожи

В последнее десятилетие были получены многочисленные данные, свидетельствующие о том, что полиморфизмы определенных генов могут модулировать предрасположенность к злокачественным новообразованиям, включая опухоли кожи.

Полиморфные участки в геноме человека, в том числе представляющие собой точечные замены нуклеотидов, могут влиять на особенности функционирования белков, нередко приводя к снижению или потере их функции, а также определять особенности ответа организма на воздействие экзогенных факторов. В настоящее время продолжается изучение генов, полиморфизмы которых могут играть важную роль в возникновении рака кожи у людей, подверженных УФ-облучению.

Одним из важнейших механизмов защиты от злокачественных новообразований кожи является система репарации повреждений ДНК, возникших под воздействием УФ-излучения. Одним из видов является рекомбинантная репарация ДНК, когда ферменты способствуют восстановлению молекулы ДНК путем обмена между участками неповрежденных цепей другой молекулы ДНК. Такой механизм является преимущественным при возникновении двунитевых разрывов, которые являются потенциально летальными повреждениями для клетки [62]. По результатам метаанализа, посвященного оценке взаимосвязи риска немеланомного рака кожи и полиморфизмов гена гомологичной рекомбинантной репарации ДНК *XRCC3*, участвующего в восстановлении хромосомной фрагментации, транслокации и делеции двухнитевой ДНК, было установлено, что полиморфизм *C18067T* гена *XRCC3* был ассоциирован со снижением риска как базальноклеточного, так и плоскоклеточного рака кожи [63].

Известна роль генов, кодирующих цвет кожи и волос в развитии предрасположенности к раку кожи. Одним из основных генов, определяющих пигмент кожи человека и цвет волос, является ген рецептора к меланокортину-1 (*MC1R*). По результатам полногеномного секвенирования 2045 больных базальноклеточным раком кожи и 6013 здоровых лиц европеоидной расы было установлено, что полиморфизм гена *MC1R* (*rs1805007*) (*Arg151Cys*) в значительной степени ассоциирован с повышением риска базальноклеточного рака кожи (отношение шансов 1,55; 95% доверительный интервал 1,45–1,66) [64]. Кроме того, были установлены новые локусы генов, также участвующих в образовании пигмента, ассоциированные с повышением риска плоскоклеточного рака кожи, в частности полиморфизм *rs12210050* гена *EXOC2* хромосомы 6p25

и полиморфизм *rs7335046* гена *UBAC2* хромосомы 13q32 (ОШ 1,37 и 1,35; 95% ДИ 1,12–1,68 и 1,16–1,57 соответственно) [64].

В последние годы большее количество исследований посвящено роли теломер и фермента теломеразы в клеточном цикле и процессах опухолевой трансформации клетки. Главная роль теломер в клетке связана с их участием в процессе клеточного деления. Деление клетки сопровождается укорочением теломер. Восстановление теломер осуществляет фермент теломеразы, способный достраивать теломеры. Он активен в стволовых и половых клетках, где благодаря этому механизму хромосомная ДНК и связанные с ней гены защищены от повреждения во время деления клетки [65]. В соматических клетках теломеразы неактивна. При этом известно, что повышение теломеразной активности ассоциировано с большинством злокачественных опухолей человека. Кодирует фермент теломеразы ген *TERT-CLPTMIL*. Проведенный метаанализ 4 исследований «случай-контроль» по оценке риска немеланомного рака кожи с полиморфизмами гена *TERT-CLPTMIL* с участием 5469 больных и 39 715 здоровых лиц показал, что полиморфизм гена *TERT-CLPTMIL rs401681 (C>T)* хромосомы 5p15.33 значительно ассоциирован с риском базальноклеточного рака кожи (95% ДИ 1,07–1,20). Полученные результаты позволяют рассматривать данный ген в качестве гена-кандидата, ассоциированного с риском развития базальноклеточного рака кожи [66].

Патогенез хронического фотоповреждения кожи характеризуется развитием хронического воспаления, иммуносупрессией. С учетом патогенетической роли УФ-индуцированной иммуносупрессии в развитии немеланомного рака кожи сегодня рассматривается роль генов цитокинов в предрасположенности к раку кожи. Были исследованы полиморфизмы 10 генов цитокинов (*IL10, IL4, IL4R, TNF, TNFR2, HTR2A, HRH2, IL12B, PTGS2, HAL*). Установлена ассоциация двух гаплотипов гена *IL10 GC* с повышением риска базальноклеточного и плоскоклеточного рака кожи, причем у женщин эти ассоциации оказались выше (ОШ 1,5; 95% ДИ 1,1–1,9). При комплексной оценке факторов риска было установлено, что риск немеланомного рака кожи у женщин дополнительно ассоциирован с типом кожи, ожогами [67]. Эти данные могут свидетельствовать о разнице в генетической предрасположенности к УФ-индуцированной иммуносупрессии и риску рака кожи в зависимости от пола.

В настоящее время наиболее перспективным представляется изучение полиморфизмов гена рецептора витамина D (vitamin D receptor, VDR) как возможных предикторов риска развития немеланомных опухолей кожи. Предполагается, что восприимчивость человека к раку кожи может определяться способностью связывания витамина D с его рецептором [68]. Известно, что витамин D играет ключевую роль в различных процессах, включая регуляцию иммунной системы, синтез гормонов, обмен кальция и фосфора. Рецептор витамина D широко представлен в организме, причем не только в классических органах-мишенях, таких как кишечник, почки и кости, но и в мозге, сердце, эндотелии сосудов, гладкомышечных клетках, поджелудочной, предстательной и парашитовидной железах, коже и других органах. Широкое распространение рецептора витамина D в тканях предполагает, что данная система помимо кальциевого гомеостаза имеет дополнительные физиологические функции. Витамин D3 прямо или опосредованно контролирует работу более чем 200 генов, тормозит пролиферацию кератиноцитов

кожи, активирует их дифференцировку, регулирует апоптоз и ангиогенез [69].

Предполагается, что витамин D оказывает протективное действие при помощи неизвестного механизма передачи сигналов с участием рецептора витамина D при некоторых заболеваниях и видах рака, включая рак кожи.

Витамин D является прогормоном и синтезируется в коже под влиянием ультрафиолетового излучения спектра В [70]. Известны две основные формы витамина D — животного (холекальциферол D3 из холестерина) и растительного (эргокальциферол D2 из эргостерола) происхождения [71]. При этом около 90% данного витамина синтезируется под влиянием УФВ-излучения, 10% поступает с пищей. Основная роль в синтезе витамина D в коже принадлежит излучению диапазона УФВ с длиной волны 280–320 нм и пиком синтеза 295–297 нм [72]. В результате воздействия солнечного света содержащееся в эпидермисе неактивное соединение 7-дегидрохолестерин подвергается преобразованию в провитамин D3, который подвергается изомеризации, затем трансформируется в витамин D3 (холекальциферол). Холекальциферол метаболизируется в печени до 25(OH)D3 (25-гидроксихолекальциферол), а затем в почках в активную форму 1,25(OH)2D3 (1,25-дигидроксихолекальциферол) [72]. Воздействие УФ-излучения на 15% открытой поверхности кожи приводит к образованию витамина D, покрывающего ~90% суточной потребности, при этом чрезмерное пребывание на солнце в дальнейшем не вызывает увеличения его количества в организме, так как избыток разлагается в коже под воздействием света. Этот своеобразный механизм защищает организм от передозировки [73]. Ультрафиолетовое излучение средневолнового диапазона солнечного света признается основным этиологическим фактором опухолей кожи, при этом тот же УФВ-диапазон является основным источником синтеза витамина D в коже [16, 70]. Этот парадокс стал предметом противоречивых выводов в литературе в отношении дозы солнечного облучения, необходимого для соответствующего производства витамина D, эффективности перорального применения витамина D для профилактики заболеваний. Также было высказано предположение, что выработка эндогенного витамина D после первоначального воздействия УФВ-излучения приводит к фотоадаптивному эффекту [73].

По данным метаанализа, проведенного в 2014 г., в европейской популяции установлена значимая ассоциация наличия полиморфизма *FokI* гена рецептора витамина D (*VDR*) и повышения риска развития немеланомного рака кожи: *Ff* и *FF* (ОШ 1,20; 95% ДИ 1,01–1,44); *ff* и *FF* (ОШ 1,41; 95% ДИ 1,08–1,84); *Ff+ff* и *FF* (ОШ 1,26; 95% ДИ 1,04–1,53).

Полиморфизм *TaqI* гена *VDR* также ассоциирован с повышением риска немеланомного рака кожи: *Tt* и *TT* (ОШ 1,88; 95% ДИ 1,29–2,74); *tt* и *TT* (ОШ 2,00; 95% ДИ 1,22–3,28); *Tt+tt* и *TT* (ОШ 1,92; 95% ДИ 1,35–2,73).

Была установлена ассоциация между полиморфизмами *ApaI* гена *VDR* и повышением риска немеланомного рака кожи: *Aa* и *AA* (ОШ 1,27; 95% ДИ 1,05–1,53); *Aa+aa* и *AA* (ОШ 1,23; 95% ДИ 1,04–1,47); *Aa* и *AA* (ОШ 1,72; 95% ДИ 1,51–2,57); *Aa+aa* и *AA* (ОШ 1,50; 95% ДИ 1,03–2,17) [74].

В другом метаанализе 4 исследований полиморфизмов гена рецептора витамина D (*VDR*), проведенных среди белого населения Европы и США, также было установлено значительное повышение риска рака кожи (меланомного и немеланомного патогенеза) у носителей полиморфизма *FokI ff* (ОШ 1,30; 95% ДИ 1,04–1,61) [75].

По результатам масштабного метаанализа риска злокачественных опухолей разных локализаций (73 исследования; 45 218 больных раком разной локализации и 52 057 здоровых лиц) было установлено снижение риска рака любой локализации на 6–7% у носителей аллеля *B* генотипа *Bb Bsm1* (ОШ 0,94; 95% ДИ 0,90–0,99) и генотипа *BB Bsm1* гена *VDR* (ОШ 0,93; 95% ДИ 0,89–0,98). Для рака кожи значительное снижение риска было установлено у носителей гетерозиготного *Bb*-генотипа (ОШ 0,86; 95% ДИ 0,76–0,98). При идентификации в разных этнических группах отмечалось значительное снижение риска рака кожи у носителей *Bb*- и *BB*-генотипа по сравнению с *bb*-генотипом (т.е. не имеющими аллель *B*) соответственно. Таким образом, *B*-аллель *Bsm1* гена рецептора витамина *D* может рассматриваться в качестве протективного маркера риска развития рака кожи [76].

В немецкой популяции при оценке частоты встречаемости полиморфизмов генов рецептора витамина *D* (*Apa1*, *Taq1*, *Bsm1*) у 90 больных с базальноклеточным раком кожи, 100 больных с плоскоклеточным раком кожи и 51 здорового лица было установлено, что генотип *TTbb Taq1* преобладал у здоровых лиц (20%), что может свидетельствовать о протективной роли данного генотипа при оценке риска немеланомного рака кожи. При этом генотип *TTbb Taq1* был ассоциирован с риском базальноклеточного рака кожи в 21% случаев и плоскоклеточного рака кожи в 17% по сравнению с контролем (8,0%) [77].

По данным другого метаанализа, включавшего 286 случаев базальноклеточного рака кожи и 161 случай плоскоклеточного рака кожи, было установлено, что полиморфизмы гена *VDR rs2228570* и *rs927650* были достоверно ассоциированы со снижением риска плоскоклеточного рака кожи, а полиморфизмы *rs7975232 (Apa1)*, *rs1544410*, *rs739837* данного гена — со снижением риска базальноклеточного рака кожи [78].

Фолиевая кислота — водорастворимый витамин *B9*, производными которого являются фолаты. Известно, что метаболизм фолатов вовлечен в синтез и репарацию ДНК. В данном контексте интересными являются результаты польского популяционного исследования, где изучалась ассоциация риска немеланомного рака кожи с полиморфизмами гена рецептора витамина *D* и гена метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*), кодирующего синтез фолатов. Установлено, что наличие генотипа *TT* полиморфизма *FokI* гена рецептора витамина *D* привело к 10-кратному повышению риска развития базальноклеточного рака кожи, а наличие генотипа *CT 677C/T MTHFR CC* и *1286A/C MTHFR* значительно увеличивало риск развития плоскоклеточного рака кожи [79].

### Заключение

Таким образом, проведенный анализ результатов научных исследований позволил обобщить современные данные, демонстрирующие ассоциации полиморфных вариантов отдельных генов, значимо влияющих на риск плоскоклеточного и базальноклеточного рака кожи.

Установлена достаточно широкая ассоциация различных генотипов с риском немеланомного рака кожи, но не хватает данных, которые позволили бы утверждать о преобладающей роли того или иного полиморфизма в риске канцерогенеза кожи. В настоящее время наибольший интерес представляют полученные данные о роли гена рецептора витамина *D* в оценке риска базально- и плоскоклеточного рака кожи.

Следует также отметить неоднозначность данных оценки мутагенного действия разных спектральных диапазонов естественных и искусственных источников УФ-излучения. При терапевтическом воздействии ПУВА-терапии фактором, потенцирующим канцерогенный риск, можно признать использование фотосенсибилизатора. Терапевтическое использование искусственных источников УФВ-диапазона можно оценить как более безопасное, что, возможно, объясняется особенностями спектральных характеристик ламповых источников, назначением субэритемных доз большим, дозированной интенсивностью и частотой воздействия на кожу, оценкой степени фотоповреждения кожи, возможным фотоадаптивным эффектом перед естественной инсоляцией.

Представленные в статье данные дают основание считать перспективным проведение дальнейших исследований по определению генетических предикторов немеланомного рака кожи и использованию индивидуализированного подхода к безопасному назначению методов фототерапии у больных псориазом и оптимизации режима солнечной инсоляции среди населения.

### Источник финансирования

Поисково-аналитическая работа и подготовка статьи осуществлены на личные средства авторского коллектива.

### Участие авторов

Жилова М.Б. — концепция, дизайн исследования, сбор и обработка материала, участие в написании текста, оплата за обработку, рассмотрение и рецензирование рукописи в журнале, редактирование рукописи перед отправкой в редакцию и после замечаний рецензентов; Бутарева М.М. — сбор и обработка материала, участие в написании статьи, оплата за обработку, рассмотрение и рецензирование рукописи в журнале, редактирование чернового варианта рукописи. Оба автора внесли существенный вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

### Конфликт интересов

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

### ЛИТЕРАТУРА

1. Archier E, Devaux S, Castela E, et al. Carcinogenic risks of psoralen UV-A therapy and narrowband UV-B therapy in chronic plaque psoriasis: a systematic literature review. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2012;26 Suppl 3:22–31. doi: 10.1111/j.1468-3083.2012.04520.x.
2. Stern RS, Lunder EJ. Risk of squamous cell carcinoma and methoxsalen (psoralen) and UV-A radiation (PUVA). A meta-analysis. *Arch Dermatol.* 1998;134(12):1582–1585. doi: 10.1001/archderm.134.12.1582.

3. Patel RV, Clark LN, Lebwohl M, Weinberg JM. Treatments for psoriasis and the risk of malignancy. *J Am Acad Dermatol*. 2009;60(6):1001–1017. doi: 10.1016/j.jaad.2008.12.031.
4. Feehan RP, Shantz LM. Molecular signaling cascades involved in nonmelanoma skin carcinogenesis. *Biochem J*. 2016;473(19):2973–2994. doi: 10.1042/BCJ20160471.
5. Xiang F, Lucas R, Hales S, Neale R. Incidence of nonmelanoma skin cancer in relation to ambient UV radiation in white populations, 1978–2012: empirical relationships. *JAMA Dermatol*. 2014;150(10):1063–1071. doi: 10.1001/jamadermatol.2014.762.
6. Armstrong BK, Krickler A. The epidemiology of UV induced skin cancer. *J Photochem Photobiol B*. 2001;63(1–3):8–18. doi: 10.1016/S1011-1344(01)00198-1.
7. D’Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *Int J Mol Sci*. 2013;14(6):12222–12248. doi: 10.3390/ijms140612222.
8. Reichrath J, Rass K. Ultraviolet damage, DNA repair and vitamin D in nonmelanoma skin cancer and in malignant melanoma: an update. *Adv Exp Med Biol*. 2014;810:208–233. doi: 10.1007/978-1-4939-0437-2\_12.
9. Katalinic A, Kunze U, Schäfer T. Epidemiology of cutaneous melanoma and non-melanoma skin cancer in Schleswig-Holstein, Germany: incidence, clinical subtypes, tumour stages and localization (epidemiology of skin cancer). *Br J Dermatol*. 2003;149(6):1200–1206. doi: 10.1111/j.1365-2133.2003.05554.x.
10. Bichakjian CK, Olencki T, Aasi SZ, et al. Basal cell skin cancer version 1.2016: Clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2016;14(5):574–597. doi: 10.6004/jncn.2016.0065.
11. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность)*. — М.; 2017. — 250 с. [Kaprin AD, Starinskii VV, Petrova GV. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2015 godu (zabolevaemost' i smertnost')*. Moscow; 2017. 250 p. (In Russ).]
12. Wadhwa A, Fazio M, Bricca G, Stanton O. Metastatic basal cell carcinoma: a case report and literature review. How accurate is our incidence data? *Dermatol Online J*. 2006;12(5):7.
13. Leiter U, Garbe C. Epidemiology of melanoma and nonmelanoma skin cancer — the role of sunlight. *Adv Exp Med Biol*. 2008;624:89–103. doi: 10.1007/978-0-387-77574-6\_8.
14. Madan V, Lear JT, Szeimies RM. Non-melanoma skin cancer. *Lancet*. 2010;375(9715):673–685. doi: 10.1016/S0140-6736(09)61196-X.
15. Christenson LJ, Borrowman TA, Vachon CM, et al. Incidence of basal cell and squamous cell carcinomas in a population younger than 40 years. *JAMA*. 2005;294(6):681–690. doi: 10.1001/jama.294.6.681.
16. Bowden GT. Prevention of non-melanoma skin cancer by targeting ultraviolet-B-light signalling. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(1):23–35. doi: 10.1038/nrc1253.
17. Courdavault S, Baudouin C, Charveron M, et al. Repair of the three main types of bipyrimidine DNA photoproducts in human keratinocytes exposed to UVB and UVA radiations. *DNA Repair (Amst)*. 2005;4(7):836–844. doi: 10.1016/j.dnarep.2005.05.001.
18. Kim RH, Armstrong AW. Nonmelanoma skin cancer. *Dermatol Clin*. 2012;30(1):125–139. doi: 10.1016/j.det.2011.08.008.
19. You YH, Lee DH, Yoon, JH, et al. Cyclobutane pyrimidine dimers are responsible for the vast majority of mutations induced by UVB irradiation in mammalian cells. *J Biol Chem*. 2001;276(48):44688–44694. doi: 10.1074/jbc.M107696200.
20. Beani JC. [Ultraviolet A-induced DNA damage: role in skin cancer. (In French).] *Bull Acad Natl Med*. 2014;198(2):273–295.
21. Banerjee G, Gupta N, Tiwari J, Raman G. Ultraviolet-induced transformation of keratinocytes: possible involvement of long interspersed element-1 reverse transcriptase. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2005;21(1):32–39. doi: 10.1111/j.1600-0781.2005.00136.x.
22. Bowden NA, Ashton KA, Avery-Kieja KA, et al. Nucleotide excision repair gene expression after Cisplatin treatment in melanoma. *Cancer Res*. 2010;70(20):7918–7926. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0161.
23. Aragane Y, Kulms D, Metzke D, et al. Ultraviolet light induces apoptosis via direct activation of CD95 (Fas/APO-1) independently of its ligand CD95L. *J Cell Biol*. 1998;140(1):171–182. doi: 10.1083/jcb.140.1.171.
24. Brugarolas J, Chandrasekaran C, Gordon JI, et al. Radiation-induced cell cycle arrest compromised by p21 deficiency. *Nature*. 1995;377(6549):552–557. doi: 10.1038/377552a0.
25. Kamijo T, Weber J, Zambetti G, et al. Functional and physical interactions of the ARF tumor suppressor with p53 and Mdm2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(14):8292–8297. doi: 10.1073/pnas.95.14.8292.
26. Setlow RB. DNA repair, ageing, and cancer. *Natl Cancer Inst Monogr*. 1982;60:249–255.
27. Sinha RP, Häder DP. UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochem Photobiol Sci*. 2002;1(4):225–236. doi: 10.1039/b201230h.
28. Lane D. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature*. 1992;358(6381):15–16. doi: 10.1038/358015a0.
29. Ziegler A, Jonason AS, Leffell DJ, et al. Sunburn and p53 in the onset of skin cancer. *Nature*. 1994;372(6508):773–776. doi: 10.1038/372773a0.
30. Chaturvedi V, Qin JZ, Stennett L, et al. Resistance to UV induced apoptosis in human keratinocytes during accelerated senescence is associated with functional inactivation of p53. *J Cell Physiol*. 2004;198(1):100–109. doi: 10.1002/jcp.10392.
31. Leffell DJ. The scientific basis of skin cancer. *J Am Acad Dermatol*. 2000;42(1 Pt 2):18–22. doi: 10.1067/mjd.2000.103340.
32. Ibbotson SH, Bilsland D, Cox NH, et al. An update and guidance on narrowband ultraviolet B phototherapy: a British Photodermatology Group Workshop Report. *Br J Dermatol*. 2004;151(2):283–297. doi: 10.1111/j.1365-2133.2004.06128.x.
33. Ramos J, Villa J, Ruiz A, et al. UV dose determines key characteristics of nonmelanoma skin cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004;13(12):2006–2011.
34. Rütger TM. How different wavelengths of the ultraviolet spectrum contribute to skin carcinogenesis: the role of cellular damage responses. *J Invest Dermatol*. 2007;127(9):2103–2105. doi: 10.1038/sj.jid.5700988.
35. Ananthaswamy HN, Pierceall WE. Molecular mechanisms of ultraviolet radiation carcinogenesis. *Photochem Photobiol*. 1990;52(6):1119–1136. doi: 10.1111/j.1751-1097.1990.tb08452.x.
36. Nishigori C. Current concept of photocarcinogenesis. *Photochem Photobiol Sci*. 2015;14(9):1713–1721. doi: 10.1039/c5pp00185d.
37. Strozzyk E, Kulms D. The role of AKT/mTOR pathway in stress response to UV-irradiation: implication in skin carcinogenesis by regulation of apoptosis, autophagy and senescence. *Int J Mol Sci*. 2013;14(8):15260–15285. doi: 10.3390/ijms140815260.
38. Bruls WA, Slaper H, van der Leun JC, Berrens L. Transmission of human epidermis and stratum corneum as a function of thickness in the ultraviolet and visible wavelengths. *Photochem Photobiol*. 1984;40(4):485–494. doi: 10.1111/j.1751-1097.1984.tb04622.x.
39. Shinozaki T, Nota A, Taya Y, Okamoto K. Functional role of Mdm2 phosphorylation by ATR in attenuation of p53 nuclear export. *Oncogene*. 2003;22(55):8870–8880. doi: 10.1038/sj.onc.1207176.
40. Stokes MP, Rush J, Macneill J, et al. Profiling of UV-induced ATM/ATR signaling pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(50):19855–19860. doi: 10.1073/pnas.0707579104.
41. Kim C, Pasparakis M. Epidermal p65/NF-κB signalling is essential for skin carcinogenesis. *EMBO Mol Med*. 2014;6(7):970–983. doi: 10.15252/emmm.201303541.
42. Leverkus M, Diessenbacher P, Geserick P. FLIP ing the coin? Death receptor-mediated signals during skin tumorigenesis. *Exp Dermatol*. 2008;17(7):614–622. doi: 10.1111/j.1600-0625.2008.00728.x.
43. Gaffney DC, Soyer HP, Simpson F. The epidermal growth factor receptor in squamous cell carcinoma: an emerging drug target. *Australas J Dermatol*. 2014;55(1):24–34. doi: 10.1111/ajd.12025.
44. Rodust PM, Stockfleth E, Ulrich C, et al. UV-induced squamous cell carcinoma — a role for antiapoptotic signalling pathways. *Br J Dermatol*. 2009;161 Suppl 3:107–115. doi: 10.1111/j.1365-2133.2009.09458.x.
45. Coffey PJ, Burgering BM, Peppelenbosch MP, et al. UV activation of receptor tyrosine kinase activity. *Oncogene*. 1995;11(3):561–569.
46. Einspahr JG, Calvert V, Alberts DS, et al. Functional protein pathway activation mapping of the progression of normal skin to squa-

- mous cell carcinoma. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2012;5(3):403–413. doi: 10.1158/1940-6207.
47. Populo H, Lopes JM, Soares P. The mTOR signalling pathway in human cancer. *Int J Mol Sci*. 2012;13(2):1886–1918. doi: 10.3390/ijms13021886.
  48. Albanell J, Dalmases A, Rovira A, Rojo F. mTOR signalling in human cancer. *Clin Transl Oncol*. 2007;9(8):484–493. doi: 10.1007/s12094-007-0092-6.
  49. Marini KD, Payne BJ, Watkins DN, Martelletto LG. Mechanisms of Hedgehog signaling in cancer. *Growth Factors*. 2011;29(6):221–234. doi: 10.3109/08977194.2011.610756.
  50. Duarte I, Cunha J, Bedrikow RB, Lazzarini R. What is the most common phototherapy prescription for psoriasis: NB-UVB or PUVA? Prescription behavior. *An Bras Dermatol*. 2009;84(3):244–248. doi: 10.1590/s0365-05962009000300005.
  51. Lapolla W, Yentzer BA, Bagel J, et al. A review of phototherapy protocols for psoriasis treatment. *J Am Acad Dermatol*. 2011;64(5):936–949. doi: 10.1016/j.jaad.2009.12.054.
  52. Spuls PI, Witkamp L, Bossuyt P, Bos JD. A systematic review of five systemic treatments for severe psoriasis. *Br J Dermatol*. 1997;137(6):943–949. doi: 10.1046/j.1365-2133.1997.19902071.x.
  53. Almutawa F, Alnomair N, Wang Y, et al. Systematic review of UV-based therapy for psoriasis. *Am J Clin Dermatol*. 2013;14(2):87–109. doi: 10.1007/s40257-013-0015-y.
  54. Racz E, Prens EP. Phototherapy and photochemotherapy for psoriasis. *Dermatol Clin*. 2015;33(1):79–89. doi: 10.1016/j.det.2014.09.007.
  55. Stern RS; PUVA Follow-Up Study. The risk of squamous cell and basal cell cancer associated with psoralen and ultraviolet A therapy: a 30-year prospective study. *J Am Acad Dermatol*. 2012;66(4):553–562. doi: 10.1016/j.jaad.2011.04.004.
  56. McKenna KE, Patterson CC, Handley J, et al. Cutaneous neoplasia following PUVA therapy for psoriasis. *Br J Dermatol*. 1996;134(4):639–642. doi: 10.1111/j.1365-2133.1996.tb06962.x.
  57. Abdullah AN, Keczekes K. Cutaneous and ocular side-effects of PUVA photochemotherapy — a 10-year follow-up study. *Clin Exp Dermatol*. 1989;14(6):421–424. doi: 10.1111/j.1365-2230.1989.tb02602.x.
  58. Maier H, Schemper M, Ortel B, et al. Skin tumors in photochemotherapy for psoriasis: a single-center follow-up of 496 patients. *Dermatology*. 1996;193(3):185–191. doi: 10.1159/000246243.
  59. Osmancevic A, Gillstedt M, Wennberg AM, Larkö O. The risk of skin cancer in psoriasis patients treated with UVB therapy. *Acta Derm Venereol*. 2014;94(4):425–430. doi: 10.2340/00015555-1753.
  60. Maiorino A, De Simone C, Perino F, et al. Melanoma and non-melanoma skin cancer in psoriatic patients treated with high-dose phototherapy. *J Dermatolog Treat*. 2016;27(5):443–447. doi: 10.3109/09546634.2015.1133882.
  61. Khalesi M, Whiteman DC, Doi SA, et al. Cutaneous markers of photodamage and risk of Basal cell carcinoma of the skin: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013;22(9):1483–1489. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0424.
  62. Кипень В.Н., Мельнов С.Б., Смолякова Р.М. Роль генов XRCC1, XRCC3 и PALB2 в генезе спорадических форм рака молочной железы // *Экологическая генетика*. — 2015. — Т.13. — №4 — С. 91–98. [Kipen VN, Melnov SB, Smolyakova RM. The role of XRCC1, XRCC3 and PALB2 genes in the genesis of breast cancer. *Ecological genetics*. 2015;13(4):91–98. (In Russ.)]
  63. Chen X, Wang Z, Yan Y, et al. XRCC3 C18067T polymorphism contributes a decreased risk to both basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma: evidence from a meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(1):e84195. doi: 10.1371/journal.pone.0084195.
  64. Nan H, Xu M, Kraft P, et al. Genome-wide association study identifies novel alleles associated with risk of cutaneous basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma. *Hum Mol Genet*. 2011;20(18):3718–3724. doi: 10.1093/hmg/ddr287.
  65. Карпова Н.С., Абдулкадыров К.М., Селиванов Е.А., Балашова В.А. Современные представления о роли теломер и теломеразы в патогенезе гематологических и онкологических заболеваний // *Medline.ru. Российский биомедицинский журнал*. — 2012. — Т.13. — №1 — С. 38–57. [Karpova NS, Abdulkadyrov KM, Selivanov EA, Balashova VA. The modern conception of the proper role of telomeres and telomerase in pathogenesis of hematologic and oncology diseases. *Medline.ru. Rossiiskii biomeditsinskii zhurnal*. 2012;13(1):38–57. (In Russ.)]
  66. Yang X, Yang B, Li B, Liu Y. Association between TERT-CLPTM1L rs401681[C] allele and NMSC cancer risk: a meta-analysis including 45,184 subjects. *Arch Dermatol Res*. 2013;305(1):49–52. doi: 10.1007/s00403-012-1275-8.
  67. Welsh MM, Karagas MR, Kuriger JK, et al. Genetic determinants of UV-susceptibility in non-melanoma skin cancer. *PLoS One*. 2011;6(7):e20019. doi: 10.1371/journal.pone.0020019.
  68. Burns EM, Elmetts CA, Yusuf N. Vitamin D and skin cancer. *Photochem Photobiol*. 2015;91(1):201–209. doi: 10.1111/php.12382.
  69. Holick MF, Chen TC, Lu Z, Sauter E. Vitamin D and skin physiology: a D-lightful story. *J Bone Miner Res*. 2007;22 Suppl 2:V28–33. doi: 10.1359/jbmr.07s211.
  70. Walters MR. Newly identified actions of the vitamin D endocrine system. *Endocr Rev*. 1992;13(4):719–764. doi: 10.1210/edrv-13-4-719.
  71. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(6 Suppl):1689S–1696S. doi: 10.1093/ajcn/80.6.1689S.
  72. Haussler MR, Whitfield GK, Kaneko I, et al. Molecular mechanisms of vitamin D action. *Calcif Tissue Int*. 2013;92(2):77–98. doi: 10.1007/s00223-012-9619-0.
  73. Battault S, Whiting SJ, Peltier SL, et al. Vitamin D metabolism functions and needs: from science to health claims. *Eur J Nutr*. 2013;52(2):429–441. doi: 10.1007/s00394-012-0430-5.
  74. Zhao XZ, Yang BH, Yu GH, et al. Polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) genes and skin cancer risk in European population: a meta-analysis. *Arch Dermatol Res*. 2014;306(6):545–553. doi: 10.1007/s00403-014-1464-8.
  75. Raimondi S, Johansson H, Maisonneuve P, Gandini S. Review and meta-analysis on vitamin D receptor polymorphisms and cancer risk. *Carcinogenesis*. 2009;30(7):1170–1180. doi: 10.1093/carcin/bgp103.
  76. Raimondi S, Pasquali E, Gnagnarella P, et al. BsmI polymorphism of vitamin D receptor gene and cancer risk: a comprehensive meta-analysis. *Mutat Res*. 2014;769:17–34. doi: 10.1016/j.mrfmm.2014.06.001.
  77. Köstner K, Denzer N, Koreng M, et al. Association of genetic variants of the vitamin D receptor (VDR) with cutaneous squamous cell carcinomas (SCC) and basal cell carcinomas (BCC): a pilot study in a German population. *Anticancer Res*. 2012;32(1):327–333.
  78. Von Schuckmann LA, Law MH, Montgomery GW, et al. Vitamin D pathway gene polymorphisms and keratinocyte cancers: a nested case-control study and meta-analysis. *Anticancer Res*. 2016;36(5):2145–2152.
  79. Lesiak A, Norval M, Wodz-Naskiewicz K, et al. An enhanced risk of basal cell carcinoma is associated with particular polymorphisms in the VDR and MTHFR genes. *Exp Dermatol*. 2011;20(10):800–804. doi: 10.1111/j.1600-0625.2011.01328.x.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

\* **Жилова Марьянна Борисовна**, д.м.н. [*Marianna B. Zhilova*, MD, PhD];  
**адрес:** 107076, Москва, ул. Короленко, д. 3 стр. 6 [address: 3 bld. 6 Korolenko street, 107076 Moscow, Russia];  
**тел.:** +7 (495) 785-20-47; **e-mail:** zhilova2@mail.ru; **SPIN-код:** 8930-4073, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-2545-2129>

**Бутарева Мария Михайловна**, д.м.н. [*Maria M. Butareva*, MD, PhD];  
**e-mail:** butareva@cnikvi.ru, **SPIN-код:** 8092-5896, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-1521-1989>

О.С. Кобякова<sup>1</sup>, И.А. Деев<sup>1</sup>, Е.С. Куликов<sup>1</sup>, Р.И. Штых<sup>1</sup>, И.Д. Пименов<sup>1</sup>,  
О.И. Звонарёва<sup>1</sup>, И.В. Мареев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

<sup>2</sup> Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук,  
Томск, Российская Федерация

## Клинические исследования: что, где, когда?

На сегодняшний день рандомизированные клинические исследования являются ключевым этапом разработки новых лекарственных средств. Несмотря на огромный масштаб выполняемых исследований, осведомленность о данной области в целом остается низкой, а в обществе сформирован ряд стереотипов и заблуждений об их проведении. Данный обзор отечественных и зарубежных работ представляет уровень осведомленности о клинических исследованиях в разных странах в целом, а также среди пациентов и практикующих врачей в частности. По данным опроса зарубежных респондентов, только 20–30% из них слышали что-либо о медицинских исследованиях, при этом более полными знаниями обладает сравнительно небольшой процент опрошенных. Среди врачей только каждый пятый достаточно осведомлен о научных исследованиях, при этом, по разным данным, около половины опрошенных в полной мере понимают их важность как источника надежных знаний для клинической практики и имеют представление, что такое доказательная медицина.

