

ВЕСТНИК  
РОССИЙСКОЙ  
АКАДЕМИИ  
МЕДИЦИНСКИХ  
НАУК

ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY  
OF MEDICAL SCIENCES



3

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 Scopus, Embase, EBSCO,  
РИНЦ (Russian Science Citation Index на платформе Web of Science).  
Учредитель — Российская академия наук

**РИНЦ:**

- Impact Factor (5 лет) — 1,531
- Рейтинг SCIENCE INDEX (Медицина и здравоохранение) — 1

**SCOPUS:**

- CiteScore 2018 — 0,48 (Q3)
- SJR 2018 — 0,17 (Q3)

**Главный редактор:** В.И. Стародубов  
**Заместитель главного редактора:** В.В. Береговых  
**Научные редакторы:** А.А. Кубанов, И.В. Маев  
**Ответственный секретарь:** Л.С. Коков

**Редакционная коллегия:**

В.Г. Акимкин, А.И. Арчаков, А.А. Баранов, Ю.В. Белов, С.А. Бойцов, Н.И. Брико, Е.К. Гинтер, П.В. Глыбочко, В.М. Говорун, Е.З. Голухова, А.М. Дыгай, А.М. Егоров, А.А. Камалов, А.Д. Каприн, А.В. Караулов, С.И. Колесников, А.А. Кубатиев, С.И. Куцев, А.В. Лисица, А.Д. Макацария, А.И. Мартынов, Г.А. Мельниченко, Л.С. Намазова-Баранова, Е.Л. Насонов, М.А. Пирадов, Н.В. Пятигорская, В.И. Сергиенко, Г.Т. Сухих, Д.А. Сычев, В.А. Тутельян, В.П. Чехонин, М.В. Шестакова

**Зарубежные члены редакционной коллегии:**

Н.С. Сердюченко, М. Мюллер, В.Л. Фейгин, А. Хаверих, К. Шен, Д. Риццо

## 2019/том 74/№3

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 «Почта России» — П4838, в агентстве «Роспечать» — 71488

Издательство «ПедиатрЪ»: 117335, г. Москва, ул. Вавилова, д. 81, кор. 1, <http://vestnikramn.spr-journal.ru>  
e-mail: [vramn@spr-journal.ru](mailto:vramn@spr-journal.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 since 1946.*

The journal is indexed in Scopus, Embase, EBSCO,  
Russian Science Citation Index (Web of Science).

Founder: The Russian Academy of Sciences

**SCOPUS:**

- CiteScore 2018 — 0,48 (Q3)
- SJR 2018 — 0,17 (Q3)

**Editor-in-chief:** V.I. Starodubov

**Deputy editor-in-chief:** V.V. Beregovykh

**Science editors:** A.A. Kubanov, I.V. Maev

**Editorial secretary:** L.S. Kokov

**Editorial board:**

V.G. Akimkin, A.I. Archakov, A.A. Baranov, Yu.V. Belov, S.A. Boytsov, N.I. Briko, A.M. Dygai, A.M. Egorov, V.L. Fejgin, E.K. Ginther, P.V. Glybochko, V.M. Govorun, E.Z. Golukhova, G. Rizzo, A. Haverih, A.A. Kamalov, A.D. Kaprin, A.V. Karaulov, S.I. Kolesnikov, A.A. Kubatiev, S.I. Kutsev, A.V. Lisitsa, A.D. Makatsariy, A.I. Martynov, G.A. Melnichenko, M. Myuller, L.S. Namazova-Baranova, E.L. Nasonov, M.A. Piradov, N.V. Pyatigorskaya, N.S. Serdyuchenko, V.I. Sergienko, K. Shen, G.T. Sukhikh, D.A. Sychev, V.A. Tutelyan, V.P. Chekhonin, M.V. Shestakova

---

## 2019/ 74 (3)

---

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 Russian Post P4838, in the catalogue Rospechat 71488

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

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

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
БИОХИМИИ**

*М.А. Даренская, О.В. Смирнова, Э.В. Каспаров,  
Л.А. Гребёнкина, А.А. Сinyaков, Л.И. Колесникова,  
С.И. Колесников*

Оценка активности липопероксидных реакций у мужчин среднего возраста с хроническим гастритом на фоне инфицирования *H. pylori*

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИИ**

*А.А. Лепехова, А.С. Алленова, О.Ю. Олисова,  
Н.П. Теплюк, Е.В. Канарейкина*

Сравнительная оценка эффективности различных методов терапии синдрома Стивенса–Джонсона и токсического эпидермального некролиза на основании данных литературы

*И.Н. Кондрахина, Д.А. Вербенко, А.М. Затевалов,  
А.А. Кубанов, Д.Г. Дерябин*

Значение генетических и негенетических факторов в возникновении и развитии андрогенной алопеции у мужчин: многопараметрический анализ

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
КЛЕТЧНОЙ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ  
И ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ**

*И.А. Васютин, С.Л. Кузнецов, А.В. Люндуп*

Стволовые клетки, выделенные из мочи: оценка потенциала дифференцировки в гладкомышечные клетки и клетки уротелия

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ПСИХОЛОГИИ И ПСИХИАТРИИ**

*М.С. Застрожин, В.В. Смирнов, А.С. Сорокин,  
Е.А. Гришина, К.А. Рыжикова, В.В. Шипицын,  
Л.М. Савченко, О.Ж. Бузик, С.Г. Копоров,  
Е.А. Брюн, Д.А. Сычёв*

Влияние полиморфизма CYP2D6\*4 на профиль эффективности и безопасности мirtазапина у пациентов с депрессивным расстройством, коморбидным с алкогольной зависимостью

**BIOCHEMISTRY:  
CURRENT ISSUES**

**149** *M.A. Darenskaya, O.V. Smirnova, E.V. Kasparov,  
L.A. Grebenkina, A.A. Sinyakov, L.I. Kolesnikova,  
S.I. Kolesnikov*

Evaluation of the lipid peroxidation reactions activity in middle-aged men with chronic gastritis on the background of *H. pylori* infection

**DERMATOLOGY AND VENEROLOGY:  
CURRENT ISSUES**

**157** *A.A. Lepekhova, A.S. Allenova,  
O. Yu. Olisova, N.P. Teplyuk,  
E. V. Kanareikina*

Evaluation of the Effectiveness of Therapy for Stevens–Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis: A Review

**167** *I.N. Kondrakhina, D.A. Verbenko, A.M. Zatevalov,  
A.A. Kubanov, D.G. Deryabin*

The Value of Genetic and Non-Genetic Factors in the Emergence and in the Development of Androgenetic Alopecia in Men: Multifactor Analysis

**CELL TRANSPLANTOLOGY  
AND TISSUE ENGINEERING:  
CURRENT ISSUES**

**176** *I.A. Vasyutin, S.L. Kuznetsov, A.V. Lyundup*

Urine-Derived Stem Cells: Differentiation Potential into Smooth-Muscle Cells and Urothelial Cell

**PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY:  
CURRENT ISSUES**

**185** *M.S. Zastrozhin, V.V. Smirnov, A.S. Sorokin,  
E.A. Grishina, K.A. Ryzhikova, V.V. Shipitsyn,  
L.M. Savchenko, O.Zh. Buzik, S.G. Kopyorov,  
E.A. Bryun, D.A. Sychev*

The Effect of Cyp2d6 Gene Polymorphism on the Efficacy and Safety of Mirtazapine in Patients with Depressive Disorders Comorbid with Alcohol

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ОФТАЛЬМОЛОГИИ

*М.А. Грачева, А.А. Казакова, Д.Ф. Покровский,  
И.Б. Медведев*

Таблицы для оценки остроты зрения:  
аналитический обзор, основные термины

## OPHTHALMOLOGY: CURRENT ISSUES

**192** *M.A. Gracheva, A.A. Kazakova, D.F. Pokrovskiy,  
I.B. Medvedev*

Visual Acuity Charts:  
Analytical Review, Basic Terms

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПАТОФИЗИОЛОГИИ

*О.Ю. Кытикова, Т.П. Новгородцева, Ю.К. Денисенко,  
М.В. Антонюк, Т.А. Гвозденко*

Роль эндоканнабиноидной сигнальной  
системы в патофизиологии бронхиальной  
астмы и ожирения

## PATHOPHYSIOLOGY: CURRENT ISSUES

**200** *O.Y. Kytikova, T.P. Novgorodtseva,  
Y.K. Denisenko, M.V. Antonyuk, T.A. Gvozdhenko*

The Role of the Endocannabinoid  
Signaling System in the Pathophysiology  
of Asthma and Obesity

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ХИРУРГИИ

*В.М. Тимербулатов, Ш.В. Тимербулатов, Р.Р. Фаязов,  
М.В. Тимербулатов, Э.Н. Гайнуллина, Р.А. Смир*

Диагностика и выбор метода лечения  
интраабдоминальной гипертензии  
и абдоминального компартмент-синдрома

## SURGERY: CURRENT ISSUES

**210** *V.M. Timerbulatov, Sh.V. Timerbulatov, R.R. Fayazov,  
M.V. Timerbulatov, E.N. Gaynullina, R.A. Smir*

Diagnosis and Choice of a Method of Treatment  
of Intraabdominal Hypertension and Abdominal  
Compartment Syndrome

М.А. Даренская<sup>1</sup>, О.В. Смирнова<sup>2</sup>, Э.В. Каспаров<sup>2</sup>, Л.А. Гребёнкина<sup>1</sup>,  
А.А. Синяков<sup>2</sup>, Л.И. Колесникова<sup>1,3</sup>, С.И. Колесников<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Российская Федерация

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера,  
Красноярск, Российская Федерация

<sup>3</sup> Иркутский государственный университет, Иркутск, Российская Федерация

<sup>4</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация

## Оценка активности липопероксидных реакций у мужчин среднего возраста с хроническим гастритом на фоне инфицирования *H. pylori*

**Обоснование.** Недостаточно сведений о течении процессов липопероксидации-антиоксидантной защиты у мужчин среднего возраста, которые входят в группу риска развития онкологических заболеваний желудка по каскаду Корреа. **Цель работы** — провести анализ активности процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у мужчин с хроническим гастритом и хроническим атрофическим гастритом в сочетании и без наличия *Helicobacter pylori*. **Методы.** Обследовано 173 мужчины среднего возраста с установленным диагнозом хронического гастрита, которые были разделены на 4 группы: 1-я — пациенты с хроническим гастритом без наличия *H. pylori* (n=58), 2-я — пациенты с хроническим гастритом в сочетании с *H. pylori* (n=61), 3-я — пациенты с хроническим атрофическим гастритом без наличия *H. pylori* (n=28), 4-я — пациенты с хроническим атрофическим гастритом в сочетании с *H. pylori* (n=26). Оценка содержания показателей системы липопероксидации и активности антиоксидантных компонентов производилась с помощью спектрофотометрических методов исследования. **Результаты.** Инфицирование *H. pylori* при хроническом и хроническом атрофическом гастритах сопровождается значительными изменениями в системе перекисного окисления липидов, а также компонентах антиоксидантной защиты в виде накопления первичных и конечных продуктов, недостаточной активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы) и снижения содержания восстановленного глутатиона. Использование интегрирующего коэффициента для оценки степени выраженности прооксидантной активности подтверждает развитие антиоксидантной недостаточности у пациентов данных групп. **Заключение.** У пациентов, страдающих хроническим и хроническим атрофическим гастритами, сочетающимися с инфекцией *H. pylori*, установлены более выраженное прогрессирование реакций окислительного стресса и значительная недостаточность антиоксидантных факторов в сравнении с пациентами с данными формами гастрита без *H. pylori*.

**Ключевые слова:** хронический гастрит, хронический атрофический гастрит, *Helicobacter pylori*, липопероксидация, антиоксидантная защита. (Для цитирования: Даренская М.А., Смирнова О.В., Каспаров Э.В., Гребёнкина Л.А., Синяков А.А., Колесникова Л.И., Колесников С.И. Оценка активности липопероксидных реакций у мужчин среднего возраста с хроническим гастритом на фоне инфицирования *H. pylori*. Вестник РАМН. 2019;74(3):149–156. doi: 10.15690/vramn1087)

### Обоснование

Хронический гастрит, ассоциированный с *Helicobacter pylori*-инфекцией, является одним из самых распространенных заболеваний населения Земли [1–5]. *H. pylori* — основной патогенетический фактор развития хронического гастрита, причем **выраженность** заболевания зависит от вирулентности штаммов данной бактерии [3]. Наличие инфекции *H. pylori* может способствовать формированию серьезных изменений слизистой оболочки желудка дистрофического, а также атрофического характера, что в конечном итоге инициирует развитие рака желудка [6]. В соответствии с классификацией Международного агентства по изучению рака (International Agency for Research on Cancer, IARC), *H. pylori*-инфекция относится к канцерогенам I класса. Существенно влияют на степень выраженности структурных изменений слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите, ассоциированном с *H. pylori*-инфекцией, такие факторы, как генетическая предрасположенность и индивидуальная реакция организма в ответ на инфицирование [7]. Выяснено, что активация иммунного ответа на внедрение *H. pylori* носит вялотекущий, длительный характер и зачастую не

заканчивается полноценной элиминацией возбудителя, что способствует развитию хронического воспаления [8]. Согласно последним данным, ведущая роль принадлежит нарушениям антигенспецифического реагирования лимфоцитов, обусловленным в большей мере дисрегуляцией продукции цитокинов [9–11]. Имеются данные, что при заболеваниях, ассоциированных с *H. pylori*, иммунные нарушения вызывают развитие окислительного стресса, который способствует усилению иммунной недостаточности [12]. Ряд иммунологических нарушений активизирует провоспалительные интерлейкины, а рост активных форм кислорода стимулирует выработку интерлейкина 8, который способствует усугублению иммунных расстройств в слизистой оболочке желудка больных [13].