**Ключевые слова:** осведомленность, клинические исследования, доказательная медицина.

(Для цитирования: Кобякова О.С., Деев И.А., Куликов Е.С., Штых Р.И., Пименов И.Д., Звонарёва О.И., Мареев И.В. Клинические исследования: что, где, когда? Вестник РАМН. 2018;73(5):314–320. doi: 10.15690/vramn948)

314

### Введение

На сегодняшний день рандомизированные клинические исследования (КИ) являются ключевым этапом разработки новых лекарственных средств и представляют собой инструмент вывода новейших эффективных и безопасных медицинских препаратов на рынок. В этой связи каждый год наблюдается увеличение числа КИ, а также растет количество участников исследований. Например, каждый пятый житель Великобритании, у которого диагностировано онкологическое заболевание, принимал участие в КИ [1]. В Российской Федерации только в первом квартале 2017 г. Министерством здравоохранения было выдано 178 разрешений на все виды КИ [2]. В целом за период с 2005 по 2013 г. в мире зарегистрировано более 173 тыс. КИ, для которых средний размер выборки составил 74 участника, таким образом общее количество участников составило более 12 млн человек, что сопоставимо с населением Чешской Республики, Кубы или Греции [3].

Несмотря на подобный масштаб проводимых исследований, осведомленность пациентов и общества в целом о проведении КИ остается на низком уровне. Например, 43% онкологических больных готовы принять участие в исследовании, но только 16% знают о существующей возможности получать лечение новейшими препаратами в рамках клинических исследований [4]. Хотя далеко не всегда исследования завершаются успехом (а значит, пациенты не получают прямой выгоды от КИ), но тем не менее участники имеют возможность не только пройти дополнительные обследования, не всегда доступные в рамках рутинной практики, но также находиться под постоянным наблюдением медицинских работников. В этой связи необходимо информировать потенциальных участников и общество о принципах проведения КИ, а также предоставлять информацию о планируемых исследованиях. По данным многоцентровой работы, проведенной в России в 2016 г., существуют три основных источника информации о КИ для возможных участников:

O.S. Kobyakova<sup>1</sup>, I.A. Deev<sup>1</sup>, E.S. Kulikov<sup>1</sup>, R.I. Shtykh<sup>1</sup>,  
I.D. Pimenov<sup>1</sup>, O.I. Zvonareva<sup>1</sup>, I.V. Mareev<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

### Clinical Trials: What, Where, When?

Currently randomized clinical trials (RCTs) are a key stage in the development of new drugs. Despite the huge scale of the CT market, general awareness of the issue remains low and the society has formed a number of stereotypes and misconceptions about CTs. The presented review of Russian and foreign studies provides the information on the level of general awareness of clinical research in different countries, as well as among patients and practitioners. The conducted literature analysis demonstrates that awareness of clinical trials remains low both in society at large and among patients or in the professional community of practitioners. According to foreign studies, only 20–30% of respondents have heard anything about medical research while a relatively small percentage of respondents have more complete knowledge of RCTs. Among practitioners, only one in five is sufficiently informed about CTs while, according to different data, only about half fully realize what evidence-based medicine is and understand the importance of CTs as a source of reliable knowledge in everyday practice.

**Key words:** awareness, clinical trials, evidence-based medicine.

(For citation: Kobyakova OS, Deev IA, Kulikov ES, Shtykh RI, Pimenov ID, Zvonareva OI, Mareev IV. Clinical Trials: What, Where, When? Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2018;73(5):314–320. doi: 10.15690/vramn948)

в первую очередь, это лечащий врач; сравнительно реже узнают о проводимых исследованиях от знакомых [5]; кроме того, поделиться опытом участия могут пациенты, которые уже получали лечение в рамках исследования. Однако и лечащие врачи, и общество в целом плохо осведомлены о проводимых исследованиях, что сказывается на информированности потенциальных участников. Низкая осведомленность врачей приводит к тому, что человек, включенный в исследование, не может обсудить свое участие с третьей (незаинтересованной) стороной, доктора при этом не могут адекватно оценить возможные риски и пользу от участия, а после завершения исследования — его отдаленные эффекты. Низкая осведомленность общества и пациентов имеет другие последствия: например, как было указано выше, иногда участие в КИ является для пациента последним шансом на получение современного лечения. Кроме того, при проведении исследований не всегда удается достичь ориентированности на участников, что в конечном итоге приводит к неполному соответствию выпускаемого препарата потребностям пациентов.

В данный обзор включены отечественные и зарубежные исследования, посвященные уровню осведомленности общества в целом, а также пациентов и практикующих врачей разных стран о клинических исследованиях.

Поиск литературы проводился в базах данных PubMed и eLIBRARY с использованием поисковой системы Google Scholar. Авторы использовали следующие запросы: осведомленность о клинических исследованиях, восприятие клинических исследований, отношение к клиническим исследованиям.

### Осведомленность общества

Лица, не имеющие каких-либо хронических заболеваний, реже всего сталкиваются с предложениями об участии в КИ и, как следствие, имеют наименьшую осведомленность об индустрии исследований в медицине. При этом данная часть населения оказывает значительное влияние на формирование общественного мнения о КИ.

Группа исследователей под руководством S. Parsons [6] опубликовала в 2015 г. результаты масштабного опроса с участием 6931 респондента, проведенного на территории 6 европейских стран, целью которого было выяснить уровень осведомленности по всем аспектам разработки лекарственных средств, а также связь уровня осведомленности с социодемографическими и другими факторами. Результаты исследования показали, что только каждый пятый ( $n=1436$ ; 22%) опрошенный считает, что хорошо информирован о КИ, при этом авторы обнаружили, что мужчины чаще, чем женщины, сообщали о глубоких знаниях касательно разработки лекарственных средств (17 против 15%), а уровень осведомленности снижался с возрастом (от 19% в возрастной группе 18–24 лет до 11% в группе старше 65 лет). Интересно, что респонденты, которые не имели опыта участия в КИ, в пять раз реже утверждали, что хорошо знакомы с принципами разработки и регистрации лекарственных средств (13 против 43%). По результатам анкетирования оказалось, что пациенты хорошо осведомлены о принципах и практике проведения КИ и фармакологии безопасности, но плохо ориентированы в вопросах фармакоэкономики. Также исследователям удалось выяснить, что пожилые люди, женщины, а также респонденты с высокой осведомленностью наиболее заинтересованы в получении

дополнительной информации касательно клинических исследований [6].

В отличие от предыдущих исследователей, V. Joshi и соавт. [7] в 2013 г. провели более детальную сравнительную характеристику осведомленности о КИ респондентов с опытом ( $n=40$ ) и без опыта участия в клинических исследованиях ( $n=200$ ). В анкете предлагалось дать оценку высказываниям по шкале Ликерта от 1 до 5 баллов, где 1 соответствовало полное согласие с утверждением, а 5 — полное несогласие. По данным ученых, респонденты без опыта участия в исследованиях считали, что участие в КИ должно быть добровольным ( $1,44\pm 0,72$  против  $1,18\pm 0,69$ ;  $p=0,046$ ), что участие в них дает право на бесплатную медицинскую помощь ( $2,01\pm 1,17$  против  $1,59\pm 1,18$ ;  $p=0,045$ ), что лучшим методом по увеличению осведомленности является информационная кампания на телевидении ( $1,65\pm 0,91$  против  $1,29\pm 0,84$ ;  $p=0,023$ ). Исследователи также установили, что, по мнению респондентов, основной причиной нежелания участвовать в КИ является недоверие к фармацевтическим компаниям ( $2,43\pm 1,29$  против  $3,09\pm 1,48$ ;  $p=0,009$ ). Кроме того, авторы попытались установить, какие детали проведения исследований неизвестны респондентам, никогда не участвовавшим в КИ ( $n=200$ ). Среди опрошенных 25% указали, что они осведомлены о клинических исследованиях, но из них каждый пятый не знал, что исследования преимущественно проводятся на животных; 16% не знали, что субъектами исследования могут быть люди; 6% не знали, что они проводятся для разработки новых лекарственных средств, а 18% считали, что в клинических исследованиях участвуют только смертельно больные пациенты. В целом подобные данные подтверждают результаты европейского исследования о хорошей осведомленности ранее участвовавших в КИ пациентов. Многие респонденты также утверждали, что количество участников в КИ будет возрастать, если они будут бесплатны (73%); если исследователи будут публиковать свои результаты (80%); если лекарственные средства, предлагаемые в рамках исследования, будут улучшать состояние здоровья участников (88%). Авторы исследования также задавали вопрос об источниках информации респондентов о КИ. Оказалось, среди наиболее распространенных источников были телевидение (35%), родственники/друзья (39%), интернет (35%), газеты (65%) и врачи (43%). Также 97% респондентов указали на необходимость повышения осведомленности о медицинских исследованиях в обществе посредством проведения образовательных семинаров, размещения в клиниках рекламных брошюр и проведения информационных кампаний на телевидении [7].

Похожие данные относительно источников информации о КИ были получены исследователями из Кореи под руководством S. Chu и соавт. в 2015 г. [8]. По результатам проведенного исследования ( $n=1515$ ), основным источником информации для респондентов оказались телевидение и радио (86%), газеты (24,6%), родственники и друзья (8,8%), интернет (7,5%), объявления в клиниках (4,2%). Помимо этого в анкете респондентам предлагалось дать оценку трем категориям восприятия клинических исследований по 11-балльной шкале (где баллы 0–3 расценивались как низкие, 4–6 — как средние, 7–10 — как высокие): так, отношение к КИ было оценено в  $5,32\pm 2,31$  балла, а оценки безопасности и необходимости составляли  $4,71\pm 1,90$  и  $7,27\pm 2,15$  соответственно. Кроме того, более молодые респонденты оценивали необходимость КИ ниже, чем более старшие (в возрасте 30, 40 и 50 лет) участники опроса ( $p<0,001$ ). Оказалось также,



что жители маленьких городов в сравнении с жителями крупных мегаполисов оценивали необходимость КИ более низким баллом ( $7,00 \pm 2,20$  против  $7,46 \pm 2,16$ ;  $p < 0,001$ ). Важно отметить, что респонденты, показывающие более высокую осведомленность о КИ, оценивали все три категории выше, чем менее осведомленные граждане ( $p < 0,01$ ). Результаты анкетирования также показали, что, по мнению большинства респондентов (45%), выгоду от участия в КИ получают прежде всего пациенты, затем фармацевтические компании (30,6%), медицинское научное сообщество (15,6%) и больницы или врачи (9,0%). Помимо этого исследователи установили, что 75,1% всех опрошенных слышали что-либо о КИ, но только 25% были готовы принять в них участие [8].

Результаты, полученные в исследовании Y. Choi и соавт. [9], проведенном в Сеуле ( $n=400$ ), показали, что большинство всех опрошенных (76,5%) слышали что-либо о КИ, а 3 из 4 (78,8%) также признают пользу КИ для медицины и здоровья населения, но 52,3% респондентов считали, что результаты клинических исследований недоступны для общественности; 49,5% не знали, что данные участников исследования строго конфиденциальны, а 46% не знали, что государственные службы тщательно регулируют этику КИ. Раскрывая вопрос мотивации опрошенных об участии, авторы отмечают, что возможность получать лучшее лечение является ведущей причиной для участия (>70%), а более 20% респондентов указали финансовую выгоду или интерес в исследовании [9].

Как отмечалось ранее, средства массовой информации (СМИ) оказывают огромное влияние на осведомленность о КИ среди населения. В 2008 г. сотрудники университета Данди в Шотландии инициировали информационную кампанию о клинических исследованиях в СМИ. В течение 3 месяцев на местном и национальном телевидении, радио и в газетах транслировалась реклама клинических исследований, для разработки которой привлекались врачи, исследователи и пациенты. Через 6 месяцев от начала кампании был проведен опрос ( $n=1040$ ), результаты которого сопоставлялись с подобным опросом, проведенным до начала кампании ( $n=1040$ ). Сравнительная характеристика показала, что процент людей, слышавших что-либо о КИ, возрос незначительно — с 28,6 (95% ДИ 25,8–31,3) до 37,8% (95% ДИ 34,8–40,7), причем рост осведомленности наблюдался во всех возрастных группах. Наблюдалось также повышение знания по различным аспектам проведения КИ. Например, доля тех, кто понимал, что для проведения КИ необходимо участие граждан всех возрастов, повысился с 4,7 (95% ДИ 2,3–7,1) до 16,5% (95% ДИ 12,9–20,2), а доля тех, кто понимал, что КИ являются способом поиска эффективного лечения, возрос с 2,4 (95% ДИ 0,6–4,1) до 8,4% (95% ДИ 5,6–11,1). Респондентов также просили указать, где они слышали или видели рекламу КИ. Как и в предыдущих описываемых исследованиях, самыми популярными источниками информации о КИ были телевидение (91%), газеты (8%) и радио (8%), иногда источниками информации указывались рекламные постеры (4%) и журналы (1%). При этом, несмотря на повышение осведомленности, желание принять участие в каком-либо КИ возросло незначительно — с 30,4 (95% ДИ 27,6–33,2) до 31,3% (95% ДИ 28,4–34,1) [10].

Исходя из данных, полученных в ходе исследований, проведенных на территории различных государств, можно сделать вывод, что большинство респондентов из разных стран слышали о понятии «клинические исследова-

вания», но большая часть из них имела низкую осведомленность о многих важных аспектах их планирования и проведения. Помимо этого статистически было подтверждено, что участвовавшие в КИ пациенты достаточно хорошо осведомлены о деталях их проведения и аспектах разработки лекарственных средств в целом. Кроме того, жители больших городов значительно чаще имеют хорошую осведомленность об исследованиях и с большим доверием относятся к проведению исследований с участием людей. Также стоит подчеркнуть, что масштабная рекламная кампания способна повысить уровень осведомленности граждан о КИ, что продемонстрировали результаты исследований, спланированных на базе университета Данди. Немаловажен и тот факт, что значительное большинство в обществе одобряет проведение клинических исследований и желает получать больше информации об их различных аспектах и деталях.

### Осведомленность пациентов

Хорошая осведомленность пациентов о КИ положительно сказывается на уровне доверия к проводимым исследованиям. Однако нельзя утверждать, что большая часть пациентов в должной степени осведомлена о том, что такое КИ, как они планируются и как контролируется их качественное и безопасное проведение.

В 2010 г. M. Brown и A. Moye (США) [11] проанализировали данные Национального института рака и определили факторы, влияющие на осведомленность о КИ в онкологии. Были использованы данные 7011 взрослых пациентов, из которых 65,9% указали, что они слышали о КИ и считают, что исследования предназначены для проверки эффективности и безопасности новых лекарственных средств и новых методов лечения. Также выяснилось, что заработная плата, образование, а также наличие онкологического заболевания в семье имеют непосредственное влияние на осведомленность пациента о КИ. Например, респонденты, чья заработная плата была выше 35 000 долларов в год, чаще слышали о практике КИ, чем респонденты с меньшей заработной платой ( $p < 0,0001$ ). Также среди респондентов, имеющих образование от 8 классов и ниже, осведомленные пациенты встречаются реже, чем среди тех, кто окончил колледж или университет ( $p < 0,0001$ ). Авторы утверждают, что осведомленность о КИ среди респондентов, в чьих семьях были или есть пациенты с онкологическими заболеваниями, встречается достаточно часто ( $p = 0,0064$ ). По данным исследователей, возраст и пол факторами, влияющими на осведомленность о КИ, не являются [11].

Подтверждение зависимости осведомленности о КИ от некоторых характеристик пациентов можно найти в работе S. Lee и соавт. [12], в которой был проведен опрос 675 респондентов. Высокий уровень осведомленности у респондентов авторы связывают с такими характеристиками, как наличие высшего образования ( $p < 0,001$ ), семейный статус ( $p = 0,004$ ) и высокий уровень дохода ( $p = 0,001$ ), в то время как расстояние до больницы, пол и вероисповедание не имели никакого влияния на уровень осведомленности. Результаты также показали, что респонденты оценивают свои знания о КИ (по шкале от 0 до 10) ниже среднего —  $4,5 \pm 2,5$  баллов. Около половины пациентов ( $n=361$ ) были осведомлены, что КИ — это метод доказательства эффективности нового препарата, а более 80% ( $n=545$ ) согласились с высказыванием, что в рамках рандомизированного исследования участников

делят на группы, одна из которых получает препарат, а другая — плацебо, однако 214 (31,7%) пациентов считали, что группа лечения в рамках рандомизированного КИ назначается исходя из собственных предпочтений пациента. Наиболее частым источником получения информации о КИ респонденты указывают врачей ( $n=391$ ; 52%), СМИ ( $n=273$ ; 36,6%), других пациентов ( $n=52$ ; 6,9%), интернет ( $n=25$ ; 3,3%) [12].

Похожую зависимость осведомленности о КИ от социальных характеристик продемонстрировали Y. Lim и соавт. в 2017 г. в Сеуле [13]. На осведомленность о КИ у пациентов позитивно влиял ряд таких факторов, как высокий уровень образования ( $p<0,001$ ), высокий уровень заработной платы ( $p=0,021$ ) и опыт участия в них ( $p=0,013$ ). Авторы также отмечают, что более высокий уровень осведомленности чаще наблюдается среди женщин ( $p=0,032$ ). Помимо этого выяснилось, что 97,4% ( $n=387$ ) всех опрошенных слышали о клинических исследованиях, из них только 5,2% ( $n=20$ ) указали, что могут детально объяснить, что собой представляют КИ; 18,6% ( $n=72$ ) могут в грубой форме дать им определение, а 34,6% ( $n=134$ ) указали, что понимают для чего проводятся исследования, но не могут рассказать о них подробно. Источниками информации респонденты указывали чаще всего своих лечащих врачей (37,5%) и СМИ (34,3%) [13].

Одним из факторов, влияющих на желание пациентов участвовать в КИ, может являться нозология, по поводу которой проводится лечение. Так, британские исследователи во главе L. Mc Grath-Lone [14] в 2015 г. провели масштабное анкетирование больных онкологического профиля, в ходе которого было установлено, что в некоторых группах пациентов больные реже обсуждают возможность участия в КИ, чем пациенты других групп. Например, страдающие раком молочной железы пациентки чаще других (35,9%) обсуждали возможность участия в КИ, а больные урологическими формами рака — реже всех (15,4%). Отрицательно сказываются на возможности возникновения подобных обсуждений и такие факторы, как долговременная история болезни, психические и физиологические осложнения заболевания. В целом из 66 953 опрошенных только 30,4% ( $n=20 356$ ) указали, что с начала обнаружения заболевания они обсуждали с кем-то возможность участия в КИ, а согласились принять участие всего 18,9% ( $n=12 689$ ). Также авторы выяснили, что самый высокий уровень участия наблюдался у пациентов, больных опухолями крови (71,7%) и мочеполовых путей (54,9%) [14].

Важность информирования пациентов о результатах КИ продемонстрировали данные канадских исследователей K. Teschke и соавт. [15], которые изучали мнение граждан Британской Колумбии об участии в медицинских исследованиях. Авторы представили данные, где 81% ( $n=1477$ ) респондентов указали, что факт получения результатов КИ, в котором они участвовали, положительно сказывается на принятии решения об участии [15]. В другой работе исследователи во главе С. Jones [16] в 2015 г. смогли показать, как доступность результатов исследования для потенциальных участников КИ влияет на принятие решения об участии ( $n=799$ ). Стоит заметить, что 95% всех респондентов описывают клинические исследования как важный или очень важный этап в разработке новых методов лечения, причем 286 (36%; 95% ДИ 32–39) пациентов утверждали, что согласились бы на участие в КИ, а 401 (50%; 95% ДИ 47–54) — что задумались бы об участии. Итоги работы относительно фактора доступности результатов КИ показали, что доступная

общественности публикация результатов важна или очень важна для 36 и 48% респондентов соответственно, а 63% респондентов отказались бы участвовать в КИ, если бы исследователи не публиковали результаты исследований. Кроме того, 85% отметили важным получать информацию о публикации в информированном согласии. Оказалось также, что респонденты европейского происхождения чаще имели положительное отношение к КИ, чем афроамериканцы, азиаты или латиноамериканцы (64 против 53%;  $p<0,01$ ). Кроме того, участники с высшим образованием более склонны рассматривать участие в КИ положительно по сравнению с участниками, которые не закончили колледж (64 против 56%;  $p<0,01$ ) [16]. Необходимость информирования о результатах исследований также приводят S. Moograft и соавт. [1]. Так, 75% ( $n=197$ ) респондентов утверждали, что участников следует информировать о результатах КИ [1].

Большинство респондентов исследования, проведенного в Саудовской Аравии L. Al-Dakhil и соавт. в 2016 г. [17], также сказали о своем желании узнать результаты исследований после их завершения ( $n=809$ ; 74,8%). Но кроме этого авторам удалось предоставить данные о факторах, мотивирующих пациентов участвовать в КИ. Так, самым распространенным (87,1%) оказалась религиозная мотивация (87,1%), что, однако, можно объяснить спецификой страны, в которой проводился опрос. Важным фактором мотивации также оказалось желание помочь в разработке новых методов лечения (79,3%). Наиболее значимым барьером являлся страх перед рисками осложнений (79,8%) [17]. В этом же году подобные факторы были выявлены и M. Al-Tannir и соавт. [18]. Наиболее важным фактором, положительно влияющим на готовность принять участие в КИ, респонденты отметили понимание сути конкретного КИ (89,7%), предоставление информированного согласия (71,4%), а также одобрение со стороны семейного врача (74%). Мотивацией для участия часто указывались стремление помочь обществу (92,3%) и помочь в продвижении медицинского знания (89,6%) [18].

Группе ученых из Великобритании под руководством V. Jenkins [19] удалось показать, как предоставление дополнительной информации влияет на готовность пациентов принять участие в клинических исследованиях. На вопрос «Как вы думаете, пациенты должны быть приглашены для принятия участия в медицинских исследованиях?» большинство пациентов (91%;  $n=961$ ) ответили утвердительно. Примерно 70% ( $n=781$ ) пациентов заявили, что они будут готовы лично участвовать в медицинских исследованиях. Тем не менее количество ответов «Да» упало ( $n=589$ ) на вопросе «Готовы ли вы принять участие в исследовании, где лечение выбрано наугад?» Но важно отметить, что по мере предоставления дополнительной информации о проведении и планировании КИ (например, информации о лекарственных препаратах и их побочных действиях, о праве участника в любой момент отказаться от исследования, о возможности получить эффективное лечение в рамках КИ) готовность принять участие возрастала. Важной деталью является и тот факт, что мужчины отвечали утвердительно на вопрос об участии в КИ чаще, чем женщины. Авторы также определили и то, что респонденты, которые участвовали в КИ ранее, с большей долей вероятности будут участвовать в каких-либо исследованиях в будущем ( $p<0,01$ ). Фактически из 210 человек с опытом участия 162 (77%) заявили, что они согласятся снова участвовать в рандомизированном исследовании [19].

Как показывают данные О. Звонарёвой и соавт. [20], важную роль в процессе принятия решения об участии в КИ играет врач-исследователь. Для оценки влияния врача-исследователя все респонденты были поделены на 2 группы: пациенты, знакомившиеся с информированным согласием совместно с врачом или самостоятельно. Ответы респондентов оценивались по шкале Ликерта от 1 до 5, где 1 — «совсем неважно» и 5 — «чрезвычайно важно». Самыми важными факторами, влияющими на принятие решения об участии в КИ, оказались наблюдение профессиональными специалистами ( $3,72 \pm 1,00$ ), регулярное наблюдение за состоянием ( $3,66 \pm 0,98$ ) и более качественная медицинская помощь ( $3,62 \pm 1,00$ ). Данные факторы были оценены на достоверно более низкий балл группой пациентов, знакомившихся совместно с врачом ( $3,55 \pm 0,94$  против  $4,01 \pm 0,90$ ,  $p=0,002$ ;  $3,52 \pm 1,01$  против  $3,87 \pm 0,90$ ,  $p=0,040$ ;  $3,49 \pm 0,94$  против  $3,83 \pm 1,06$ ,  $p=0,020$  соответственно). При оценке факторов, отрицательно повлиявших на интерес к участию в клиническом исследовании, наиболее значимыми оказались риск побочных явлений ( $3,01 \pm 1,27$ ), использование нового препарата ( $2,68 \pm 1,21$ ), а также риск попадания в группу плацебо ( $2,64 \pm 1,34$ ) (так называемые объективные факторы риска). При этом факторы риска побочных явлений и риска попадания в группу плацебо также были оценены на достоверно более низкий балл группой пациентов, знакомившихся с КИ совместно с врачом ( $2,87 \pm 1,28$  против  $3,33 \pm 1,17$ ,  $p=0,024$  и  $2,51 \pm 1,25$  против  $3,03 \pm 1,34$ ,  $p=0,022$  соответственно). Кроме того, установлено, что в случае помощи исследователя время ознакомления с информированным согласием сокращается в 3 раза, а респонденты, оценившие КИ как легкое, оказались более заинтересованы в конечных результатах исследования [20].

Опираясь на представленные данные, можно сделать вывод, что большинство пациентов положительно относятся к КИ и необходимости участия людей в медицинских исследованиях, но стоит заметить, что среди респондентов невысока доля тех, кто располагает информацией о важных деталях и правилах проведения КИ, наличие которой положительно сказывается на принятии решения об участии.

Многие исследователи указывают на важность получения результатов КИ для пациентов. Также видно, что наиболее часто пациенты получают информацию от своих врачей и через СМИ (в частности, телевидение и газеты), а наиболее ассоциированными с высоким уровнем осведомленности факторами являются такие характеристики, как уровень заработной платы, образование и личная или семейная история тяжелого заболевания.

### Осведомленность врачей

По данным большинства исследований, ключевую роль в осведомленности о КИ и восприятии его пациентами играет именно врач, не являющийся исследователем. Обсуждение пациентом и врачом рисков и пользы КИ повышает доверие к клиническим исследованиям среди больных, а также способствует росту числа пациентов, готовых принять участие. Так, в исследовании S. Jacobs и соавт. [21] путем анкетирования 481 врача-онколога проанализировано влияние различных факторов на решение онкологических пациентов участвовать в КИ. Исследователи установили, что врачи, которые имеют положительное отношение к КИ, привлекают к участию большее количество пациентов, чем врачи, негативно

к ним относящиеся ( $\beta=0,13$ ;  $p=0,04$ ). Также исследователями отмечается положительное влияние непосредственного участия лечащего врача в исследовании на набор участников ( $\beta=0,35$ ;  $p<0,00$ ) [21].

Отношение врачей к обсуждению с пациентами особенностей проведения КИ можно увидеть в работе американских исследователей во главе с С. Kaplan [22]. По результатам работы определено, что из 706 врачей-онкологов 37% обсуждали возможность участия в КИ со своими пациентами и только 33% объясняли пользу и риски участия. Кроме того, авторы проанализировали барьеры, которые препятствуют врачам обсуждать с пациентами возможности их участия в КИ. Самыми распространенными барьерами являются недостаток информации о КИ (отношение шансов 0,59; 95% ДИ 0,48–0,73) и беспокойство о негативном отношении пациента к подобному рода обсуждениям (ОШ 0,66; 95% ДИ 0,53–0,81;  $p<0,0001$ ). Примечательно, что сотрудники лечебных учреждений на базе Национального института рака привлекают пациентов к участию в КИ чаще (64%), чем врачи, работающие в больницах общего профиля (39%) ( $p<0,001$ ) [22].

В 2011 г. J. Zhang и соавт. [23] попытались определить, как оценивают свои знания о КИ медицинские работники. В опросе приняли участие 284 респондента, среди которых было 129 врачей и 155 медсестер. Только 32 (24,8%;  $p<0,001$ ) врача указали, что знают достаточно много о клинических исследованиях в области онкологии, остальные посчитали свои знания удовлетворительными ( $p<0,001$ ) или недостаточными ( $p<0,001$ ), при этом большинство медсестер указали, что знают очень мало о подобных КИ ( $p<0,001$ ). Но в целом респонденты рекомендуют своим пациентам участие в I (64,4%), II (88,4%) и III (95,1%) фазах исследования. Когда респондентов попросили взять на себя роль онкологических больных, процент готовых к участию составил 48,2 в фазе I, 72,9 в фазе II и 89,8 в фазе III [23].

Опрос, проведенный L. Ulvenes и соавт. [24] среди врачей в Норвегии, показал знания врачей в области КИ. Из 976 респондентов 80% согласились с утверждением, что доказательная медицина помогает в практике врача, 52% считают, что КИ могут улучшить состояние больного, но при этом 54% указывают на сложность проведения клинических исследований из-за большой занятости клинической практикой. Среди респондентов только 31% принимали участие в КИ, 51% хотели бы это сделать, а 15% никогда не проявляли к этому интерес [24].

Косвенным показателем осведомленности о КИ могут служить опросы докторов о доказательной медицине (evidence-based medicine, ЕВМ). Например, исследование А. Heselmanns и соавт. [25], проведенное на базе Национального института инвалидности и медицинского страхования, показало, что врачи (90,5%) в целом имеют положительное отношение к доказательной медицине, но только половина (56,2%) что-либо читали о ней, а 50,5% посещали курсы по доказательной медицине [25]. В Италии С. De Vito и соавт. [26], помимо схожих данных о том, что большая часть врачей (59,9% из 654) достаточно редко читает о последних КИ и только 32,1% используют их результаты в клинической практике, продемонстрировали также, что среди тех, кто отслеживает состояние доказательной медицины, преобладают врачи, которые владеют английским языком ( $p<0,001$ ), имеют доступ к интернету ( $p=0,005$ ) и продолжают непрерывное образование ( $p<0,001$ ). Авторы помимо прочего отмечают, что только 19,2% опрошенных ими респондентов посещали курсы доказательной медицины [26].

На базе Копенгагенской университетской больницы было проведено анкетирование врачей на знание терминологии, часто используемой в доказательной медицине. В анкету также были включены вопросы, связанные с приоритетами использования различных источников информации, критической оценкой научной литературы и отношением к внедрению доказательной медицины в ежедневную практику врача. Результаты опроса ( $n=225$ ) были описаны R. Oliveri и соавт. [27]. В анкете предлагалось дать определение 12 терминам по шкале от 1 до 4, где 1 — полное непонимание термина, 4 — полное понимание. Полностью все термины понимали лишь 4,4% всех респондентов. Хороший средний балл показывали врачи, имеющие докторские степени (3,8; межквартильный диапазон 3,4–3,9), часто использующие PubMed (3,6; межквартильный диапазон 3,3–3,8) и библиотеку Кокрейна (3,8; межквартильный диапазон 3,6–3,9) [27].

В ряде арабских стран также проводились исследования на знание врачей о доказательной медицине и их отношении к данному подходу. Так, в Иордании, по данным М. Al-Omagi и соавт. [28], большинство респондентов (91,2%) согласны, что результаты КИ полезны в ежедневном лечении пациентов, но около половины (47,5%) не знали о библиотеке Кокрейна, и только 5% использовали ее для оказания помощи больным. Также многие врачи (54,4%) утверждали, что изучение доказательной медицины увеличивает нагрузку на врачей, однако большинство (83,3%) считает, что подобные курсы должны входить в учебную программу студентов медицинского профиля [28]. Позитивное отношение к доказательной медицине продемонстрировали врачи Ирана [29] и Саудовской Аравии [30]. Но в обеих странах доля врачей, интересующихся последними результатами исследований в области доказательной медицины, невысока, при этом немногие из них имеют доступ к библиографическим данным о доказательной медицине.

Отечественные исследования на подобную тематику проводились в 2005 г. в Волгограде. В работе Л. Аджиенко [31] показано, что только 59% врачей считают КИ достоверным показателем эффективности новых лекарственных средств. Частыми барьерами на пути развития практики КИ респонденты указывают неразвитость материально-технической базы лечебно-профилактических учреждений (68%) и политику администрации учреждения (13%). Стоит заметить, что 68% всех врачей считают себя вправе рекомендовать пациенту участие в КИ; более того, многие (58%) считают, что их коллеги достаточно компетентны для их проведения [31].

Несмотря на то, что знания в области доказательной медицины и проведения КИ среди врачей в разных странах отличаются, процент врачей, интересующихся достижениями доказательной медицины, почти везде низок, но при этом основная масса врачей положительно относится к КИ и считает их важным этапом проверки безопас-

ности и эффективности новых лекарственных средств. Информационными ресурсами, предоставляющими возможность получать актуальные и свежие знания в области доказательной медицины, предпочитает пользоваться небольшая доля клиницистов, а основными барьерами на пути приобретения новых знаний указываются недостаток времени и увеличение нагрузки.

## Заключение

Проведенный анализ литературы показал, что осведомленность о клинических исследованиях остается низкой как в обществе в целом, так и среди пациентов и в профессиональном сообществе практикующих врачей.

Низкая осведомленность о КИ является препятствием при принятии решения об участии в исследованиях: так, если потенциальный участник захочет участвовать в клиническом исследовании, то, вероятно, он получит информацию о КИ в искаженном виде, что не позволит учесть всю пользу и риски от участия в исследовании. Для онкологических пациентов участие в клинических исследованиях зачастую является единственной возможностью получить современную жизнеспасующую терапию. Кроме того, низкая информированность общества о клинических исследованиях приводит к затруднениям при наборе пациентов.

Сложившаяся ситуация говорит о целесообразности проведения исследований по изучению уровня осведомленности о клинических исследованиях среди населения России.

## Источник финансирования

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (грант РНФ № 18-78-10016).

## Конфликт интересов

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

## Участие авторов

Разработка концепции обзора, методологии поиска — Кобякова О.С., Деев И.А., Куликов Е.С., Звонарева О.И. Поиск литературы в базах данных — Штых Р.И., Пименов И.Д., Мареев И.В. Анализ и интерпретация отобранных источников — все авторы. Написание разделов статьи — все авторы. Редактирование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания — Кобякова О.С., Деев И.А., Куликов Е.С., Звонарева О.И. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Moorcraft SY, Marriott C, Peckitt C, et al. Patients' willingness to participate in clinical trials and their views on aspects of cancer research: results of a prospective patient survey. *Trials*. 2016;17:17. doi: 10.1186/s13063-015-1105-3.
2. synergycro.ru [Internet]. SRG Orange Papers. Orange paper: *clinical trials in Russia 1st quarter 2017*; 2007–2017 [cited 2017 Aug 20]. Available from: <http://synergycro.ru/analytics/orange-paper.html>.
3. Viergever RF, Li K. Trends in global clinical trial registration: an analysis of numbers of registered clinical trials in different parts of the world from 2004 to 2013. *BMJ Open*. 2015;5(9):e008932. doi: 10.1136/bmjopen-2015-008932.
4. lillypad.lilly.com [Internet]. Patient participation in clinical trials infographic; c1994-2017 [updated 2016 Jan 25; cited 2017 Aug 15]. Available from: <https://lillypad.lilly.com/>.
5. Куликов Е.С., Деев И.А., Кобякова О.С., и др. Клиническое исследование глазами пациента: мотивация, ожидания, восприятие // *Клиническая медицина*. — 2017. — Т.95. — №8 — С. 751–757. [Kulikov ES, Deev IA, Kobyakova OS, et al. Clinical trials in Russia through patients' eyes: motivation, expectations, and perceptions. *Klinicheskaya meditsina*. 2017;95(8):751–757. (In Russ.)]
6. Parsons S, Starling B, Mullan-Jensen C, et al. What the public knows and wants to know about medicines research and develop-

- ment: a survey of the general public in six European countries. *BMJ Open*. 2015;5(4):e006420. doi: 10.1136/bmjopen-2014-006420.
7. Joshi VD, Oka GA, Kulkarni AA, Bivalkar VV. Public awareness and perception of clinical trials: quantitative study in pune. *Perspect Clin Res*. 2013;4(3):169–174. doi: 10.4103/2229-3485.115378.
  8. Chu SH, Kim EJ, Jeong SH, Park GL. Factors associated with willingness to participate in clinical trials: a nationwide survey study. *BMC Public Health*. 2015;15:10. doi: 10.1186/s12889-014-1339-0.
  9. Choi YJ, Beck SH, Kang WY, et al. Knowledge and perception about clinical research shapes behavior: face to face survey in Korean General Public. *J Korean Med Sci*. 2016;31(5):674–681. doi: 10.3346/jkms.2016.31.5.674.
  10. Mackenzie IS, Wei L, Rutherford D, et al. Promoting public awareness of randomized clinical trials using the media: the ‘Get Randomised’ campaign. *Br J Clin Pharmacol*. 2010;69(2):128–135. doi: 10.1111/j.1365-2125.2009.03561.x.
  11. Brown M, Moyer A. Predictors of awareness of clinical trials and feelings about the use of medical information for research in a nationally representative US sample. *Ethn Health*. 2010;15(3):223–236. doi: 10.1080/13557851003624281.
  12. Lee SJ, Park LC, Lee J, et al. Unique perception of clinical trials by Korean cancer patients. *BMC Cancer*. 2012; 12:594. doi: 10.1186/1471-2407-12-594.
  13. Lim Y, Lim JM, Jeong WJ, et al. Korean cancer patients’ awareness of clinical trials, perceptions on the benefit and willingness to participate. *Cancer Res Treat*. 2017;49(4):1033–1043. doi: 10.4143/crt.2016.413.
  14. Mc Grath-Lone L, Day S, Schoenborn C, Ward H. Exploring research participation among cancer patients: analysis of a national survey and an in-depth interview study. *BMC Cancer*. 2015;15:618. doi: 10.1186/s12885-015-1628-8.
  15. Teschke K, Marino S, Chu R, et al. Public opinions about participating in health research. *Can J Public Health*. 2010;101(2):159–164.
  16. Jones CW, Braz VA, McBride SM, et al. Cross-sectional assessment of patient attitudes towards participation in clinical trials: does making results publicly available matter? *BMJ Open*. 2016;6(11):e013649. doi: 10.1136/bmjopen-2016-013649.
  17. Al-Dakhil LO, Alanazy R, Al-Hamed RE, et al. Attitudes of patients in developing countries toward participating in clinical trials: a survey of Saudi patients attending primary health care services. *Oman Med J*. 2016;31(4):284–289. doi: 10.5001/omj.2016.55.
  18. Al-Tannir MA, El-Bakri N, Abu-Shaheen AK. Knowledge, attitudes and perceptions of Saudis towards participating in clinical trials. *PLoS One*. 2016;11(2):e0143893. doi: 10.1371/journal.pone.0143893.
  19. Jenkins V, Farewell D, Batt L, et al. The attitudes of 1066 patients with cancer towards participation in randomised clinical trials. *Br J Cancer*. 2010;103(12):1801–1807. doi: 10.1038/sj.bjc.6606004.
  20. Звонарева О.И., Куликов Е.С., Деев И.А., и др. Роль информированного согласия в принятии решения об участии в исследовании: данные многоцентрового исследования в России «Лицом к лицу» // *Бюллетень сибирской медицины*. — 2016. — Т.15. — №4 — С. 40–51. [Zvonareva OI, Kulikov ES, Deev IA, et al. Role of informed consent in a decision-making on participation in the clinical trial: multicenter study in Russia “Face to face”. *Bulletin of Siberian medicine*. 2016;15(4):40–51. (In Russ.)] doi: 10.20538/1682-0363-2016-4-40-51.
  21. Jacobs SR, Weiner BJ, Reeve BB, et al. Organizational and physician factors associated with patient enrollment in cancer clinical trials. *Clinical Trials*. 2014;11(5):565–575. doi: 10.1177/1740774514536000.
  22. Kaplan CP, Nápoles AM, Dohan D, et al. Clinical trial discussion, referral, and recruitment: physician, patient, and system factors. *Cancer Causes Control*. 2013;24(5):979–988. doi: 10.1007/s10552-013-0173-5.
  23. Zhang J, Zhang H, Yu C, et al. The attitudes of oncology physicians and nurses toward phase I, II, and III cancer clinical trials. *Contemp Clin Trials*. 2011;32(5):649–653. doi: 10.1016/j.cct.2011.04.015.
  24. Ulvenes LV, Aasland O, Nylenna M, Kristiansen IS. Norwegian physicians’ knowledge of and opinions about evidence-based medicine: cross-sectional study. *PLoS One*. 2009;4(11):e7828. doi: 10.1371/journal.pone.0007828.
  25. Heselmans A, Donceel P, Aertgeerts B, et al. The attitude of Belgian social insurance physicians towards evidence-based practice and clinical practice guidelines. *BMC Fam Pract*. 2009;10:64. doi: 10.1186/1471-2296-10-64.
  26. De Vito C, Nobile CG, Furnari G, et al. Physicians’ knowledge, attitudes and professional use of RCTs and meta-analyses: a cross-sectional survey. *Eur J Public Health*. 2009;19(3):297–302. doi: 10.1093/eurpub/ckn134.
  27. Oliveri RS, Gluud C, Wille-Jørgensen PA. Hospital doctors’ self-rated skills in and use of evidence-based medicine — a questionnaire survey. *J Eval Clin Pract*. 2004;10(2):219–226. doi: 10.1111/j.1365-2753.2003.00477.x.
  28. Al Omari M, Khader Y, Jadallah K, et al. Evidence-based medicine among hospital doctors in Jordan: awareness, attitude and practice. *J Eval Clin Pract*. 2009;15(6):1137–1141. doi: 10.1111/j.1365-2753.2009.01260.x.
  29. Ahmadi-Abhari S, Soltani A, Hosseinpanah F. Knowledge and attitudes of trainee physicians regarding evidence-based medicine: a questionnaire survey in Tehran, Iran. *J Eval Clin Pract*. 2008;14(5):775–779. doi: 10.1111/j.1365-2753.2008.01073.x.
  30. Al-Ansary LA, Khoja TA. The place of evidence-based medicine among primary health care physicians in Riyadh region, Saudi Arabia. *Fam Pract*. 2002;19(5):537–542. doi: 10.1093/fampra/19.5.537.
  31. Аджиенко В.Л. Отношение врачей к практике клинических исследований // *Вестник ВолГМУ*. — 2005. — Т.4. — №16. — С. 32–34. [Adzhienko VL. Physician’s attitude to the practice of clinical trials. *Vestnik VolGМУ*. 2005;4(16):32–34. (In Russ.)]

320

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Кобякова Ольга Сергеевна**, д.м.н., профессор [Olga S. Kobyakova, MD, PhD, Professor];  
адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2 [address: 2, Moscovsky trakt, 634050 Tomsk, Russia],  
e-mail: olga\_kobyakova@rambler.ru, SPIN-код: 1373-0903, ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0098-1403

**Деев Иван Анатольевич**, д.м.н., профессор [Ivan A. Deev, MD, PhD, Professor];  
e-mail: ivandeyev@yandex.ru, SPIN-код: 2730-0004, ORCID: http://orcid.org/0000-0002-4449-4810

**Куликов Евгений Сергеевич**, д.м.н., профессор [Evgeny S. Kulikov, MD, PhD, Professor];  
e-mail: evgeny.s.kulikov@gmail.com, SPIN-код: 9934-1476, ORCID: http://orcid.org/0000-0002-0088-9204

**Штых Роман Игоревич** [Roman I. Shtykh]; e-mail: shtykh.roman@gmail.com, SPIN-код: 3988-4881,  
ORCID: http://orcid.org/0000-0001-9060-7428

**Пименов Игорь Дмитриевич** [Igor D. Pimenov]; e-mail: igor.d.pimenov@gmail.com, SPIN-код: 3757-0769,  
ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3866-100X

**Звонарёва Ольга Игоревна** [Olga I. Zvonareva]; e-mail: zvonoks@gmail.com, SPIN-код: 9145-4513,  
ORCID: http://orcid.org/0000-0001-5548-7491

**Мареев Игорь Владимирович** [Igor V. Mareev]; e-mail: igor.mareev@pharmso.ru, SPIN-код: 9629-3810,  
ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0700-121X

В.А. Петров, И.В. Салтыкова, К.В. Невская, Ю.Б. Дорофеева, С.П. Лежава, Н.А. Кириллова,  
Е.С. Куликов, А.Э. Сазонов, Л.М. Огородова

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

# Исследование цитокинового профиля и экспрессии генов *FYN*, *ZAP-70* и *LAT* при стимуляции конканавалином А у пациентов с терапевтически резистентной бронхиальной астмой

**Обоснование.** Бронхиальная астма (БА) является одним из самых распространенных хронических бронхолегочных заболеваний. Это заболевание характеризуется полифенотипичностью и гетерогенностью течения: существуют фенотипы астмы, связанные с резистентностью к терапии, представляющие серьезную клиническую проблему. В качестве основного механизма развития лекарственной резистентности у больных на данный момент предполагается «переключение» иммунного ответа с Th2 на альтернативные варианты, однако причины этого недостаточно понятны. Согласно результатам исследований транскриптома, гены *ZAP-70*, *FYN* и *LAT* могут играть роль в развитии резистентности к лечению. **Цель исследования** — выявление характерных паттернов изменения цитокиновой секреции и экспрессии генов (*ZAP-70*, *FYN* и *LAT*) интактных лимфоцитов и при стимуляции конканавалином А при терапевтической резистентности у больных БА. **Методы.** В исследование было включено по 10 пациентов с терапевтически резистентной БА и тяжелой БА, а также 10 здоровых человек контрольной группы. Все пациенты на момент забора образцов получали лечение по поводу БА. У каждого пациента проводили забор венозной крови и выделение клеток лимфоцитарной фракции, которые культивировали с конканавалином А и без него. После культивирования определяли концентрации цитокинов *IL2*, *IL12*, *TNFα*, *IL4*, *IL5* и *IL6* с помощью иммуоферментного анализа, а также экспрессию генов *LAT*, *ZAP-70* и *FYN* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. **Результаты.** Установлена ассоциация заболевания и профиля секреции лимфоцитов без стимуляции конканавалином А. В клетках пациентов с резистентной БА повышалась концентрация *IL2* и *IL4* по сравнению с тяжелой БА. Лимфоциты пациентов с резистентной БА демонстрировали незначительный цитокиновый ответ на стимуляцию: отмечалось повышение продукции лишь *IL5* и *TNFα*, тогда как в клетках пациентов с тяжелой БА повышалась продукция всех цитокинов за исключением *IL12*, в контрольной группе — за исключением *IL12* и *IL2*. Установлено повышение экспрессии *FYN* в лимфоцитах пациентов с резистентной БА вне зависимости от режима стимуляции по сравнению с пациентами с тяжелой БА и группой контроля и снижение экспрессии данного гена в контроле по сравнению с тяжелой БА. Также отмечалось повышение экспрессии *ZAP-70* в клетках пациентов с резистентной БА по сравнению с контролем при стимуляции конканавалином А. **Заключение.** Лимфоцитарная фракция клеток пациентов с резистентной БА характеризуется слабым ответом на стимуляцию конканавалином А, измененным профилем цитокиновой секреции и генетической экспрессии, характерным для клеток с низкой чувствительностью к проапоптотическим стимулам. Ген *FYN* является перспективной мишенью для поиска подходов по преодолению резистентности к стероидным препаратам при БА.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, терапевтическая резистентность, *FYN*, *ZAP*, *IL4*, *IL2*.

**(Для цитирования:** Петров В.А., Салтыкова И.В., Невская К.В., Дорофеева Ю.Б., Лежава С.П., Кириллова Н.А., Куликов Е.С., Сазонов А.Э., Огородова Л.М. Исследование цитокинового профиля и экспрессии генов *FYN*, *ZAP-70* и *LAT* при стимуляции конканавалином А у пациентов с терапевтически резистентной бронхиальной астмой. *Вестник РАМН*. 2018;73(5):321–329. doi: 10.15690/vramn928)

## Обоснование

Бронхиальная астма (БА) является одним из самых распространенных хронических бронхолегочных заболеваний, которое сопряжено со значительным социальным и экономическим ущербом. Более 300 млн человек по всему миру страдает бронхиальной астмой [1], что приводит как к высоким прямым, так и косвенным затратам ресурсов здравоохранения [2]. Болезнь характеризуется полифенотипичностью и гетерогенностью течения: наряду с классическими формами БА, обусловленными активацией Th2 иммунного ответа и эозинофилией, существуют фенотипы астмы, связанные с резистентностью к терапии. К такому типу, в частности, относится глюкокортикостероидрезистентная БА, для которой характерны активация Th1 звена иммунного ответа и персистирующая нейтрофилия [3, 4]. Отсутствие терапевтического ответа на лечение глюкокортикоидами является серьезной

клинической проблемой. До 24% больных тяжелой БА резистентны к стероидным препаратам, более того, достаточно сложно клинически определить резистентность больного к такой терапии до ее назначения [5]. В качестве основного механизма развития лекарственной резистентности у больных БА на данный момент предполагается переключение иммунного ответа с Th2 на альтернативные варианты — Th1, Th17 и иные формы иммунного ответа, однако причины такого процесса недостаточно понятны [6, 7]. Ввиду этого актуален поиск механизмов, опосредующих развитие резистентности при БА [4].

Ранее нами проведено исследование по анализу дифференциальной экспрессии генов у больных терапевтически резистентной БА. Было показано, что при терапевтической резистентности у больных БА по сравнению с пациентами с тяжелой контролируемой формой заболевания повышается экспрессия целого ряда генов, относящихся в том числе и к сигнальному пути Т-клеточного

рецептора [8]. Среди них можно отметить несколько генов, представляющих особый интерес, — *LAT*, *FYN* и *ZAP-70*.

Одним из возможных белков, участвующих в процессе поляризации иммунного ответа, является *LAT* (от англ. linker for activation of T-cells — линкер активации Т-клеток). *LAT* представляет собой адаптерный белок иммунной системы, переключающий иммунный ответ между Th1 и Th2, причем при повышении функциональной активности этого белка происходит переключение на Th1 иммунный ответ, а при недостаточной его активности наблюдается поляризация Th2 [9–11]. Экспрессию линкера активации Т-клеток координирует тирозинкиназа *ZAP-70*, рост экспрессии которой связан со снижением активности *LAT* [12]. Другим важнейшим компонентом начального участка Т-клеточного сигнального пути является тирозинкиназа *FYN*, регулирующая процессы роста и клеточного цикла [13]. Оценка этих факторов позволяет определять «поведение» гена *LAT*.

Предполагается, что изменение экспрессии данных генов нарушает проведение сигнала через Т-клеточный рецептор. Это может быть одной из причин дисбаланса секреции Th1- и Th2-зависимых цитокинов (IL2, IL12, TNF $\alpha$ , IL4, IL5 и IL6) и неадекватного ответа клетки на терапию, что является отличительной особенностью терапевтически резистентной БА. При изучении иммунозависимых заболеваний с целью оценки способности лимфоцитов адекватно отвечать на стимулы используется агонист Т-клеточного рецептора митоген конканавалин А, представляющий собой лектин, получаемый из канавалии мечевидной (*Canavalia ensiformis*) [14]. Иссле-

дование цитокиновой секреции и генетической экспрессии *LAT*, *FYN* и *ZAP-70* у пациентов с терапевтической резистентностью по сравнению с тяжелой контролируемой БА и контрольной группой на интактных лимфоцитах и при стимуляции позволит определить паттерны, характерные именно для резистентности и не встречающиеся у здоровых людей и пациентов с контролируемой формой заболевания.

**Цель исследования** — выявление характерных паттернов изменения цитокиновой секреции и экспрессии генов (*ZAP-70*, *FYN* и *LAT*) интактных лимфоцитов и при их стимуляции конканавалином А на фоне терапевтически резистентной БА.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено одномоментное одноцентровое выборочное наблюдательное неконтролируемое сравнительное исследование в параллельных группах пациентов с тяжелой терапевтически резистентной бронхиальной астмой, тяжелой бронхиальной астмой и здоровых добровольцев. Всего в исследование вошли 30 человек, по десять в каждой группе.

### Критерии соответствия

В группу пациентов с тяжелой терапевтически резистентной бронхиальной астмой и тяжелой бронхиальной астмой включали лиц, для которых ранее проводилось исследование по анализу дифференциальной экспрессии [8].

322

V.A. Petrov, I.V. Saltykova, K.V. Nevskaya, Yu.B. Dorofeeva, S.P. Lezhava, N.A. Kirillova, E.S. Kulikov, A.E. Sazonov, L.M. Ogorodova

Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

## Cytokine Profile and Expression of *FYN*, *ZAP-70* and *LAT* During Concanavalin A Stimulation in Patients with Resistant Bronchial Asthma

**Background:** Bronchial asthma (BA) is one of the most spreading chronic lung pathology in the world. The disease is characterized by high heterogeneity of clinical phenotypes including resistant forms which provoke significant clinical problem. Immune shift from Th2 to alternative immunological response is considered to be a mechanism of drug-resistance in BA treatment but this issue is not considerably studied yet. **Aims:** Detection of distinctive patterns in cytokine secretion and genetic expression (*ZAP-70*, *FYN* and *LAT*) of naïve and concanavalin A stimulated lymphocytes in patients with resistant BA. **Materials and methods:** The study enrolled ten patients in each group: subjects with treatment resistant BA, severe BA, and controls (30 in total). During the experiment, all patients with BA received treatment according to the condition. For each participant lymphocytes isolation from venous blood was performed. Cells were cultured with concanavalin A and without stimulation. Concentrations of cytokines IL-2, IL-12, TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-5, and IL-6 in supernatants were measured with ELISA. Reverse transcription polymerase chain reaction was used to detect the mRNA expression of *LAT*, *ZAP-70*, and *FYN* genes. **Results:** Significant disease contribution to the lymphocyte secretion profile was established without concanavalin A stimulation: increased levels of IL-2 and IL-4 was observed in lymphocytes of patients with resistant BA if compared to the results of group with severe BA. Patients with resistant BA were characterized by weak cytokine response to the stimulation: only TNF- $\alpha$  and IL-5 levels were significantly increased whereas in group with severe BA all cytokines concentrations increased except IL-12, in controls — except IL-12 and IL-2. Significant *FYN* upregulation was identified in resistant BA group if compared with other groups, and in severe BA patients if compared with controls. The concanavalin A-stimulated cells showed increased expression of *ZAP-70* in cells of patients with resistant BA compared to control group. **Conclusions:** Lymphocytes from patients with resistant BA are characterized by lack of cytokine response to concanavalin A stimulation, alteration of cytokine secretion, and genetic expression profile similar to cells with low sensitivity to apoptosis. The *FYN* gene is a perspective target for finding approaches to overcome resistance to steroid drugs in bronchial asthma.

**Key words:** bronchial asthma, treatment resistance, *FYN*, *ZAP*, IL-4, IL-2.

(**For citation:** Petrov VA, Saltykova IV, Nevskaya KV, Dorofeeva YuB, Lezhava SP, Kirillova NA, Kulikov ES, Sazonov AE, Ogorodova LM. Cytokine Profile and Expression of *FYN*, *ZAP-70* and *LAT* During Concanavalin A Stimulation in Patients with Resistant Bronchial Asthma. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(5):321–329. doi: 10.15690/vramn928)

**Критерии включения:**

- пациенты обоего пола в возрасте от 18 до 80 лет;
- наличие подписанного информированного согласия;
- диагноз тяжелой БА, установленный в соответствии с критериями Глобальной стратегии лечения и профилактики бронхиальной астмы (англ. Global Initiative for Asthma, GINA);
- наличие резистентности к терапии, определенной в соответствии с оценкой эффективности терапии и критериями Американского торакального общества [15] (для группы пациентов с резистентной БА), либо отсутствие таковой (для группы пациентов с тяжелой БА);
- отсутствие иных тяжелых соматических заболеваний по данным анамнеза и осмотра.

Все пациенты на момент забора образцов получали базисную терапию комбинированными препаратами агонистов бета2-адренорецепторов длительного действия и ингаляционных глюкокортикостероидов в высоких дозах (более 500 мкг по флутиказону пропионату).

В группу контроля включали здоровых добровольцев обоего пола старше 18 лет, подписавших информированное согласие и не имеющих признаков бронхиальной астмы, атопии, а также тяжелых соматических заболеваний по данным анамнеза и осмотра.

**Продолжительность исследования**

Набор пациентов в исследование и экспериментальные работы проведены в ноябре 2016 г. Анализ результата экспериментальных работ осуществлен в 2017 г.

**Описание медицинского вмешательства и анализ в подгруппах**

Для каждого пациента выполняли физикальный осмотр и забор периферической венозной крови в объеме 30 мл по стандартной методике. Сравнение концентрации цитокинов в кондиционных средах и уровня генетической экспрессии в лимфоцитах периферической венозной крови проводилось между клетками, полученными у пациентов с тяжелой терапевтически резистентной бронхиальной астмой, тяжелой бронхиальной астмой и контрольной группы; внутри групп пациентов сравнивали концентрации цитокинов до и после стимуляции лимфоцитов конканавалином А.

**Исходы исследования**

В рамках исследования оценивали показатели секреции интерлейкинов (interleukin, IL) 2, 12, 4, 5, 6 и фактора некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor alpha, TNF $\alpha$ ), а также уровни экспрессии генов *LAT*, *ZAP-70* и *FYN* интактными лимфоцитами и при их стимуляции конканавалином А.

**Методы регистрации исходов**

Определяли концентрации шести цитокинов (IL2, IL12, TNF $\alpha$ , IL4, IL5 и IL6) до и после стимуляции конканавалином А. Для получения лимфоцитарной фракции крови использовали метод градиентного центрифугирования с использованием градиентов фикола (пл. 1,077 г/см<sup>3</sup>, ПанЭко, Россия) и перколла (пл. 1,131 г/см<sup>3</sup>, Sigma, США). Клетки от каждого донора рассаживали на 10 лунок в концентрации 1 млн/мл в среде RPMI-1640 (ПанЭко, Россия) с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки (NuClone, США), L-глутамин (ПанЭко, Россия), пирувата натрия (ПанЭко, Россия), пенициллина-стрептомицина (ПанЭко, Россия), b-меркаптоэтанола (Sigma, США).

Для стимуляции лимфоцитов использовали стандартный митоген конканавалин А. В половину лунок с клетками, полученными от пациентов разных групп, добавляли конканавалин А в концентрации 5 мкг/мл, оставшиеся 5 лунок использовали в качестве контроля. Культивирование проводили в течение 4 сут в CO<sub>2</sub>-инкубаторе во влажной атмосфере 5% CO<sub>2</sub> при 37°C. Направленность иммунного ответа в кондиционных средах образцов изучалась путем определения концентрации цитокинов при помощи наборов eBioscience для иммуноферментного анализа (ИФА), согласно рекомендациям производителя, на анализаторе Sunrise (Tecan, Австрия).

Исследовали экспрессию трех генов — *LAT*, *ZAP-70* и *FYN*. Для выделения суммарной РНК из снятой с плашки культуры лимфоцитов, ресуспендированных в полной питательной среде RPMI-1640, клетки осаждались центрифугированием. Выделение суммарной РНК проводили реагентом TRIzol Reagent по стандартному протоколу производителя. Концентрацию полученной суммарной РНК определяли на спектрофотометре NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, США). Для синтеза комплементарной ДНК использовали набор реактивов RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, США). Подбор праймеров для полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени производили с использованием программы CLC Bio 6 (США). Для проведения ПЦР в реальном времени использовали 5X готовую реакционную смесь с интеркалирующим красителем SYBR Green I qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия). Полимеразную цепную реакцию проводили на планшетном анализаторе для ПЦР в режиме реального времени CFX96 Bio-Rad. Уровень экспрессии мРНК генов цитокинов выражали по отношению к экспрессии мРНК  $\beta$ -актина.

**Этическая экспертиза**

Протокол клинического исследования был одобрен Локальным этическим комитетом ГБОУ ВПО «СибГМУ» Минздрава России (выписка № 4948 от 31.10.2016).

**Статистический анализ**

Размер выборки предварительно не рассчитывали. Статистическая обработка проводилась с использованием языка программирования R [16]. Для оценки вклада состояния пациентов (здоров, тяжелая БА, резистентная БА) в совокупный профиль цитокиновой секреции использовалось неметрическое многомерное шкалирование. Для этого проводился расчет расстояний между пациентами в метрике Брея–Кертиса, в качестве «координат» пациента использовали логарифм значений концентрации цитокинов. Для подтверждения влияния состояния пациента на цитокиновую секрецию применяли непараметрический дисперсионный анализ с использованием пакета *vegan* [17]. Корреляция между матрицами расстояний до и после стимуляции конканавалином А оценивалась с использованием прокрустового анализа и теста Мантела. Для попарного корреляционного анализа использовалась ранговая корреляция Спирмена, реализованная в пакете *base* языка R [16]. Визуализация выполнена в пакете *ggplot2* [18].

Для статистического анализа генетической экспрессии использовали показатели кратности различия (Fold change), концентрации цитокинов логарифмировали по основанию два. Для оценки различий в концентрациях цитокинов и генетической экспрессии в трех группах в зависимости от заболевания последовательно использовались критерии Краскела–Уоллиса и U-тест Манна–



Таблица 1. Участники исследования

Показатель	Контроль (n=10)	ТБА (n=10)	ТРБА (n=10)
Рост, см	169,7±9,3	162,3±7,7	163,2±9,2
Вес, кг	60,6±12	80,6±12,6*	90,0±25,5*
Возраст, лет	24±5,5	57±12,5*	60,8±8,1*
Соотношение полов, м/ж	1/9	1/9	2/8

Примечание. ТБА — тяжелая бронхиальная астма, ТРБА — терапевтически резистентная бронхиальная астма, контроль — контрольная группа. \* — различия по сравнению с контролем  $p < 0,05$  ( $p$ -значения приведены после применения поправки по Бенджамини–Хохбергу).

Уитни–Вилкоксона, при анализе связанных выборок (до и после стимуляции) использовался критерий Вилкоксона. Коррекция значений  $p$  на множественное сравнение проводилась при помощи метода Бенджамини–Хохберга, различия считались достоверными при значениях  $p < 0,05$  после применения поправки. Значения приведены в виде медианы ([Q1; Q3] пг/мл).

### Результаты

#### Объекты (участники) исследования

В исследование были включены 30 человек, из них 10 пациентов экспериментальной группы (тяжелая терапевтически резистентная бронхиальная астма) и 10 — группы сравнения (тяжелая бронхиальная астма без резистентности), принимавшие участие в исследовании ранее [8], а также 10 добровольцев контрольной группы без проявлений бронхиальной астмы и атопии (табл. 1).

#### Основные результаты исследования

При оценке связи состояния (здоров, тяжелая БА, резистентная БА) индивида и цитокиновой секреции была установлена ассоциация фенотипа болезни и профиля секреции нестимулированных лимфоцитов ( $R^2=0,17$  и  $p=0,009$ ; рис. 1, А). Однако при анализе группы стимулированных конканавалином лимфоцитов вклад фенотипа болезни в вариабельность концентрации цитокинов отсутствовал ( $R^2=0,12$  и  $p=0,12$ ; рис. 1, Б). При этом была установлена корреляция между концентрациями цитокинов в кондиционных средах интактных и стимулирован-

ных клеток (прокрустов анализ:  $R^2=0,42$  и  $p=0,011$ ; тест Мантела:  $R^2=0,33$  и  $p=0,004$ ).

При сравнении уровней секреции лимфоцитами отдельных цитокинов было установлено, что в лимфоцитах, полученных от пациентов с терапевтически резистентной бронхиальной астмой, наблюдалась повышенная продукция IL2 ( $p=0,008$ ; рис. 2, А) и IL4 ( $p=0,008$ ; рис. 2, Б) по сравнению с пациентами с тяжелой бронхиальной астмой. В то же время добавление конканавалина А в культуральную среду лимфоцитов не приводило к увеличению секреции этих цитокинов клетками пациентов с резистентной БА.

При сравнении цитокиновой секреции лимфоцитов внутри групп в зависимости от стимуляции было замечено, что у клеток пациентов с тяжелой БА наблюдался наиболее выраженный ответ на стимуляцию конканавалином А. Так, в этой группе отмечалось повышение концентраций 5 из 6 исследованных цитокинов — IL6, IL4, IL2, IL5, а также TNF $\alpha$  (табл. 2). При стимуляции лимфоцитов, полученных в контрольной группе, отмечалась повышенная продукция 4 из 6 цитокинов — IL6, IL4, IL5 и TNF $\alpha$  (см. табл. 2). Лимфоциты пациентов с терапевтически резистентной БА в ответ на стимуляцию демонстрировали повышение лишь TNF $\alpha$  и IL5 (см. табл. 2).

В ходе оценки генетической экспрессии в лимфоцитах пациентов с резистентной БА была установлена повышенная экспрессия гена *FYN* как в интактных, так и в стимулированных конканавалином А клетках. В лимфоцитах пациентов контрольной группы определялся наиболее низкий уровень экспрессии этого гена (табл. 3). При стимуляции конканавалином А отмечается повышение

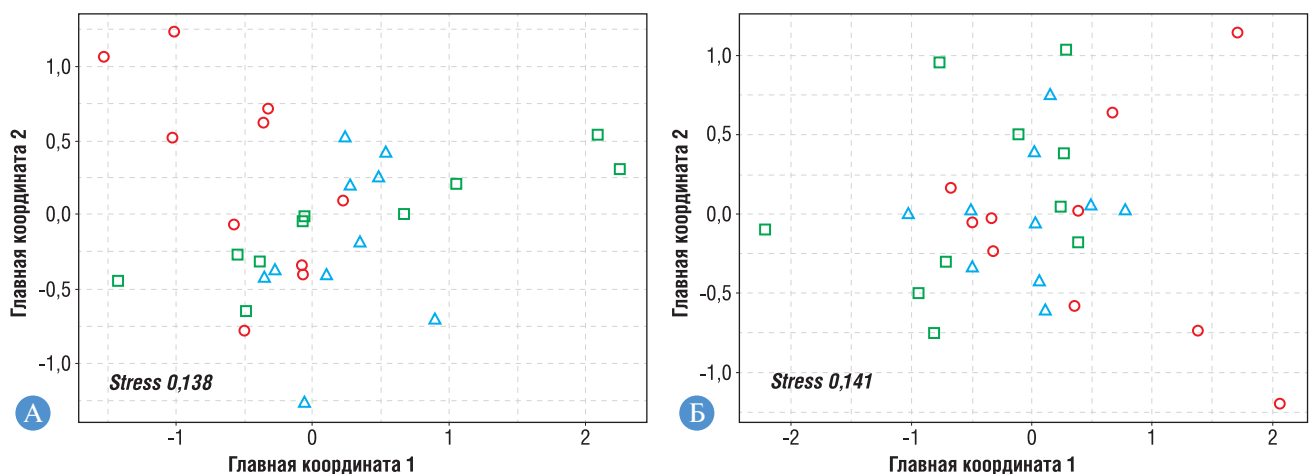


Рис. 1. Графики неметрического многомерного шкалирования пациентов до (А) и после (Б) стимуляции конканавалином А на основе информации о концентрациях цитокинов

Примечание. Синим треугольником обозначены лица контрольной группы, красным кругом — пациенты с резистентной бронхиальной астмой, зеленым квадратом — пациенты с тяжелой бронхиальной астмой.