В последнее время значительный интерес представляют исследования относительно изучения окислительного стресса и активности антиоксидантной защиты при различных формах хронических гастритов, имеющих ассоциацию с *H. pylori* [14]. Также крайне актуальным является изучение действия ряда препаратов с антиоксидантными свойствами в лечении данного рода заболеваний: в частности, продемонстрирована эффективность связывания активных форм кислорода ионами висмута и их способ-

ность существенно снижать выраженность повреждений ДНК в клетках эпителия слизистой оболочки желудка [15, 16]. Установлено также, что такие показатели, как частота и выраженность изменений слизистой оболочки желудка на фоне гастрита, увеличиваются с возрастом больного и зависят от места и условий проживания человека, что определенно связано с инфицированностью *H. pylori* [17, 18]. Особенно исследование актуально для мужчин среднего возраста, которые входят в группу риска согласно каскаду Корреа (Correa) [6].

**Цель работы** — провести анализ активности процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у мужчин с хроническим гастритом и хроническим атрофическим гастритом в сочетании и без наличия *H. pylori*.

## Методы

### Дизайн исследования

Наблюдательное одномоментное нерандомизированное контролируемое многоцентровое выборочное исследование.

### Критерии соответствия

**Критериями включения** во все группы явились мужской пол, средний возраст (от 45 до 59 лет), информированное согласие на участие в исследовании.

**Критериями исключения** из всех групп явились наличие ВИЧ-инфекции, гепатита, туберкулеза, язвенной болезни желудка, острых и хронических заболеваний в фазе обострения, употребление антибактериальных и нестероид-

ных противовоспалительных препаратов, глюкокортико-стероидов; отказ от участия в научном исследовании.

### Условия проведения

Центры, принявшие участие в исследовании: ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск); ФИЦ КНЦ СО РАН «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера» (Красноярск); ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (Иркутск); МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва). Клиническое обследование мужчин всех исследуемых групп осуществлялось в гастроэнтерологическом отделении ФИЦ КНЦ СО РАН «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера» (Красноярск). Включение пациентов в исследование, взятие биологического материала проводилось при поступлении больных в стационар до начала терапии. Контрольная группа была сформирована из мужчин, проходящих плановую диспансеризацию.

### Продолжительность исследования

Исследование проводилось в течение 2013–2015 гг.

### Описание медицинского вмешательства

Анализ крови у всех участников исследования производили утром натощак из локтевой вены в объеме 10 мл однократно.

### Исходы исследования

#### Основной исход исследования

Оценка изменений состояния системы липопероксидации [концентрации первичных (диеновые конъюгаты)

M.A. Darenskaya<sup>1</sup>, O.V. Smirnova<sup>2</sup>, E.V. Kasparov<sup>2</sup>, L.A. Grebenkina<sup>1</sup>,  
A.A. Sinyakov<sup>2</sup>, L.I. Kolesnikova<sup>1, 3</sup>, S.I. Kolesnikov<sup>1, 4</sup>

<sup>1</sup> Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Krasnoyarsk Science Center SB RAS, Krasnoyarsk, Russian Federation

<sup>3</sup> Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

<sup>4</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

## Evaluation of the lipid peroxidation reactions activity in middle-aged men with chronic gastritis on the background of *H. pylori* infection

**Background:** There is not enough information about the course of the processes of lipid peroxidation-antioxidant defense in middle-aged men who are at risk of developing gastric cancer on the Correa cascade. **Aims:** To analyze of the processes of lipid peroxidation activity and antioxidant defense in men with chronic gastritis and chronic atrophic gastritis in combination with and without the presence of *Helicobacter pylori*. **Materials and methods:** 173 middle-aged men with an established diagnosis of chronic gastritis were examined, which were divided into 4 groups: group 1 — patients with chronic gastritis without *H. pylori* (n=58), group 2 — patients with chronic gastritis in combination with *H. pylori* (n=61), group 3 — patients with chronic atrophic gastritis without *H. pylori* (n=28), group 4 — patients with chronic atrophic gastritis in combination with *H. pylori* (n=26). Evaluation of the content of parameters of the lipid peroxidation system and the antioxidant components activity using spectrophotometric research methods was carried out. For statistical analysis, the software package Statistica 7.0 (Stat Soft, USA) was used. The study was conducted during 2013–2015. **Results:** Infection *H. pylori* with chronic and chronic atrophic gastritis accompanied by significant changes in the system of lipid peroxidation, and antioxidant defense components in the form of primary and accumulation of end products, insufficient activity of antioxidant enzymes — superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase and reducing content of reduced glutathione. The use of an integrating factor to assess the severity of prooxidant activity confirms the development of antioxidant deficiency in patients of these groups. **Conclusions:** In patients with chronic and chronic atrophic gastritis, combined with *H. Pylori* infection, a more pronounced progression of oxidative stress reactions and a significant lack of antioxidant factors were found in comparison with patients with these forms of gastritis without *H. pylori*.

**Keywords:** chronic gastritis, chronic atrophic gastritis, *Helicobacter pylori*, lipid peroxidation, antioxidant defense.

**(For citation):** Darenskaya MA, Smirnova OV, Kasparov JeV, Grebenkina LA, Sinyakov AA, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI. Evaluation of the lipid peroxidation reactions activity in middle-aged men with chronic gastritis on the background of *H. pylori* infection. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2019;74(3):149–156. doi: 10.15690/vramn1087

и конечных (малоновый диальдегид) продуктов перекисного окисления липидов] и антиоксидантной защиты (активность супероксиддисмутазы, каталазы, глутатион-S-трансферазы, глутатионпероксидазы, церулоплазмينا).

### Анализ в подгруппах

Всего для достижения цели исследования были сформированы 4 клинические группы и группа сравнения.

Критерии включения в контрольную группу (группа № 1): отсутствие гастроэнтерологических жалоб и гастроэнтерологического анамнеза, изменений слизистой оболочки желудка; отсутствие *H. pylori*, уровень пепсиногена-1 >50 мкг/л и соотношение пепсиноген-1/пепсиноген-2 >3.

Критерии включения в группу пациентов с хроническим гастритом (группа № 2): наличие диагноза «Хронический гастрит» (установлен на основании клинико-эпидемиологических данных, нормального содержания пепсиногенов в сыворотке крови и воспалительных изменений слизистой оболочки желудка в области большой и малой кривизны тела желудка на основании фиброэзофагогастродуоденоскопии; отсутствие *H. pylori*).

Критерии включения в группу пациентов с хроническим гастритом с *H. pylori*-инфекцией (группа № 3): наличие у пациентов *H. pylori*, а также критериев включения, специфичных для группы № 2.

Критерии включения в группу пациентов с хроническим атрофическим гастритом (группа № 4): наличие диагноза «Хронический гастрит» (дополнительно к критериям включения, специфичным для группы с хроническим гастритом, выявлялись атрофические изменения слизистой оболочки большой и малой кривизны тела желудка с использованием модифицированной Сиднейской классификации на основании фиброэзофагогастродуоденоскопии). Диагноз выраженного атрофического гастрита слизистой оболочки желудка ставили при значениях пепсиногена-1 <25 мкг/л и показателе отношения пепсиноген-1/пепсиноген-2 <3, морфологических признаках атрофических изменений слизистой оболочки желудка, полученных в результате прицельной биопсии, а также отсутствие *H. pylori*. В случае если значения пепсиногена-1 составляли от 25 до 50 мкг/л и при отношении пепсиноген-1/пепсиноген-2 >3, а также при наличии морфологических признаков атрофии слизистой оболочки желудка, заболевание оценивали как легкой и средней степени атрофии тела желудка.

Критериями включения в группу пациентов с хроническим атрофическим гастритом с *H. pylori*-инфекцией (группа № 5) явились помимо критериев включения, специфичных для группы № 4, также наличие у пациентов *H. pylori*.

Диагнозы хронического гастрита и хронического атрофического гастрита выставлялись врачом-гастроэнтерологом при обследовании на основании фиброэзофагогастродуоденоскопии, клинико-эпидемиологических данных и результатов гистологического исследования на основе модифицированной Сиднейской классификации. С помощью фиброэзофагогастродуоденоскопии были получены пять биоптатов от каждого пациента: у 2 — из антрального отдела по большой и малой кривизне на расстоянии 2–3 см от привратника, у 2 — из тела желудка по большой и малой кривизне на расстоянии 8 см от кардии, у 1 — из угла желудка. Диагноз верифицировался как хронический (неатрофический) гастрит, при наличии гистологических изменений в трех и более биоптатах. Проводили оценку секреторной функции желудка мето-

дом рН-метрии (системы «Гастроскан»). Дополнительно всем пациентам, входившим в исследование, проводили измерение содержания пепсиногенов в сыворотке крови иммуноферментным методом. Также диагноз выраженного атрофического гастрита антрального отдела подтверждался уровнем пепсиногена-1 менее 25 мкг/л и отношением пепсиноген-1/пепсиноген-2 менее 3 на фоне атрофических изменений слизистой оболочки желудка, подтвержденных прицельной биопсией. В случае с атрофическим хроническим гастритом, не ассоциированным с *H. pylori*, исключалась аутоиммунная природа хронического гастрита (проводилось исследование на антитела к париетальным клеткам желудка). С помощью иммуноферментного метода во всех исследуемых группах определяли титр специфических антител к антигену CagA. При определении *H. pylori* в качестве положительного результата считали титры антител  $\geq 30$  ЕІU, в качестве отрицательного — <30 ЕІU. Таким образом, были сформированы группы с/без *H. pylori*-инфекции.

### Методы регистрации исходов

Для оценки состояния системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты определяли содержание диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА), а также уровни супероксиддисмутазы, каталазы (CAT), глутатион-S-трансферазы (GST), глутатионпероксидазы (GPO), церулоплазмينا (CP) [19]. Для более информативного анализа интенсивности реакций окислительного стресса производили расчет интегрального показателя — коэффициента окислительного стресса (КОС), который отражает соотношение показателей системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты пациента к среднegrupповым значениям показателей контрольной группы [20]. В норме КОС стремится к условной 1, при его увеличении свыше 1 диагностируют развитие окислительного стресса [21].

### Этическая экспертиза

Обязательной процедурой включения мужчин в одну из групп являлось получение информированного согласия на участие в исследовании. Исследование одобрено Этическим комитетом ФИЦ КНЦ СО РАН «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера» (протокол № 11 от 11.11.2013).

### Статистический анализ

#### Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался.

#### Методы статистического анализа данных

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов прикладных программ Statistica for Windows 8.0 и Microsoft Excel, 2007. Определение близости к нормальному закону распределения количественных признаков осуществляли с помощью визуально-графического метода и критериев согласия Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллиефорса. На основании проведенного анализа выборка была охарактеризована как неправильно распределенная, вследствие чего для описания статистических различий между группами был использован критерий Манна–Уитни. При представлении количественных биохимических данных приводили следующие характеристики: медиану (Me), 25% ( $C_{25}$ ) и 75% ( $C_{75}$ ) квартили. Критический уровень значимости ( $p$ ) при проверке статистических гипотез принимался равным <0,05.

**Результаты**

**Объекты (участники) исследования**

Обследовано 173 мужчины среднего возраста (от 45 до 59 лет) с хроническими гастритами, которые были разделены на 4 группы: 1-я — пациенты с хроническим гастритом без *H. pylori* (ХГ;  $n=58$ , средний возраст  $46,3 \pm 1,9$  года), 2-я — пациенты с хроническим гастритом в сочетании с *H. pylori* (ХГ с *H. pylori*;  $n=61$ , средний возраст  $50,4 \pm 3,9$  года), 3-я — пациенты с хроническим атрофическим гастритом без *H. pylori* (ХАГ;  $n=28$ , средний возраст  $51,2 \pm 4,9$  года), 4-я — пациенты с хроническим атрофическим гастритом в сочетании с *H. pylori* (ХАГ с *H. pylori*;  $n=26$ , средний возраст  $49,1 \pm 4,4$  года). В качестве контроля использовали данные практически здоровых мужчин ( $n=63$ , средний возраст  $48,7 \pm 3,9$  года). Во всех группах больных и контрольной группе проводили оценку интенсивности процессов липопероксидации-антиоксидантной защиты с помощью спектрофотометрических методов исследования.