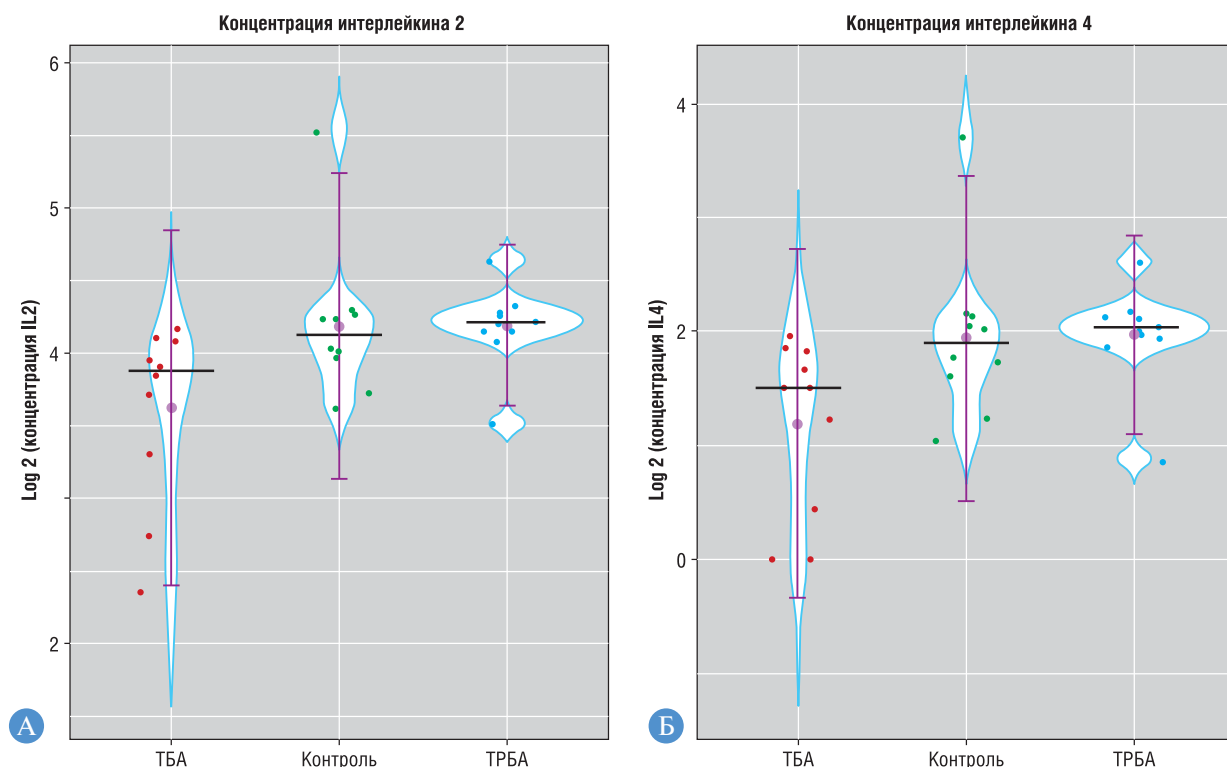


Рис. 2. Концентрации IL2 (А) и IL4 (Б) в клетках пациентов без стимуляции конканавалином А

Примечание. На графике точками обозначены логарифмированные значения концентрации цитокинов в клетках отдельных пациентов, вертикальной чертой — медианы концентраций по группе, фиолетовой точкой — среднее арифметическое по группе, фиолетовым разбросом — стандартное отклонение; границы графика показывают плотность распределения значений концентрации цитокинов. ТБА — тяжелая бронхиальная астма, ТРБА — терапевтически резистентная бронхиальная астма, контроль — контрольная группа.

Таблица 2. Цитокиновая секреция до и после стимуляции конканавалином А

Цитокин		IL2	IL4	IL5	IL6	IL12	TNF $\alpha$
Заболевание	Контроль						
	До стимуляции	16,45 [14,67; 18,23]	2,72 [2,16; 3,29]	0,64 [0,25; 1,02]	3,61 [1,70; 5,69]	0,15 [0,09; 0,58]	0,45 [0,23; 3,38]
	После стимуляции	23,96 [19,61; 26,93]	5,1 [3,72; 6,04]	4,29 [2,74; 11,42]	14,31 [7,93; 18,44]	0,34 [0,23; 0,56]	26,71 [14,88; 52,75]
	<i>p</i> *	0,058	0,041	0,004	0,004	0,625	0,004
ТБА	До стимуляции	13,68 [9,73; 15,66]	1,85 [0,60; 2,47]	0,64 [0,30; 0,86]	0,77 [0,63; 2,08]	0,32 [0,32; 0,47]	1,10 [0,17; 1,97]
	После стимуляции	22,78 [14,67; 30,29]	4,72 [2,16; 7,10]	5,84 [2,74; 11,75]	5,52 [3,16; 13,77]	0,46 [0,32; 0,63]	21,94 [5,66; 28,34]
	<i>p</i> *	0,015	0,015	0,006	0,006	0,726	0,015
ТРБА	До стимуляции	17,64 [16,85; 18,43]	3,10 [2,85; 3,35]	1,19 [0,86; 1,47]	2,22 [0,59; 28,34]	0,46 [0,36; 1,01]	1,10 [0,34; 6,20]
	После стимуляции	20,01 [17,24; 21,99]	3,85 [2,97; 4,47]	7,27 [3,07; 70,22]	13,63 [8,56; 24,14]	0,70 [0,51; 0,94]	22,15 [13,25; 64,58]
	<i>p</i> *	0,234	0,234	0,029	0,097	0,146	0,029

Примечание. ТБА — тяжелая бронхиальная астма, ТРБА — терапевтически резистентная бронхиальная астма, контроль — контрольная группа. \* — *p*-значения приведены после применения поправки по Бенджамини–Хохбергу.

Таблица 3. Экспрессия генов FYN и ZAP-70 в группах

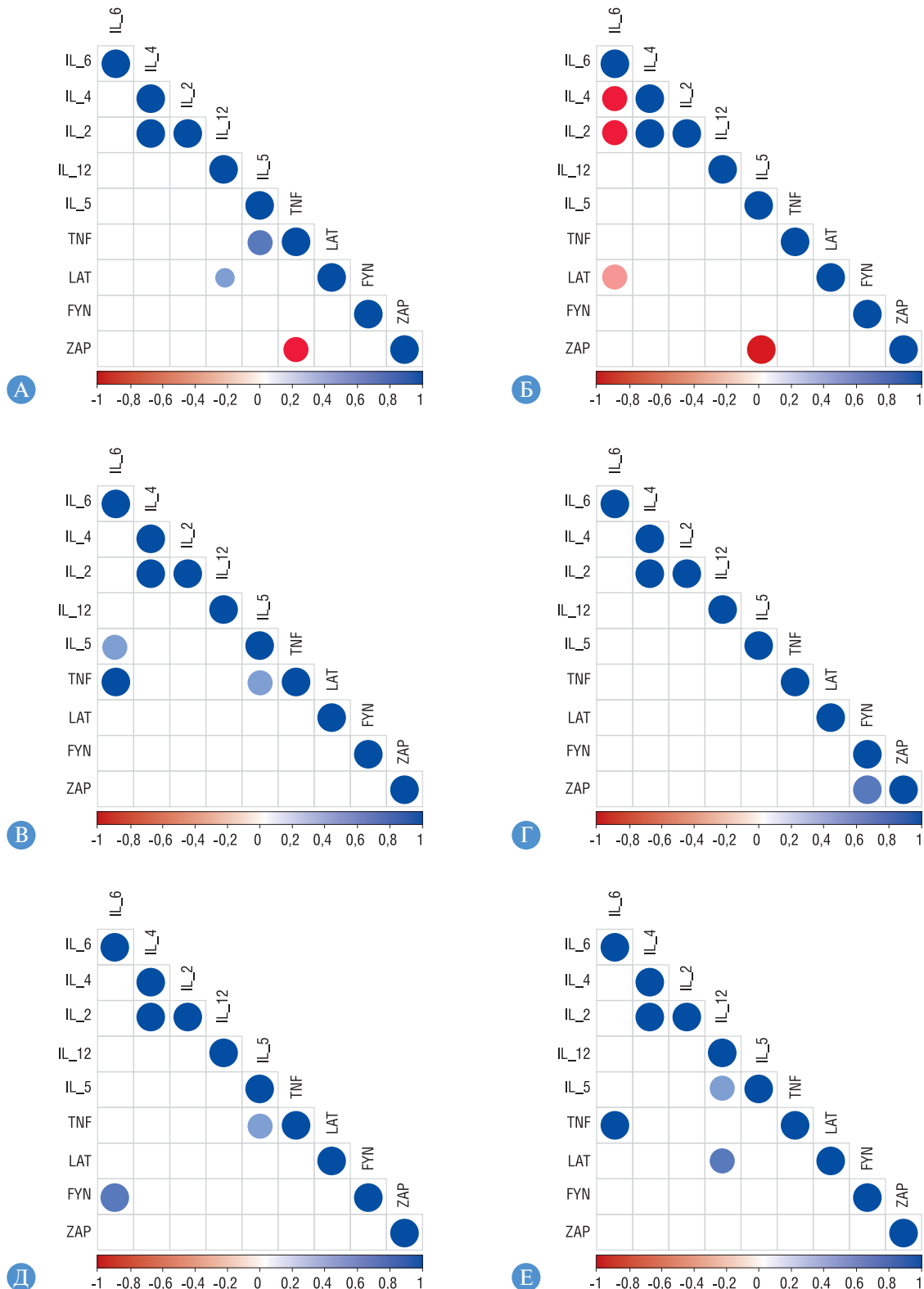
Экспрессия гена	Группа сравнения	До стимуляции		После стимуляции	
		Кратность различия	<i>p</i> *	Кратность различия	<i>p</i> *
FYN	ТРБА-контроль	56,4 [37,8; 87,3]	0,006	45,7 [29,2; 88,1]	0,0003
	ТРБА-ТБА	10,1 [6,8; 15,6]	0,006	14,8 [9,4; 28,5]	0,009
	ТБА-контроль	6,1 [4,2; 11,1]	0,006	3,6 [1,9; 6,5]	0,02
ZAP-70	ТРБА-контроль	6,8 [2,2; 22,2]	0,077	4,9 [2,8; 8,5]	0,012
	ТРБА-ТБА	1,1 [0,4; 3,7]	0,888	2,8 [1,6; 4,9]	0,218
	ТБА-контроль	5,2 [2,9; 16,8]	0,089	1,5 [1,2; 2,7]	0,517

Примечание. ТБА — тяжелая бронхиальная астма, ТРБА — терапевтически резистентная бронхиальная астма, контроль — контрольная группа. \* — *p*-значения приведены после применения поправки по Бенджамини–Хохбергу.

экспрессии гена *ZAP-70* в лимфоцитах пациентов с резистентной БА по сравнению с контролем (см. табл. 3).

При оценке корреляции между уровнями генетической экспрессии и секрецией цитокинов установ-

лено, что во всех группах отмечается положительная корреляция между концентрациями цитокинов IL2 и IL4 в кондиционных средах как при наличии, так и при отсутствии стимуляции (рис. 3). Положительная



**Рис. 3.** Корреляции между цитокиновой секрецией и генетической экспрессией при стимуляции конканавалином А и без таковой в клетках пациентов контрольной группы (А, Б), пациентов с тяжелой бронхиальной астмой (В, Г) и пациентов с терапевтически резистентной бронхиальной астмой (Д, Е) соответственно

*Примечание.* Точками на графике отмечены статистически достоверные попарные корреляции ( $p < 0,05$ ); цвет точек показывает направление корреляции (красные оттенки — отрицательная, синие оттенки — положительная); насыщенность цвета и размер точек демонстрируют силу корреляции (чем больше точка и темнее цвет, тем выше значение).

корреляция между IL5 и TNF $\alpha$  наблюдалась в кондиционных средах лимфоцитов пациентов всех групп при добавлении конканавалина А. В кондиционных средах пациентов с терапевтически резистентной БА без стимуляции наблюдалась корреляция между IL6 и TNF $\alpha$ , что было характерно и для пациентов с тяжелой БА при наличии стимуляции. Также при терапевтически резистентной БА в отсутствие стимуляции наблюдалась корреляция между IL12 и LAT, что свойственно лимфоцитам группы здорового контроля при стимуляции (см. рис. 3).

## Обсуждение

### Резюме основного результата исследования

Установлен достоверный вклад состояния индивида (здоров, тяжелая БА, резистентная БА) в профиль секреции лимфоцитов без стимуляции конканавалином А за счет увеличения продукции цитокинов IL4 и IL2 клетками пациентов с терапевтической резистентностью по сравнению с больными тяжелой БА. В лимфоцитах пациентов с резистентной БА отмечался слабый циткиновый ответ на стимуляцию конканавалином по сравнению с пациентами других групп. Наблюдалось повышение экспрессии гена *FYN* в ряду «здоровые – тяжелая БА – резистентная БА». Также отмечалось повышение экспрессии *ZAP-70* в клетках от пациентов с резистентной БА по сравнению с контролем при стимуляции конканавалином А.

### Обсуждение основного результата исследования

Таким образом, в эксперименте *ex vivo* нами подтверждено, что лимфоцитарная фракция анализируемых групп при отсутствии дополнительных стимулов имеет разный профиль секреции цитокинов. Различия в уровне экспрессии цитокинов клетками крови здоровых и больных БА являются установленным фактом [19]. В данном исследовании дифференциальная экспрессия цитокинов, ассоциированная с резистентностью, обусловлена повышением секреции цитокинов IL4 и IL2. Полученные данные согласуются с ранее опубликованными материалами: повышение секреции IL2 и IL4 Т-лимфоцитами является одним из характерных признаков наличия стероидной резистентности у пациентов с БА [19]. Добавление сочетания IL2 и IL4 к Т-лимфоцитам человека *in vitro* индуцирует стероидную резистентность на клетках здоровых доноров и у пациентов с терапевтически чувствительной астмой [19, 20].

Характерной особенностью терапевтически резистентной астмы является незначительное изменение цитокинового профиля лимфоцитов в ответ на стимулятор конканавалин А. В клетках здоровых доноров под действием конканавалина А отмечалось повышение продукции 4 из 6 цитокинов — IL6, IL4, IL5 и TNF $\alpha$ . У лимфоцитов пациентов с тяжелой БА при стимуляции конканавалином А повышалась секреция 5 из 6 исследованных цитокинов — IL6, IL4, IL2, IL5, а также TNF $\alpha$ . В группе резистентных в ответ на конканавалин вовлекались только TNF $\alpha$  и IL5. При этом во всех группах для концентраций этих двух цитокинов характерна положительная корреляция при добавлении конканавалина А, что может говорить о повышении concentra-

ции TNF $\alpha$  и IL5 как о результате неспецифического воздействия митогена, реализуемого вне зависимости от диагноза. Учитывая вышеперечисленное, а также исчезновение различий в цитокиновой секреции под воздействием конканавалина А, можно предположить, что Т-лимфоциты пациентов с резистентной бронхиальной астмой слабо отвечают на стимуляцию, что, возможно, и является причиной нечувствительности больных к стероидным препаратам.

Ранее было показано, что повышение экспрессии *ZAP-70*, скоординированное со снижением экспрессии *LAT*, характерно для терапевтически чувствительной БА [12]. Нами установлен рост экспрессии данного гена у пациентов с резистентной БА в присутствии конканавалина А, однако описанного ранее снижения активности гена *LAT* не наблюдается, что дополнительно свидетельствует о слабовыраженном ответе на стимулы при терапевтически резистентной БА.

Установлено повышение экспрессии гена *FYN* при резистентной БА как на интактных, так и на стимулированных конканавалином А клетках по сравнению с пациентами с тяжелой БА и группой здоровых. В клетках пациентов с терапевтически чувствительной БА также отмечается увеличение экспрессии данного гена по сравнению с контролем при всех режимах стимуляции. Тирозинкиназа *FYN* выступает одним из регуляторов апоптоза в злокачественных опухолях многих тканей человека, в частности она опосредует ингибирование апоптоза Т-клеток при опухолях крови [21]. Наряду с измененной экспрессией гена *FYN* вклад в угнетение апоптоза оказывает и повышение секреции IL4 и IL2 [22–24], также отмеченное нами у пациентов с терапевтически резистентной БА. Снижение темпов апоптоза Т-клеток и эозинофилов свойственно БА и является одним из механизмов нарушения чувствительности к стероидным препаратам [24, 25]. Ввиду этого на данный момент *FYN* является перспективной мишенью для дальнейшего изучения механизмов стероидной резистентности при БА. Изменение экспрессии данного гена с помощью молекулярно-биологических либо фармакологических подходов потенциально позволит модифицировать чувствительность клетки к стероидной терапии.

### Ограничения исследования

Учитывая небольшой объем выборки, необходимо дальнейшее изучение роли тирозинкиназы *FYN* в развитии терапевтической резистентности при бронхиальной астме, в том числе с использованием подходов по изменению экспрессии данного гена у пациентов.

## Заключение

Лимфоцитарная фракция клеток пациентов с терапевтически резистентной БА характеризуется слабым изменением цитокинового профиля при стимуляции митогеном конканавалином А по сравнению с группами больных БА и здоровыми индивидами. Терапевтическая резистентность при БА характеризуется профилем цитокиновой секреции и генетической экспрессии, который характерен для клеток с низкой чувствительностью к проапоптотическим стимулам. Ген *FYN* является перспективной мишенью для поиска подходов для преодоления резистентности к стероидным препаратам при БА.

**Источник финансирования**

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ мол\_а № 16-34-00778 «Исследование направленности иммунного ответа и генетической экспрессии у больных с тяжелой терапевтически-резистентной бронхиальной астмой».

**Конфликт интересов**

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

**Участие авторов**

В.А. Петров, Л.М. Огородова, А.Э. Сазонов — дизайн исследования; Е.С. Куликов, Н.А. Кириллова — набор образцов и клиническое исследование; И.В. Салтыкова, К.В. Невская, Ю.Б. Дорофеева, С.П. Лежава — лабораторное исследование; В.А. Петров — анализ данных; В.А. Петров, И.В. Салтыкова, К.В. Невская — текст статьи. Все авторы принимали значимое участие в проведении исследования и подготовке статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Lambrecht BN, Hammad H. The immunology of asthma. *Nat Immunol.* 2015;16(1):45–56. doi: 10.1038/ni.3049.
2. Loddenkemper R, Gibson GJ, Sibille Y. The burden of lung disease in Europe: why a European White Book on lung disease? *Eur Respir J.* 2003;22(6):869. doi: 10.1183/09031936.03.00107803.
3. Lo CY, Michaeloudes C, Bhavsar PK, et al. Increased phenotypic differentiation and reduced corticosteroid sensitivity of fibrocytes in severe asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;135(5):1186–1195.e1–6. doi: 10.1016/j.jaci.2014.10.031.
4. Kim RY, Rae B, Neal R, et al. Elucidating novel disease mechanisms in severe asthma. *Clin Transl Immunology.* 2016;5(7):e91. doi: 10.1038/cti.2016.37.
5. Clemmer GL, Wu AC, Rosner B, et al. Measuring the corticosteroid responsiveness endophenotype in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;136(2):274–281.e8. doi: 10.1016/j.jaci.2015.03.029.
6. Choy DF, Hart KM, Borthwick LA, et al. TH2 and TH17 inflammatory pathways are reciprocally regulated in asthma. *Sci Transl Med.* 2015;7(301):301ra129. doi: 10.1126/scitranslmed.aab3142.
7. Gauthier M, Chakraborty K, Oriss TB, et al. Severe asthma in humans and mouse model suggests a CXCL10 signature underlies corticosteroid-resistant Th1 bias. *JCI Insight.* 2017;2(13):e94580. doi: 10.1172/jci.insight.94580.
8. Куликов Е.С., Огородова Л.М., Фрейдин М.Б., и др. Динамика генной экспрессии у больных тяжелой терапевтически резистентной астмой на фоне терапии // Бюллетень сибирской медицины. — 2014. — Т.13. — №1 — С. 47–55. [Kulikov YeS, Ogorodova LM, Freidin MB, et al. Gene expression dynamics in patients with severe therapy-resistant asthma during treatment period. *BSM.* 2014;13(1):47–55. (In Russ).]
9. Miyaji M, Kortum RL, Surana R, et al. Genetic evidence for the role of Erk activation in a lymphoproliferative disease of mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(34):14502–14507. doi: 10.1073/pnas.0903894106.
10. Li CY, Peng J, Ren LP, et al. Roles of histone hypoacetylation in LAT expression on T cells and Th2 polarization in allergic asthma. *J Transl Med.* 2013;11:26. doi: 10.1186/1479-5876-11-26.
11. Kunii N, Zhao Y, Jiang S, et al. Enhanced function of redirected human T cells expressing linker for activation of T cells that is resistant to ubiquitylation. *Hum Gene Ther.* 2013;24(1):27–37. doi: 10.1089/hum.2012.130.
12. Guo XJ, Li J, Ni PH, et al. [The transcription levels of linker for activation of T cell and its upstream regulatory factors in T cells of asthmatic patients. (In Chinese).] *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi.* 2008;31(2):125–128.
13. Szczepankiewicz A, Sobkowiak P, Rachel M, et al. Multilocus analysis of candidate genes involved in neurogenic inflammation in pediatric asthma and related phenotypes: a case-control study. *J Asthma.* 2012;49(4):329–335. doi: 10.3109/02770903.2012.669442.
14. Chikanza IC, Kozaci D, Chernajovsky Y. The molecular and cellular basis of corticosteroid resistance. *J Endocrinol.* 2003;179(3):301–310. doi: 10.1677/joe.0.1790301.
15. Proceedings of the ATS workshop on refractory asthma: current understanding, recommendations, and unanswered questions. American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162(6):2341–2351. doi: 10.1164/ajrccm.162.6.ats9-00
16. R Core Team (2016) [Internet]. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available from: <https://www.r-project.org/>
17. Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, et al. *Ordination methods, diversity analysis and other functions for community and vegetation ecologists* [Internet]. Vegan: Community Ecology Package; 2017 [cited 2018 Jul 29]. Available from: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
18. Wickham H. *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. New York, USA: Springer-Verlag New York; 2009. 213 p. doi: 10.1007/978-0-387-98141-3.
19. Goleva E, Li LB, Leung DY. IFN-gamma reverses IL-2 and IL-4-mediated T-cell steroid resistance. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2009;40(2):223–230. doi: 10.1165/rcmb.2007-0327OC.
20. Liang Q, Guo L, Gogate S, et al. IL-2 and IL-4 stimulate MEK1 expression and contribute to T cell resistance against suppression by TGF-beta and IL-10 in asthma. *J Immunol.* 2010;185(10):5704–5713. doi: 10.4049/jimmunol.1000690.
21. Laurenzana I, Caivano A, Trino S, et al. A Pyrazolo[3,4-d]pyrimidine compound inhibits Fyn phosphorylation and induces apoptosis in natural killer cell leukemia. *Oncotarget.* 2016;7(40):65171–65184. doi: 10.18632/oncotarget.11496.
22. Brunetti M, Martelli N, Colasante A, et al. Spontaneous and glucocorticoid-induced apoptosis in human mature T lymphocytes. *Blood.* 1995;86(11):4199–4205.
23. Xie H, Seward RJ, Huber BT. Cytokine rescue from glucocorticoid induced apoptosis in T cells is mediated through inhibition of IkappaBalpha. *Mol Immunol.* 1997;34(14):987–994. doi: 10.1016/s0161-5890(97)00128-4.
24. Pazdrak K, Straub C, Maroto R, et al. Cytokine-induced glucocorticoid resistance from eosinophil activation: protein phosphatase 5 modulation of glucocorticoid receptor phosphorylation and signaling. *J Immunol.* 2016;197(10):3782–3791. doi: 10.4049/jimmunol.1601029.
25. Pace E, Gagliardo R, Melis M, et al. Synergistic effects of fluticasone propionate and salmeterol on in vitro T-cell activation and apoptosis in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;114(5):1216–1223. doi: 10.1016/j.jaci.2004.07.052.

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**\*Петров Вячеслав Алексеевич [Vyacheslav A. Petrov];** адрес: 634001, Томск, ул. Московский тракт, д. 2 г, стр. 18 [address: 2g bld.18, Moskovskiy trakt, 634001 Tomsk, Russia]; **e-mail:** vyacheslav.a.petrov@mail.ru, **SPIN-код:** 9635-2243, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-5205-9739>

**Салтыкова Ирина Владимировна [Irina V. Saltykova];** e-mail: ira.saltikova@mail.ru, **SPIN-код:** 9432-3873, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0457-5392>

**Невская Ксения Владимировна [Ksenia V. Nevskaya];** e-mail: nevskayaksenia@gmail.com, **SPIN-код:** 1405-0472, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-1659-8812>

**Дорофеева Юлия Борисовна [Julia B. Dorofeeva];** e-mail: julia.dorofeeva25@gmail.com, **SPIN-код:** 9890-8870, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9301-4465>

**Лежава София Паатавна [Sofiya P. Lezhava];** e-mail: lezhavasofiya@gmail.com; **SPIN-код:** 9629-7318, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-8806-8231>

**Кириллова Наталья Александровна [Natalya A. Kirillova];** e-mail: kirillova.natalya@gmail.com, **SPIN-код:** 8308-5833, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-9549-9614>

**Куликов Евгений Сергеевич,** д.м.н., профессор [Evgeny S. Kulikov, MD, PhD, professor]; **e-mail:** evgeny.s.kulikov@gmail.com, **SPIN-код:** 9934-1476, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0088-9204>

**Сазонов Алексей Эдуардович [Alexey E. Sazonov];** e-mail: sazonov\_al@mail.ru, **SPIN-код:** 6177-6729, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8611-5770>

**Огородова Людмила Михайловна,** д.м.н., профессор, член-корреспондент РАМН [Ludmila M. Ogorodova, MD, PhD, Professor]; **e-mail:** lm-ogorodova@mail.ru, **SPIN-код:** 4362-8431, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-2962-1076>

А.Э. Эргешов

Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, Москва, Российская Федерация

# Туберкулез в Российской Федерации: ситуация, проблемы и перспективы

*Туберкулез является значимой проблемой общественного здравоохранения как в России, так и в мире. Около 1/3 населения мира инфицировано микобактериями туберкулеза. Ежегодно в мире регистрируется более 10 млн новых случаев заболевания туберкулезом, и около 1,7 млн человек умирает от него. В Российской Федерации в результате мер, предпринятых правительством и органами здравоохранения, эпидемическая ситуация по туберкулезу после резкого ухудшения в 90-е годы прошлого века заметно улучшилась. В то же время рост числа случаев туберкулеза, вызванного лекарственно-устойчивыми микобактериями туберкулеза, и низкая эффективность его лечения, сочетание ВИЧ-инфекции и туберкулеза снижают результативность противотуберкулезных мероприятий. Научные исследования, проводимые ЦНИИТ, который является Сотрудничающим центром ВОЗ по туберкулезу в РФ, направлены на решение таких актуальных задач, как изучение механизмов латентной инфекции, разработка тест-систем для ускоренной диагностики лекарственной устойчивости, клиническая апробация и внедрение коротких эффективных режимов химиотерапии, разработка новых лекарственных препаратов. Успехи, достигнутые к XXI веку в изучении туберкулеза, создают предпосылки для того, чтобы ликвидировать его эпидемию как в мире, так и в России, хотя говорить о близкой победе над туберкулезом пока рано.*

**Ключевые слова:** туберкулез, микобактерия туберкулеза, лекарственная устойчивость, химиотерапия.

(Для цитирования: Эргешов А.Э. Туберкулез в Российской Федерации: ситуация, проблемы и перспективы. Вестник РАМН. 2018;73(5):330–337. doi: 10.15690/vramn1023)

330

## Современная эпидемиология туберкулеза

Туберкулез (ТБ) является значимой проблемой общественного здравоохранения как в России, так и в мире. Около 1/3 населения планеты инфицировано микобактериями туберкулеза (МБТ). Ежегодно в мире регистрируется около 10 млн новых случаев заболевания ТБ, а около 1,7 млн человек умирают от ТБ. Настораживает и тот факт, что доля больных ТБ в сочетании с ВИЧ-инфекцией или ТБ с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) возбудителя, т.е. лекарственной резистентностью как минимум к двум основным противотуберкулезным препаратам — изониазиду и рифампицину, увеличивается. Так, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), количество больных ТБ, ассоциированным с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), составляет 1,03 млн человек, а ТБ с МЛУ — 490 000 человек, и почти каждый второй из них в последующем умирает [1].

Эпидемиологическая ситуация по ТБ в Российской Федерации (РФ) остается напряженной. Пик показателей заболеваемости и смертности от ТБ пришелся на начало XXI века, когда в 2000 г. заболеваемость достигла 90,4 на 100 000 населения, а смертность от туберкулеза в 2005 г. — 22,6 на 100 000 населения (рис. 1).

Благодаря эффективным мерам, предпринятым правительством и органами здравоохранения РФ, эпидемическая ситуация по ТБ в 90-е годы прошлого века заметно улучшилась: по данным Росстата, заболеваемость ТБ снизилась на 46,6%, или в 1,9 раза (с 90,4 на 100 000 населения в 2000 г. до 48,3 в 2017), смертность от ТБ — на 71,7%, или в 3,5 раза (с 22,6 до 6,4 соответственно). Средние темпы снижения смертности в последние годы составляют около 10% в год.

В ближайшем будущем на эпидемиологический процесс будут по-прежнему отрицательно влиять рост доли больных МБТ с МЛУ к противотуберкулезным препаратам и развивающаяся эпидемия ВИЧ-инфекции с ростом

A.E. Ergeshov

Central TB Research Institute (CTRI), Moscow, Russian Federation

## Tuberculosis in the Russian Federation: Situation, Challenges and Perspectives

*Tuberculosis (TB) is a significant problem of public health both in Russia and abroad. About one third of the world's population is infected with Mycobacterium tuberculosis. Every year more than 10 million new TB cases are registered in the world, and about 1.7 million people die from TB. In the Russian Federation, due to the measures taken by the Government and health authorities the epidemic TB situation has been noticeably improved since the sharp deterioration in the 90s of the last century. At the same time, the spread of drug-resistant TB and its low treatment effectiveness, the spread of combined HIV and TB infection reduces the effectiveness of anti-tuberculosis interventions. The research conducted by CTRI, the WHO Collaborating Center for TB in the Russian Federation, is aimed at solving such urgent problems as studying latent infection mechanisms, developing new test systems for accelerated diagnostics of drug resistance, clinical approbation and introduction of short effective regimens of chemotherapy, developing new antituberculosis agents. The achieved successes in the study of tuberculosis in the 21st century creates preconditions for eliminating its epidemic both in Russia and the world, though suggesting imminent breakthrough for tuberculosis is a hasty conclusion.*

**Key words:** tuberculosis, Mycobacterium tuberculosis, drug resistance, chemotherapy.

(For citation: Ergeshov AE. Tuberculosis in the Russian Federation: Situation, Challenges and Perspectives. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2018;73(5):330–337. doi: 10.15690/vramn1023)

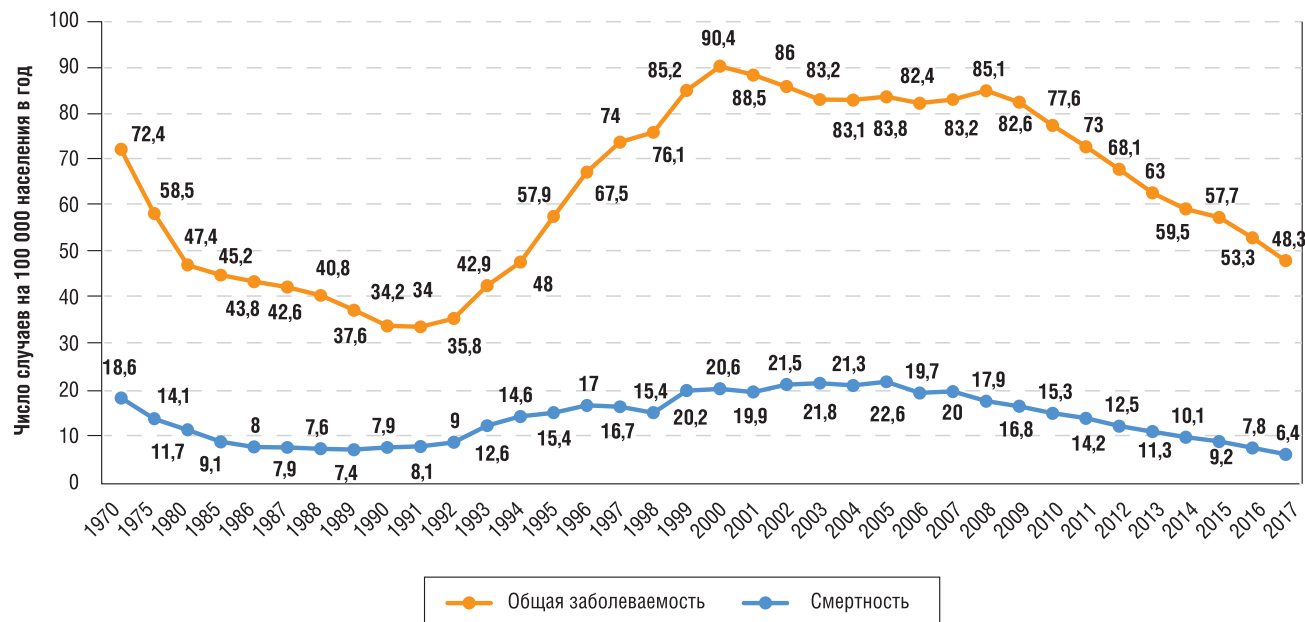


Рис. 1. Заболеваемость и смертность от туберкулеза в Российской Федерации в 1970–2017 гг.

числа и доли пациентов с поздними ее стадиями в сочетании с ТБ, обусловленные в том числе миграцией населения. Так, доля пациентов с МЛУ ТБ среди впервые выявленных больных ТБ органов дыхания, выделяющих МБТ, составляет 27,4%, а среди ранее пролеченных — более половины случаев (54%). Доля пациентов с ТБ, сочетанным с ВИЧ-инфекцией, с 2009 по 2017 г. увеличилась более чем в 3 раза как среди впервые выявленных (с 6,5 до 20,9%), так и среди ранее пролеченных (с 5,5 до 18,5%) (рис. 2).

Доля мигрантов среди впервые выявленных больных ТБ значительна и варьирует в широких пределах: в Мо-

сковской обл. — 7,1%, в Калужской обл. — 26%, в Москве — 31,7%.