**Основные результаты исследования**

Показатели про- и антиоксидантного статуса в исследуемых группах представлены в табл. Как показано в табл., значения первичных (ДК) и конечных (МДА) продуктов перекисного окисления липидов статистически значимо возрастали относительно контрольных значений в группах ХГ с носительством *H. pylori* ( $p_{1-3}=0,04$  и  $p_{1-3}=0,02$ ), ХАГ ( $p_{1-4}=0,03$  и  $p_{1-4}=0,001$ ), ХАГ с *H. pylori* ( $p_{1-5}=0,03$  и  $p_{1-5}=0,001$ ). Значимые различия в отношении данных показателей в группах ХГ с *H. pylori*, ХАГ, ХАГ с *H. pylori* были зафиксированы также и в сравнении с группой ХГ (ДК:  $p_{2-3}=0,047$ ;  $p_{2-4}=0,03$ ;  $p_{2-5}=0,03$ ; МДА:  $p_{2-3}=0,02$ ;  $p_{2-4}=0,01$ ;  $p_{2-5}=0,01$ ).

При исследовании ферментативного звена системы антиоксидантной защиты мы получили данные о снижении концентрации супероксиддисмутазы в плазме у больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* относительно

контрольной группы ( $p_{1-3}=0,02$ ;  $p_{1-4}=0,001$ ;  $p_{1-5}=0,001$ ) и группы ХГ ( $p_{2-3}=0,02$ ;  $p_{2-4}=0,01$ ;  $p_{2-5}=0,01$ ). Также происходило уменьшение концентрации каталазы в плазме у больных ХАГ ( $p_{1-4}=0,03$ ) и ХАГ с *H. pylori* ( $p_{1-5}=0,03$ ) относительно контрольной группы и группы больных ХГ ( $p_{2-4}=0,03$  и  $p_{2-5}=0,03$  соответственно). Концентрация глутатион-S-трансферазы в плазме крови у больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* снижалась по сравнению с контрольной группой ( $p_{1-3}=0,01$ ;  $p_{1-4}<0,001$ ;  $p_{1-5}<0,001$ ) и группой больных ХГ ( $p_{2-3}=0,01$ ;  $p_{2-4}<0,001$ ;  $p_{2-5}<0,001$ ). Концентрация глутатионпероксидазы в плазме уменьшалась в группах больных ХГ с *H. pylori*, ХАГ и ХАГ с *H. pylori* относительно контрольной группы ( $p_{1-3}=0,041$ ;  $p_{1-4}=0,034$ ;  $p_{1-5}=0,029$ ).

Оценка степени выраженности прооксидантных реакций с помощью коэффициента окислительного стресса у больных всех групп показала следующие результаты: КОС (ХГ с *H. pylori*) 8,75 ( $p_{1-3}<0,001$ ), КОС (ХАГ) 15,5 ( $p_{1-4}<0,001$ ) и КОС (ХАГ с *H. pylori*) 22,4 ( $p_{1-5}<0,001$ ) (рис.).

**Нежелательные явления**

Случаи нежелательных явлений отсутствовали.

**Обсуждение**

**Резюме основного результата исследования**

Проведенное исследование показало наличие статистически значимых изменений в группах мужчин среднего возраста с различными формами гастритов. У всех обследованных больных выявлено усиление реакций перекисного окисления липидов с развитием антиоксидантной недостаточности.

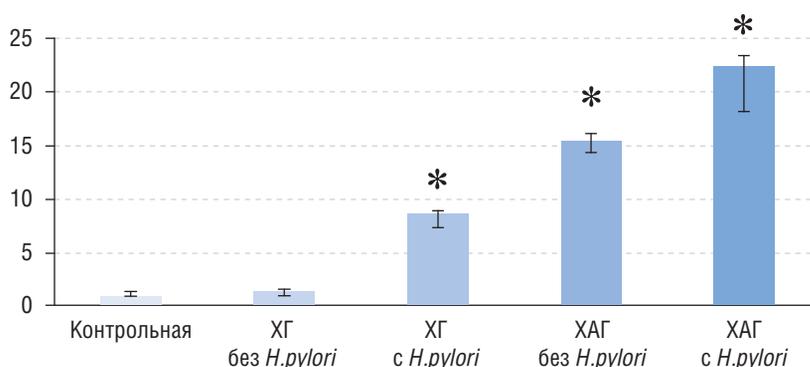
**Обсуждение основного результата исследования**

Хронический гастрит — полиэтиологическое заболевание, развитие которого связано с непосредственным

**Таблица.** Показатели прооксидантной и антиоксидантной системы в плазме у больных хроническим гастритом (ХГ) и хроническим атрофическим гастритом (ХАГ) без и в сочетании с *H. pylori*-инфекцией относительно контрольной группы

Показатели	Контрольная группа (1) $n=63$		ХГ (2) $n=58$		ХГ с <i>H. pylori</i> (3) $n=61$		ХАГ (4) $n=28$		ХАГ с <i>H. pylori</i> (5) $n=26$	
	Me	$C_{25}-C_{75}$	Me	$C_{25}-C_{75}$	Me	$C_{25}-C_{75}$	Me	$C_{25}-C_{75}$	Me	$C_{25}-C_{75}$
ДК, мкмоль/л	1,15	0,88–1,38	1,21	1,88–2,3	2,4	1,24–2,1	2,6	1,5–2,41	2,7	1,5–2,41
					$p_{1-3}=0,04$ ; $p_{2-3}=0,047$		$p_{1-4}=0,03$ ; $p_{1-4}=0,03$		$p_{1-5}=0,03$ ; $p_{1-5}=0,03$	
МДА, мкмоль/ 1 г белка	1,6	0,96–2,24	1,7	0,92–2,24	2,1	1,42–2,8	2,24	1,48–3,08	2,32	1,9–3,5
					$p_{1-3}=0,02$ ; $p_{2-3}=0,02$		$p_{1-4}=0,001$ ; $p_{2-4}=0,01$		$p_{1-5}=0,001$ ; $p_{2-5}=0,01$	
SOD, ед/мин/ 1 г белка	204,41	151,05–250,3	209,4	133,5–232,2	187,6	141,6–223,3	179,5	161–219,8	177,5	164–220,4
					$p_{1-3}=0,006$ ; $p_{2-3}=0,004$		$p_{1-4}=0,004$ ; $p_{1-4}=0,003$		$p_{1-5}=0,001$ ; $p_{1-5}=0,005$	
САТ, мкмоль/с/ 1 г белка	0,27	0,16–0,39	0,2	0,11–0,3	0,18	0,12–0,29	0,16	0,1–0,31	0,13	0,1–0,23
							$p_{1-4}=0,03$ ; $p_{2-4}=0,03$		$p_{1-5}=0,03$ ; $p_{2-5}=0,03$	
GST, ммоль/мин / 1 г белка	41,3	37,7–42,64	40,1	27,7–42,4	28,2	24,9–51,7	24,6	13,5–45,5	22,6	12,5–50,1
					$p_{1-3}=0,01$ ; $p_{2-3}=0,01$		$p_{1-4}<0,001$ ; $p_{2-4}<0,001$		$p_{1-5}<0,001$ ; $p_{2-5}<0,001$	
GPO, мкмоль/мин /1 г белка	105,9	81,19–162,38	107,5	81,19–162,3	95,02	68,9–102,1	87,5	70,1–104,05	84,5	62,1–100,5
					$p_{1-3}=0,041$		$p_{1-4}=0,034$		$p_{1-5}=0,029$	
СР, мг/л	192,5	157,5–227,5	193,5	157,5–217,3	167,2	132,0–186,3	159,6	123,7–189,8	157,6	113,7–190,8

**Примечание:** ДК — диеновые конъюгаты; МДА — малоновый диальдегид; SOD (superoxiddismutaza) — супероксиддисмутаза; САТ (catalase) — каталаза; GST (glutathione S-transferases) — глутатион-S-трансфераза; GPO (glutathione peroxidase) — глутатионпероксидаза; СР (ceruloplasmin) — церулоплазмин.



**Рис.** Значения коэффициента окислительного стресса в группах пациентов с хроническим и хроническим атрофическим гастритами без и в сочетании с *H. pylori*-инфекцией

**Примечание.** \* — статистически значимые различия с контрольной группой. ХГ — хронический гастрит, ХАГ — хронический атрофический гастрит.

воздействием экзо- или эндогенных факторов на слизистую оболочку желудка или опосредованным их влиянием через дисбаланс в иммунных, нейрогормональных механизмах регуляции [22–24]. Одним из ведущих факторов патогенеза хронического гастрита и показателем, характеризующим тяжесть его течения, является наличие инфицированности *H. pylori*. В нашем исследовании было выявлено, что наличие данной инфекции у больных приводит к значительной активации процессов липопероксидации в виде увеличения концентрации продуктов перекисного окисления липидов — диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, причем в группе с хроническим атрофическим гастритом изменения носили более выраженный характер. В настоящее время установлено, что инфекция *H. pylori* индуцирует развитие хронического воспаления, а далее способствует развитию окислительного стресса в иммунокомпетентных и эпителиальных клетках желудка, тем самым поддерживая активность воспалительного процесса и негативно влияя на перестроечные изменения слизистой оболочки желудка [25, 26]. Вследствие активной генерации активных форм кислорода нейтрофилами, а также зависимости нейтрофильной инфильтрации слизистой оболочки желудка от степени контаминации *H. pylori* можно предположить наличие высокой степени контаминации у больных с хроническими атрофическими изменениями. Полученные нами результаты согласуются с данными ряда исследователей, согласно которым у больных *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом в период обострения возрастает концентрация свободных радикалов не только в пораженной ткани, но и в плазме крови и эритроцитах [27]. Так как продукты перекисного окисления липидов относят к токсическим высокореакционным соединениям, оказывающим значительное повреждающее действие на липопротеиды, белки и нуклеиновые кислоты, их повышение может крайне негативно сказываться на состоянии организма в целом [28, 29].

Известно, что окислительный стресс, зависимый от силы и длительности патологического процесса, может инициировать как гибель клеток, так и включение адаптивных механизмов, которые приводят к росту редокс-статуса в клетке и возникновению новых соотношений активных форм кислорода/антиоксидантов [30, 31]. В исследовании установлено, что у пациентов с хроническими гастритами на фоне *H. pylori*, как в сравнении с контролем без *H. pylori*, отмечалось значимое уменьшение уровня основного фермента — супероксиддисмутазы.

Определено, что даже незначительное смещение ее активности является сигналом о сдвиге равновесия в сторону доминирования прооксидантных факторов, поскольку из-за высокого содержания фермента в эритроцитах его активность при умеренном воздействии не меняется [32]. Уровень каталазы также значительно снижался в группах с хроническим атрофическим гастритом независимо от наличия или отсутствия *H. pylori*. Супероксиддисмутазы и каталазы считаются первой линией защиты от свободнорадикального окисления и совместно функционируют в биомембранах клеток, в связи с чем можно свидетельствовать о наличии серьезного негативного эффекта активации липопероксидных реакций в данной группе пациентов. Значимые изменения в сторону снижения значений были зарегистрированы и в отношении остальных антиоксидантов — восстановленного глутатиона, глутатион-S-трансферазы и глутатионпероксидазы у пациентов с ХГ и *H. pylori*, хроническим атрофическим гастритом обеих групп. С учетом того, что восстановленная форма глутатиона как напрямую, так и в качестве основного кофактора глутатионзависимых ферментов принимает участие в нейтрализации прооксидантных факторов, антиоксидантных реакциях, процессах транспорта веществ через мембраны и др., можно предположить развитие дисбаланса в данного рода реакциях [32]. В качестве критерия степени выраженности прооксидантных реакций в нашем исследовании был применен коэффициент окислительного стресса. Данный показатель представляет собой отношение концентрации продуктов перекисного окисления липидов к антиоксидантным факторам и может характеризовать стадию формирования патологического процесса в организме в условиях хронического заболевания [20]. Значительное увеличение его значений, в особенности в группе больных хроническим атрофическим гастритом с *H. pylori*, может свидетельствовать о тяжести инфекционного воздействия, тем самым подтверждая наличие его системного влияния на организм в целом.

#### Ограничения исследования

Не представлялось возможным комплексно оценить состояние системы антиоксидантной защиты у пациентов с различными формами гастритов, что подразумевает также анализ содержания компонентов неферментативного звена — витаминов-антиоксидантов, уровня общей антиокислительной активности крови и т.д., и связано с дополнительными финансовыми затратами по проведению данных исследований.