Тем не менее успехи, достигнутые в борьбе с ТБ в XXI веке, дали Всемирной организации здравоохранения основание принять **Глобальную стратегию в области профилактики, лечения и борьбы с туберкулезом на период после 2015 г.** Основная цель стратегии ВОЗ — ликвидировать глобальную эпидемию ТБ: мир без ТБ, без смертей, заболеваний и страданий от ТБ. Предусматривается снижение числа умерших от ТБ на 35% с 2015 к 2020 г., к 2025 — на 75%, к 2030 — на 90%, к 2035 — на 95% и

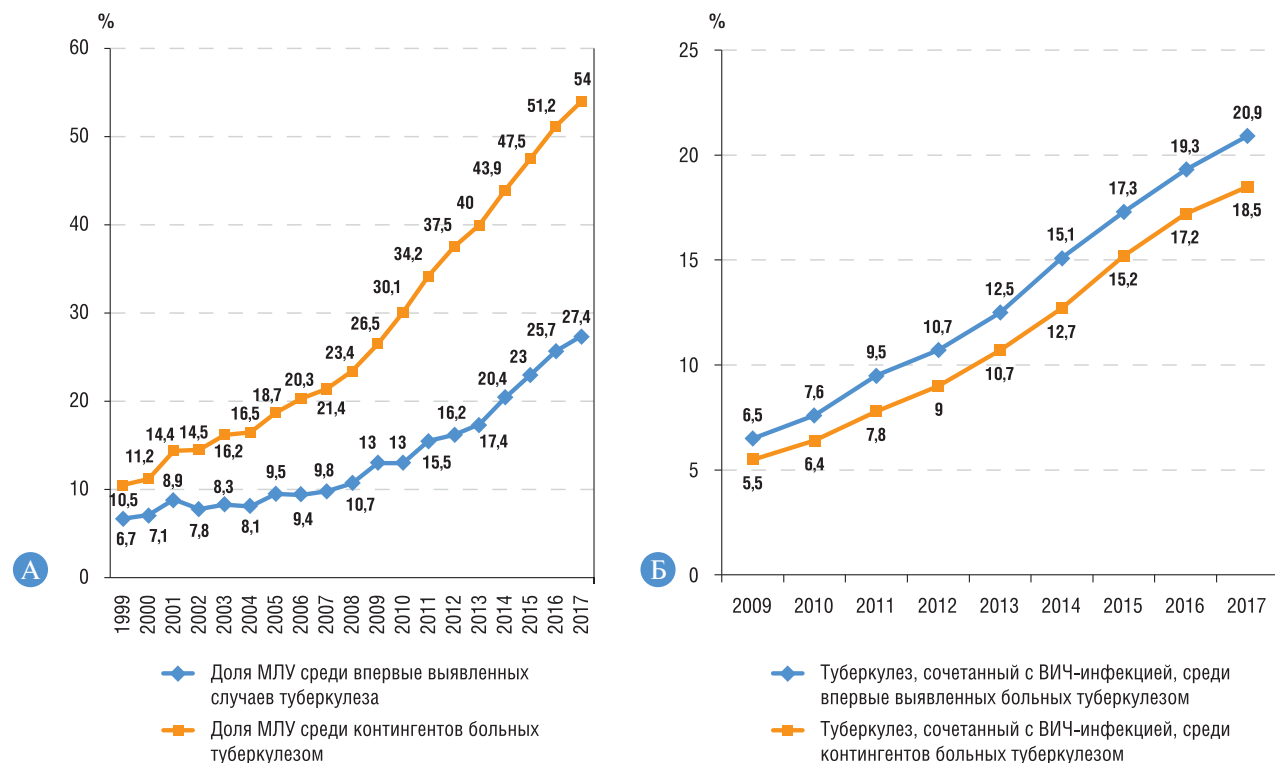


Рис. 2. Эпидемиологический процесс по туберкулезу в Российской Федерации

Примечание. А — туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя (МЛУ ТБ) в России в 1999–2017 гг. (форма федерального статистического наблюдения № 33); Б — туберкулез, сочетанный с ВИЧ-инфекцией, 2009–2017 гг. (ФСН № 33).



снижение показателя заболеваемости с 2015 к 2020 г. на 20% (<85/100 000), к 2030 — на 90% (20/100 000), к 2035 — на 95% (<10/100 000).

Впервые в истории ВОЗ в ноябре 2017 г. в Москве прошла первая Глобальная министерская конференция ВОЗ «Ликвидировать туберкулез. Многосекторальный подход». В Московской декларации сформулированы ключевые стратегические направления и первоочередные мероприятия по ликвидации ТБ в мире. Основные направления и первоначальные мероприятия должны быть ориентированы на разработку новых диагностических алгоритмов, мер биологической безопасности. Особое внимание должно быть уделено подготовке и переподготовке кадров, осуществляющих профилактику, диагностику и лечение ТБ; разработке и быстрому внедрению новых лекарственных средств, укороченных режимов лечения; межсекторальному подходу к решению проблемы доступности медицинской помощи.

Основные научные направления ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза» (далее ЦНИИТ) предусматривают изучение биологических свойств МБТ, разработку быстрых методов диагностики ТБ, разработку и испытание новых поколений химиопрепаратов и вакцин, совершенствование режимов химиотерапии и решение ряда других проблем.

### Микробиология и молекулярная генетика микобактериальных инфекций

Огромное значение в развитии научных исследований имеет работа в области микробиологии и молекулярной генетики микобактериальных инфекций. Она направлена как на осуществление фундаментальных, так и прикладных образовательных программ. Особую актуальность в настоящее время приобретает сокращение сроков диагностики ТБ, т.к. микобактерии являются трудно культивируемыми и медленно растущими патогенами. Сроки получения результата микробиологической диагностики ранее могли достигать 12 нед. В ЦНИИТ разработаны и внедрены передовые технологии, направленные на ускоренное получение результата исследования в сочетании с высокой надежностью [2–5].

Автоматизация диагностики методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), основанная на внедрении в диагностические исследования автоматизированной станции (Freedom EVO 150, Tecan, Швейцария) с разработкой как технологии, так и оригинальной управляющей программы, позволила повысить чувствительность молекулярно-генетических тестов, снизить вероятность контаминации при выделении ДНК, сократить трудозатраты и существенно увеличить поток проводимых исследований до 90 образцов диагностического материала в день [6].

С целью обеспечения биобезопасности был создан и всесторонне протестирован инактивирующий реагент, обладающий стерилизующей активностью в отношении микобактерий и одновременно повышающий выход ДНК [7].

Для экспресс-детекции устойчивости к рифампицину, изониазиду и фторхинолонам совместно с ООО «Синтол» были разработаны ПЦР тест-системы, позволяющие определить лекарственную устойчивость МБТ в течение 3 ч. Все тест-системы прошли клинические испытания и зарегистрированы в соответствии с российским законодательством [8, 9].

Разработанные совместно с Институтом молекулярной биологии РАН биологические микрочипы выявляют лекарственную устойчивость по большому числу мутаций в целевых генах в течение 24 ч, а также сполито-биочипы, которые позволяют проводить дифференциацию видов возбудителя ТБ внутри туберкулезного комплекса и определять основные генотипические линии МБТ, что важно с эпидемиологической и клинической точки зрения [10–13].

Актуальными являются фундаментальные исследования нетуберкулезных микобактерий [14–17]. В ЦНИИТ исследования нетуберкулезных микобактерий направлены на создание тест-систем для ускоренной диагностики микобактериоза и изучение генома возбудителей. Оригинальной разработкой является создание ПЦР тест-системы, позволяющей непосредственно в диагностическом материале определять одновременно наличие ДНК МБТ и 14 основных клинически значимых видов нетуберкулезных микобактерий для их дифференциации [18].

В рамках изучения особенностей генома нетуберкулезных микобактерий проведено полногеномное секвенирование ДНК трех штаммов туберкулезных микобактерий видов *Mycobacterium goodii*, *Mycobacterium malmoeense* и *Mycobacterium heckeshornense*, сборки геномов которых были депонированы в базу данных GenBank NCBI (Национальный центр биотехнологической информации, США) [19, 20].

Для изучения видового разнообразия нетуберкулезных микобактерий применяется масс-спектрометрический анализ, характеризующий индивидуальные профили рибосомальных белков. Ученые ЦНИИТ охарактеризовали спектры более чем 20 видов нетуберкулезных микобактерий, включенных в базу данных MALDI Biotyper systems (Bruker Corporation, Германия), которая используется лабораторными специалистами мирового сообщества для идентификации выявляемых микроорганизмов [21, 22].

Перспективное направление научных исследований связано с таргетным секвенированием генов для поиска основ лекарственной резистентности МБТ, особенно к резервным противотуберкулезным препаратам, а также различия видов нетуберкулезных микобактерий [23–27].

Развитие молекулярно-эпидемиологических исследований в ЦНИИТ позволило описать основные генетические линии МБТ, циркулирующих на отдельных территориях РФ. Еще в 2003 г. было показано преобладание МБТ линии W-Beijing. В РФ были выделены МБТ линий Haarlem, LAM и T, каждая из которых представлена несколькими сублиниями [28].

Изучение генетического полиморфизма штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от ВИЧ-положительных и ВИЧ-негативных больных ТБ, показало большую кластеризацию (меньшее разнообразие) штаммов МБТ, выделенных от ВИЧ-положительных больных. Полученные результаты могут служить основой к совершенствованию противоэпидемических и лечебно-диагностических мероприятий в отношении микобактериальных инфекций у ВИЧ-инфицированных лиц [29].

Молекулярно-эпидемиологические исследования распространенности нетуберкулезных микобактерий показали видовое разнообразие нетуберкулезных микобактерий, циркулирующих на различных территориях РФ. Описано преобладание и отсутствие отдельных видов нетуберкулезных микобактерий в ряде регионов [30].

### Иммунологические методы диагностики туберкулеза

Далеко не во всех случаях в исследуемом материале удается обнаружить возбудитель ТБ, особенно у детей при ограниченных формах процесса, поэтому важная роль в диагностике ТБ принадлежит иммунологическим методам, которые также позволяют получить важную информацию об инфицированности населения МБТ.

Для определения инфицирования наиболее широко распространены кожные пробы, которые применяются уже около сотни лет. Наряду с пробой Манту с 2 ТЕ туберкулина Линниковой, традиционно применявшейся в нашей стране, в последние годы получила широкое распространение проба с антигеном туберкулезным рекомбинантным (Диаскинтест). Эта проба способна дифференцировать состояние инфицированности МБТ от поствакциновой аллергии [31]. Кожные пробы являются важными для определения инфицированности населения и выявления лиц, требующих дообследования на предмет наличия у них активного ТБ.

Вместе с тем необходимо учитывать, что ни один из применяемых для данных целей способов не гарантирует стопроцентной уверенности в истинности получаемого результата. Наблюдения показывают, что в очагах заражения или в случаях высокой региональной заболеваемости ТБ кожные пробы у ряда лиц остаются отрицательными, несмотря на высокую вероятность инфицирования.

В диагностике ТБ и его дифференциальной диагностике с другими заболеваниями особое значение приобрели способы, основанные на определении специфического иммунного ответа к антигенам МБТ. Это касается и серологических методов, которые основаны на выявлении антител к антигенам МБТ или самих антигенов микобактерий в биологических жидкостях. Преимуществом данных методов являются скорость и простота постановки теста, относительно низкая стоимость и выполнение в условиях *in vitro*. Существенный недостаток большинства серологических тестов — их невысокие чувствительность и специфичность.

На сегодняшний день наиболее широко для диагностики ТБ используются так называемые интерфероновые тесты (IGRAs), основанные на оценке гениндуцированной продукции интерферона (interferon, IFN)  $\gamma$  клетками крови. В качестве антигенов в тестах IGRAs используют специфичные антигены для вирулентной культуры микобактерий (EAST-6, CFP-10). В тесте QuantiFERON-TB Gold In-Tube определяют уровень стимулированной продукции IFN $\gamma$  клетками крови. В тест-системе T-SPOT определяют количество клеток, продуцирующих IFN $\gamma$  в ответ на стимуляцию указанными антигенами. Многочисленные исследования, посвященные диагностике ТБ, выявили, что в регионах с высокой распространенностью ТБ чувствительность тестов IGRAs невысока, что обусловлено присутствием в популяции большого числа больных с длительно текущим ТБ и частым развитием анергии. Так, в Индии положительные результаты QuantiFERON-TB Gold In-Tube отмечались у 44 из 60 больных с подтвержденным диагнозом ТБ (73%), в Гамбии — у 52 из 80 (64%), в Южной Африке — у 103 из 136 (76%), в Индонезии — у 82 из 93 (89%) [32–34].

Определение специфичности IGRAs показало, что в регионах с высокой распространенностью ТБ около 50% обследованных людей без признаков заболевания ТБ имели положительные результаты тестов IGRAs. Напро-

тив, в регионах с низкой распространенностью ТБ специфичность тестов превышает 90% [35, 36].

Следовательно, несмотря на то, что в странах с низкой распространенностью ТБ методы IGRAs успешно применяются как скрининговые, с их помощью невозможно отличить латентную инфекцию от активного процесса, что ограничивает их использование в регионах с высокой распространенностью инфекции.

Для разграничения активного ТБ и латентной инфекции предложено определение содержания в крови лимфоцитов, отвечающих на стимуляцию антигенами МБТ продукцией сразу нескольких цитокинов (полифункциональные лимфоциты) или только одного цитокина (монофункциональные лимфоциты). Определение таких лимфоцитов проводят с помощью проточной цитометрии [37–39].

Важным показателем состояния Т-клеточного иммунитета является не только способность лимфоцитов Th1 к продукции цитокинов, но и степень их дифференцировки. Исследования, проведенные в последние годы, в том числе в ЦНИИТ, показали, что активный ТБ сопровождается образованием в легочной ткани и постепенным накоплением в крови высокодифференцированных эффекторных лимфоцитов CD4<sup>+</sup>, имеющих фенотип CD27<sup>-</sup>. По нашим предварительным данным, содержание МБТ-специфичных клеток CD4<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup> выше 31,2% позволяет дифференцировать активный ТБ от инфицирования с чувствительностью 82% и специфичностью 90% [40].

Таким образом, в настоящее время иммунологические методы находят широкое применение для выявления заболевания и инфицирования ТБ. Вместе с тем детекция инфицированности и/или заболевания ТБ с помощью одного из иммунологических методов может дать ошибочный ответ в силу генетически детерминированных особенностей отдельных индивидуумов. Более точные сведения могут быть получены лишь при комплексном обследовании.

### Новые направления диагностики туберкулеза и изучения механизмов формирования лекарственной устойчивости возбудителя

Важное значение приобретает научное решение проблемы формирования механизмов лекарственной устойчивости соматических клеток к противотуберкулезным препаратам. К настоящему времени в эпителиальных и макрофагальных клетках легкого обнаружено присутствие четырех транспортных белков (MDR1, MRP1, BCRP и LRP), ответственных за развитие МЛУ [41, 42]. Они функционируют в качестве «насосов», постоянно выводящих во внешнюю среду токсические вещества (лекарственные препараты), тем самым препятствуя их накоплению в тканях легкого и очагах воспаления [43]. В этой связи необходимо изучить влияние разных факторов туберкулезного воспаления на экспрессию белков МЛУ и на фармакокинетику противотуберкулезных препаратов при химиотерапии ТБ. В настоящее время разрабатывается методическая база для оценки экспрессии белков МЛУ в операционном материале больных, длительно получавших противотуберкулезные препараты, с целью своевременной коррекции и повышения эффективности проводимого лечения.

Одним из современных методов выявления МБТ в легочной ткани является лазерная сканирующая

конфокальная микроскопия, для чего могут быть использованы гистологические срезы толщиной 50–60 мкм. Это значительно расширяет диагностические возможности изучения клинического материала, позволяет выявить одиночные формы возбудителя, оценить его локализацию в разных зонах туберкулезного воспаления [44]. Проведение 3D-реконструкции проанализированных срезов позволяет составить представление о численности и особенностях распределения колоний МБТ в тканях.

Важным преимуществом метода является возможность проведения анализа спектров испускания флуоресценции различных структур, локализованных в исследованных образцах и сходных (по своим размерам и форме) с МБТ [45]. Это позволяет исключить неспецифическую люминесценцию объектов исследования и обеспечить достоверность полученных результатов.

В диагностике ТБ важная роль принадлежит эндоскопическим методам, которые помогают получить информативный диагностический материал при подозрении на ТБ или установить альтернативный диагноз.

### Повышение эффективности лечения больных туберкулезом

Основой современного лечения пациентов с ТБ является противотуберкулезная химиотерапия, которая заключается в длительном применении оптимальной комбинации лекарственных препаратов, уничтожающих МБТ или подавляющих их размножение в организме пациента. В зависимости от лекарственной чувствительности возбудителя пациентам назначают один из 5 стандартных режимов химиотерапии, длительность которых варьирует от полугода до 2 лет, а количество применяемых противотуберкулезных препаратов — не менее трех.

Результаты лечения в значительной степени зависят от своевременного выявления лекарственной устойчивости МБТ. По данным ВОЗ за 2016 г., эффективность лечения больных ТБ в мире составила 83% при отсутствии лекарственной устойчивости МБТ, в то время как у пациентов с МЛУ МБТ она не превышала 52%, а при наличии широкой лекарственной устойчивости МБТ — 26% [1]. Эффективность лечения в группе больных с МЛУ МБТ, получавших IV режим химиотерапии, значительно выше по клинико-лабораторным показателям в случаях ускоренного определения рифампицин-резистентности молекулярно-генетическими методами: устранение интоксикационного синдрома к 4-му месяцу лечения наступило у 78% пациентов группы с ранним назначением химиотерапии по сравнению с 54% больных, получавших отсроченное лечение ( $p < 0,05$ ) [46].

В ЦНИИТ получен первый опыт применения нового противотуберкулезного препарата — бедаквилина — для лечения больных с широкой лекарственной устойчивостью МБТ. Включение бедаквилина в комбинацию противотуберкулезных препаратов по V режиму химиотерапии позволяло добиться более раннего прекращения бактериовыделения и лучшей рентгенологической динамики изменений в легких. Показана возможность совместного применения бедаквилина и моксифлоксацина, которое не приводило к увеличению интервала QT у большинства больных [47].

Важный вклад в комплексное лечение больных ТБ вносят современные эндоскопические методы:

- ригидная бронхоскопия высокого разрешения значительно расширяет возможности бронхолога при

выполнении эндобронхиальных оперативных вмешательств;

- перибронхиальные инъекции противотуберкулезных препаратов у пациентов с ТБ трахеи и бронхов позволяют значительно ускорить прекращение бактериовыделения и избежать формирования рубцовых стенозов дыхательных путей;
- клапанная бронхоблокация за счет управляемого ателектаза легочной ткани с помощью однонаправленного эндобронхиального клапана позволяет эффективно редуцировать как туберкулезные, так и поствоспалительные каверны в легочной ткани.

Приоритетной задачей хирургического отдела ЦНИИТ является выполнение обширных хирургических вмешательств с максимальным сохранением функциональных резервов и внешнего вида пациентов при объеме операции, адекватном распространенности и характеру туберкулезного процесса.

В соответствии с поставленной задачей в последние годы были разработаны инновационные хирургические технологии:

- бескультевая обработка главного бронха при пневмонэктомии с применением высокоэнергетического лазера и оригинальной методики плевризации культи, что обеспечивает раннюю васкуляризацию в условиях асептического некроза (во время плевризации листки плевры фиксируются к ручному шву культи, исключая околокультевое недренируемое пространство, которое может служить источником воспаления и несостоятельности);
- технология этапного хирургического лечения двустороннего деструктивного туберкулеза легких с применением экстраплеврального пневмолиза с пломбировкой силиконовым имплантатом на стороне наименьшего и плевропневмонэктомии — на стороне наибольшего поражения позволяет улучшить состояние больного за счет прекращения перерастяжения ткани легкого и улучшения вентиляции;
- деструкция высокоэнергетическим лазером туберкулезных очагов в оставляемом легком при резекционных операциях показана при снижении дыхательных резервов с потенциальным развитием у больных дыхательной недостаточности в случае выполнения резекции легкого;
- пластика переднего средостения при пневмонэктомии позволяет надежно предотвратить формирование легочной грыжи после операции, избежать серьезных осложнений и улучшить качество жизни больных.

Дифференцированный подход к определению сроков лечения после операции, с одной стороны, позволяет уменьшить риск развития рецидива заболевания, с другой — избежать необоснованно длительной химиотерапии. В соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями по диагностике и лечению туберкулеза длительность химиотерапии в послеоперационном периоде должна составлять не менее 6 мес при сохраненной лекарственной чувствительности МБТ и не менее 12 мес при множественной/широкой лекарственной устойчивости возбудителя. В клинике ЦНИИТ *впервые в РФ и в мире* обоснованы и внедрены краткосрочные режимы химиотерапии ТБ органов дыхания после хирургического лечения у детей и подростков. Первые результаты исследования свидетельствуют о том, что в соответствии с разработанными нами критериями сроки химиотерапии после хирургического лечения у большей части (69%) детей старшего возраста и подростков могут составлять

3–6 мес, в том числе и при множественной/широкой лекарственной устойчивости МБТ. Получен патент на изобретение № 2626509 от 28.07.2017 «Способ дифференцированного подхода к срокам химиотерапии после хирургического лечения».

### Заключение

Таким образом, успехи, достигнутые к XXI веку в лечении ТБ, создают предпосылки для того, чтобы ликвидировать его эпидемию как в мире, так и в России, тем не менее говорить о близкой победе над ТБ пока рано.

Необходимыми мероприятиями по ускорению элиминации туберкулеза в России на сегодня являются поддержка научных исследований и разработок новых инструментов борьбы с ТБ; внедрение новых диагностических алгоритмов и ускоренных диагностических тестов для выявления ТБ, в том числе у ВИЧ-положительных и ВИЧ-отрицательных пациентов; разработка и быстрое внедрение новых организационных мероприятий для профилактики ТБ у детей, взрослых, в том числе у ВИЧ-инфицированных; разработка и внедрение пер-

сонализированных, укороченных и эффективных режимов лечения больных ТБ с множественной/широкой лекарственной устойчивостью возбудителя, включающих хирургические и патогенетические методы; разработка новых эффективных противотуберкулезных препаратов; разработка и усовершенствование микробиологических и молекулярно-генетических методов для определения лекарственной устойчивости МБТ; укрепление кадрового потенциала, внедрение новых обучающих программ и новых национальных клинических рекомендаций с применением телекоммуникационных технологий.

### Источник финансирования

Поисково-аналитическая работа, подготовка и публикация статьи осуществлены на личные средства автора.

### Конфликт интересов

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

### ЛИТЕРАТУРА

1. WHO. Global Tuberculosis Report [Internet]. WHO; 2017 [cited 2017 Dec 1]. Available from: [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/).
2. Смирнова Т.Г., Андреевская С.Н., Черноусова Л.Н. *Молекулярно-генетическая диагностика туберкулеза и ЛУ МБТ*. В кн.: *Туберкулез органов дыхания. Руководство для врачей*. / Под ред. проф. Эргешова А.Э. — М.: ООО «Галлея-Принт»; 2017. — С. 213–224. [Smirnova TG, Andreevskaya SN, Chernousova LN. *Molekulyarno-geneticheskaya diagnostika tuberkuleza i LU MBT*. In: *Pulmonary tuberculosis. Guidelines for physicians*. Ed by Ergeshov A.E. Moscow: Galleya-Print; 2017. pp. 213–224. (In Russ).]
3. Ларионова Е.Е., Андриевская И.Ю. *Микробиологические методы диагностики туберкулеза*. В кн.: *Туберкулез органов дыхания. Руководство для врачей*. / Под ред. проф. Эргешова А.Э. — М.: ООО «Галлея-Принт»; 2017. — С. 203–213. [Larionova EE, Andrievskaya IYu. *Microbiologicheskie metody diagnostiki tuberkuleza*. In: *Pulmonary tuberculosis. Guidelines for physicians*. Ed by Ergeshov A.E. Moscow: Galleya-Print; 2017. pp. 203–213. (In Russ).]
4. Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Черноусова Л.Н. *Возбудитель туберкулеза: строение, генетика, физиология, лекарственная устойчивость, нетуберкулезные микобактерии*. В кн.: *Туберкулез органов дыхания. Руководство для врачей*. / Под ред. проф. Эргешова А.Э. — М.: Галлея-Принт; 2017. — С. 10–33. [Andreevskaya SN, Smirnova TG, Chernousova LN. *Vozbuditel' tuberkuleza: stroenie, genetika, fiziologiya, lekarstvennaya ustoychivost', netuberkuleznye mikobakterii*. In: *Pulmonary tuberculosis. Guidelines for physicians*. Ed by Ergeshov A.E. Moscow: Galleya-Print; 2017. pp. 10–33. (In Russ).]
5. Черноусова Л.Н., Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., и др. Лекарственно-устойчивый туберкулез: перспективы ускоренной диагностики // *Бактериология*. — 2017. — Т.2. — №1 — С. 25–34. [Chernousova LN, Andreevskaya SN, Smirnova TG, et al. Drug-resistant tuberculosis: the prospects for accelerated diagnostics and chemotherapy. *Bacteriologiya*. 2017;2(1):25–34. (In Russ).]
6. Андреевская С.Н. *Новейшие технологии в микробиологической диагностике туберкулеза*. / Российская научно-практическая конференция молодых ученых с международным участием, посвященная всемирному Дню борьбы с туберкулезом «Современные инновационные технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей»; Март 22–23, 2018; Москва. [Andreevskaya SN. *Noveishie tekhnologii v mikrobiologicheskoi diagnostike tuberkuleza*. (Conference proceedings) Rossiiskaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya molodykh uchenykh s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennaya vseмирному dnyu bor'by s tuberkulezom: «Sovremennye innovatsionnye tekhnologii v epidemiologii, diagnostike i lechenii tuberkuleza vzroslykh i detei»; 2018 mar 22–23; Moscow. (In Russ).]
7. Патент РФ на изобретение RU № 2574917. Варламов Д.А., Сочивко Д.Г., Аляпкина Ю.С., и др. *Реагент, позволяющий инактивировать микроорганизмы, экстрагировать и сохранять ДНК бактерий в форме, пригодной для высокоэффективной молекулярной диагностики*. [Patent RUS № 2574917. Varlamov DA, Sochivko DG, Alyapkina YuS, et al. *Reagent, pozvolayushchii inaktivirovat' mikroorganizmy, ekstragirovat' i sokhranyat' DNK bakterii v forme, prigodnoi dlya vysokoeffektivnoi molekulyarnoi diagnostiki*. (In Russ).] Доступно по: <http://www.freepatent.ru/patents/2574917>. Ссылка активна на 13.04.2018.
8. Черноусова Л.Н., Ларионова Е.Е., Смирнова Т.Г., и др. Фенотипическая чувствительность к противотуберкулезным препаратам штаммов *M. tuberculosis* с мутациями, ассоциированными с устойчивостью к рифампицину и изониазиду // *Вестник ЦНИИТ*. — 2017. — №1 — С. 10–18. [Chernousova LN, Larionova EE, Smirnova TG, et al. Phenotypic susceptibility to TB drugs in *M. tuberculosis* strains with mutations associated with rifampicin- and isoniazid-resistance. *CTRI Bulletin*. 2017;(1):10–18. (In Russ).]
9. Аляпкина Ю.С., Ларионова Е.Е., Смирнова Т.Г., и др. Изучение спектра и частоты встречаемости мутаций гена *embB* микобактерий туберкулезного комплекса, ассоциируемых с устойчивостью к этамбутолу, методом полимеразной цепной реакции в реальном времени // *Туберкулез и болезни легких*. — 2017. — Т.95. — №11 — С. 27–35. [Alyapkina YuS, Larionova EE, Smirnova TG, et al. Investigation of ranges and frequency of mutations in the *embB* gene in *Mycobacterium tuberculosis* associated with resistance to ethambutol using real-time polymerase chain

- reaction. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2017;95(11):27–35. (In Russ.) doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-11-27-35.
10. Ergeshov A, Andreevskaya SN, Larionova EE, et al. The spectrum of mutations in genes associated with resistance to rifampicin, isoniazid, and fluoroquinolones in the clinical strains of *M. tuberculosis* reflects the transmissibility of mutant clones. *Mol Biol*. 2017;51(4):595–602. doi: 10.7868/S0026898417030041.
  11. Mikhailovich V, Lapa S, Gryadunov D, et al. Identification of rifampin-resistant mycobacterium tuberculosis strains by hybridization, PCR, and ligase detection reaction on oligonucleotide microchips. *J Clin Microbiol*. 2001;39(7):2531–2540. doi: 10.1128/JCM.39.7.2531-2540.2001.
  12. Gryadunov D, Mikhailovich V, Lapa S, et al. Evaluation of hybridization on oligonucleotide microarrays for analysis of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Infect*. 2005;11(7):531–539. doi: 10.1111/j.1469-0691.2005.01183.x.
  13. Антонова О.В., Грядун Д.А., Лапа С.А., и др. Выявление мутаций в геноме *Mycobacterium tuberculosis*, приводящих к устойчивости к фторхинолонам методом гибридизации на биологических микрочипах // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. — 2008. — Т.145. — №1 — С. 115–121. [Antonova OV, Gryadunov DA, Lapa SA, et al. Detection of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* genome determining resistance to fluoroquinolones by hybridization on biological microchips. *Biull Eksp Biol Med*. 2008;145(1):115–121. (In Russ).]
  14. Петрова Л.В., Мельникова Е.И., Соловьев Ю.А., и др. Выявление нетуберкулезных микобактерий в Республике Марий Эл // *Туберкулез и болезни легких*. 2018. — Т.96. — №2 — С. 41–46. [Petrova LV, Melnikova EI, Soloviev YuA, et al. Detection of non-tuberculous mycobacteria in Mari El republic. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2018;96(2):41–46. (In Russ).] doi: 10.21292/2075-1230-2018-96-2-41-46.
  15. Шмелев Е.И., Ковалевская М.Н., Эргешов А.Э., и др. Микобактериозы в практике врача-пульмонолога: состояние проблемы // *Практическая пульмонология*. — 2016. — №3 — С. 37–43. [Shmelev EI, Kovalevskaya MN, Ergeshov AE, et al. Pulmonary mycobacterioses: the state of problem. *Prakticheskaya pulmonologiya*. 2016;(3):37–43. (In Russ).]
  16. Эргешов А.Э., Шмелев Е.И., Ковалевская М.Н., и др. Нетуберкулезные микобактерии у пациентов с заболеваниями органов дыхания (клинико-лабораторное исследование) // *Пульмонология*. — 2016. — Т.26. — №3 — С. 303–308. [Ergeshov AE, Shmelev EI, Kovalevskaya MN, et al. Nontuberculous mycobacteria in patients with respiratory diseases (a clinical study). *Pulmonology*. 2016;26(3):303–308. (In Russ).] doi: 10.18093/0869-0189-2016-26-3-303-308.
  17. Эргешов А.Э., Шмелев Е.И., Ковалевская М.Н., и др. Микобактериозы в практике врачей пульмонологов и фтизиатров // *Туберкулез и болезни легких*. — 2016. — Т.94. — №9 — С. 39–43. [Ergeshov AE, Shmelev EI, Kovalevskaya MN, et al. Mycobacteriosis in the practice of pulmonologists and phthisiologists. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2016;94(9):39–43. (In Russ).] doi: 10.21292/2075-1230-2016-94-9-39-43.
  18. Устинова В.В., Смирнова Т.Г., Варламов Д.А., и др. Выявление и дифференциация нетуберкулезных микобактерий и микобактерий туберкулезного комплекса методом ПЦР в режиме реального времени // *Туберкулез и болезни легких*. — 2016. — Т.94. — №9 — С. 80–87. [Ustinova VV, Smirnova TG, Varlamov DA, et al. Detection and differentiation of nontuberculous mycobacteria and mycobacteria of MTBC by real-time PCR. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2016;94(9):80–87. (In Russ).] doi: 10.21292/2075-1230-2016-94-9-80-87.
  19. Ustinova V, Smirnova T, Blagodatskikh K, et al. First draft genome sequence of a *Mycobacterium gordonae* clinical isolate. *Genome Announc*. 2016;4(3):e00638–16. doi: 10.1128/genomeA.00638-16.
  20. Ustinova V, Smirnova T, Varlamov D, et al. Draft genome sequence of *Mycobacterium heckeshornense* clinical isolate. *Genome Announc*. 2018;6(13):e00178–18. doi: 10.1128/genomeA.00178-18.
  21. Shitikov E, Ilina E, Chernousova L, et al. Mass spectrometry based methods for the discrimination and typing of mycobacteria. *Infect Genet Evol*. 2012;12(4):838–845. doi: 10.1016/j.meegid.2011.12.013.
  22. Смирнова Т.Г., Воробьева А.В., Ларионова Е.Е., и др. MALDI-TOF масс-спектрометрия для видовой идентификации нетуберкулезных микобактерий // *Туберкулез и болезни легких*. — 2011. — Т.88. — №5 — С. 164–165. [Smirnova TG, Vorob'eva AV, Larionova EE, et al. MALDI-TOF mass spectrometry for species identification of nontuberculous mycobacteria. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2011;88(5):164–165. (In Russ).]
  23. Андреевская С.Н., Андриевская И.Ю., Смирнова Т.Г., и др. Альтерации в генах *rncA* и *rpsA* и активность пиразинамидазы у штаммов *M. tuberculosis* фенотипически чувствительных и устойчивых к пиразинамиду // *Вестник ЦНИИТ*. — 2018. — №2 — С. 74–84. [Andreevskaya SN, Andrievskaya IYu, Smirnova TG, et al. Alterations in the *rncA* and *rpsA* genes and pyrazinamidase activity in *M. tuberculosis* strains with phenotypic sensitivity or resistance to pyrazinamide. *CTRI Bulletin*. 2018;(2):74–84. (In Russ).]
  24. Панов Г.В., Андреевская С.Н., Ларионова Е.Е., и др. Анализ мутаций микобактерий туберкулеза, определяющих их лекарственную устойчивость у больных с нелеченым туберкулезом легких при разном ВИЧ-статусе в Свердловской области // *Туберкулез и болезни легких*. — 2017. — Т.95. — №2 — С. 27–32. [Panov GV, Andreevskaya SN, Larionova EE, et al. Analysis of mutations of tuberculous mycobacteria defining drug resistance in HIV-positive and HIV-negative tuberculosis patients without prior history of treatment in Sverdlovsk region. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2017;95(2):27–32. (In Russ).] doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-2-27-32.
  25. Ilina EN, Shitikov EA, Ikryannikova LN, et al. Comparative genomic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* drug resistant strains from Russia. *PLoS One*. 2013;8(2):e56577. doi: 10.1371/journal.pone.0056577.
  26. Афанасьев М.В., Икрянникова Л.Н., Ильина Е.Н., и др. Применение реакции мини-секвенирования с последующим MALDI-TOF масс-спектрометрическим анализом для оценки устойчивости к рифампицину и изониазиду штаммов *Mycobacterium tuberculosis* // *Проблемы туберкулеза и болезней легких*. — 2007. — Т.84. — №7 — С. 37–42. [Afanas'ev MV, Ikryannikova LN, Ilina EN, et al. Primeneniye reaktsii minisekvenirovaniya s posleduyushchim MALDI-TOF mass-spektrometricheskim analizom dlya otsenki ustoichivosti k rifampitsinu i izoniazidu shtammov *Mycobacterium tuberculosis*. *Probl Tuberk Bolezn Legk*. 2007;84(7):37–42. (In Russ).]
  27. Ikryannikova LN, Afanas'ev MV, Akopian TA, et al. Mass-spectrometry based minisequencing method for the rapid detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Microbiol Methods*. 2007;70(3):395–405. doi: 10.1016/j.mimet.2007.05.015.
  28. Карачунский М.А., Черноусова Л.Н. Молекулярная эпидемиология туберкулеза // *Проблемы туберкулеза и болезней легких*. — 2007. — Т.84. — №4 — С. 3–7. [Karachunsky MA, Chernousova LN. Molekulyarnaya epidemiologiya tuberkuleza. *Probl Tuberk Bolezn Legk*. 2007;84(4):3–7. (In Russ).]
  29. Панов Г.В., Андреевская С.Н., Ларионова Е.Е., и др. Сполитипирование штаммов микобактерий, выделенных от ВИЧ-отрицательных и ВИЧ-положительных больных туберкулезом Свердловской области // *Бактериология*. — 2017. — Т.2. — №2 — С. 14–19. [Panov GV, Andreevskaya SN, Larionova EE, et al. Spoligotyping of *M. tuberculosis* strains, isolated from HIV-positive and HIV-negative TB patients of Sverdlovsk region. *Bacteriologiya*. 2017;2(2):14–19. (In Russ).]