### Заключение

Проведенное исследование показало наличие высокой активности процессов липопероксидации у мужчин, больных хроническим гастритом и хроническим атрофическим гастритом. Причем инфицирование бактерией *H. pylori* в данных группах пациентов характеризуется более выраженным оксидативным стрессом и недостаточностью антиоксидантных факторов, чем у пациентов с различными формами гастрита без *H. pylori*. Применение с целью оценки степени выраженности прооксидантных реакций интегрирующего коэффициента подтверждало развитие тяжелой антиоксидантной недостаточности в исследуемых группах пациентов. Исходя из полученных данных, у пациентов с *H. pylori*-ассоциированными гастритами рекомендуется наряду с проводимой антихеликобактерной терапией включать препараты антиоксидантного действия, способные оказывать стабилизирующее действие на мембраны, нормализовать нарушения клеточного обмена и, соответственно, положительно влиять на регресс метаболических и морфологических процессов в слизистой оболочке желудка.

### Дополнительная информация

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ КНЦ СО РАН «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера» «Распространенность, факторы риска и клинические проявления предраковых изменений пищевода и желудка у коренных и пришлых жителей различных регионов Восточной Сибири в онтогенезе» № 1201351111

и государственной бюджетной темы ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» «Основные детерминанты и механизмы формирования нарушений репродуктивного здоровья семьи в различных гендерных и возрастных группах» № 0542-2014-0004.

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

**Участие авторов:** М.А. Даренская — анализ полученных в работе результатов и формулирование выводов проведенного исследования, написание статьи; О.В. Смирнова — общеклиническое обследование пациентов, формирование групп, анализ полученных в работе результатов и формулирование выводов проведенного исследования, написание статьи; Э.В. Каспаров — постановка цели и задач исследования, формулирование выводов проведенного исследования; Л.А. Гребёнкина — анализ полученных в работе результатов, формулирование выводов проведенного исследования; А.А. Сняжков — проведение биохимических анализов параметров системы ПОЛ-АОЗ в контрольной группе и у пациентов с гастритами; статистическая обработка результатов, написание статьи; Л.И. Колесникова — постановка цели и задач исследования, анализ полученных в работе результатов и формулирование выводов проведенного исследования; С.И. Колесников — постановка цели и задач исследования, анализ полученных в работе результатов и формулирование выводов проведенного исследования. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку рукописи, прочли и одобрили финальную версию текста перед публикацией.

### ЛИТЕРАТУРА

- Adamu MA, Weck MN, Rothenbacher D, et al. Incidence and risk factors for the development of chronic atrophic gastritis: five year follow-up of a population-based cohort study. *Int J Cancer*. 2011;128(7):1652–1658. doi: 10.1002/ijc.25476.
- Маев И.В., Козюлин А.Н. Новые возможности профилактики рака желудка // *Терапевтический архив*. — 2017. — Т.89. — №4. — С. 101–109. [Maev IV, Kazyulin AN. New opportunities for the prevention of gastric cancer. *Ter Arkh*. 2017;89(4):101–109. (In Russ).] doi: 10.17116/terarkh2017894101-109.
- Leja M, Axon A, Brenner H. Epidemiology of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter*. 2016;21 Suppl 1:3–7. doi: 10.1111/hel.12332.
- Ghasemi Basir HR, Ghobakhlou M, Akbari P, et al. Correlation between the intensity of helicobacter pylori colonization and severity of gastritis. *Gastroenterol Res Pract*. 2017;2017:8320496. doi: 10.1155/2017/8320496.
- Васильев А.В., Манчук В.Т., Каспаров Э.В., и др. Перспективные задачи оптимизации питания на основе современных методов оценки пищевого статуса и энерготрат // *Вопросы детской диетологии*. — 2010. — Т.8. — №3. — С. 44–46. [Vasil'ev AV, Manchuk VT, Kasparov EV, et al. Perspective problems of nutrition optimization based on modern methods for assessing nutritional status and energy expenditure. *Voprosy detskoi dietologii*. 2010;8(3):44–46. (In Russ).]
- Correa P. Gastric cancer: overview. *Gastroenterol Clin North Am*. 2013;42(2):211–217. doi: 10.1016/j.gtc.2013.01.002.
- Ikuse T, Ohtsuka Y, Obayashi N, et al. Host response genes associated with nodular gastritis in Helicobacter pylori infection. *Pediatr Int*. 2018;60(5):446–454. doi: 10.1111/ped.13527.
- Cavalcoli F, Zilli A, Conte D, Massironi S. Micronutrient deficiencies in patients with chronic atrophic autoimmune gastritis: A review. *World J Gastroenterol*. 2017;23(4):563–572. doi: 10.3748/wjg.v23.i4.563.
- Díaz P, Valenzuela Valderrama M, Bravo J, Quest AF. Helicobacter pylori and gastric cancer: adaptive cellular mechanisms involved in disease progression. *Front Microbiol*. 2018;9:5. doi: 10.3389/fmicb.2018.00005.
- Raghavan S, Quiding-Järbrink M. Immune modulation by regulatory T cells in Helicobacter pylori-associated diseases. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2012;12(1):71–85. doi: 10.2174/187153012799278974.
- Смирнова О.В., Титова Н.М., Каспаров Э.В., и др. Особенности хемилуминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов больных механической желтухой доброкачественного генеза // *Российский иммунологический журнал*. — 2015. — Т.2. — №1. — С. 313–315. [Smirnova OV, Titova NM, Kasparov EW, et al. Chemiluminescent activity of neutrophilic granulocytes in progression of obstructive jaundice depending on its origin and bilirubin levels. *Rossiiskii immunologicheskii zhurnal*. 2015;2(1):313–315. (In Russ).] doi: 10.15789/1563-0625-2016-3-269-278.
- Kim YJ, Kim EH, Hahm KB. Oxidative stress in inflammation-based gastrointestinal tract diseases: challenges and opportunities.

- J Gastroenterol Hepatol.* 2012;27(6):1004–1010. doi: 10.1111/j.1440-1746.2012.07108.x.
13. Lee HJ, Park JM, Han YM, et al. The role of chronic inflammation in the development of gastrointestinal cancers: reviewing cancer prevention with natural anti-inflammatory intervention. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016;10(1):129–139. doi: 10.1586/17474124.2016.1103179.
  14. Raza Y, Khan A, Farooqui A, et al. Oxidative DNA damage as a potential early biomarker of Helicobacter pylori associated carcinogenesis. *Pathol Oncol Res.* 2014;20(4):839–846. doi: 10.1007/s12253-014-9762-1.
  15. Hsu PI, Tsay FW, Graham DY, et al. Equivalent efficacies of reverse hybrid and bismuth quadruple therapies in eradication of helicobacter pylori infection in a randomized controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2018;16(9):1427–1433. doi: 10.1016/j.cgh.2018.03.031.
  16. Шептулин А.А. Роль препаратов висмута в повышении эффективности эрадикации инфекции Helicobacter pylori // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* — 2018. — Т.28. — №1. — С. 89–93. [Sheptulin AA. The role of bismuth preparations in improving the eradication of Helicobacter pylori infection. *Rossiiskii zhurnal gastroehnterologii, gepatologii, koloproktologii.* 2018;28(1):89–93. (In Russ).]
  17. Юшук Н.Д., Маев И.В. Что скрывается за нелеченой инфекцией Helicobacter pylori? // *Терапевтический архив.* — 2008. — Т.80. — №11. — С. 72–77. [Yuschuk ND, Maev IV. What are the consequences of untreated Helicobacter pylori infection? *Ter Arkh.* 2008;80(11):72–77. (In Russ).]
  18. Агеева Е.С., Иптышев В.М., Штыгашева О.В., и др. Этнопопуляционные особенности некоторых иммунологических показателей при хронической инфекции Helicobacter pylori // *Медицинская иммунология.* — 2012. — Т.14. — №3. — С. 249–254. [Ageeva ES, Iptyshev VM, Stygashева OV, et al. Ethnic and population-specific features of some immunological parameters in chronic helicobacter pylori infection. *Medical Immunology.* 2012;14(3):249–254. (In Russ).] doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-249-254.
  19. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. 3-е изд. — М.: МЕДпресс-информ, 2009. — 896 с. [Kamyshnikov VS. Spravochnik po kliniko-biohimicheskim issledovaniyam i laboratornoi diagnostike. 3rd. Moscow: MEDpress-inform; 2009. 896 p. (In Russ).]
  20. Kolesnikova LI, Semyonova NV, Grebenkina LA, et al. Integral indicator of oxidative stress in human blood. *Bull Exp Biol Med.* 2014;157(6):715–717. doi: 10.1007/s10517-014-2649-z.
  21. Колесникова Л.И., Гребенкина Л.А., Олифиренко В.П., и др. Программа для расчета коэффициента окислительного стресса на основе параметров системы перекисного окисления липидов-антиоксидантной защиты в крови (свидетельство о гос. регистрации программы для ЭВМ № 2011617323, 21.09.2011). — М.: Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, 2011. [Kolesnikova LI, Grebenkina LA, Olfirenko VP, et al. The program for calculating the oxidative stress coefficient based on the parameters of the lipid peroxidation-antioxidant protection system in the blood. Certificate of state registration of the computer program № 2011617323, 21.09.2011. Moscow: Nauchnyi tsentr problem zdorov'ya sem'i i reproduksii cheloveka; 2011. (In Russ).] Доступно по: <https://elibrary.ru/item.asp?id=30188935>. Ссылка активна на 2.03.2019.
  22. Чернин В.В., Джулай Г.С. Клинико-патогенетические варианты хронического гастрита // *Терапевтический архив.* — 2004. — Т.76. — №2. — С. 22–27. [Chernin VV, Dzhulai GS. Clinicopathogenetic variants of chronic gastritis. *Ter Arkh.* 2004;76(2):22–27. (In Russ).]
  23. Smirnova O, Tsukanov V, Kasparov E, et al. Features of humoral immunity in H. pylori-associated diseases of stomach. *Helicobacter.* 2016;21 Suppl 1:163.
  24. Смирнова О.В., Цуканов В.В., Каспаров Э.В., и др. Особенности неспецифического звена иммунитета у больных хроническим атрофическим гастритом // *В мире научных открытий.* — 2016. — Т.1. — №73. — С. 53–74. [Smirnova OV, Cukanov VV, Kasparov EV, et al. Features of nonspecific link of immunity in patients with chronic atrophic gastritis. *In the World of Scientific Discoveries.* 2016;1(73):53–74. (In Russ).]
  25. Rokkas T, Rokka A, Portincasa P. A systematic review and meta-analysis of the role of Helicobacter pylori eradication in preventing gastric cancer. *Ann Gastroenterol.* 2017;30(4):414–423. doi: 10.20524/aog.2017.0144.
  26. Смирнова О.В., Манчук В.Т., Агилова Ю.Н. Клинико-иммунологические особенности инфекционных осложнений у больных множественной миеломой // *Вестник РАМН.* — 2015. — Т.70. — №5. — С. 534–540. [Smirnova OV, Manchuk VT, Agilova JuN. Clinical and immunological features of infectious complications in patients with multiple myeloma. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015;70(5):534–540. (In Russ).] doi:10.15690/vramn.v70.i5.1439.
  27. Harbower DM, de Sablet T, Chaturvedi R, Wilson KT. Chronic inflammation and oxidative stress: the smoking gun for helicobacter pylori-induced gastric cancer? *Gut Microbes.* 2013;4(6):475–481. doi: 10.4161/gmic.25583.
  28. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Долгих В.В., и др. Особенности изменений показателей гипофизарно-тиреоидной системы и липидного обмена у подростков разных этнических групп // *Клиническая лабораторная диагностика.* — 2012. — №2. — С. 19–22. [Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Dolgikh VV, et al. The characteristics of changes of indicators of hypophyseal-thyroid system and lipid metabolism in adolescents of different ethnic groups. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2012;(2):19–22. (In Russ).]
  29. Darenskaya MA, Rychkova LV, Kolesnikov SI, et al. Oxidative stress parameters in adolescent boys with exogenous-constitutional obesity. *Free Radical Biol Med.* 2017;112:129–130. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.10.195.
  30. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, et al. Activity of lipid peroxidation in infertile women from different populations. *Bull Exp Biol Med.* 2012;154(2):203–205. doi: 10.1007/s10517-012-1912-4.
  31. Колесникова Л.И., Колесников С.И., Даренская М.А., и др. Оценка про- и антиоксидантного статуса у женщин с ВИЧ и коинфекцией // *Терапевтический архив.* — 2016. — Т.88. — №11. — С. 17–21. [Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Darenskaya MA, et al. Evaluation of the pro- and antioxidant status of women with HIV or coinfection. *Ter Arkh.* 2016;88(11):17–21. (In Russ).] doi: 10.17116/terarkh201688117-21.
  32. 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. Oxidative stress: pathological conditions and diseases. Novosibirsk: ARTA; 2008. 284 p. (In Russ).]

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

*Даренская Марина Александровна*, д.б.н. [*Marina A. Darenskaya*, PhD]; Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16 [address: 16, Timiryazeva street, 664003 Irkutsk, Russia], тел.: +7 (3952) 20-73-67, e-mail: marina\_darenskaya@inbox.ru, SPIN-код: 3327-4213, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3255-2013>

*Смирнова Ольга Валентиновна*, д.м.н. [*Olga V. Smirnova*, MD, PhD]; e-mail: ovsmirnova71@mail.ru, SPIN-код: 2198-0265, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3992-9207>

*Каспаров Эдуард Вильямович*, д.м.н., профессор [*Edward V. Kasparov*, MD, PhD, Professor]; e-mail: impn@impn.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5988-1688>

*Гребёнкина Людмила Анатольевна*, д.б.н. [*Lyudmila A. Grebenkina*, PhD]; e-mail: greblud@mail.ru, SPIN-код: 6194-5785, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1263-5527>

*Синяков Александр Александрович*, к.б.н. [*Aleksandr A. Sinyakov*, PhD]; e-mail: sinyakov.alekzandr@mail.ru, SPIN-код: 8600-0003, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4474-1893>

*Колесникова Любовь Ильинична*, д.м.н., профессор, академик РАН [*Lubov I. Kolesnikova*, MD, PhD, Professor]; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, SPIN-код: 1584-0281, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

*Колесников Сергей Иванович*, д.м.н., профессор, академик РАН [*Sergey I. Kolesnikov*, MD, PhD, Professor]; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, SPIN-код: 1752-6695, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>

А.А. Лепехова, А.С. Алленова, О.Ю. Олисова, Н.П. Теплюк, Е.В. Канарейкина

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

# Сравнительная оценка эффективности различных методов терапии синдрома Стивенса–Джонсона и токсического эпидермального некролиза на основании данных литературы

Авторами выполнен анализ 39 оригинальных исследований, касающихся изучения эффективности терапии токсического эпидермального некролиза (ТЭН) и синдрома Стивенса–Джонсона (ССД), 8 из которых были исключены ввиду малой выборки больных, а также применения комбинированной терапии. В работе оценена эффективность применения внутривенного иммуноглобулина (IVIg), системных глюкокортикостероидов, циклоспорина А, биологических препаратов (этарнерцепт, инфликсимаб), талидомида и плазмафереза в лечении ССД, ТЭН, ССД/ТЭН на основании шкалы SCORTEN и уровня смертности. Наиболее целесообразным в лечении ТЭН оказалось применение пульс-терапии системными глюкокортикостероидами (1000 мг в течение 3 дней) только в фазе прогрессирования заболевания. Другие исследователи указывали на высокий риск развития сепсиса при применении системных глюкокортикостероидов. У больных, получавших высокие дозы IVIg ( $\geq 2$  г/кг), смертность была в 2,5 раза ниже по сравнению с меньшими дозами IVIg. Количество летальных исходов в группе циклоспорина А (3 мг/кг в сутки) было в 3,3 раза ниже. Плазмаферез может применяться при неэффективности других препаратов или в качестве дополнительной терапии. Высокий уровень смертности наблюдался у больных, получавших талидомид. Таким образом, эффективность того или иного метода терапии, а также прогноз заболевания в большей степени зависят от тяжести процесса, наличия и вида сопутствующей патологии (например, тяжелое течение и негативный исход у онкологических пациентов), что говорит о необходимости проведения крупных многоцентровых рандомизированных клинических и экспериментальных исследований в будущем.

**Ключевые слова:** Синдром Стивенса–Джонсона, токсический эпидермальный некролиз, эффективность, лечение.

(Для цитирования: Лепехова А.А., Алленова А.С., Олисова О.Ю., Теплюк Н.П., Канарейкина Е.В. Сравнительная оценка эффективности различных методов терапии синдрома Стивенса–Джонсона и токсического эпидермального некролиза на основании данных литературы. Вестник РАМН. 2019;74(3):157–166. doi: 10.15690/vramn1051)

157

## Введение

Синдром Стивенса–Джонсона (ССД) и токсический эпидермальный некролиз (ТЭН) являются тяжелыми, жизнеугрожающими лекарственно-индуцированными

заболеваниями кожи, нередко приводящими к летальному исходу.

Сульфаниламиды, аллопуринол, карбамазепин, фенобарбитал, фенитоин и нестероидные противовоспалительные средства в большинстве случаев являются

Anfisa A. Lepekhova, Anastasiya S. Allenova, Olga Yu. Oliyova,  
Nataliya P. Teplyuk, Elizaveta V. Kanareikina

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

## Evaluation of the Effectiveness of Therapy for Stevens–Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis: A Review

39 original articles were analyzed. 8 of them were excluded due to the small sample of patients. The effectiveness of the intravenous Ig, systemic glucocorticosteroids, cyclosporin A, biological agents (etanercept, infliximab, thalidomide) on the basis of the SCORTEN scale and the number of lethal outcomes was evaluated. Information was searched for the following databases: PubMed, ScienceDirect, Wiley Online Library, Google Scholar, Cochrane Library. The systemic glucocorticosteroid (GCs) pulse therapy using only in the phase of disease progression was the most appropriate. Some authors showed a high risk of sepsis development in patients treated with GCs. In patients who received high doses of IVIg ( $\geq 2$  g/kg), mortality was 2.5 times lower compared to the lower one. The number of lethal outcomes in the Cyclosporin A (3 mg/kg/day) group was 3.3 times lower. A high mortality rate was observed in patients receiving thalidomide. The effectiveness of a particular method of therapy, as well as the prognosis of the disease, largely depends on the process severity, the presence and type of concomitant pathology (for example, severe course and negative outcome in patients with cancer). There is no a single point of view regarding the therapy of SSJ and TEN. Thus, a large multicenter randomized studies are crucial.

**Keywords:** Stevens–Johnson syndrome, toxic epidermal necrolysis, efficacy, treatment.

(For citation: Lepekhova AA, Allenova AS, Oliyova OYu, Teplyuk NP, Kanareikina EV. Evaluation of the Effectiveness of Therapy for Stevens–Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis: A Review. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2019;74(3):157–166. doi: 10.15690/vramn1051)

наиболее частой причиной развития ССД и ТЭН [1]. У некоторых пациентов ТЭН может быть ассоциирован с инфекцией *Mycoplasma pneumoniae* и возникать после вакцинации [2–4].

Смертность при ССД составляет менее 10%, при ТЭН — 40% [2]. У женщин ТЭН возникает в 2 раза чаще, чем у мужчин [5, 6]. Заболеваемость ССД/ТЭН в Европе составляет 1,5–2 случая на 1 млн человек [2]. Так, в Великобритании показатель заболеваемости ТЭН и ССД составил 5,76 случаев на 1 млн человек (95% доверительный интервал, ДИ, 5,31–6,30) [7]. У больных вирусом иммунодефицита человека частота встречаемости ССД/ТЭН составляет 0,95–1 случаев на 1000 [8].

Согласно разработанной S. Bastuji-Garin и соавт. в 1993 г. классификации ССД и ТЭН, основанной на величине площади отторжения эпидермиса, различают:

- ССД (при отслойке эпидермиса менее 10% площади поверхности тела в сочетании с диссеминированными воспалительными пятнами);
- перекрестный ССД/ТЭН (при отслойке эпидермиса 10–30% площади поверхности тела в сочетании с диссеминированными воспалительными пятнами);
- ТЭН, проявляющийся воспалительными пятнами, занимающими более 30% поверхности тела;
- ТЭН с отслойкой эпидермиса более 10% [8].

В настоящее время, несмотря на большое количество различных препаратов, применяемых для лечения указанной патологии, частота неблагоприятных исходов остается высокой. Данные различных исследований, касающиеся эффективности и безопасности применяемых схем лечения, значительно разнятся. Рекомендации по ведению пациентов с ССД/ТЭН недостаточно полно представляют схемы лечения, особенно в нестандартных случаях.

Целью нашей работы является описание и анализ последних сведений о препаратах, применяемых для лечения ССД/ТЭН. Дизайн исследования представлен на рис. 1.

следующие запросы: ‘toxic epidermal necrolysis’ or ‘Lyell’s syndrome’ or ‘Stevens-Johnson syndrome’ в комбинации с ‘IVIg’ or ‘intravenous immunoglobulin’ or ‘cyclosporine’ or ‘ciclosporin’ or ‘systemic glucocorticoids’ or ‘systemic corticosteroids’ or ‘prednisone’ or ‘prednisolone’ or ‘infliximab’ or ‘thalidomide’ or ‘etanercept’ or ‘plasmapheresis’.

Проанализировано 39 оригинальных исследований, 8 из которых были исключены ввиду малой выборки больных, а также применения комбинированной терапии за период с 1998 до 2018 г. (табл. 1).

### Внутривенный Ig

I. Viard и соавт. (1998) обнаружили, что внутривенный иммуноглобулин (intravenous immunoglobulin, IVIg) блокирует Fas-опосредованный апоптоз кератиноцитов *in vitro* и приводит к выраженному регрессу высыпаний у всех пациентов в выборке (см. табл.) [9, 10]. В систематическом обзоре и метаанализе наблюдательного контрольного исследования, опубликованного до 31 июля 2011 г., отмечалось, что высокие дозы IVIg ( $\geq 2$  г/кг) были более эффективны в лечении ССД, ТЭН и ССД/ТЭН, чем низкие ( $< 2$  г/кг) [11]. Смертность в группе пациентов с ССД/ТЭН, принимающих высокую дозу IVIg, была значительно ниже, чем в группе больных, получавших меньшую дозировку препарата (см. табл.) [11, 12]. Интересно, что среди детей смертность составила 0% ( $n=33$ ), в то время как у взрослых — 29% ( $n=134$ ) ( $p<0,001$ ) [11]. С. Prins и соавт. (2003) также обнаружили, что раннее назначение высокой дозы (3 г/кг) IVIg является более безопасным, эффективным и уменьшает смертность больных ТЭН [13]. Другие авторы выявили, что смертность среди пациентов, принимающих среднюю дозу IVIg (2,4 г/кг), составила 31% (20;  $n=64$ ) (см. табл.) [14].

Однако дальнейшие исследования показали, что доза IVIg не коррелирует с показателем смертности [9].

158

### Методика поиска первоисточников

Проводился анализ следующих баз данных: PubMed, ScienceDirect, Wiley Online Library, Google Scholar, Cochrane Library и MeSH. Параметры поиска включали

### Системные глюкокортикостероиды

Системные глюкокортикостероиды (СГК) на протяжении длительного времени являются препаратами выбора в лечении ССД/ТЭН. Одни авторы считают, что

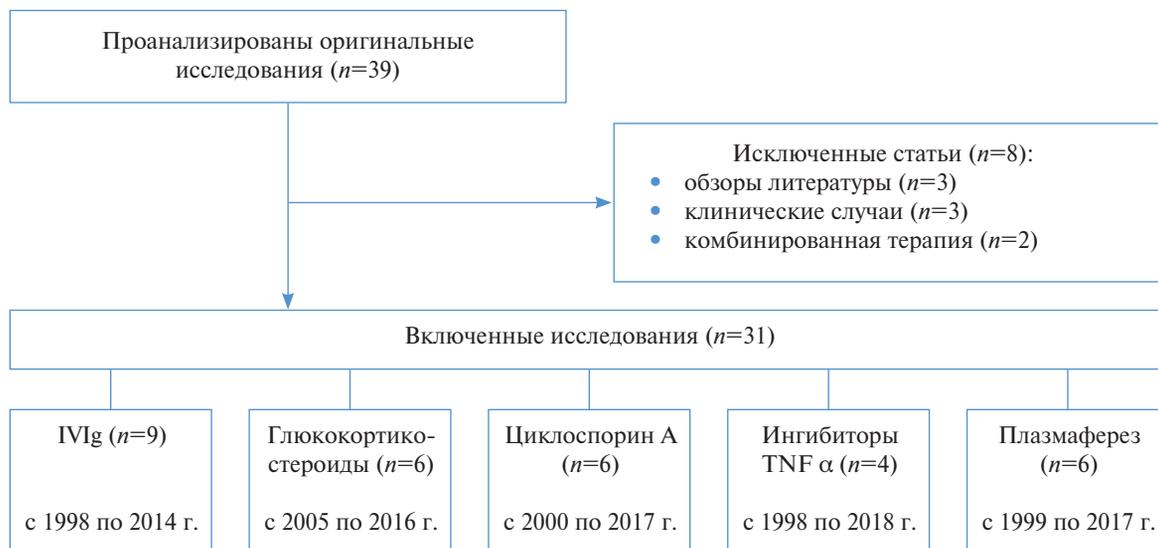


Рис. 1. Дизайн исследования

Таблица. Характеристика первоисточников

Авгвор	Год	Исследование	Возраст, лет	Кол-во пациентов ССД/ТЭН	Доза	Продолжительность, дни, нед	Смертность, п/ог общего числа	Эффективность, да/нет	Тяжесть течения ТЭН (SCORTEN)	Отслойка эпидермиса от общей поверхности тела	Стандартизованный показатель смертности	Комментарии
Kirchhof и соавт. [23]	2014	Одноцентровое рандомизированное исследование	54,6±20,6	ССД/ТЭН (n=64)	1 г/кг/сут	3 дня	11/37 (29,7%)	Нет	2,08 (p=0,24)	НД <sup>1</sup>	1,43	В среднем у больных отмечались более тяжелое течение заболевания и высокий показатель SCORTEN
Lee и соавт. [14]	2013	Ретроспективное	НД	ССД/ТЭН (n=28) ТЭН (n=78) <sup>2</sup>	2,4 г/кг/сут	НД	20/64 (31%)	Нет	3,4	НД	НД	Применение IVIg не увеличивает продолжительность жизни больных
Huang [11]	2012	Систематический обзор и метаанализ литературы	48,8±19,41 59±18,12	ССД/ТЭН (n=4) <sup>3</sup> ТЭН (n=8) <sup>3</sup>	Ig в/в >2 г/кг/сут <sup>2</sup> Ig в/в <2 г/кг/сут <sup>3</sup>	НД	23/122 (19%) <sup>2</sup> 6/12 (50%) <sup>3</sup>	Да	НД	НД	НД	-
Kim и соавт. [12]	2005	Ретроспективное	41±39	ТЭН (n=14)	1,6–2,0 г/кг/сут	НД	1/14 (7,1%)	Да	1,0	НД	НД	Прием IVIg в дозах 1,6–2,0 г/кг снижает показатель смертности
Tap и соавт. [44]	2005	Ретроспективное	49,9±18,8	ТЭН (n=8) ССД/ТЭН (n=4)	1,5–2 г/кг/сут	8,7±5,5 дней	1/12 (8,3%)	Да	НД	НД	НД	Высокие дозы IVIg эффективны в качестве терапии ТЭН у азиагов
Vachot и соавт. [45]	2003	Проспективное открытое	47±21	ССД (n=9) ССД/ТЭН (n=5) ТЭН (n=20)	2 г/кг/сут	2 дня	11/34 (32%)	Нет	НД	НД	НД	Наблюдался высокий показатель летальных исходов, особенно при почечной недостаточности