336

30. Аксенова В.А., Барышникова Л.А., Сокольская Е.А. Новые возможности диагностики туберкулезной инфекции у детей и подростков // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. — 2011. — Т.56. — №4 — С. 90–96. [Aksenova VA, Baryshnikova LA, Sokolskaya EA. New possibilities for the diagnosis of tuberculosis infection in children and adolescents. *Rossiyskii vestnik perinatologii i pediatrii (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics)*. 2011;56(4):90–96. (In Russ).]
31. Смирнова Т.Г., Андреевская С.Н., Ларионова Е.Е., и др. Мониторинг видового разнообразия нетуберкулезных микобактерий в ряде областей РФ с использованием ДНК-стрипов генотипа *Mycobacterium CM/AS* (Hain Lifescience, Германия) // *Туберкулез и болезни легких*. — 2017. — Т.95. — №5 — С. 54–59. [Smirnova TG, Andreevskaya SN, Larionova EE, et al. Monitoring of species diversity of non-tuberculosis mycobacteria in the some Russian regions using DNA-strips of genotype *mycobacterium CM/AS* (Hain Lifescience, Germany). *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2017;95(5):54–59. (In Russ).] doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-5-54-59.
32. Dogra S, Narang P, Mendiratta DK, et al. Comparison of a whole blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. *J Infect*. 2007;54(3):267–276. doi: 10.1016/j.jinf.2006.04.007.
33. Hill PC, Brookes RH, Adetifa IM, et al. Comparison of enzyme-linked immunospot assay and tuberculin skin test in healthy children exposed to *Mycobacterium tuberculosis*. *Pediatrics*. 2006;117(5):1542–1548. doi: 10.1542/peds.2005-2095.
34. Tsiouris SJ, Coetzee D, Toro PL, et al. Sensitivity analysis and potential uses of a novel gamma interferon release assay for diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol*. 2006;44(8):2844–2850. doi: 10.1128/JCM.02411-05.
35. Pinto LM, Grenier J, Schumacher SG, et al. Immunodiagnosis of tuberculosis: state of the art. *Med Princ Pract*. 2012;21(1):4–13. doi: 10.1159/000331583.
36. Rutherford M, Alisjahbana B, Maharani W, et al. Sensitivity of the quantiferon-gold in-tube assay in sputum smear positive TB cases in Indonesia. *PLoS One*. 2010;5(8):e12020. doi: 10.1371/journal.pone.0012020.
37. Sargentini V, Mariotti S, Carrara S, et al. Cytometric detection of antigen-specific IFN- $\gamma$ /IL-2 secreting cells in the diagnosis of tuberculosis. *BMC Infect Dis*. 2009;9:99. doi: 10.1186/1471-2334-9-99.
38. El Fenniri L, Toossi Z, Aung H, et al. Polyfunctional *Mycobacterium tuberculosis*-specific effector memory CD4+ T cells at sites of pleural TB. *Tuberculosis (Edinb)*. 2011;91(3):224–230. doi: 10.1016/j.tube.2010.12.005.
39. Petruccioli E, Petrone L, Vanini V, et al. IFN $\gamma$ /TNF $\alpha$  specific-cells and effector memory phenotype associate with active tuberculosis. *J Infect*. 2013;66(6):475–486. doi: 10.1016/j.jinf.2013.02.004.
40. Никитина И.Ю. Особенности дифференцировки лимфоцитов CD4 у больных туберкулезом легких: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М.; 2013. — 25 с. [Nikitina IYu. *Osobennosti differentsirovki limfotsitov CD4 u bolnykh tuberkulezom legkikh*. [dissertation abstract] Moscow; 2013. 25 p. (In Russ).] Доступно по: <http://medical-diss.com/medicina/osobennosti-differentsirovki-limfotsitov-cd4-u-bolnyh-tuberkulezom-legkih>. Ссылка активна на 22.04.2018.
41. Scheffer GL, Pijnenborg AC, Smit EF, et al. Multidrug resistance related molecules in human and murine lung. *J Clin Pathol*. 2002;55(5):332–339. doi: 10.1136/jcp.55.5.332.
42. Fletcher JI, Williams RT, Henderson MJ, et al. ABC transporters as mediators of drug resistance and contributors to cancer cell biology. *Drug Resist Updat*. 2016;26:1–9. doi: 10.1016/j.drug.2016.03.001.
43. Ерохина М.В., Лепеха Л.Н., Эргешов А.Э. Возможность формирования устойчивости моноцитарных и эпителиальных клеток к рифампицину // *Туберкулез и социально значимые заболевания*. — 2016. — №2 — С. 59–65. [Erokhina MV, Lepekhina LN, Ergeshov AE. Formation of resistance to rifampicin in monocyte-macrophagic and epithelial cell lines. *Tuberkulez i sotsial'no znachimye zabolevaniya*. 2016;(2):59–65. (In Russ).]
44. Лепеха Л.Н., Ерохина М.В., Бурцева С.А., и др. Функциональная морфология легких: современные аспекты. В сб.: *Туберкулез в XXI веке: проблемы и пути решения*. / Под ред. Эргешова А.Э. — М.: ФГБНУ «ЦНИИТ», Галлея-Принт; 2015. — С. 20–35. [Lepekhina LN, Erokhina MV, Burtseva SA, et al. *Funktional'naya morfologiya legkikh: sovremennye aspekty*. In: *Tuberkulyoz v XXI veke: problemy i puti resheniya*. Ed by Ergeshov A.E. Moscow: FGBNU «CNIIT», Galleya-Print; 2015. pp. 20–35. (In Russ).]
45. Ерохина М.В., Незлин Л.П., Авдиенко В.Г., и др. Иммуногистохимическое выявление *Mycobacterium tuberculosis* в ткани легких у больных туберкулезом с использованием лазерной сканирующей микроскопии // *Известия Российской академии наук. Серия биологическая*. — 2016. — №1 — С. 27–31. [Erokhina MV, Nezlin LP, Avdienko VG, et al. Immunohistochemical detection of *Mycobacterium tuberculosis* in tissues of consumptives using laser scanning microscopy. *zv Akad Nauk Ser Biol*. 2016;(1):27–31. (In Russ).] doi: 10.7868/S0002332916010057.
46. Буракова М.В., Васильева И.А., Ваниев Э.В., и др. Эффективность химиотерапии туберкулеза легких у впервые выявленных пациентов при разных сроках определения множественной лекарственной устойчивости возбудителя // *Туберкулез и болезни легких*. — 2017. — Т.95. — №11 — С. 63–68. [Burakova MV, Vasilyeva IA, Vaniev EV, et al. Efficiency of pulmonary tuberculosis chemotherapy in new cases depending on the time of drug resistance detection. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2017;95(11):63–68. (In Russ).] doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-11-63-66.
47. Тихонов А.М., Буракова М.В., Ваниев Э.В., и др. Эффективность химиотерапии с применением бедаквилина у больных туберкулезом легких с лекарственной устойчивостью возбудителя // *Туберкулез и болезни легких*. — 2018. — Т.96. — №2 — С. 22–26. [Tikhonov AM, Burakova MV, Vaniev EV, et al. Efficiency of chemotherapy with bedaquiline in drug resistant pulmonary tuberculosis patients. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2018;96(2):22–26. (In Russ).] doi: 10.21292/2075-1230-2018-96-2-22-26.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Эргешов Атаджан Эргешович, д.м.н., профессор [Atadzhan E. Ergeshov, MD, PhD, Professor]

Адрес: 107564, Москва, Яузская аллея, д. 2, тел.: +7 (499) 785-90-19, e-mail: cniit@ctri.ru, SPIN-код: 8372-1666,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2494-9275>

С.В. Чигринец<sup>1, 2\*</sup>, Г.В. Брюхин<sup>1</sup><sup>1</sup> Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Российская Федерация<sup>2</sup> ООО «ДНК Клиника», Челябинск, Российская Федерация

# Влияние эндокринного дизраптора бисфенола А на качество эякулята у мужчин

**Обоснование.** Нарушение репродуктивного здоровья мужчин является одной из актуальных проблем медицины во всем мире. При этом самой частой формой мужского бесплодия является идиопатическое. Среди наиболее вероятных причин идиопатического бесплодия называются оксидативный стресс, генетические факторы, а также эндокринные дизрапторы. В связи с этим становится актуальным изучение влияния эндокринных дизрапторов, в частности бисфенола А, на мужское репродуктивное здоровье. Цель исследования — установить связь между уровнем концентрации бисфенола А в семенной жидкости и качеством эякулята у мужчин с нормо- и патозооспермией, а также с уровнем общего тестостерона и эстрадиола плазмы крови. **Методы.** Исследовано 53 образца семенной жидкости мужчин с нормо- и патозооспермией. В семенной жидкости определялась концентрация бисфенола А методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (GC-MS). Спермиологическое исследование проводилось согласно рекомендациям ВОЗ (2010) с учетом оценки количества сперматозоидов, их подвижности и морфологии, а также индекса фрагментации ДНК сперматозоидов. Кроме того, определялся уровень концентрации общего тестостерона и эстрадиола в плазме крови. Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке с использованием U-критерия Манна–Уитни, корреляционного анализа, метода парной регрессии, а также ROC-анализа с целью определения точки cut-off для бисфенола А в семенной жидкости. Результаты считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . **Результаты.** В 100% образцов эякулята был обнаружен бисфенол А со средней концентрацией 0,15 (0,06–0,31) нг/мл. С помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена были обнаружены статистически значимые корреляционные связи между концентрацией бисфенола А и общим количеством сперматозоидов ( $r = -0,330$ ;  $p = 0,016$ ), концентрацией ( $r = -0,309$ ;  $p = 0,024$ ), и долей прогрессивно подвижных сперматозоидов ( $r = -0,575$ ;  $p < 0,001$ ), долей сперматозоидов с нормальной морфологией ( $r = -0,397$ ;  $p = 0,003$ ), степенью фрагментации ДНК сперматозоидов ( $r = 0,349$ ;  $p = 0,025$ ) и концентрацией общего тестостерона крови ( $r = -0,616$ ;  $p < 0,001$ ). Методом парной линейной регрессии между концентрацией бисфенола А в семенной жидкости и долей прогрессивно подвижных сперматозоидов, а также уровнем общего тестостерона крови была определена статистически значимая обратная линейная зависимость —  $r = -0,406$ ;  $p = 0,003$  и  $r = -0,364$ ;  $p = 0,048$  соответственно. С помощью анализа ROC-кривых для оценки риска патозооспермии определено пороговое значение концентрации бисфенола А эякулята в точке cut-off — 0,1025 нг/мл. **Заключение.** Бисфенол А в семенной жидкости может вносить негативный вклад в качество эякулята и подавлять уровень общего тестостерона крови.

**Ключевые слова:** бесплодие, качество эякулята, эндокринные дизрапторы, бисфенол А, тестостерон.

(Для цитирования: Чигринец С.В., Брюхин Г.В. Влияние эндокринного дизраптора бисфенола А на качество эякулята у мужчин. Вестник РАМН. 2018;73(5):338–343. doi: 10.15690/vramn1016)

## Обоснование

Бесплодие является важной медико-социальной проблемой. Известно, что при бесплодии на долю мужского фактора приходится не менее 50% случаев, при которых обнаруживается патозооспермия — нарушение качества эякулята. Доля мужского бесплодия с неизвестной причиной является самой весомой среди причин бесплодия и составляет 30–40%. Такое бесплодие может быть вызвано несколькими факторами, включая эндокринные дизрапторы (endocrine disruptors, EDs), активные формы кислорода (reactive oxygen species, ROS), генетические и эпигенетические факторы [1–3].

В 1993 г. впервые в литературе был введен термин «эндокринные дизрапторы» (эндокринные дизрегуляторы, гормоноподобные ксенобиотики), к которым были отнесены химические соединения, способные нарушать функцию эндокринной системы [4]. На сегодняшний день значение эндокринных дизрапторов в регуляции деятельности систем жизнеобеспечения и размножения изучено не до конца.

К наиболее известным нестойким убиквитарным эндокринным дизрапторам относятся фталаты, бисфенол А, 4-нонилфенол (4-nonylphenol, 4-NP) и триклозан (triclosan, TCS).

Бисфенол А (bisphenol A, или ВРА, — общепринятая международная аббревиатура бисфенола А) входит в состав полимерных материалов, которые применяются для

производства широчайшего круга изделий — детских игрушек, пластиковых контейнеров, внутренних покрытий металлических банок для продуктов питания и напитков, материалов для зубных пломб и др. Загрязнение продуктов питания и питьевой воды происходит за счет миграции ВРА из материалов, упаковки, пластиковых бутылок и внутренних покрытий консервных банок. ВРА — нестойкое фенольное соединение, входящее в состав многочисленных изделий, которые широко используются человеком в повседневной жизни, и обнаруживается, по данным литературы, в образцах мочи в 85–100% случаев [5–8].

Связь между уровнем ВРА в образцах мочи и мужским репродуктивным здоровьем была широко изучена во многих исследованиях [6–13]. Однако обращает на себя внимание тот факт, что результаты этих исследований носят противоречивый характер. Вместе с тем в доступной нам литературе имеется единственная работа по изучению влияния бисфенола А, измеренного в семенной жидкости, на концентрацию стероидных гормонов и качество спермы у мужчин [14]. Кроме того, Т. Geens и соавт. показали, что ВРА, TCS и 4-NP не одинаково накапливаются в тканях организма человека, и поэтому измерение этих соединений в образцах мочи не может отражать истинного влияния их на репродуктивные органы и репродуктивное здоровье человека в целом [15].

**Цель исследования** — установить связь между уровнем концентрации бисфенола А в семенной жидкости

и качеством эякулята у мужчин с нормо- и патозооспермией, а также уровнем общего тестостерона и эстрадиола крови.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено обсервационное одноцентровое одномоментное (поперечное) неконтролируемое исследование.

### Критерии соответствия

#### Критерии включения в исследование

- мужчины в возрасте 20–40 лет;
- наличие идиопатической формы бесплодия с патозооспермией;
- репродуктивные потери в супружеской паре с патозооспермией;
- планирование беременности в супружеской паре с нормозооспермией;
- доноры спермы;
- подписанное информированное добровольное согласие на включение в данное исследование.

#### Критерии исключения из исследования

- варикоцеле;
- инфекция урогенитального тракта;
- лейкоспермия;
- МАР-тест (mixed antiglobulin reaction, смешанный антиглобулиновый тест) выше 10%;
- азооспермия;
- гипогонадизм и другие эндокринные заболевания;

- онкологические заболевания любой локализации;
- ВИЧ-инфекция;
- системные заболевания;
- неподписанное информированное добровольное согласие на включение в данное исследование.

### Условия проведения

Исследование проведено на базе ДНК Клиники (Центр лечения бесплодия, г. Челябинск) с участием пациентов, обратившихся за консультативной помощью в амбулаторных условиях с целью выполнения спермиологического анализа в связи с бесплодием в браке, невынашиванием беременности партнершей, а также планированием беременности или донорством спермы. Все пациенты были жителями Челябинска или Челябинской области.

### Продолжительность исследования

Исследование проводилось с ноября 2017 по июнь 2018 г.

### Описание медицинского вмешательства

Всем пациентам проводилось лабораторное исследование эякулята и крови. Эякулят собирался после 3–4 дней воздержания от семяизвержений. Для оценки уровня репродуктивных гормонов осуществляли забор крови утром (до 9 ч) натощак. С целью проведения исследования на инфекцию урогенитального тракта осуществлялся забор материала из уретры минимум через 3 ч после последнего мочеиспускания. Для исключения патологии органов мошонки (варикоцеле и др.) всем участникам было выполнено ультразвуковое исследование органов мошонки.

339

S.V. Chigrinets<sup>1, 2\*</sup>, G.V. Brukhin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

<sup>2</sup> DNK Clinic, Chelyabinsk, Russian Federation

## Environmental Exposure to Endocrine Disruptor of Bisphenol A and Semen Quality of Men

**Background:** The reproductive health disorders in men are one of the urgent problems of international medicine. The prevalence of idiopathic male infertility has the highest rate. Oxidative stress, genetic factor, and endocrine disruptors are considered to be the most probable causes for the idiopathic male infertility. In this regard, studying the effect of endocrine disruptors, in particular bisphenol A on male reproductive health, becomes actual and relevant. **Aims:** The aim of the study was to reveal the relationship between the concentration level of bisphenol A (BPA) in seminal fluid and semen quality in men with normo- or pathozoospermia, as well as between the concentration level of bisphenol A and the level of total testosterone and estradiol in plasma. **Materials and methods:** 53 samples of seminal fluid of men with normo- or pathozoospermia were studied. In seminal fluid the concentration of bisphenol A was determined by gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS). The spermological analysis was performed according to the WHO recommendations (2010) including the evaluation of sperm count/concentration, motility and morphology, and DNA fragmentation index. In addition, the concentration of total testosterone and estradiol in plasma was determined. The results were statistically processed using the Mann–Whitney U test, the correlation analysis, the paired regression method, and the ROC curves to determine the cut-off point for BPA in the seminal fluid. The results were considered statistically significant at  $p < 0.05$ . **Results:** In 100% of the ejaculate samples BPA with a median concentration of 0.15 (0.06–0.31) ng/ml was detected. Using the Spearman rank correlation coefficient, statistically significant correlations between the concentration of BPA and the total count ( $r = -0.330$ ,  $p = 0.016$ ), concentration ( $r = -0.309$ ;  $p = 0.024$ ), the proportion of progressively motile spermatozoa ( $r = -0.575$ ;  $p = 0.001$ ), the proportion of spermatozoa with normal morphology ( $r = -0.397$ ,  $p = 0.003$ ), the degree of sperm DNA fragmentation ( $r = 0.349$ ,  $p = 0.025$ ), and the concentration of total testosterone ( $r = -0.616$ ;  $p < 0.001$ ) were registered. A statistically significant inverse linear relationship ( $r = -0.406$ ,  $p = 0.003$ ) and ( $r = -0.364$ ,  $p = 0.048$ ) was determined by a paired linear regression between the BPA concentration in the seminal fluid and the proportion of progressively motile spermatozoa, and the total testosterone level respectively. To assess the risk of pathozoospermia, the threshold value of seminal BPA concentration was determined using the analysis of ROC-curves; the cut-off point was 0.1025 ng/ml. **Conclusions:** BPA in the seminal fluid influences negatively on the quality of the sperm and suppress the level of total testosterone in plasma.

**Key words:** infertility, semen quality, endocrine disruptors, bisphenol A, testosterone.

(For citation: Chigrinets SV, Brukhin GV. Environmental Exposure to Endocrine Disruptor of Bisphenol A and Semen Quality of Men. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2018;73(5):338–343. doi: 10.15690/vramn1016)



**Исходы исследования**

**Основной исход исследования:** в работе оценивались корреляционные связи между концентрацией ВРА в семенной жидкости и параметрами эякулята, а также пороговое значение концентрации ВРА эякулята в точке cut-off (оптимальное значение величины порога отсека при бинарной классификации объектов) для оценки риска патозооспермии.

**Дополнительные исходы исследования:** оценивалась связь между концентрацией бисфенола А и содержанием общего тестостерона и эстрадиола в крови.

**Анализ в подгруппах**

При оценке качества 53 образцов эякулята мужчины были разделены на две группы: в 1-ю вошли пациенты с нормозооспермией ( $n=19$ ), во 2-ю — с патозооспермией ( $n=34$ ).

**Методы регистрации исходов**

Обследование пациентов с патозооспермией и здоровых мужчин с нормозооспермией включало проведение спермиологического исследования с оценкой общего количества, концентрации, подвижности, морфологии нормальных форм сперматозоидов по Крюгеру и индекса фрагментации ДНК сперматозоидов. Спермиологическое исследование проводилось согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ, 2010). Заключение по спермограмме «нормозооспермия» или «патозооспермия» основывалось на критериях, изложенных в тех же рекомендациях ВОЗ (2010) [16]. Для оценки индекса фрагментации ДНК сперматозоидов использовался метод дисперсии хроматина спермы (sperm chromatin dispersion, SCD) с помощью набора GoldCyto DNA Assist Kit (mtm laboratories AG, Германия). Нормативным значением степени фрагментации ДНК сперматозоидов считали 15% и менее (низкий риск нарушения фертильности). ВРА в семенной жидкости определяли на газовом хроматографе с масс-спектрометром Shimadzu GCMS-QP2010Ultra (Shimadzu Corporation, Япония). Данные обрабатывались с помощью программы GCMSsolution 4,3 (Shimadzu Corporation, Япония). Оценка уровня общего тестостерона и эстрадиола плазмы крови проводилась на приборе Immulite 1000 (США). Ультразвуковое исследование органов мошонки выполняли на аппарате Mindray DC-7 (Китай) в положении пациента лежа и стоя во время андрологического приема.

**Этическая экспертиза**

Проведение исследования одобрено 21.11.2017 г. Локальным комитетом по этике ФГБОУ ВО «ЮУГМУ» Минздрава России, выписка из протокола № 9.

**Таблица 1.** Сопоставление групп по возрасту, ИМТ, периоду воздержания, статусу курения и употребления алкоголя

Параметры		1-я группа ( $n=19$ ) нормозооспермия	2-я группа ( $n=34$ ) патозооспермия	<i>p</i>
Возраст, лет, Me (Q1–Q3)		32,0 (29,5–34,0)	31,0 (28,0–33,0)	0,157
Период воздержания, сут, Me (Q1–Q3)		3,0 (3,0–4,0)	4,0 (3,0–4,0)	0,105
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , Me (Q1–Q3)		25,1 (22,4–26,7)	25,5 (24,2–26,8)	0,356
Курение (%)	некурящие	11 (44)	14 (56)	0,901
	курящие	6 (46,2)	7 (53,8)	
Алкоголь (%)	непьющие	8 (44,4)	10 (55,6)	1,0
	пьющие	8 (44,4)	10 (55,6)	

*Примечание.* ИМТ — индекс массы тела.

**Статистический анализ**

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Статистический анализ полученных данных выполнялся с помощью программы IBM SPSS Statistics v.21 (IBM Corp., Armonk, NY, США). Проверка нормальности распределения переменных проводилась с учетом объема выборки с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Результаты исследования представлены как медиана с интерквартильным размахом Me (Q<sub>1</sub>–Q<sub>3</sub>) или как средняя со стандартным отклонением ( $M \pm \sigma$ ) при нормальном распределении. Для определения статистически значимых различий между группами использовался U-критерий Манна–Уитни. Для установления связи между показателями вычислялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена. С целью расчета точки cut-off для ВРА, величина которая отсекает нормозооспермию от патозооспермии, проводился ROC-анализ. Использовался метод парной регрессии для построения прогностических моделей. Различия между группами считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты**

**Объекты (участники) исследования**

Среди 53 пациентов, которые приняли участие в исследовании, было 19 (36%) мужчин с нормозооспермией, планирующих беременность партнерши в браке или доноры спермы, и 34 (64%) с идиопатической формой бесплодия и/или репродуктивными потерями в супружеской паре с различными вариантами патозооспермии. Средний возраст пациентов ( $\pm \sigma$ ) составил  $30,8 \pm 3,6$  лет, средний индекс массы тела (ИМТ;  $\pm \sigma$ ) —  $25,4 \pm 2,9$  кг/м<sup>2</sup>, при этом 42% мужчин были с избыточной массой тела (ИМТ 25–30) и 11% — с ожирением I степени (ИМТ > 30).

Группы сравнительного анализа были сопоставимы по возрасту, периоду воздержания от семяизвержений, ИМТ, курению и приему алкоголя (табл. 1).

При этом частота патозооспермии среди курящих и употребляющих алкоголь составила 53,8 и 55,6%, среди некурящих и не употребляющих алкоголь — 56,0 и 55,6% соответственно.

**Основные результаты исследования**

В 100% образцов эякулята был обнаружен ВРА со срединной концентрацией 0,15 (0,06–0,31) нг/мл. Группа мужчин с патозооспермией (64%) была представлена следующим образом: частота встречаемости тератозооспермии — 30% ( $n=16$ ), астенотератозооспермии — 22,5% ( $n=12$ ), олиготератозооспермии — 7,5% ( $n=4$ ), олигоастенотератозооспермии (ОАТ-синдром) — 4% ( $n=2$ ).

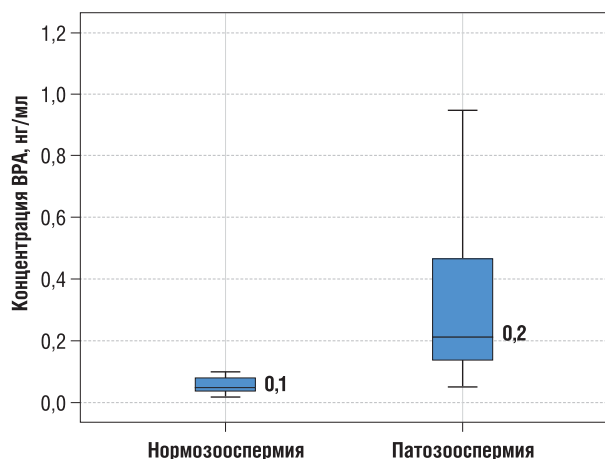


Рис. 1. Сравнение групп по концентрации ВРА в семенной жидкости

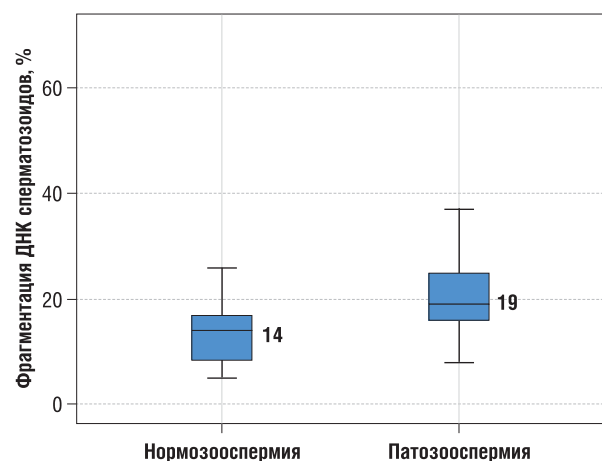


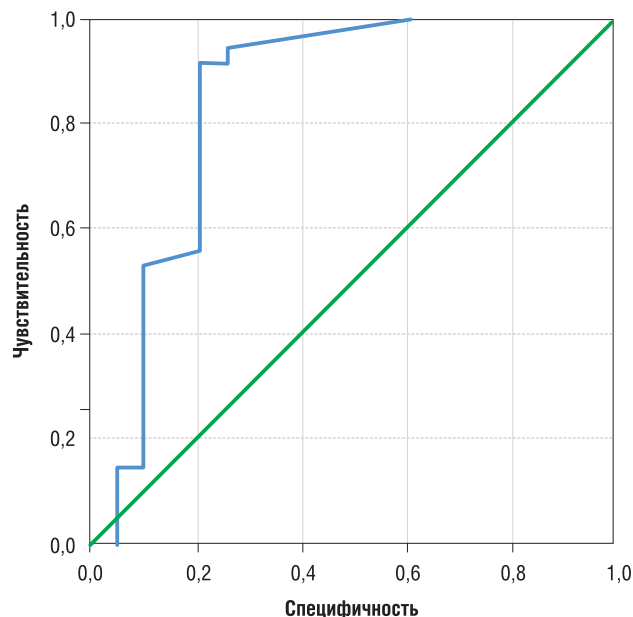
Рис. 2. Сравнение групп по степени ДНК-фрагментации сперматозоидов

Группы пациентов, включенных в исследование, статистически значимо различались по концентрации ВРА в семенной жидкости ( $p < 0,001$ ), а также индексу фрагментации ДНК сперматозоидов ( $p = 0,001$ ). Так, у мужчин с нормозооспермией концентрация ВРА в семенной жидкости оказалась меньше 0,05 (0,04–0,08) нг/мл, чем у мужчин с патозооспермией 0,21 (0,14–0,47) нг/мл, то же самое было справедливо и в отношении индекса фрагментации ДНК сперматозоидов — 14,0 (8,5–17,0) против 19,0% (16,0–25,0) (рис. 1, 2).

Таблица 2. Корреляционные связи между концентрацией ВРА в семенной жидкости и параметрами эякулята, уровнем общего тестостерона и эстрадиола крови

Параметры	Бисфенол А (нг/мл)	
	<i>r</i>	<i>p</i>
Общее количество сперматозоидов, млн	-0,330	0,016*
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	-0,309	0,024*
Прогрессивно подвижные сперматозоиды (а+в), %	-0,575	<0,001*
Сперматозоиды с нормальной морфологией, %	-0,397	0,003*
Индекс ДНК-фрагментации сперматозоидов, %	0,349	0,025*
Уровень общего тестостерона крови, нмоль/л	-0,616	<0,001*
Уровень эстрадиола крови, пг/мл	0,108	0,651

Примечание.\* — связь статистически значимая ( $p < 0,05$ ).



AUC 0,840±0,070 (при 95% доверительном интервале 0,702–0,978);  $p < 0,001$

Рис. 3. Анализ ROC-кривых концентрации ВРА в семенной жидкости (нг/мл) для прогнозирования риска патозооспермии у мужчин

341

С помощью анализа ROC-кривых установлено (рис. 3), что площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи прогноза патозооспермии и концентрации ВРА в семенной жидкости, составляет 0,840±0,070 с 95% доверительным интервалом (ДИ) 0,702–0,978. Полученная модель была статистически значимой ( $p < 0,001$ ).

Пороговое значение концентрации ВРА в точке cut-off составило 0,1025 нг/мл. При концентрации ВРА в семенной жидкости равной или превышающей данное значение прогнозировался высокий риск патозооспермии. Чувствительность и специфичность метода составили 91 и 79% соответственно.

Используя коэффициент ранговой корреляции Спирмена, между концентрацией бисфенола А в семенной жидкости и параметрами эякулята, а также уровнем общего тестостерона и эстрадиола плазмы крови обнаружены определенные корреляционные связи (табл. 2).

Используя метод парной линейной регрессии, обнаружено, что между концентрацией ВРА в семенной

жидкости и долей прогрессивно подвижных сперматозоидов существует обратная, умеренной тесноты (по шкале Чеддока) статистически значимая линейная зависимость ( $r=-0,406$ ;  $p=0,003$ ). Наблюдаемая зависимость может быть описана следующим уравнением:

$$Y = 54,126 - 26,404X,$$

где  $Y$  — доля прогрессивно подвижных сперматозоидов (%),  $X$  — концентрация ВРА в семенной жидкости (нг/мл).

При увеличении концентрации ВРА в семенной жидкости на каждые 0,1 нг/мл следует ожидать снижение доли прогрессивно подвижных сперматозоидов (категория «a+b») на 2,6%. При отсутствии ВРА в семенной жидкости доля прогрессивно подвижных сперматозоидов может составлять 54%. Полученная модель учитывает 16,4% факторов, определяющих изменения доли прогрессивно подвижных сперматозоидов.

Кроме того, в отношении концентрации ВРА в семенной жидкости и уровня общего тестостерона крови была отмечена обратная, умеренной тесноты (по шкале Чеддока) статистически значимая линейная зависимость ( $r=-0,364$ ;  $p=0,048$ ). Наблюдаемая зависимость может быть описана следующим уравнением:

$$Y = 17,062 - 6,904X,$$

где  $Y$  — концентрация общего тестостерона крови (нмоль/л),  $X$  — концентрация ВРА в семенной жидкости (нг/мл).

При увеличении концентрации ВРА в семенной жидкости на каждые 0,1 нг/мл следует ожидать снижение уровня общего тестостерона крови на 0,7 нмоль/л. Полученная модель учитывает 13,2% факторов, определяющих изменения концентрации общего тестостерона крови.

#### **Дополнительные результаты исследования**

В данном исследовании мы не обнаружили статистически значимой корреляционной связи между концентрацией ВРА в семенной жидкости и уровнем эстрадиола крови.

#### **Нежелательные явления**

Нежелательных явлений не наблюдалось.

### **Обсуждение**

#### **Резюме основного результата исследования**

В данном исследовании установлена линейная зависимость между концентрацией ВРА в семенной жидкости и долей прогрессивно подвижных сперматозоидов (категория «a+b»), а также концентрацией общего тестостерона крови. Вместе с тем обнаружены корреляционные связи между концентрацией ВРА в семенной жидкости и параметрами эякулята (общее количество, концентрация, подвижность, морфология и фрагментация ДНК сперматозоидов). Кроме того, была определена точка cut-off для оценки риска патозооспермии по концентрации ВРА в семенной жидкости.