Таблица. Характеристика первоисточников (Продолжение)

Автор	Год	Исследование	Возраст, лет	Кол-во пациентов ССД/ТЭН	Доза	Продолжительность, дни, нед	Смертность, в/от общего числа	Эффективность, да/нет	Тяжесть течения ТЭН (SCORTEN)	Отслойка эпидермиса от поверхности тела	Стандартизованный показатель смертности	Комментарии
Ripps и соавт. [13]	2003	Мультицентровой ретроспективный анализ	НД	ТЭН (n=48)	0,65–5,8 г/кг/сут	1–5 дней	6/48 (12,5%)	Да	НД	НД	НД	Раннее назначение высоких доз IVIg является безопасным, хорошо переносятся большими и увеличивает показатель выживаемости
Trent и соавт. [46]	2003	Ретроспективное	НД	ТЭН (n=16)	1 г/кг/сут	4 дня	1/16 (6,25%)	Да	5,81	НД	0,17	IVIg значительно уменьшает смертность
Viard и соавт. [9]	1998	Проспективное, неконтролируемое, серия случаев	НД	ТЭН (n=10)	0,2–0,75 г/кг	4 дня	0/10 (0%)	Да	НД	НД	НД	-
<b>Системные глюкокортикостероиды</b>												
Choonhakarn и соавт. [47]	2016	Ретроспективное (с использованием шкалы SCORTEN)	49,7	ТЭН (n=18)	1–1,5 мг/кг/сут, в/в <sup>4</sup> , затем 15–20 мг/сут <sup>5</sup>	8 дней	2/18 (11%)	Да	2,2	41,11	НД	Пульс-терапия дексаметазоном в начале лечения может значительно уменьшить показатель смертности
Hirahara и соавт. [17]	2013	Ретроспективное (с использованием шкалы SCORTEN)	51±20	ССД/ТЭН (n=8)	Пульс-терапия 1000 мг/сут <sup>6</sup> , 0,8–1 мг/кг/день <sup>5</sup>	3 дня	0/8 (0%)	Да	2,1	НД	НД	-
Araki и соавт. [48]	2009	Проспективное наблюдение, серия случаев	32,8	ССД или ТЭН (n=8)	Пульс-терапия 500 мг/сут <sup>6</sup> или 1000 мг/сут <sup>6</sup>	3–4 дня	0/5 (0%)	Да	НД	НД	НД	Из побочных эффектов редко наблюдалось поражение глаз
Schneck и соавт. [18]	2008	Ретроспективное EuroSCAR исследование	47±25	ССД (n=57)	0,1–1,7 мг/кг/сут <sup>7</sup>	НД	21/119 (18%)	Нет	НД	НД	НД	OR летального исхода составило 0,4 для СГК во Франции и 0,3 — в Германии
				ССД/ТЭН (n=44)								
				ТЭН (n=18)								
				n=103 <sup>7</sup> , n=16 <sup>8</sup>								
Kardaun, Jonkman [15]	2007	Ретроспективное (с использованием шкалы SCORTEN)	55,6	ССД/ТЭН (n=12)	1,5 мг/кг/сут <sup>4</sup>	2–3 дня	1/12 (8%)	Да	2,8	26,7	НД	Пульс-терапия дексаметазоном способствует уменьшению показателя смертности

Таблица. Характеристика первоисточников (Продолжение)

Автор	Год	Исследование	Возраст, лет	Кол-во пациентов ССД/ТЭН	Доза	Продолжительность, дни, нед	Смертность, п/ог общего числа	Эффективность, да/нет	Тяжесть течения ТЭН (SCORTEN)	Отслойка эпидермиса от поверхности тела	Стандартизованный показатель смертности	Комментарии
Kim et al. [12]	2005	Ретроспективное	41±39	ТЭН (n=21)	Пульс-терапия 250–1000 мг/сут <sup>6</sup>	НД	6/21 (28,6%)	Нет	НД	НД	1,004	При назначении СГК не наблюдалось снижения фактического показателя смертности
<b>Циклоспорин А</b>												
Lee и соавт. [29]	2017	Ретроспективное, неконтролируемое	50±21	ССД/ТЭН (n=24)	3,0–5,0 мг/кг/сут	Каждые 12 ч в/в	3/24 (12,5%)	Да	2,95 (p=0,001)	26±20	0,42	-
González-Hernáiz и соавт. [27]	2017	Систематический обзор с метаанализом всех опубликованных серий случаев	47±7,2	ССД, ССД/ТЭН, ТЭН (n=42)	3 мг/кг/сут <i>per os</i> или 1 мг/кг/сут в/в	НД	5/49 (10,2%)	Да	2,4	39,3±25,8	0,42	-
Mohanty и соавт. [21]	2017	Ретроспективное, запись базы данных	38,43±8,85	ССД/ТЭН (n=19)	5 мг/кг/сут	10 дней	1/19 (5,2%)	Да	2,05±0,71	35,95±20,33	0,32	Смертность в группе ЦиклА была в 3,3 раза ниже, чем у больных на поддерживающей терапии
Singh и соавт. [26]	2013	Открытое пробное неконтролируемое исследование	32,09±16,17	ССД/ТЭН (n=11)	3 мг/кг/сут	7 дней	0/11 (0%)	Да	1,45	23,36±16,27	3,92 (p=0,04)	-
Valeyrie-Allaigre и соавт. [24]	2010	Второй этап открытого исследования	34,2±14,1	ССД/ТЭН (n=12) ТЭН (n=7)	3 мг/кг/сут	10 дней	0/29 (0%)	Да	1,27±1,09	НД	НД	-
Alévato, Lopez и соавт. [28]	2000	Ретроспективное, неконтролируемое	НД	ТЭН (n=11)	3 мг/кг/сут, в/в; каждые 12 ч	НД	0/11 (0%)	Да	НД	НД	НД	У пациентов с тяжелыми проявлениями ТЭН отмечался низкий показатель смертности
<b>Анти-TNF α лечение (этарнецент, инфликсимаб)</b>												
<i>Этарнецент</i>												
Paradisi и соавт. [30]	2014	Неконтролируемое, серия случаев	НД	ТЭН (n=10)	50 мг	п/к, №1	0/10 (0%)	Да	3,2 (46,9%)	НД	НД	-
Wang и соавт. [32]	2018	Рандомизированное	52,73±16,78	ТЭН/ССД	25 или 50 мг	п/к, 2 раза/нед	4/48 (8,3%)	Да	1,85±1,29	НД	НД	-

Таблица. Характеристика первоисточников (Окончание)

Автор	Год	Исследование	Возраст, лет	Кол-во пациентов ССД/ТЭН	Доза	Продолжительность, дни, нед	Смертность, п/от общего числа	Эффективность, да/нет	Тяжесть течения ТЭН (SCORTEN)	Отслойка эпидермиса от общей поверхности тела	Стандартизованный показатель смертности	Комментарии
<i>Инфликсимаб</i>												
Robert и соавт. [33]	2017	Серия случаев	НД	ССД (n=4)	5 мг/кг/сут	НД	0/4 (0%)	Да	НД	НД	НД	-
<b>Талидомид</b>												
Wolkenstein и соавт. [35]	1998	Двойное слепое рандомизированное плацебоконтролируемое	НД	ТЭН (n=12)	400 мг/сут	5 дней	10/12 (83%)	Нет	НД	43,5%	2,7 (p=0,007)	Возможно, талидомид усиливает продукцию TNF α
<b>Плазмаферез</b>												
Нап и соавт. [42]	2017	Проспективное рандомизированное	НД	ССД/ТЭН (n=13)	НД	НД	НД	Да	НД	НД	НД	-
Kostal и соавт. [37]	2012	Проспективное контролируемое	НД	ТЭН (n=4)	3–8 сеансов	НД	0/4 (0%)	Да	НД	НД	НД	Плазмаферез может применяться при самых тяжелых формах ТЭН при неэффективности Ig в/в и СГК
Yamada и соавт. [41]	2008	Ретроспективное неконтролируемое	50,3±21,2	ТЭН (n=17)	1–6 сеансов	НД	11/47 (23,4%)	Да	НД	НД	НД	Плазмаферез эффективен при лечении больных с тяжелыми клиническими проявлениями и отсутствии эффекта от СГК
				ССД/ТЭН (n=7)								
				ССД (n=23)								
Vamichas и соавт. [39]	2002	Ретроспективное неконтролируемое	47,5±30,5	ТЭН (n=13)	НД	Через день/каждый день, 2–5 сеансов	3/13 (23%)	Нет	НД	НД	НД	Может применяться только при неэффективности других методов лечения (IVIg, циклоспорин) и в комбинации терапии
Furubacke и соавт. [40]	1999	Ретроспективное контролируемое	47±42	ТЭН (n=8)	1–8 сеансов	НД	1/8 (12,5%)	Нет	НД	НД	НД	Неэффективен в качестве монотерапии
Egan и соавт. [38]	1999	Ретроспективное контролируемое	42,4	ССД (n=6)	НД	НД	0/6 (0%)	Да	НД	НД	НД	-

Примечание. 1 — нет данных (НД), 2 — высокая доза (IVIg > 2 г/кг), 3 — низкая доза (IVIg < 2 г/кг), 4 — дексаметазон в/в, 5 — преднизолон per os, 6 — метилпреднизолон, 7 — Франция, 8 — Германия. ТЭН — токсический эпидермальный некролиз, ССД — синдром Стивенса–Джонсона, СГК — системные глюкокортикостероиды, в/в — внутривенно.

применение высоких доз СГК на ранних стадиях ССД/ТЭН является достаточно эффективным. Однако другие указывают, что СГК увеличивают риск возникновения сепсиса [15, 16]. Опубликовано достаточное количество исследований, направленных на определение эффективности терапии СГК, частоты осложнений, предотвращение развивающейся стероидной резистентности, а также на изучение плюсов и минусов внутривенной пульс-терапии высокими дозами СГК (см. табл.) [15, 17].

S. Kardaun и M. Jonkman (2007) при обследовании 12 больных ТЭН, получавших по 100 мг (1,5 мг/кг) дексаметазона внутривенно в течение 3 дней, выявили снижение смертности, а также снижение степени тяжести заболевания по SCORTEN (шкала оценки степени тяжести ТЭН) (см. табл.) [15].

Hirahara и соавт. (2013) обследовали 8 больных ТЭН/ССД, получавших пульс-терапию метилпреднизолоном в дозе 1000 мг в течение 3 дней с последующим постепенным снижением дозы препарата и переходом на пероральный прием (1/4 таблетки). Таким образом, больные получали поддерживающие дозы СГК в течение года. Следует отметить, что ни у одного пациента не наблюдалось летального исхода, несмотря на высокую вероятность смерти по шкале SCORTEN (см. табл.) [17].

J. Schneck и соавт. (2008) в проведенном ретроспективном исследовании отметили, что при использовании СГК в лечении ССД/ТЭН в дозе от 0,1 до 1,7 мг/кг в сутки у 18% (21;  $n=119$ ) больных зафиксирован летальный исход [18].

K. Kim и соавт. (2005) при лечении 21 больного ТЭН метилпреднизолоном (в/в; 250–1000 мг/сут) с последующим переходом на пероральный прием показали, что летальный исход наблюдался в 28,6% случаев [12].

Некоторые авторы указывают, что применение СГК в качестве терапии ТЭН повышает риск возникновения инфекции, замедляет эпителизацию эрозий, маскирует ранние проявления сепсиса, а также провоцирует желудочно-кишечные кровотечения. В частности, A. Khoо и соавт. (1996) в проведенном ретроспективном исследовании случай-контроль указали, что применение СГК значительно повышало риск развития ТЭН [12, 16]. Однако в других работах сообщается, что СГК являются препаратами выбора при лечении ССД/ТЭН [19].

Применение высоких доз дексаметазона (100 мг внутривенно; 3 дня) и метилпреднизона (1000 мг внутривенно; 3 дня) не было рекомендовано последними британскими инструкциями по лечению ТЭН и ССД в связи с недостаточным количеством данных (выполнены только небольшие исследования). По-видимому, наиболее целесообразно применять пульс-терапию СГК только в фазе прогрессирования заболевания, а для профилактики инфекционных осложнений — дополнительно назначать антибактериальные препараты (см. табл.) [15, 17, 20].

## Циклоспорин А

Циклоспорин А представляет собой селективный иммуносупрессивный препарат, выделенный в 1971 г. из гриба *Tolypocladium inflatum*, и нашедший свое широкое применение в 1983 г. [21]. Основным механизмом действия циклоспорина А является образование комплекса с циклофилином, что приводит к блокированию фосфатазной активности кальциневрина, который в свою очередь уменьшает образование воспалительных цитокинов Т-лимфоцитами [15, 22, 23].

L. Valeyrie-Allanore и соавт. (2010) в своем исследовании указывали на высокую эффективность циклоспорина А (доза 3 мг/кг в сутки, 10 дней) у больных ССД/ТЭН ( $n=29$ ), что подтверждалось отсутствием летальных исходов, несмотря на их высокий риск возникновения по шкале SCORTEN [24].

G. Singh и соавт. (2013) выявили более быструю эпителизацию эрозий у больных ССД/ТЭН ( $n=11$ ), получавших циклоспорин А, по сравнению с группой пациентов, применявших СГК (см. табл. 1) [25, 26].

C. González-Herrada и соавт. (2017) исследовали эффективность терапии циклоспорином А у 42 больных с диагнозом ССД, ССД/ТЭН, ТЭН, находившихся на лечении в двух клиниках в Мадриде. Соотношение больных ССД, ССД/ТЭН, ТЭН составило 11,5% ( $n=8$ ), 30,8% ( $n=15$ ) и 57,7% ( $n=19$ ) соответственно. У 10,2% ( $n=5/49$ ) пациентов зафиксирован летальный исход. Все больные получали терапию циклоспорином А — 3 мг/кг в сутки *per os* или 1 мг/кг в сутки внутривенно до полной эпителизации эрозий, после чего доза снижалась каждые 48 ч на 10 мг/сут. Данное исследование продемонстрировало высокую эффективность циклоспорина А и значительное снижение показателя прогностической смертности по шкале SCORTEN (~60%) у больных ССД/ТЭН (см. табл.) [27].

S. Kardaun и соавт. (2007), проанализировав 28 больных, 19 из которых получали циклоспорин А и поддерживающую терапию, а 9 — только поддерживающее лечение, выявили, что стандартизованный коэффициент смертности в группе пациентов, применявших циклоспорин А, составил 0,32, что почти в 3,3 раза ниже, чем у больных на поддерживающей монотерапии ( $p<0,001$ ) [15].

S. Mohanty и соавт. (2017) выявили, что лечение больных ТЭН/ССД в дозе 5 мг/кг в сутки снижает летальность и ускоряет эпителизацию эрозий, а также останавливает появления новых элементов (см. табл.) [21].

Следует отметить, что другие авторы указывали на высокую эффективность циклоспорина А в дозе 3 мг/кг в сутки (7–10 дней), которая заключалась в отсутствии летального исхода у больных ССД/ТЭН (см. табл.) [24, 26, 28]. Однако в некоторых исследованиях летальный исход отмечался у 12,5% ( $n=3/24$ ) больных ССД/ТЭН, получавших циклоспорин А в дозе 3–5 мг/кг в сутки, что требует проведения крупных исследований в будущем (см. табл.) [29]. Кроме того, как и в случае с СГК, ряд авторов указывал на побочные эффекты препарата.

## Анти-TNF $\alpha$

Этанерцепт<sup>1</sup> представляет собой белок, продуцируемый рекомбинантной ДНК, который ингибирует фактор некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor alpha, TNF  $\alpha$ ). Интересно, что A. Paradisi и соавт. (2014) указали на быструю эпителизацию эрозий (в течение 8,5 дней) у 10 больных ССД/ТЭН, получавших по 50 мг этанерцепта подкожно, а также отсутствие летальных исходов (см. табл.) [30]. K. Woolridge и соавт. (2018) сделали вывод, что при применении иммуносупрессивных биологических препаратов необходимо обследовать больных на наличие очагов инфекций [31].

Смертность при применении этанерцепта была статистически значимо ниже прогнозируемой по SCORTEN (8,3 и 17,7% соответственно). По сравнению с СГК, этанерцепт также уменьшал время заживления эрозий (среднее время 19 и 14 дней соответственно,  $p=0,010$ ). Желудочно-кишечные кровотечения у всех больных ТЭН/

ССД также возникали реже в группе больных, получавших этанерцепт (2,6% — этанерцепт, 18,2% — СГК) [32].

**Инфликсимаб**<sup>1</sup> является иммуносупрессивным препаратом и представляет собой моноклональное антитело к TNF  $\alpha$ .

М. Robert и соавт. (2017) проводили лечение больных ССД, ассоциированным с тяжелым поражением роговицы вследствие приема инфликсимаба. Кератопротезирование (бостонский кератопротез) было выполнено 4 пациентам. На фоне проводимой терапии инфликсимабом наблюдалась положительная динамика в виде значительного снижения воспалительных явлений (см. табл.) [33].

Другие авторы в проводимом ретроспективном исследовании с использованием шкалы SCORTEN указывали на положительный клинический эффект у 67% (у 2 из 3 пациентов) больных ТЭН, получавших комбинированную терапию инфликсимабом и IVIg [34]. Однако в будущем необходимы крупные проспективные рандомизированные исследования по изучению эффективности терапии инфликсимабом больных ТЭН и ССД.

**Талидомид**<sup>1</sup> представляет собой ингибитор TNF  $\alpha$  [35]. Несмотря на высокие риски, связанные с применением данного препарата, в настоящее время периодически его пытаются применять при различных тяжелых заболеваниях, в частности онкологических.

Р. Wolkenstein и соавт. (1998) в двойном слепом рандомизированном плацебоконтролируемом исследовании выявили статистически значимую более высокую смертность у больных ТЭН (10/12; 83%), получавших терапию талидомидом в дозе 400 мг/день (5 дней), по сравнению с группой плацебо (3/10, 30%) ( $p=0,03$ ) [35]. В связи с крайне тяжелыми побочными эффектами талидомида, одним из которых является тератогенность, его применение в мировой медицине строго ограничено и регулируется специальной программой (Pharmion Risk Management Program, PRMP).

### Плазмаферез

Плазмаферез также применяется в лечении ССД, ТЭН и ССД/ТЭН [36, 37].

С. Egan и соавт. (1999) проводили сравнение эффективности плазмафереза ( $n=6$ ) и поддерживающей терапии ( $n=10$ ) в лечении больных ССД/ТЭН. Средний возраст больных составил 42,4 года. У 50% (8/16) больных наблюдался положительный эффект в виде полного регресса высыпаний; 25% (4/16) продолжили лечение в реабилитационном центре; у 25% (4/16) зафиксирован летальный исход (сепсис у 2 и сердечно-легочная недостаточность у 2). У больных, получавших терапию плазмаферезом, летальных исходов не наблюдалось (см. табл.) [38].

Г. Vamichas и соавт. (2002) и А. Furubacke и соавт. (1999) в своих работах также отметили, что для повышения эффективности терапии ССД/ТЭН плазмаферез необходимо назначать в комбинации с IVIg и циклоспорин А (см. табл.) [39, 40].

Н. Yamada и соавт. (2008) в проводимом ретроспективном неконтролируемом исследовании наблюдали летальный исход в 23,4% случаев (11/47) среди больных с тяжелыми клиническими проявлениями ССД/ТЭН при

терапии плазмаферезом (1–6 сеансов). До назначения терапии плазмаферезом больные получали СГК, однако остались резистентными к проводимой терапии (см. табл.) [41].

Г. Нап и соавт. (2017) в проспективном рандомизированном исследовании случайным образом разделили 28 больных ТЭН и ССД/ТЭН на две группы, участники одной из них ( $n=13$ ) получали терапию плазмаферезом. В результате исследования обнаружено, что монотерапия ССД/ТЭН и ТЭН плазмаферезом была эффективнее по сравнению с СГК, IVIg и их комбинацией с плазмаферезом (см. табл.) [42].

При лечении 4 больных ТЭН плазмаферезом (среднее количество процедур составило  $5,25 \pm 2,22$ ) у всех пациентов наблюдалась положительная динамика в виде начала эпителизации эрозий [37].

Таким образом, плазмаферез является безопасным и эффективным методом лечения больных тяжелыми формами ССД/ТЭН. Он может применяться при неэффективности IVIg и СГК [37]. Однако необходимы проспективные исследования в будущем [38].

### Другие методы лечения

В отдельных работах сообщалось об эффективности гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (granulocyte-colony stimulating factor, G-CSF) в лечении тяжелых форм (поражение 80% площади поверхности тела) ССД/ТЭН. Клинически у больных ( $n=2$ ) наблюдалась полная эпителизация эрозий за счет ускорения регенерации тканей [43].

### Заключение

Этиологическим фактором развития ССД/ТЭН в большинстве случаев являются лекарственные средства (антибактериальные, антиретровирусные средства и некоторые нестероидные противовоспалительные препараты) при длительном их приеме (не менее 3 нед), реже причинами ССД/ТЭН могут быть инфекции, вакцинация и т.д.

В основе терапии ССД/ТЭН лежит раннее выявление и немедленное прекращение воздействия на организм этиологического фактора (лекарственного препарата) и интенсивная терапия, направленная на восстановление жизненно важных функций.

Согласно проанализированным нами источникам, несмотря на существующий спектр препаратов и схем лечения, частота нежелательных исходов остается высокой. Остается открытым вопрос, достаточно ли эффективны стандартные методы в качестве терапии ССД/ТЭН. Исходя из анализа данных, можно утверждать, что ключевыми и самыми часто назначаемыми средствами в лечении ССД/ТЭН на сегодняшний день являются системные глюкокортикостероиды, циклоспорин А, а также внутривенный Ig. Анти-TNF  $\alpha$  препараты стали использоваться в последние годы чаще, однако пока они не могут заменить вышеуказанные группы препаратов; кроме того, их применение, в соответствии с приведенными данными, также сопряжено со значительными побочными эффектами и не всегда достаточно эффективно. Роль плазмафереза, несмотря на тенденцию к уменьшению частоты использования этого метода в последние годы, остается важной, однако его

<sup>1</sup> В показаниях к данному препарату в РФ нет токсического эпидермального некролиза и синдрома Стивенса–Джонсона.

применение, по нашему мнению, целесообразно именно в составе комбинированной терапии.

Разными авторами описано несколько случаев крайне тяжелых форм, а также эпизодов нестандартного течения ССД/ТЭН, что заставляет пересмотреть подход к протоколам лечения: в частности, в литературе вновь поднимается вопрос о схемах назначения СГК. Ввиду относительной редкости заболевания и зачастую различного характера течения сравнение данных разных авторов не всегда возможно. По нашему мнению, единый подход при разработке схемы назначения СГК вряд ли целесообразен, поскольку должны учитываться различные факторы: характер прогрессирования процесса, распространенность высыпаний, наличие сопутствующих заболеваний (инфекционных, онкологических и др.). Наиболее эффективной схемой лечения заболевания являлась комбинация преднизолона и IVIg. Исходя из анализа табл., вторым по эффективности препаратом при лечении больных ССД/ТЭН был циклоспорин А, который статистически значимо увеличивал скорость эпителизации эрозий, а также уменьшал время пребывания больных в стационаре. В качестве дополнительной терапии при тяжелых формах ССД/ТЭН при неэффективности монотерапии СГК, циклоспорином А и IVIg назначали плазмаферез, что значительно уменьшало количество побочных эффектов.

Перспективным методом лечения ССД и ТЭН является назначение биологических препаратов, однако не все из них обладают необходимой эффективностью и безопасностью. Одними из наиболее современных и перспективных препаратов в лечении этого тяжелого жизнеугрожающего заболевания являются этанерцепт и инфликсимаб. При их применении наблюдается быстрая эпителизация эрозий.