#### **Обсуждение основного результата исследования**

J. Vitku и соавт. [14] в 2016 г. в ходе проведенных исследований по влиянию бисфенола А в семенной жидкости на качество эякулята и репродуктивные гормоны обнаружили отрицательные статистически значимые корреляционные связи с концентрацией, количеством и морфологией сперматозоидов а также с общим тестостероном плазмы крови, тогда как с эстрадиолом связь

оказалась статистически незначимой. Полученные чешскими исследователями данные совпадают с отдельными результатами нашего исследования, что также, с одной стороны, согласуется с результатами других работ [7, 9–11], но вместе с тем противоречит ряду других исследований [8, 12]. В отношении связи ВРА с высокой фрагментацией ДНК сперматозоидов результаты нашего исследования согласуются с данными J. Meeker и соавт. [7], однако A. Goldstone и соавт. [12] в своей работе показали снижение фрагментации ДНК сперматозоидов, связанное с высоким уровнем ВРА в моче. Это противоречие может быть связано с измерением ВРА в разных биологических средах — моче и семенной жидкости. По этой же причине ряд исследователей [6, 11] обнаруживает положительную связь ВРА с уровнем тестостерона крови, что противоречит как нашим результатам, так и данным С. Desdoits-Lethimonier и соавт. [17], показавших в своей работе значимое дозозависимое снижение тестостерона от концентрации ВРА в культуре ткани яичка. Отрицательная связь между ВРА и уровнем тестостерона крови была показана во многих экспериментальных исследованиях на животных [17–20].

По нашему мнению, обнаружение ВРА именно в семенной жидкости в значимых концентрациях может отражать прямое и токсическое действие данного эндокринного дизраптора на сперматогенез и эндокринную функцию яичка.

В ходе исследования была определена точка cut-off для ВРА в семенной жидкости, что позволяет оценить токсическую нагрузку ВРА на ткань яичка у мужчин.

#### **Ограничения исследования**

Основным фактором, который может значимо повлиять на результаты данного исследования, является воздействие на репродуктивное здоровье мужчин других эндокринных дизрапторов («коктейль» репротоксикантов), в частности сравнительно высокая общая токсическая нагрузка на исследуемых пациентов. Данное исследование было ограничено оценкой влияния одного эндокринного дизраптора на репродуктивную функцию, поэтому не позволило исследовать эффект синергизма репротоксикантов, воздействующих на организм человека, особенно в крупных промышленных городах. Следует сказать, что недостаточный объем выборки пациентов, которым проводили исследование содержания бисфенола А в семенной жидкости, связан с трудоемкостью и финансовой затратностью данной процедуры.

### **Заключение**

Бисфенол А в семенной жидкости может нарушать сперматогенную и эндокринную функции яичка у мужчин и обуславливать снижение общего количества, концентрации, подвижности, морфологии сперматозоидов, снижение уровня общего тестостерона крови, а также повышение индекса фрагментации ДНК сперматозоидов. В связи с полученными результатами ВРА можно рассматривать как один из причинных факторов идиопатического бесплодия/субфертильности у мужчин.

#### **Источник финансирования**

Проведенное исследование выполнено на собственные средства авторского коллектива.

**Конфликт интересов**

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

**Участие авторов**

Авторы внести равный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи,

прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

**Выражение признательности**

Авторы статьи выражают слова благодарности руководителю службы качества ООО «ХромсистемсЛаб» Золкиной Ирине Вячеславовне за организацию и проведение исследования по детекции ВРА в семенной жидкости методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией.

**ЛИТЕРАТУРА**

- Nieschlag E, Behre HM, Nieschlag S, editors. *Andrology: male reproductive health and dysfunction*. London, UK; New York, USA: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2010. 629 p.
- Garg H, Kumar R. Empirical drug therapy for idiopathic male infertility: what is the new evidence? *Urology*. 2015;86(6):1065–1075. doi: 10.1016/j.urology.2015.07.030.
- Gunes S, Arslan MA, Hekim GN, Asci R. The role of epigenetics in idiopathic male infertility. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(5):553–569. doi: 10.1007/s10815-016-0682-8.
- Colborn T, vom Saal FS, Soto AM. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect*. 1993;101(5):378–384. doi: 10.1289/ehp.93101378.
- Tomza-Marciniak A, Stepkowska P, Kuba J, Pilarczyk B. Effect of bisphenol A on reproductive processes: a review of in vitro, in vivo and epidemiological studies. *J Appl Toxicol*. 2018;38(1):51–80. doi: 10.1002/jat.3480.
- Galloway T, Cipelli R, Guralnik J, et al. Daily bisphenol A excretion and associations with sex hormone concentrations: results from the InCHIANTI adult population study. *Environ Health Perspect*. 2010;118(11):1603–1608. doi: 10.1289/ehp.1002367.
- Meeker JD, Ehrlich S, Toth TL, et al. Semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary bisphenol A among men from an infertility clinic. *Reprod Toxicol*. 2010;30(4):532–539. doi: 10.1016/j.reprotox.2010.07.005.
- Mendiola J, Jørgensen N, Andersson AM, et al. Are environmental levels of bisphenol A associated with reproductive function in fertile men? *Environ Health Perspect*. 2010;118(9):1286–1291. doi: 10.1289/ehp.1002037.
- Li DK, Zhou Z, Miao M, et al. Urine bisphenol-A (BPA) level in relation to semen quality. *Fertil Steril*. 2011;95(2):625–630. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.09.026.
- Knez J, Kranvogel R, Breznik BP, et al. Are urinary bisphenol A levels in men related to semen quality and embryo development after medically assisted reproduction? *Fertil Steril*. 2014;101(1):215–221. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.09.030.
- Lassen TH, Frederiksen H, Jensen TK, et al. Urinary bisphenol A levels in young men: association with reproductive hormones and semen quality. *Environ Health Perspect*. 2014;122(5):478–484. doi: 10.1289/ehp.1307309.
- Goldstone AE, Chen Z, Perry MJ, et al. Urinary bisphenol A and semen quality, the life study. *Reprod Toxicol*. 2015;51:7–13. doi: 10.1016/j.reprotox.2014.11.003.
- Liu X, Miao M, Zhou Z, et al. Exposure to bisphenol-A and reproductive hormones among male adults. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2015;39(2):934–941. doi: 10.1016/j.etap.2015.03.007.
- Vitku J, Heracek J, Sosvorova L, et al. Associations of bisphenol A and polychlorinated biphenyls with spermatogenesis and steroidogenesis in two biological fluids from men attending an infertility clinic. *Environ Int*. 2016;89–90:166–173. doi: 10.1016/j.envint.2016.01.021.
- Geens T, Neels H, Covaci A. Distribution of bisphenol-A, triclosan and n-nonylphenol in human adipose tissue, liver and brain. *Chemosphere*. 2012;87(7):796–802. doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.01.002.
- World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*. 5th ed. Geneva: WHO; 2010. 287 p.
- Desdoits-Lethimonier C, Lesné L, Gaudriault P, et al. Parallel assessment of the effects of bisphenol A and several of its analogs on the adult human testis. *Hum Reprod*. 2017;32(7):1465–1473. doi: 10.1093/humrep/dex093.
- Abdel-Maksoud FM, Leasor KR, Butzen K, et al. Prenatal exposures of male rats to the environmental chemicals bisphenol A and di(2-ethylhexyl) phthalate impact the sexual differentiation process. *Endocrinology*. 2015;156(12):4672–4683. doi: 10.1210/en.2015-1077.
- Castro B, Sánchez P, Torres JM, et al. Bisphenol A exposure during adulthood alters expression of aromatase and 5 $\alpha$ -reductase isozymes in rat prostate. *PLoS One*. 2013;8(2):e55905. doi: 10.1371/journal.pone.0055905.
- D’Cruz SC, Jubendradass R, Jayakanthan M, et al. Bisphenol A impairs insulin signaling and glucose homeostasis and decreases steroidogenesis in rat testis: an in vivo and in silico study. *Food Chem Toxicol*. 2012;50(3–4):1124–1133. doi: 10.1016/j.fct.2011.11.041.

**КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ**

\***Чигринец Станислав Владимирович**, аспирант [Stanislav V. Chigrinets, MD]

Адрес: 454092, Челябинск, ул. Воровского, д. 64 [address: 64, Vorovskogo street, 454092 Chelyabinsk, Russia];

e-mail: chigrinstas@gmail.com; SPIN-код: 2278-8992; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7072-8289>

**Брюхин Геннадий Васильевич**, д.м.н., профессор [Gennady V. Brukhin, MD, PhD, Professor];

e-mail: bgenvas@mail.ru; SPIN-код: 7691-8383; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3898-766X>

Е.А. Шестакова, И.А. Скляник\*, А.С. Паневина, М.В. Шестакова

Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Российская Федерация

# С чем связано отсутствие нарушений углеводного обмена у лиц с длительным анамнезом ожирения — с низкой инсулинорезистентностью или сохранной секрецией инсулина?

**Обоснование.** В настоящее время все больше внимания уделяется такому состоянию, как метаболически здоровое ожирение. Более чем у половины людей с длительным анамнезом ожирения отсутствуют какие-либо нарушения углеводного обмена. Однако физиологические факторы, лежащие в основе благоприятного метаболического профиля у этих лиц, определены недостаточно. **Цель** — оценить выраженность инсулинорезистентности, уровень секреции инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы и вклад этих двух механизмов в поддержание нормального углеводного обмена у лиц с длительным анамнезом ожирения. **Методы.** Проведено наблюдательное одномоментное неослепленное выборочное сравнительное исследование по принципу «случай-контроль». Объектами исследования выступили лица с длительным анамнезом ожирения без нарушений углеводного обмена и с сахарным диабетом 2-го типа (СД2). Были изучены показатели инсулинорезистентности (M-индекс, HOMA-IR); индексы базальной (HOMA-% $\beta$ ), стимулированной (индекс инсулиногенности) секреции инсулина, а также секреции инсулина в условиях инсулинорезистентности (индекс утилизации глюкозы); показатели композитного состава тела (количество общего жира и площадь висцерального жира). **Результаты.** В анализ включены сведения о 68 участниках исследования — 34 с ожирением и нормальным углеводным обменом (группа «Ожирение и НормУО») и 34 с ожирением и СД2 (группа «Ожирение и СД2»), сопоставимых по индексу массы тела, известной длительности ожирения и соотношению полов (мужчины/женщины) в каждой группе. Группа «Ожирение и НормУО» значимо отличалась от группы «Ожирение и СД2» по следующим показателям: меньшему уровню инсулинорезистентности (медиана M-индекса 4,13 и 1,52 мг/кг в минуту соответственно,  $p < 0,001$ ; медиана HOMA-IR 4,84 против 9,94,  $p < 0,001$ ); лучшей секреции инсулина (медиана индекса инсулиногенности 28,15 и 15,24,  $p < 0,002$ ; медиана HOMA-% $\beta$  115,63 и 25,94,  $p < 0,001$ ); более высокому индексу утилизации глюкозы (медиана 115,63 и 25,94,  $p < 0,001$ ); меньшей площади висцерального жира (медиана 170,00 и 230,00 см<sup>2</sup> соответственно,  $p < 0,001$ ). Различия в общем количестве жировой ткани в организме (в %) были статистически незначимы. **Выводы.** Лица группы с ожирением и НормУО в сравнении с пациентами с ожирением и СД2 имеют менее выраженную инсулинорезистентность и более сохранную секрецию инсулина, как базальную, так и стимулированную, что позволяет поддерживать нормальный углеводный обмен. Этому также способствует меньшая площадь висцеральной жировой ткани. Наиболее вероятно, что в сохранение нормального углеводного обмена у лиц с ожирением больший вклад вносит именно достаточная для преодоления инсулинорезистентности секреция инсулина, что подтверждается высоким (почти в 4,5 раза большим, чем у лиц с СД2) индексом утилизации глюкозы.

**Ключевые слова:** метаболическое здоровое ожирение, сахарный диабет 2-го типа, инсулинорезистентность, секреция инсулина, гиперинсулинемический эуликемический клэмп-тест, индекс инсулиногенности, индекс утилизации глюкозы.

(Для цитирования: Шестакова Е.А., Скляник И.А., Паневина А.С., Шестакова М.В. С чем связано отсутствие нарушений углеводного обмена у лиц с длительным анамнезом ожирения — с низкой инсулинорезистентностью или сохранной секрецией инсулина? Вестник РАМН. 2018;73(5):344–353. doi: 10.15690/vramn1027)

## Обоснование

Ожирение является глобальной проблемой здравоохранения и одним из важнейших факторов риска ряда заболеваний, в частности сахарного диабета 2-го типа (СД2). Существует четкая взаимосвязь между избыточной массой тела и развитием метаболических осложнений. Тем не менее в клинической практике не всегда наблюдается полное соответствие между степенью ожирения и выраженностью метаболических расстройств. Существует группа пациентов, длительно, более 10–15 лет, страдающих ожирением (индекс массы тела, (ИМТ), более 30 кг/м<sup>2</sup>) и не имеющих при этом ряда компонентов метаболического синдрома — нарушений углеводного, липидного, пуринового обмена и др. Данный феномен был описан около 15 лет назад и получил название метаболически здорового ожирения (МЗО) [1].

Применяемые в научных исследованиях критерии МЗО сильно разнятся, поэтому в литературе представ-

лены противоречивые сведения о распространенности этого явления — от 10 до 40% в зависимости от выбранного метода определения данного состояния [2]. Так, при использовании наиболее жестких критериев, таких как отсутствие ведущих факторов кардиометаболического риска (СД2 и предиабет, дислипидемия, инсулинорезистентность, артериальная гипертензия), распространенность метаболически здорового ожирения окажется крайне невысокой: в Национальном обследовании в области здравоохранения и питания (National Health and Nutrition Examination Surveys, NHANES; США) среди 5440 участников факторы кардиометаболического риска полностью отсутствовали лишь в 16,6% случаев [3]. Пациенты с длительным анамнезом ожирения и изолированным отсутствием только нарушений углеводного обмена встречаются чаще. В общероссийском исследовании NATION (Prevalence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) in the Adult Russian population) ожирение (ИМТ >30 кг/м<sup>2</sup>) среди 26 620 участников было выявлено в 31% случаев, из них

у половины (54,9%) нарушения углеводного обмена отсутствовали [4]. Причина большей или меньшей предрасположенности лиц с ожирением к развитию нарушений углеводного обмена остается неясной.

Хорошо известно, что основными механизмами, ведущими к развитию СД2, являются нарастание инсулинорезистентности периферических тканей и снижение секреции инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы до тех значений, когда уровня инсулина уже не хватает, чтобы преодолеть имеющуюся инсулинорезистентность [5]. Мы предположили, что у людей с длительным анамнезом ожирения, но без нарушений углеводного обмена, показатели, характеризующие инсулинорезистентность и секрецию инсулина, отличаются от таковых у лиц с ожирением и СД2. Понимание фенотипических различий между этими группами пациентов позволит выработать тактику персонализированного подхода к профилактике СД2.

**Цель** — оценить выраженность инсулинорезистентности, уровень секреции инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы и вклад этих двух механизмов в сохранение нормального углеводного обмена у лиц с длительным анамнезом ожирения.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено наблюдательное одномоментное открытое сравнительное исследование по принципу «случай-контроль».

### Критерии соответствия

#### Критерии включения:

- возраст старше 18 лет;
- ИМТ более 35 кг/м<sup>2</sup>;
- отсутствие выраженной декомпенсации углеводного обмена у лиц с СД2 (гликированный гемоглобин <9,5%);
- известная длительность ожирения более 10 лет;
- подписанное информированное согласие.

#### Критерии невключения:

- СД1 и другие специфические виды СД;
- предиабетические нарушения углеводного обмена (нарушенная толерантность к глюкозе и/или нарушенная гликемия натощак);
- ожирение, связанное с другими эндокринными заболеваниями или приемом лекарственных средств;
- отсутствие возможности у пациента осуществлять запланированные визиты для проведения исследований.

### Условия проведения

Набор пациентов производился во время амбулаторного приема на базах столичных учреждений: ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, АО «Центр эндохирургии и литотрипсии», ЦКБ № 1 – филиал НУЗ «НКЦ ОАО «РЖД».

Все лабораторные и инструментальные исследования и медицинские вмешательства были проведены на базе

E.A. Shestakova, I.A. Sklyanik\*, A.S. Panevina, M.V. Shestakova

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

## Is Absence of Carbohydrate Metabolism Disorders in Patients with Prolonged History of Obesity due to Low Insulin Resistance or Preserved Insulin Secretion?

**Background:** At present a lot of attention is paid to the so-called “metabolically healthy obesity”. More than a half of patients with prolonged history of obesity lack any carbohydrate metabolism disorders. Unfortunately, physiological factors forming the foundation of a favorable metabolic profile in such patients are not sufficiently defined. **Aims:** Evaluation of insulin resistance (IR) degree, the level of insulin secretion by pancreatic  $\beta$ -cells, and the contribution of both these mechanisms to the maintenance of normal carbohydrate metabolism in patients with prolonged history of obesity. **Methods:** An observational cross-sectional non-blinded selective comparative case-control study was performed. Patients with prolonged history of obesity without carbohydrate metabolism disorders and with type 2 diabetes mellitus (DM2) were included into the study. The following parameters were analyzed: IR parameters (M-index, HOMA-IR); insulin secretion parameters (HOMA-% $\beta$  and insulinogenic index, glucose disposition index, GDI); body composition indices (total body fat and visceral fat area). **Results:** 68 patients participated in the study: 34 patients with obesity and normal carbohydrate metabolism («Obesity and NCM» group), and 34 patients with obesity and DM2 («Obesity and DM2» group); both groups were matched by body mass index, known obesity duration, and sex ratio (males/females) in each group. «Obesity and NCM» groups significantly differed from «Obesity and DM2» group by the following parameters: lower IR level (M-index median 4.13 vs 1.52 mg/kg/min,  $p < 0.001$ ; HOMA-IR median 4.84 vs 9.94,  $p < 0.001$ ); better insulin secretion (insulinogenic index median 28.15 vs 15.24,  $p < 0.002$ ; HOMA-% $\beta$  median 115.63 vs 25.94,  $p < 0.001$ ); higher GDI (median 115.63 vs 25.94,  $p < 0.001$ ); lower visceral fat area (median 170.00 vs 230.00 cm<sup>2</sup>,  $p < 0.001$ ). Differences in total body fat (%) were not statistically significant. **Conclusions:** Patients with obesity and NCM compared to patients with DM2 have a less significant IR and a more preserved basal & stimulated insulin secretion, which allows to maintain normal carbohydrate metabolism. Low visceral fat grade also contributes to this. Most likely, the most important factor contributing to the “maintenance” of normal carbohydrate metabolism in patients with obesity is preserved insulin secretion, which is confirmed by the high glucose disposal index (almost 4.5-fold higher than that in patients with DM2) characterizing the ability of  $\beta$ -cells to secrete the amount of insulin required to overcome IR.

**Key words:** metabolic healthy obesity, diabetes mellitus type 2, insulin resistance, insulin secretion, hyperinsulinemic euglycemic clamp, insulinogenic index, glucose disposition index.

(**For citation:** Shestakova EA, Sklyanik IA\*, Panevina AS, Shestakova MV. Is Absence of Carbohydrate Metabolism Disorders in Patients with Prolonged History of Obesity due to Low Insulin Resistance or Preserved Insulin Secretion? *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(5):344–353. doi: 10.15690/vramn1027)

лаборатории клэмп-технологий ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Каждый пациент совершил по два амбулаторных визита.

### **Продолжительность исследования**

Включение и обследование пациентов проводилось с июля 2017 г. по март 2018 г.

### **Описание медицинского вмешательства**

#### **Определение общеклинических и гормональных показателей, секреции инсулина**

Для всех пациентов проведены антропометрическое исследование (измерение роста, веса, окружности талии, окружности бедер) и сбор анамнестических данных об известной длительности ожирения, длительности СД2, артериальной гипертензии и принимаемых медикаментах.

Пациентам без СД2 был выполнен пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ) с 82,5 г моногидрата глюкозы. Все участники выполнили требования проведения теста, сформулированные Всемирной организацией здравоохранения (2006) [6]. Этот же тест позволил исключить из исследования пациентов с предиабетическими состояниями (нарушенной толерантностью к глюкозе и/или нарушенной гликемией натощак) [6].

У лиц с ранее известным диагнозом СД2 был проведен тест со стандартизированной смешанной пищевой нагрузкой (mixed meal test, ММТ) [7], в качестве которой была использована смесь Oral Impact (Nestle Health Science, Швейцария): 1 порция — 237 мл, 18 г белков, 9,2 г жиров, 44,8 г углеводов. При проведении ММТ последний прием любых сахароснижающих препаратов происходил не позже чем за 12 ч до начала теста.

Забор крови проводился натощак, через 30 и 120 мин в ходе ПГТТ или ММТ.

#### **Определение композитного состава тела**

Для оценки количества подкожного и висцерального жира всем больным проведена биоимпедансометрия. Исследование проводилось натощак до клэмп-теста или ПГТТ/ММТ: пациент вставал босиком на блок анализатора (Body composition analyzer Tanita MC-780MA, TANITA Corporation, Япония) [8]; исследователь вводил информацию о пациенте (возраст, пол, рост); после того, как оценивалась масса тела, пациент брал ручки анализатора в обе руки. Полный анализ проводился менее чем за 20 сек.

#### **Определение инсулинорезистентности**

Выраженность инсулинорезистентности была оценена двумя способами — методом гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста (метод является «золотым стандартом» определения чувствительности периферических тканей к инсулину) и расчетным методом с использованием гомеостатической модели НОМА-IR (НОмеo-stasis Model Assessment-Insulin Resistance).

Гиперинсулинемический эугликемический клэмп-тест был проведен по классической методике R. DeFronzo [9]. За 48 ч до клэмп-теста пациентам был отменен прием метформина в связи с его влиянием на инсулинорезистентность. Последний прием любых сахароснижающих препаратов происходил не позже чем за 12 ч до клэмп-теста. Техника включала в себя внутривенное введение инсулина [инсулин растворимый (человеческий генно-инженерный)] с постоянной скоростью для достижения достаточного уровня гиперинсулинемии (100 мкЕд/мл) и подавления собственной секреции инсулина поджелу-

дочной железой и глюкозы печени. Одновременно внутривенно вводился 20%-ный раствор глюкозы (точность введения глюкозы обеспечивалась волуметрическим инфузионным насосом Infusomat fmS; B. Braun, Германия), и с помощью изменения ее скорости поддерживался нормальный уровень гликемии. Скорость инфузии инсулина (точность введения инсулина обеспечивалась инфузионной системой Perfusor compact; B. Braun, Германия) составляла 1 мЕд/кг в минуту. Измерение гликемии проводилось каждые 5–10 мин с помощью госпитального глюкометра OneTouch Verio Pro+ (LifeScan, Швейцария). Для устранения влияния гипергликемии на утилизацию глюкозы использовался нормогликемический вариант клэмп-теста, целевые значения гликемии были выбраны от 5,1 до 5,6 ммоль/л. При снижении гликемии скорость введения глюкозы увеличивалась, при повышении — снижалась. Примерно через 120–180 мин достигалось динамическое равновесие, т.е. скорость введения глюкозы была равна скорости ее поглощения тканями. После удержания динамического равновесия в течение 30–40 мин инфузию инсулина останавливали, затем скорость инфузии раствора глюкозы увеличивали до достижения глюкозы крови 9–10 ммоль/л с целью предотвращения гипогликемии.

### **Основной исход исследования**

Основными конечными точками исследования явились индексы, характеризующие инсулинорезистентность (М-индекс, полученный в ходе клэмп-теста, и расчетный индекс НОМА-IR); индексы, характеризующие базальную (НОМА-%β), стимулированную секрецию инсулина (индекс инсулиногенности) и индекс секреции инсулина в условиях инсулинорезистентности (индекс утилизации глюкозы, ИУГ); показатели композитного состава тела (количество общего и висцерального жира).

### **Анализ в группах**

Были сформированы 2 группы: «Ожирение и СД2» и «Ожирение и нормальный углеводный обмен (НормУО)». Для достижения сопоставимости по длительности ожирения и ИМТ была использована стратификация методом подбора соответствующих пар больных с СД2 и НормУО.

### **Методы регистрации исходов**

#### **Оценка общеклинических и гормональных показателей**

Уровень гликированного гемоглобина (HbA1c, референсные значения 4–6%) определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на анализаторе D10 (BioRad, США).

Анализ глюкозы сыворотки (референсные значения натощак 3,1–6,1 ммоль/л) и липидного спектра крови проводился на биохимическом анализаторе Architect c4000 (Abbott Diagnostics, Abbotpark, IL, США) стандартными наборами фирмы.

Диагноз СД2 выставлялся на основании критериев Всемирной организации здравоохранения (2006) [6].

Критерии дислипидемии и артериальной гипертензии устанавливались согласно Алгоритмам специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом (вып. 8; 2017): триглицериды  $\geq 1,7$  ммоль/л, холестерин липопротеинов с низкой плотностью  $\geq 2,5$  ммоль/л, артериальное давление систолическое  $> 140$  мм рт.ст. и/или диастолическое  $> 85$  мм рт.ст. [10].

Определение иммунореактивного инсулина (референсные значения натощак 2,3–26,4 мЕд/л) и базального

С-пептида (референсные значения натощак 1,1–4,4 нг/мл) проводилось в сыворотке крови на электрохемилюминесцентном анализаторе Cobas 6000 (Roche, Швейцария) стандартными наборами.

Забор крови для определения уровней HbA1c, иммунореактивного инсулина, С-пептида, глюкозы и липидного спектра был выполнен натощак во время взятия нулевой точки при выполнении ПГТТ/ММТ.

#### Расчет индексов инсулинорезистентности

Выражением инсулинорезистентности, определенной с помощью клэмп-теста, служит М-индекс, рассчитываемый как среднее арифметическое из 6–8 дискретных значений скорости инфузии глюкозы в течение 30–40 мин равновесного состояния деленное на массу тела за 1 мин. Таким образом, М-индекс отражает количество поглощаемой глюкозы одним килограммом тела пациента в минуту (мг/кг в минуту). Градациями степени тяжести инсулинорезистентности по данным М-индекса были приняты следующие значения:  $\leq 2$  — тяжелая,  $>2-4$  — средняя;  $>4-6$  — легкая степень,  $>6$  — нет инсулинорезистентности [11].

Для расчета индекса НОМА-IR применялась формула, предложенная D. Matthews и соавт. в 1985 г. [12]:

$$\text{Инсулин натощак} \left( \frac{\text{мкЕд}}{\text{мл}} \right) \times \\ \times \text{Гликемия натощак} \left( \frac{\text{ммоль}}{\text{л}} \right) / 22,5.$$

По данным различных исследований в европейских популяциях взрослых пациентов в возрасте 20–79 лет, значения индекса НОМА-IR  $>2,77$  (80-я перцентиль) считаются отрезной точкой для установления факта инсулинорезистентности [13].

#### Оценка секреции инсулина

Базальная секреция инсулина была оценена с помощью гомеостатической модели определения функции  $\beta$ -клеток (НОМА- $\beta$ ) [12]. Индекс НОМА- $\beta$  рассчитывался в процентном соотношении по формуле:

$$\frac{20 \times \text{Инсулин натощак} \left( \frac{\text{мкЕд}}{\text{мл}} \right)}{\text{Гликемия натощак} \left( \frac{\text{ммоль}}{\text{л}} \right) - 3,5}.$$

Для расчета индекса НОМА- $\beta$  пациентам, получающим инсулин, была применена формула [14]:

$$\frac{0,27 \times \text{С-пептид натощак} \left( \frac{\text{нг}}{\text{мл}} \right)}{\text{Гликемия натощак} \left( \frac{\text{ммоль}}{\text{л}} \right) - 3,5}.$$

Стимулированная секреция инсулина (1-я фаза секреции инсулина) была оценена по индексу инсулиногенности, рассчитанному как соотношение прироста секреции инсулина к приросту гликемии в первые 30 мин ПГТТ или ММТ [15]:

$$\frac{(\text{Инс}30 - \text{Инс}0)}{(\text{Глюк}30 - \text{Глюк}0)}.$$

#### Оценка секреции инсулина в условиях инсулинорезистентности

Индекс утилизации глюкозы — индекс, предложенный для оценки способности  $\beta$ -клеток секретировать нужное количество инсулина для преодоления инсули-

норезистентности [16]. Для расчета этого показателя для каждого конкретного больного были проведены гиперинсулинемический эугликемический клэмп-тест (для расчета М-индекса, характеризующего инсулинорезистентность) и ПГТТ (или ММТ) для расчета индекса инсулиногенности [17]:

$$\text{Индекс инсулиногенности} \times \text{М-индекс}.$$

#### Оценка композитного состава тела

В качестве оценки количества висцеральной жировой ткани анализатор применял висцеральный индекс (от 1-го до 55-го уровня). Один уровень соответствует 10 см<sup>2</sup> висцеральной жировой ткани на уровне межпозвоночного диска L4–L5 [8]. Общее количество жира в организме отражено в процентном соотношении к общей массе тела.

#### Этическая экспертиза

Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России (выписка из протокола № 9 от 10 мая 2017). Все пациенты, включенные в исследование, подписывали информированное согласие.

#### Статистический анализ

##### Принципы расчета размера выборки

Предварительный расчет размера выборки не проводился.

##### Методы статистического анализа данных

Статистическая обработка была проведена с использованием программы IBM SPSS Statistics v 23 (IBM, США). Для проверки нормальности распределения использован тест Колмогорова–Смирнова. В связи с тем, что распределение признаков было отличным от нормального, применялись непараметрические методы статистики. Различия между группами «Ожирение и СД2» и «Ожирение и НормУО» оценивали с помощью критерия Манна–Уитни. Для проверки гипотезы о значимости различий частоты распределения использовался хи-квадрат Пирсона. Данные представлены в виде медианы и квартильного размаха (Ме [Q25; Q75]). Для описания качественных данных рассчитывали абсолютные (*n*) и относительные (%) значения. Достоверный уровень значимости при проверке гипотез принимали равным 0,05.

## Результаты

#### Объекты (участники) исследования

Критериям включения соответствовали 95 пациентов, из них в данное исследование попарно были отобраны 68: 34 пациента с ожирением и СД2 и 34 — с ожирением и НормУО, сопоставимые по длительности ожирения, ИМТ и соотношению мужчин и женщин в каждой группе.

В табл. 1 отражена клиничко-лабораторная характеристика пациентов, включенных в исследование.

Представленные в табл. 1 данные свидетельствуют о полном соответствии двух групп больных по критериям, характеризующим выраженность ожирения (ИМТ, соотношение окружности талии/бедер) и его длительность. Также важно, что обе группы были выравнены по соотношению мужчин и женщин и значимо не различались по частоте выявления других кардиометаболических факторов риска (дислипидемии, артериаль-



**Таблица 1.** Клинико-лабораторная характеристика пациентов, включенных в исследование (Ме [Q25; Q75])

Параметр	Ожирение и СД2 n=34	Ожирение и НормУО n=34	p
Пол (М/Ж)	12/22	11/23	
Возраст, лет	49,00 [45,50; 54,00]	41,00 [35,75; 47,00]	<b>0,01</b>
Вес, кг	121,55 [111,25; 145,08]	121,75 [112,00; 140,13]	0,797
Рост, см	168,00 [161,75; 181,25]	170,00 [162,75; 178,00]	0,917
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	41,80 [37,78; 44,75]	43,58 [40,83; 46,68]	0,109
Длительность ожирения, лет	20,00 [15,00; 28,50]	18,00 [15,00; 25,00]	0,156
Окружность талии/бедер	0,98 [0,95; 1,04]	0,96 [0,90; 1,01]	0,075
Нарушения углеводного обмена в анамнезе, %	100	0	н/п
Длительность СД2, лет	9,00 [5,00; 12,25]	н/п	н/п
НbA1c, %	8,00 [7,20; 8,93]	5,40 [5,30; 5,63]	<b>&lt;0,001</b>
Дислипидемия и/или прием липидоснижающих препаратов, n (%)	31 (91,2)	27 (79,4)	0,171
Артериальная гипертензия и/или прием антигипертензивных препаратов, n (%)	25 (73,5)	21 (61,8)	0,300

*Примечания.* СД2 — сахарный диабет 2-го типа, НормУО — нормальный углеводный обмен, НbA1c — гликированный гемоглобин, н/п — неприменимо. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

348

ной гипертензии). Единственным значимым различием между группами был возраст больных: лица с СД2 были старше пациентов группы без нарушений углеводного обмена, но возрастной диапазон был одинаков (30–60 лет). Таким образом, подбор пациентов в группы, сходные по длительности и выраженности ожирения и отличающиеся исключительно по наличию/отсутствию СД2, позволили нам провести детальный поиск различий между ними именно в тех параметрах, которые характеризуют механизмы, приводящие к развитию СД2, а именно в показателях инсулинорезистентности тканей и секреции инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы.

### Основные результаты исследования

Как следует из полученных данных, у пациентов обеих групп выявлялась инсулинорезистентность, однако в группе больных с СД2 она была значимо выше, чем у лиц без нарушений углеводного обмена (табл. 2): М-индекс в группе лиц с СД2 свидетельствовал о наличии тяжелой, а в группе с НормУО — о средней или легкой степени инсулинорезистентности. Схожие результаты были получены и при расчете суррогатного показателя инсулинорезистентности — индекса НОМА-IR, значения которого  $>2,77$  свидетельствуют о ее наличии [13]. НОМА-IR указывал на наличие инсулинорезистентности в обеих группах, но в группе с СД2 она была выражена

наиболее значимо. Таким образом, лица с ожирением и СД2 имели более высокую степень инсулинорезистентности по сравнению с лицами без нарушений углеводного обмена как по данным клэмп-теста, так и по результатам определения индекса НОМА-IR.

Базальная секреция инсулина, оцененная по данным расчетного индекса НОМА-% $\beta$ , оказалась в 2,5 раза выше у лиц с НормУО по сравнению с лицами с СД2.

Стимулированная секреция инсулина была оценена по индексу инсулиногенности в ходе ПГТТ (у лиц с НормУО) и ММТ (у лиц с СД2), где пиковая концентрация глюкозы и пиковая секреция инсулина определялись на 30-й мин теста (табл. 3). Индекс инсулиногенности был почти в 2 раза выше у пациентов с НормУО (см. табл. 2). При этом любопытно, что уровни инсулина плазмы, как базального (0-я мин), так и стимулированного (на 30-й и 120-й мин), значимо не различались между группами (см. табл. 3).

Таким образом, как базальная, так и стимулированная секреция инсулина была значимо выше у лиц с ожирением с НормУО по сравнению с сопоставимыми по степени и длительности ожирения лицами с СД2.

Используя данные клэмп-теста и ПГТТ/ММТ, мы рассчитали дополнительный показатель, который характеризует способность  $\beta$ -клеток секретировать достаточное количество инсулина для преодоления инсулинорезистентности и усвоения глюкозы тканями — ИУГ

**Таблица 2.** Сравнительная характеристика инсулинорезистентности у лиц с ожирением с СД2 и с нормальным углеводным обменом (Ме [Q25; Q75])

Параметр	Ожирение и СД2 n=34	Ожирение и НормУО n=34	p
М-индекс, мг/кг в минуту	1,52 [0,98; 2,23]	4,13 [3,40; 5,35]	<b>&lt;0,001</b>
НОМА-IR	9,94 [6,12; 15,30]	4,84 [2,95; 5,84]	<b>&lt;0,001</b>
НОМА-% $\beta$	94,22 [44,23; 146,63]	228,50 [165,57; 307,32]	<b>&lt;0,001</b>
Индекс инсулиногенности (ИИ), мЕд/ммоль	15,24 [7,05; 25,39]	28,15 [15,81; 64,59]	<b>&lt;0,002</b>
Индекс утилизации глюкозы (М-индекс $\times$ ИИ)	25,94 [6,00; 48,18]	115,63 [69,14; 307,32]	<b>&lt;0,001</b>

*Примечания.* СД2 — сахарный диабет 2-го типа, НормУО — нормальный углеводный обмен. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

**Таблица 3.** Динамика концентраций инсулина и глюкозы крови в ходе выполнения ПГТТ/ММТ на 0-й, 30-й и 120-й мин (Ме [Q25; Q75])

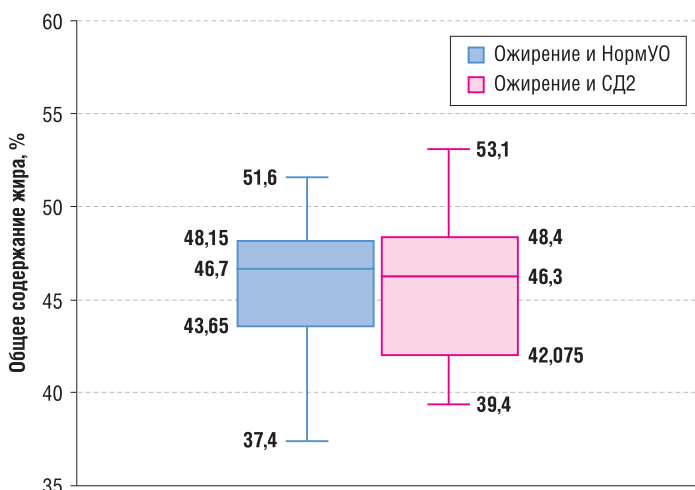
Параметр	Ожирение и СД2 n=34	Ожирение и НормУО n=34	p
Глюкоза 0, ммоль/л	8,89 [7,27; 12,53]	5,16 [4,87; 5,78]	<0,001
Глюкоза 30, ммоль/л	13,76 [10,33; 17,08]	8,17 [7,47; 9,54]	<0,001
Глюкоза 120, ммоль/л	12,26 [8,73; 15,98]	5,74 [4,50; 7,21]	<0,001
Инсулин 0, мЕд/л	23,91 [13,92; 35,22]	20,57 [13,71; 24,62]	0,099
Инсулин 30, мЕд/л	92,37 [42,28; 121,75]	104,40 [74,13; 185,05]	0,068
Инсулин 120, мЕд/л	41,25 [24,62; 58,72]	56,49 [23,67; 85,17]	0,286

*Примечание.* ПГТТ — пероральный глюкозотолерантный тест, ММТ — тест со стандартизированной смешанной пищевой нагрузкой; СД2 — сахарный диабет 2-го типа, НормУО — нормальный углеводный обмен. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

(glucose disposition index) [16]. Чем выше данный показатель, тем лучше  $\beta$ -клетки адаптированы к условиям инсулинорезистентности. По результатам нашего исследования, у лиц с нормальным углеводным обменом отмечается почти в 4,5 раза более высокий индекс ИУГ (см. табл. 2), что свидетельствует о способности  $\beta$ -клеток этой группы лиц к гиперсекреции инсулина для преодоления инсулинорезистентности.

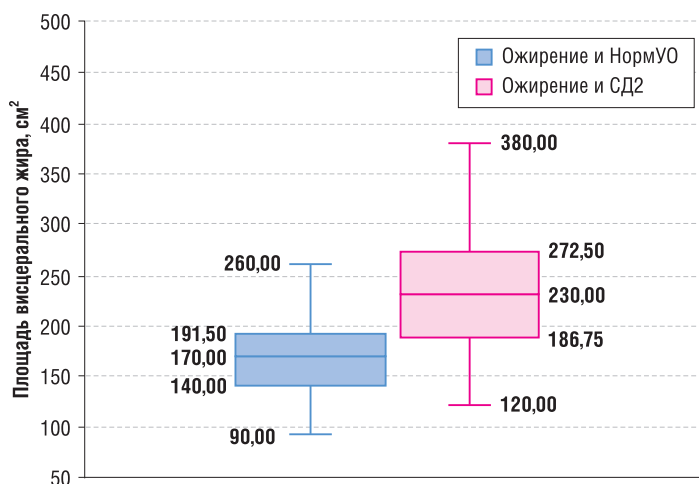
Композитный состав тела у всех включенных пациентов с длительным анамнезом ожирения отражал равное количество общего жира (в %) в обеих группах (рис. 1). При этом у лиц с СД2 наблюдалась статистически значимо большая площадь висцерального жира по сравнению с лицами с НормУО (рис. 2).

Таким образом, при сравнении пациентов с длительным анамнезом ожирения, страдающих СД2 и не



**Рис. 1.** Общее содержание жира у пациентов с ожирением и СД2 и с ожирением и НормУО (Ме [Q25; Q75])

*Примечания.* СД2 — сахарный диабет 2-го типа, НормУО — нормальный углеводный обмен.



**Рис. 2.** Площадь висцерального жира у пациентов с ожирением и СД2 и с ожирением и НормУО (Ме [Q25; Q75])

*Примечания.* СД2 — сахарный диабет 2-го типа, НормУО — нормальный углеводный обмен.

имеющих нарушений углеводного обмена, было выявлено, что, несмотря на отсутствие значимых отличий в длительности ожирения (около 20 лет в обеих группах), соотношении окружности талии/бедер и ИМТ, пациенты с СД2 характеризовались более выраженной инсулинорезистентностью (как по клэмп-тесту, так и по индексу НОМА-IR), значимо меньшей базальной и стимулированной секрецией инсулина, а также большей площадью висцерального жира.

## Обсуждение

### *Резюме основного результата исследования*

На примере двух групп пациентов с длительным (около 20 лет) ожирением, отличающихся только наличием/отсутствием нарушений углеводного обмена, показано, что для поддержания нормального метаболизма глюкозы и преодоления имеющейся инсулинорезистентности необходимы сохраненная базальная и стимулированная секреция инсулина, достаточные для ее преодоления. Такой фенотип ожирения (с инсулинорезистентностью, но сохраненной секрецией инсулина) приближает нас к пониманию механизмов «метаболического здоровья» и определяет возможные направления профилактики развития нарушений углеводного обмена у лиц с длительным анамнезом ожирения.

### *Обсуждение основного результата исследования*

Причинно-следственная связь между наличием ожирения и развитием СД2 не вызывает сомнений. Установлено, что чем выше ИМТ и чем дольше длительность ожирения, тем выше риски развития СД2 [18–21]. Нас заинтересовала группа лиц, которая не укладывается в данную традиционную концепцию и которая сохраняет нормальный углеводный обмен даже при большой длительности ожирения. Представляют интерес результаты клинических исследований, в которых было показано, что не столько длительность ожирения ассоциирована с развитием СД2, сколько неуклонный прирост ИМТ с течением времени [22, 23]. Если же исключить факт нарастания ИМТ с годами, то риск развития СД2 практически не увеличивается. Другими словами, при стабильном удержании одинаковой (хоть и высокой) массы тела в течение многих лет риск развития СД2 не возрастает.

В наше исследование были включены больные с длительным (более 10 лет) анамнезом ожирения и нормальным углеводным обменом (без СД2 и предиабета). Группой сравнения для них служили лица с такой же длительностью и выраженностью ожирения (по ИМТ), но с развившимся СД2. Целью исследования было определить различия между этими группами по степени инсулинорезистентности, базальной и стимулированной секреции инсулина, а также определить, что именно удерживает людей без нарушений углеводного обмена в категории «метаболического здоровья» — более низкая степень инсулинорезистентности или более сохраненная секреция инсулина?

Инсулинорезистентность оценивали методом «золотого стандарта» в ходе гиперинсулинемического эугликемического теста, а также расчетным методом НОМА-IR. По результатам нашего исследования, все пациенты с ожирением независимо от степени нарушения углеводного обмена имели инсулинорезистентность, однако у лиц с СД2 патологический процесс невосприимчивости инсулина был значимо более выраженным по сравнению

с лицами с НормУО как по результатам гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста (М-индекс), так и по данным расчетного индекса НОМА-IR.

Хорошо известно, что сама по себе инсулинорезистентность не приводит к развитию СД2 в случае достаточной компенсаторной секреции инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы [24, 25].

Для характеристики базальной секреции инсулина мы использовали расчетный индекс НОМА-% $\beta$ , для оценки стимулированной (1-й фазы) секреции инсулина — индекс инсулиногенности. По обоим индексам пациенты с ожирением без нарушений углеводного обмена характеризовались более сохраненной как базальной, так и стимулированной секреторной функцией  $\beta$ -клеток.

В ранее проведенных исследованиях было показано, что базальная секреция инсулина зависит от количества сопутствующих метаболических факторов, входящих в понятие «метаболический синдром» (ожирение, гипергликемия, дислипидемия, гипертония и пр.): чем больше этих факторов у каждого конкретного человека, тем ниже у него секреция инсулина [26]. В нашем исследовании группы обследованных лиц различались только лишь по уровню гликемии (что отчасти требованиям дизайна исследования), и были сопоставимы по другим метаболическим факторам (по ИМТ, окружности талии/бедер, частоте дислипидемии и артериальной гипертензии). При этом базальная и стимулированная секреция инсулина у людей без СД2 превосходила таковую у лиц с СД2 в 2,4 и 1,8 раз соответственно. По-видимому, такая гиперсекреция инсулина у лиц без нарушений углеводного обмена и позволила справиться с той умеренной инсулинорезистентностью периферических тканей и обеспечить нормальный уровень гликемии натощак, а сохраненная 1-я фаза секреции инсулина позволила сохранить у них нормальный постпрандиальный уровень гликемии (см. табл. 3).

Показателем, объединяющим инсулинорезистентность и секрецию инсулина, является индекс утилизации глюкозы — интегральный показатель, отражающий способность клеток организма поглощать глюкозу крови. Более высокий показатель говорит о хорошей адаптации  $\beta$ -клетки к условиям инсулинорезистентности. Существует несколько способов оценки ИУГ. Первоначально способ был предложен R. Bergman с соавт. [27]: он предполагал связь чувствительности к инсулину и продленной секреции инсулина, полученных с помощью минимальной модели (MINIMOD), подразумевающей внутривенное введение глюкозы. С течением времени количество способов оценки ИУГ увеличилось. Так, например, в настоящее время более распространено использование именно первой фазы секреции инсулина. Кроме того, для оценки первой фазы секреции инсулина применяются как внутривенное введение глюкозы, так и пероральные тесты [17, 28]. Однако как такового «золотого стандарта» определения ИУГ до сих пор не выработано.

Для определения ИУГ в нашей работе мы использовали М-индекс, а также индекс инсулиногенности, определенный в ходе пероральных тестов ПГТТ/ММТ. Мы считаем, что данная формула наиболее полно отражает ИУГ: во-первых, М-индекс является «золотым стандартом» отражения инсулинорезистентности, во-вторых, индекс инсулиногенности, полученный в ходе перорального теста, включает в себя в том числе влияние инкретинов (гормонов желудочно-кишечного тракта) на секрецию инсулина, исключенное при проведении внутривенного введения глюкозы.

В нашем исследовании у пациентов с СД2 ИУГ был значимо ниже, чем у пациентов без нарушений углеводного обмена. При этом на низкий показатель ИУГ у лиц с СД2 влияли как повышение инсулинорезистентности, так и снижение секреторной функции  $\beta$ -клеток.

Полученные результаты согласуются с данными ранее проведенных исследований. В работе Т. Chen с соавт. [28] ИУГ был значимо больше у пациентов без СД2. Представляется интересным, что ИУГ снижается не только у пациентов с СД2. В исследовании М. Magini с соавт. [17] включили 196 пациентов с ожирением без СД2, после чего были выделены группы с наличием и отсутствием кардиометаболических рисков. При сравнении групп было показано, что ИУГ значимо ниже у «метаболически нездоровых» участников. Кроме того, некоторые авторы сообщают, что сниженное значение ИУГ является ранним маркером неадекватной работы  $\beta$ -клеток и может служить предиктором развития СД2 в течение ближайших 10 лет [7]. В нашем исследовании в группе пациентов с ожирением и НормУО ИУГ был выше, чем у пациентов с СД2. Однако в связи с отсутствием в нашей работе группы участников без ожирения мы не можем сказать, насколько изменен ИУГ у пациентов с ожирением в сравнении с пациентами без ожирения, а также какой компонент вносит больший вклад в изменение ИУГ у пациентов с ожирением. Дальнейшие исследования могут внести большую ясность в данный вопрос.

Инсулинорезистентность тканей во многом зависит не только от общего количества жира в организме, но и от его распределения. Множество работ отождествляют риски развития СД2 с увеличением количества висцерального жира, накапливаемого в сальнике и внутренних органах. Так, в работе I. Neeland с соавт. [29] в течение 7 лет велось наблюдение за 732 пациентами с ожирением и нормальным углеводным обменом. За время наблюдения у 11,5% пациентов развился СД2. Среди факторов, отличающих данную группу пациентов от лиц, сохранивших нормальную толерантность к глюкозе, авторы выделили исходно более высокий уровень инсулинорезистентности и более высокое содержание висцерального жира при идентичном количестве общего и подкожного жира. Схожие данные были получены при наблюдении 2204 пациентов с исходным «метаболически здоровым» фенотипом: чем больше был процент висцерального жира исходно, тем выше оказалась вероятность развития СД2 за время наблюдения [30]. В нашем исследовании мы получили аналогичные закономерности: обе группы лиц с ожирением не различались по процентному содержанию общего жира (см. рис. 1), но значимо различались по площади висцерального жира, которая была выше в группе больных с СД2 (см. рис. 2).

### Ограничения исследования

Большинство набранных пациентов были кандидатами на проведение бариатрической операции, имели длительное выраженное ожирение. Большинство пациентов с СД2 не имели удовлетворительной компенсации углеводного обмена, что могло отразиться на показателях секреции инсулина, однако из исследования были исключены больные с выраженной декомпенсацией ( $HbA1c >9,5\%$ ), что позволило нам сопоставить группы обследованных лиц по всем выбранным параметрам. Для выполнения задач данного исследования (поиск различий между пациентами с ожирением с СД2 и с НормУО) было

достаточно этих двух групп. Однако для экстраполяции результатов исследования на популяцию в целом в будущем необходимо будет сравнить указанные группы с лицами без ожирения.

### Выводы

1. Пациентов с длительным анамнезом ожирения и без нарушений углеводного обмена в сравнении с пациентами с ожирением и СД2 характеризуют меньшая степень инсулинорезистентности и более сохранная как базальная, так и стимулированная секреция инсулина.
2. Наиболее вероятно, что в поддержании нормального углеводного обмена у лиц с ожирением больший вклад вносит именно сохранная секреция инсулина, что подтверждается высоким (почти в 4,5 раза по сравнению с лицами с СД2) индексом утилизации глюкозы, характеризующим способность  $\beta$ -клеток секретировать нужное количество инсулина для преодоления инсулинорезистентности.
3. Распределение жировой ткани у лиц с ожирением и СД2 в большей степени, смещено в сторону висцеральных депо при равном содержании общего жира.

351

### Источник финансирования

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 17-15-01435 «Ожирение и сахарный диабет: поиск протективных генетических, гормонально-метаболических и молекулярно-клеточных факторов, препятствующих развитию сахарного диабета у лиц с ожирением»).

### Конфликт интересов

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

### Участие авторов

Е.А. Шестакова — проведение ПГТТ/ММТ, анализ данных, написание текста, редактирование текста; И.А. Скляник — проведение клэмп-тестов, ПГТТ/ММТ, статистическая обработка, анализ данных, написание текста; А.С. Паневина — проведение клэмп-тестов, ПГТТ/ММТ, написание текста; М.В. Шестакова — концепция и дизайн исследования, анализ данных, интерпретация результатов, написание текста, редактирование текста.

Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

### Благодарности

Авторы выражают благодарность сотрудникам клинических центров, принимавших участие в наборе пациентов: д.м.н., проф. Яшкову Юрию Ивановичу (АО «Центр эндохирургии и литотрипсии»); д.м.н., проф. Феден-

ко Вадиму Викторовичу; д.м.н. Евдошенко Владимиру Викторовичу; к.м.н. Бордан Наталье Семёновне (ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России); к.м.н. Войчик Эмме Анатольевне; д.м.н. Юрасову Анатолию Владимировичу;

Яхьяеву Камилу Абусаидовичу (ЦКБ № 1 — филиал НУЗ «НКЦ ОАО «РЖД»).

Авторы выражают благодарность медицинскому брату ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Гаспаряну Араму Гагиковичу, принимавшему участие в проведении клэмп-тестов, а также ПГТТ/ММТ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Sims EA. Are there persons who are obese, but metabolically healthy? *Metabolism*. 2001;50(12):1499–1504. doi: 10.1053/meta.2001.27213.
2. Романцова Т.И., Островская Е.В. Метаболически здоровое ожирение: дефиниции, протективные факторы, клиническая значимость // *Альманах клинической медицины*. — 2015. — №S1 — С. 75–86. [Romantsova TI, Ostrovskaya EV. Metabolically healthy obesity: definations, protective factors, clinical relevance. *Almanac of Clinical Medicine*. 2015;(S1):75–86. (In Russ).]
3. Wildman RP, Muntner P, Reynolds K, et al. The obese without cardiometabolic risk factor clustering and the normal weight with cardiometabolic risk factor clustering: prevalence and correlates of 2 phenotypes among the US population (NHANES 1999–2004). *Arch Intern Med*. 2008;168(15):1617–1624. doi: 10.1001/archinte.168.15.1617.
4. Дедов И.И., Шестакова М.В., Галстян Г.Р. Распространенность сахарного диабета 2 типа у взрослого населения России (исследование NATION) // *Сахарный диабет*. — 2016. — Т.19. — №2 — С. 104–112. [Dedov II, Shestakova MV, Galstyan GR. The prevalence of type 2 diabetes mellitus in the adult population of Russia (NATION study). *Diabetes Mellitus*. 2016;19(2):104–112. (In Russ).] doi: 10.14341/DM2004116-17.
5. Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest*. 1999;104(6):787–794. doi: 10.1172/JCI7231.
6. World Health Organization, International Diabetes Federation. *Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia* [Internet]. Geneva: WHO; 2006. 50 p. [cited 2018 Sep 12]. Available from: <http://www.who.int/iris/handle/10665/43588>.
7. Utzschneider KM, Prigeon RL, Faulenbach MV, et al. Oral disposition index predicts the development of future diabetes above and beyond fasting and 2-h glucose levels. *Diabetes Care*. 2009;32(2):335–341. doi: 10.2337/dc08-1478.
8. Verney J, Schwartz C, Amiche S, et al. Comparisons of a multi-frequency bioelectrical impedance analysis to the dual-energy x-ray absorptiometry scan in healthy young adults depending on their physical activity level. *J Hum Kinet*. 2015;47:73–80. doi: 10.1515/hukin-2015-0063.
9. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol*. 1979;237(3):E214–223. doi: 10.1152/ajpendo.1979.237.3.E214.
10. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю., и др. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова. — 8-й выпуск // *Сахарный диабет*. — 2017. — Т.20. — №1S — С. 1–121. [Dedov II, Shestakova MV, Mayorov AY, et al. Standards of specialized diabetes care. Edited by Dedov II, Shestakova MV, Mayorov AY. 8th edition. *Diabetes Mellitus*. 2017;20(1S):1–121. (In Russ).] doi: 10.14341/DM20171S8.
11. Майоров А.Ю. *Состояние инсулинорезистентности в эволюции сахарного диабета 2 типа*: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. — М.; 2009. [Mayorov AY. *Condition of insulinresistance in the evolution of type 2 diabetes mellitus*. [dissertation abstract] Moscow; 2009. (In Russ).] Доступно по: <http://medical-diss.com/medicina/sostoyanie-insulinorezistentnosti-v-evolyutsii-saharnogo-diabeta-2-tipa>. Ссылка активна на 14.06.2018.
12. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412–419. doi: 10.1007/bf00280883.
13. Gayoso-Diz P, Otero-González A, Rodriguez-Alvarez MX, et al. Insulin resistance (HOMA-IR) cut-off values and the metabolic syndrome in a general adult population: effect of gender and age: EPIRCE cross-sectional study. *BMC Endocr Disord*. 2013;13:47. doi: 10.1186/1472-6823-13-47.
14. Li X, Zhou ZG, Qi HY, et al. [Replacement of insulin by fasting C-peptide in modified homeostasis model assessment to evaluate insulin resistance and islet beta cell function. (In Chinese).] *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2004;29(4):419–423.
15. Tura A, Kautzky-Willer A, Pacini G. Insulinogenic indices from insulin and C-peptide: comparison of beta-cell function from OGTT and IVGTT. *Diabetes Res Clin Pract*. 2006;72(3):298–301. doi: 10.1016/j.diabres.2005.10.005.
16. Bergman RN, Ader M, Huecking K, Van Citters G. Accurate assessment of beta-cell function: the hyperbolic correction. *Diabetes*. 2002;51Suppl 1:S212–220. doi: 10.2337/diabetes.51.2007.s212.
17. Marini MA, Frontoni S, Succurro E, et al. Differences in insulin clearance between metabolically healthy and unhealthy obese subjects. *Acta Diabetol*. 2014;51(2):257–261. doi: 10.1007/s00592-013-0511-9.
18. Power C, Thomas C. Changes in BMI, duration of overweight and obesity, and glucose metabolism: 45 years of follow-up of a birth cohort. *Diabetes Care*. 2011;34(9):1986–1991. doi: 10.2337/dc10-1482.
19. Mongraw-Chaffin M, Foster MC, Kalyani RR, et al. Obesity severity and duration are associated with incident metabolic syndrome: evidence against metabolically healthy obesity from the multi-ethnic study of atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(11):4117–4124. doi: 10.1210/jc.2016-2460.
20. Bell JA, Kivimaki M, Hamer M. Metabolically healthy obesity and risk of incident type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Obes Rev*. 2014;15(6):504–515. doi: 10.1111/obr.12157.
21. Mongraw-Chaffin M, Foster MC, Anderson CA, et al. Metabolically healthy obesity, transition to metabolic syndrome, and cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71(17):1857–1865. doi: 10.1016/j.jacc.2018.02.055.
22. Hu Y, Bhupathiraju SN, De Koning L, Hu FB. Duration of obesity and overweight and risk of type 2 diabetes among US women. *Obesity (Silver Spring)*. 2014;22(10):2267–2273. doi: 10.1002/oby.20851.
23. Abdullah A, Stoelwinder J, Shortreed S, et al. The duration of obesity and the risk of type 2 diabetes. *Public Health Nutr*. 2011;14(1):119–126. doi: 10.1017/S1368980010001813.
24. Cavaghan MK, Ehrmann DA, Polonsky KS. Interactions between insulin resistance and insulin secretion in the development of glucose intolerance. *J Clin Invest*. 2000;106(3):329–333. doi: 10.1172/JCI10761.

25. Faerch K, Vaag A, Holst JJ, et al. Natural history of insulin sensitivity and insulin secretion in the progression from normal glucose tolerance to impaired fasting glycemia and impaired glucose tolerance: the inter99 study. *Diabetes Care*. 2009;32(3):439–444. doi: 10.2337/dc08-1195.
26. Garg MK, Dutta MK, Mahalle N. Study of beta-cell function (by HOMA model) in metabolic syndrome. *Indian J Endocrinol Metab*. 2011;15 Suppl 1:S44–49. doi: 10.4103/2230-8210.83059.
27. Bergman RN, Phillips LS, Cobelli C. Physiologic evaluation of factors controlling glucose tolerance in man: measurement of insulin sensitivity and beta-cell glucose sensitivity from the response to intravenous glucose. *J Clin Invest*. 1981;68(6):1456–1467. doi: 10.1172/JCI110398.
28. Chen T, Xu F, Su JB, et al. Glycemic variability in relation to oral disposition index in the subjects with different stages of glucose tolerance. *Diabetol Metab Syndr*. 2013;5:38. doi: 10.1186/1758-5996-5-38.
29. Neeland IJ, Turer AT, Ayers CR, et al. Dysfunctional adiposity and the risk of prediabetes and type 2 diabetes in obese adults. *JAMA*. 2012;308(11):1150–1159. doi: 10.1001/2012.jama.11132.
30. Kang YM, Jung CH, Cho YK, et al. Visceral adiposity index predicts the conversion of metabolically healthy obesity to an unhealthy phenotype. *PLoS One*. 2017;12(6):e0179635. doi: 10.1371/journal.pone.0179635.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

\***Скляник Игорь Александрович**, аспирант, н.с. [*Igor A. Sklyanik*, MD, PhD student, research associate];  
**адрес:** 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova str., Moscow, 117036 Russian Federation],  
**e-mail:** sklyanik.igor@gmail.com, **SPIN-код:** 7081-8077, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-7768-4717>

**Шестакова Екатерина Алексеевна**, к.м.н., в.н.с. [*Ekaterina A. Shestakova*, MD, PhD, leading research associate],  
**e-mail:** katiashestakova@mail.ru, **SPIN-код:** 1124-7600, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6612-6851>

**Паневина Анна Сергеевна**, н.с. [*Anna S. Panevina*, MD, research associate], **e-mail:** annapv3010@gmail.com,  
**SPIN-код:** 7247-7419, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-2744-7550>

**Шестакова Марина Владимировна**, д.м.н., профессор, академик РАН [*Marina V. Shestakova*, MD, PhD, Professor],  
**e-mail:** nephro@endocrincentr.ru, **SPIN-код:** 7584-7015, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-3893-9972>



## Уважаемые читатели!

Педиатры Национального научно-практического центра здоровья детей и Союз педиатров России подготовили для вас книгу полезных советов на каждый день о детях в возрасте от 0 до 18 лет.

В первой части вас ждут ответы на вопросы:

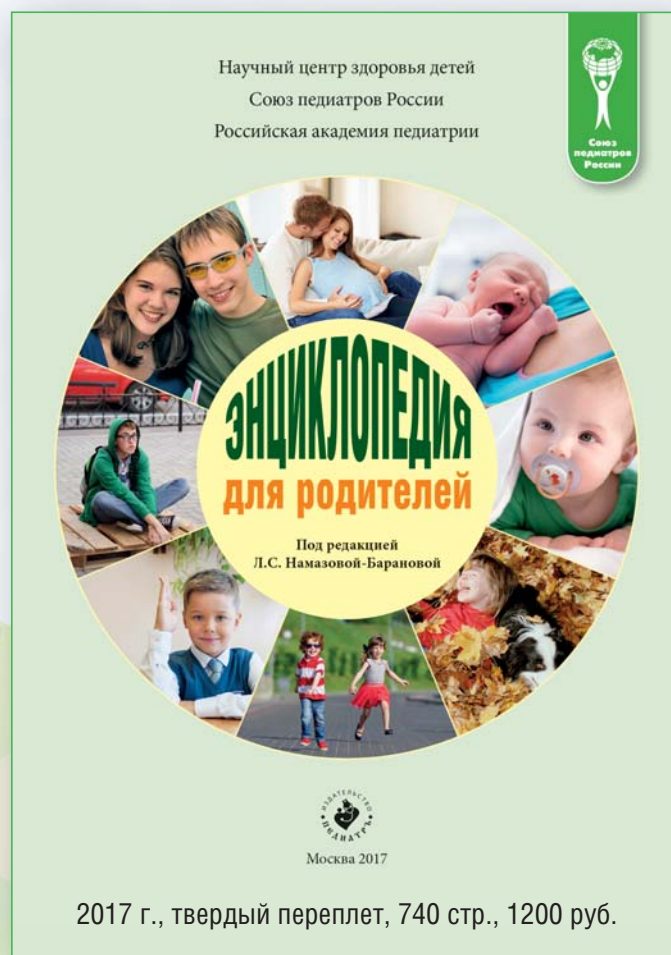
- Как правильно кормить ребенка?
  - Как выбрать подгузник?
  - Почему малыш плачет?
  - В чем причина плохой успеваемости в школе?
  - Вредные привычки, общение в социальных сетях, первая влюбленность...
- Вторая часть издания посвящена проблемам здоровья.
- Что могут означать те или иные симптомы?
  - Когда нужно срочно идти к врачу?

В энциклопедии также предусмотрены советы по оказанию первой помощи до обращения к врачу, изложены юридические и социальные аспекты «надлежащего родительства».

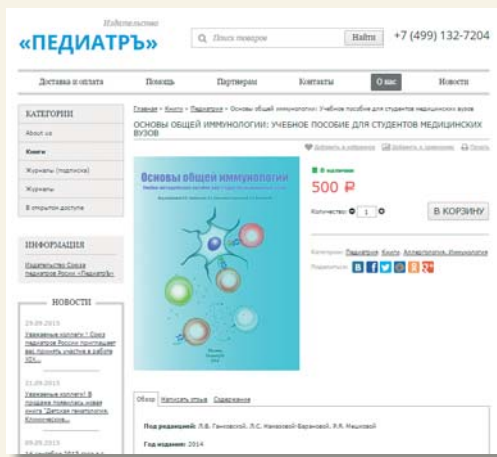
Книгу можно приобрести на сайте:

<http://www.spr-journal.ru/sc5/shop/entsiklopediya-dlya-roditeley/>

*По Москве возможна доставка курьером.*



# Информация о сайте [www.spr-journal.ru](http://www.spr-journal.ru)



- Большой выбор медицинской литературы
- Низкие цены
- Удобная форма регистрации
- Разные варианты доставки
- Оперативная обратная связь
- Актуальные новости от Союза педиатров России

## Электронная библиотека журналов издательства «ПедиатрЪ»

Приглашаем вас посетить новые сайты журналов издательства и оценить их преимущества.

- Электронные версии журналов в открытом доступе, за исключением последнего года выпуска
- Возможность разместить статью на сайте с помощью электронной редакции
- Подписка на статью, номер, на год журналов последнего года выпуска — по ценам редакции

### Преимущества для авторов журналов:

- полное соответствие сайтов журналов Издательства требованиям зарубежных реферативных баз данных (Scopus, Web of Science, PubMed и др.);
- присутствие журналов в различных базах данных, таких как РИНЦ, OCLC, WorldCat, Open Archives, iNeicon, Research Bible, Akademic Keys, Ciberleninka, VINITI RAN Referativnyi Zhurnal, Ulrich's Periodicals Directory, Google Scholar и др.;
- размещение по желанию автора дополнительных материалов к статье (видео, презентации);
- все журналы входят в Перечень ВАК



[sales@spr-journal.ru](mailto:sales@spr-journal.ru)



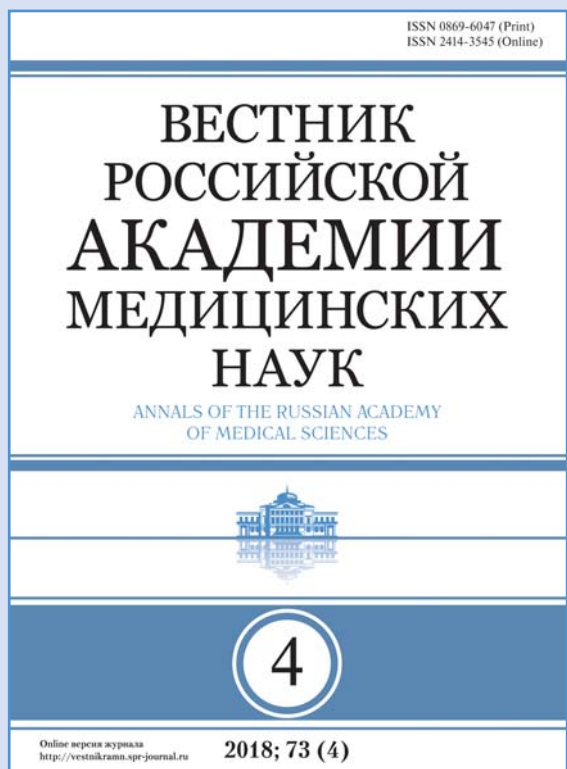
[www.spr-journal.ru](http://www.spr-journal.ru)



# ВНИМАНИЮ ПОДПИСЧИКОВ!



Союз  
педиатров  
России



Научно-практический рецензируемый журнал «Вестник Российской академии медицинских наук» — авторитетное научное издание, издается с 1946 года.

Журнал публикует оригинальные научные материалы, результаты завершённых клинических исследований во всех областях медицины и статьи обзорного характера по важнейшим проблемам медицинской науки и практики здравоохранения. Основной целью журнала является консолидация сообщества ученых и практиков, привлечение внимания к наиболее актуальным, перспективным и интересным направлениям медицины, содействие в формировании и развитии наиболее перспективных направлений исследовательской практики, представление информации о научных исследованиях и достижениях, обеспечение обмена мнениями между исследователями из разных регионов.

Журнал входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук. Индексируется в Elsevier BV Scopus, PubMed, РИНЦ.

## Подписка через агентства:

- **«Роспечать»**  
Подписной индекс 71488  
Оплата по квитанции через отделения Почты России.
- **«Почта России»**  
Подписной индекс П4838  
Оплата по квитанции через отделения Почты России.



## Электронная редакционная подписка

Новый номер журнала — в день выхода его электронной версии.

Стоимость:

- один выпуск — 750 руб.
- одна статья — 450 руб.
- полгода (3 номера) — 2 250 руб.,
- год (6 номеров) — 4 500 руб.

Оплата по квитанции через Сбербанк, online оплата пластиковыми картами VISA и MASTERCARD через платежную систему Яндекс.Деньги.

По всем возникающим вопросам обращаться  
по электронной почте [sales@spr-journal.ru](mailto:sales@spr-journal.ru)  
Контактное лицо – Вильма Генриховна Саакян

Адрес редакции:  
117335, г. Москва, ул. Вавилова, д. 81, кор. 1.