Таким образом, на основании проанализированных нами источников можно сделать вывод, что эффективность того или иного метода терапии ССД/ТЭН, а также прогноз заболевания в большой степени зависят от тяжести процесса, наличия и вида сопутствующей патологии. На данном этапе в большинстве случаев в целом наиболее эффективно применение комбинированной терапии. Важно отметить, что необходим индивидуальный подход к пациенту, привлечение смежных специалистов и обязательный анализ рисков при выборе каждой группы препаратов. Необходимы дальнейшие исследования эффективности различных схем терапии с разработкой расширенных рекомендаций для разной тяжести течения заболевания с учетом сопутствующих состояний.

### Дополнительная информация

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

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

**Участие авторов:** А.А. Лепехова, А.С. Алленова, Е.В. Канарейкина — анализ источников литературы, составление и анализ таблицы; О.Ю. Олисова, Н.П. Теплюк — редактирование текста, анализ таблицы. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

### ЛИТЕРАТУРА

- Mockenhaupt M, Viboud C, Dunant A, et al. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: assessment of medication risks with emphasis on recently marketed drugs. The EuroSCAR-study. *J Invest Dermatol.* 2008;128(1):35–44. doi: 10.1038/sj.jid.5701033.
- Sekula P, Dunant A, Mockenhaupt M, et al. Comprehensive survival analysis of a cohort of patients with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *J Invest Dermatol.* 2013;133(5):1197–1204. doi: 10.1038/jid.2012.510.
- Ball R, Ball LK, Wise RP, et al. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis after vaccination: reports to the vaccine adverse event reporting system. *Pediatr Infect Dis J.* 2001;20(2):219–223. doi: 10.1097/00006454-200102000-00022.
- Fournier S, Bastuji-Garin S, Mentec H, et al. Toxic epidermal necrolysis associated with *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1995;14(6):558–559. doi: 10.1007/bf02113442.
- Schöpf E, Stühmer A, Rzany B, et al. Toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome. An epidemiologic study from West Germany. *Arch Dermatol.* 1991;127(6):839–842.
- Rzany B, Mockenhaupt M, Baur S, et al. Epidemiology of erythema exudativum multiforme majus, Stevens-Johnson syndrome, and toxic epidermal necrolysis in Germany (1990–1992): structure and results of a population-based registry. *J Clin Epidemiol.* 1996;49(7):769–773. doi: 10.1016/0895-4356(96)00035-2.
- Frey N, Jossi J, Bodmer M, et al. The epidemiology of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in the UK. *J Invest Dermatol.* 2017;137(6):1240–1247. doi: 10.1016/j.jid.2017.01.031.
- Bastuji-Garin S, Rzany B, Stern RS, et al. Clinical classification of cases of toxic epidermal necrolysis, Stevens-Johnson syndrome, and erythema multiforme. *Arch Dermatol.* 1993;129(1):92–96. doi: 10.1001/archderm.129.1.92.
- Viard I, Wehrli P, Bullani R, et al. Inhibition of toxic epidermal necrolysis by blockade of CD95 with human intravenous immunoglobulin. *Science.* 1998;282(5388):490–493. doi: 10.1126/science.282.5388.490.
- Harr T, French LE. Toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* 2010;5:39. doi: 10.1186/1750-1172-5-39.
- Huang YC, Li YC, Chen TJ. The efficacy of intravenous immunoglobulin for the treatment of toxic epidermal necrolysis: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol.* 2012;167(2):424–432. doi: 10.1111/j.1365-2133.2012.10965.x.
- Kim KJ, Lee DP, Suh HS, et al. Toxic epidermal necrolysis: analysis of clinical course and SCORTEN-based comparison of mortality rate and treatment modalities in Korean patients. *Acta Derm Venereol.* 2005;85(6):497–502. doi: 10.1080/00015550510038232.
- Prins C, Kerdel FA, Padilla RS, et al. Treatment of toxic epidermal necrolysis with high-dose intravenous immunoglobulins: multicenter retrospective analysis of 48 consecutive cases. *Arch Dermatol.* 2003;139(1):26–32. doi: 10.1001/archderm.139.1.26.
- Lee HY, Lim YL, Thirumoorthy T, Pang SM. The role of intravenous immunoglobulin in toxic epidermal necrolysis: a retrospective analysis of 64 patients managed in a specialized centre. *Br J Dermatol.* 2013;169(6):1304–1309. doi: 10.1111/bjd.12607.
- Kardaun SH, Jonkman MF. Dexamethasone pulse therapy for Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis. *Acta Derm Venereol.* 2007;87(2):144–148. doi: 10.2340/00015555-0214.
- Khoo AK, Foo CL. Toxic epidermal necrolysis in a burns centre: a 6-year review. *Burns.* 1996;22(4):275–278. doi: 10.1016/0305-4179(95)00140-9.
- Hirahara K, Kano Y, Sato Y, et al. Methylprednisolone pulse therapy for Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis: clinical evaluation and analysis of biomarkers. *J Am Acad Dermatol.* 2013;69(3):496–498. doi: 10.1016/j.jaad.2013.04.007.
- Schneck J, Fagot JP, Sekula P, et al. Effects of treatments on the mortality of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a retrospective study on patients included in the prospec-

- tive EuroSCAR Study. *J Am Acad Dermatol.* 2008;58(1):33–40. doi: 10.1016/j.jaad.2007.08.039.
19. van der Meer JB, Schuttelaar ML, Toth GG, et al. Successful dexamethasone pulse therapy in a toxic epidermal necrolysis (TEN) patient featuring recurrent TEN to oxazepam. *Clin Exp Dermatol.* 2001;26(8):654–656. doi: 10.1046/j.1365-2230.2001.00910.x.
  20. Creamer D, Walsh SA, Dziejwski P, et al. U.K. guidelines for the management of Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis in adults 2016. *Br J Dermatol.* 2016;174(6):1194–1227. doi: 10.1111/bjd.14530.
  21. Mohanty S, Das A, Ghosh A, et al. Effectiveness, safety and tolerability of cyclosporine versus supportive treatment in Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis: a record-based study. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2017;83(3):312–316. doi: 10.4103/ijdv.IJDVL\_201\_16.
  22. Schneider JA, Cohen PR. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a concise review with a comprehensive summary of therapeutic interventions emphasizing supportive measures. *Adv Ther.* 2017;34(6):1235–1244. doi: 10.1007/s12325-017-0530-y.
  23. Kirchhof MG, Miliszewski MA, Sikora S, et al. Retrospective review of Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis treatment comparing intravenous immunoglobulin with cyclosporine. *J Am Acad Dermatol.* 2014;71(5):941–947. doi: 10.1016/j.jaad.2014.07.016.
  24. Valeyrie-Allanore L, Wolkenstein P, Brochard L, et al. Open trial of ciclosporin treatment for Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Br J Dermatol.* 2010;163(4):847–853. doi: 10.1111/j.1365-2133.2010.09863.x.
  25. Fritsch PO, Sidoroff A. Drug-induced Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis. *Am J Clin Dermatol.* 2000;1(6):349–360. doi: 10.2165/00128071-200001060-00003.
  26. Singh GK, Chatterjee M, Verma R. Cyclosporine in Stevens Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis and retrospective comparison with systemic corticosteroid. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2013;79(5):686–692. doi: 10.4103/0378-6323.116738.
  27. González-Herrada C, Rodríguez-Martín S, Cachafeiro L, et al. Cyclosporine use in epidermal necrolysis is associated with an important mortality reduction: evidence from three different approaches. *J Invest Dermatol.* 2017;137(10):2092–2100. doi: 10.1016/j.jid.2017.05.022.
  28. Arévalo JM, Lorente JA, González-Herrada C, Jiménez-Reyes J. Treatment of toxic epidermal necrolysis with cyclosporin A. *J Trauma.* 2000;48(3):473–478. doi: 10.1097/00005373-200003000-00017.
  29. Lee HY, Fook-Chong S, Koh HY, et al. Cyclosporine treatment for Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis: retrospective analysis of a cohort treated in a specialized referral center. *J Am Acad Dermatol.* 2017;76(1):106–113. doi: 10.1016/j.jaad.2016.07.048.
  30. Paradisi A, Abeni D, Bergamo F, et al. Etanercept therapy for toxic epidermal necrolysis. *J Am Acad Dermatol.* 2014;71(2):278–283. doi: 10.1016/j.jaad.2014.04.044.
  31. Woolridge KF, Boler PL, Lee BD. Tumor necrosis factor alpha inhibitors in the treatment of toxic epidermal necrolysis. *Cutis.* 2018;101(1):E15–E21.
  32. Wang CW, Yang LY, Chen CB, et al. Randomized, controlled trial of TNF- $\alpha$  antagonist in CTL-mediated severe cutaneous adverse reactions. *J Clin Invest.* 2018;128(3):985–996. doi: 10.1172/JCI93349.
  33. Robert MC, Črnež A, Shen LQ, et al. Infliximab after Boston keratoprosthesis in Stevens-Johnson syndrome: an update. *Ocul Immunol Inflamm.* 2017;25(3):413–417. doi: 10.3109/09273948.2016.1145237.
  34. Gaitanis G, Spyridonos P, Patmanidis K, et al. Treatment of toxic epidermal necrolysis with the combination of infliximab and high-dose intravenous immunoglobulin. *Dermatology.* 2012;224(2):134–139. doi: 10.1159/000338202.
  35. Wolkenstein P, Latarjet J, Roujeau JC, et al. Randomised comparison of thalidomide versus placebo in toxic epidermal necrolysis. *Lancet.* 1998;352(9140):1586–1589. doi: 10.1016/s0140-6736(98)02197-7.
  36. Narita YM, Hirahara K, Mizukawa Y, et al. Efficacy of plasmapheresis for the treatment of severe toxic epidermal necrolysis: Is cytokine expression analysis useful in predicting its therapeutic efficacy? *J Dermatol.* 2011;38(3):236–245. doi: 10.1111/j.1346-8138.2010.01154.x.
  37. Košťál M, Bláha M, Lánská M, et al. Beneficial effect of plasma exchange in the treatment of toxic epidermal necrolysis: a series of four cases. *J Clin Apher.* 2012;27(4):215–220. doi: 10.1002/jca.21213.
  38. Egan CA, Grant WJ, Morris SE, et al. Plasmapheresis as an adjunct treatment in toxic epidermal necrolysis. *J Am Acad Dermatol.* 1999;40(3):458–461. doi: 10.1016/s0190-9622(99)70497-4.
  39. Bamichas G, Natse T, Christidou F, et al. Plasma exchange in patients with toxic epidermal necrolysis. *Ther Apher.* 2002;6(3):225–228. doi: 10.1046/j.1526-0968.2002.00409.x.
  40. Furubacke A, Berlin G, Anderson C, Sjöberg F. Lack of significant treatment effect of plasma exchange in the treatment of drug-induced toxic epidermal necrolysis? *Intensive Care Med.* 1999;25(11):1307–1310. doi: 10.1007/s001340050106.
  41. Yamada H, Takamori K. Status of plasmapheresis for the treatment of toxic epidermal necrolysis in Japan. *Ther Apher Dial.* 2008;12(5):355–359. doi: 10.1111/j.1744-9987.2008.00609.x.
  42. Han F, Zhang J, Guo Q, et al. Successful treatment of toxic epidermal necrolysis using plasmapheresis: a prospective observational study. *J Crit Care.* 2017;42:65–68. doi: 10.1016/j.jcrc.2017.07.002.
  43. de Sica-Chapman A, Williams G, Soni N, Bunker CB. Granulocyte colony-stimulating factor in toxic epidermal necrolysis (TEN) and Chelsea & Westminster TEN management protocol [corrected]. *Br J Dermatol.* 2010;162(4):860–865. doi: 10.1111/j.1365-2133.2009.09585.x.
  44. Tan AW, Thong BY, Yip LW, et al. High-dose intravenous immunoglobulins in the treatment of toxic epidermal necrolysis: an Asian series. *J Dermatol.* 2005;32(1):1–6. doi: 10.1111/j.1346-8138.2005.tb00704.x.
  45. Bachot N, Revuz J, Roujeau JC. Intravenous immunoglobulin treatment for Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a prospective noncomparative study showing no benefit on mortality or progression. *Arch Dermatol.* 2003;139(1):33–36. doi: 10.1001/archderm.139.1.33.
  46. Trent JT, Kirsner RS, Romanelli P, Kerdel FA. Analysis of intravenous immunoglobulin for the treatment of toxic epidermal necrolysis using SCORTEN: The University of Miami Experience. *Arch Dermatol.* 2003;139(1):39–43. doi: 10.1001/archderm.139.1.39.
  47. Choonhakarn C, Limpawattana P, Chaowattanapanit S. Clinical profiles and treatment outcomes of systemic corticosteroids for toxic epidermal necrolysis: a retrospective study. *J Dermatol.* 2016;43(2):156–161. doi: 10.1111/1346-8138.13040.
  48. Araki Y, Sotozono C, Inatomi T, et al. Successful treatment of Stevens-Johnson syndrome with steroid pulse therapy at disease onset. *Am J Ophthalmol.* 2009;147(6):1004–1011, 1011.e1. doi: 10.1016/j.ajo.2008.12.040.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Лепехова Анфиса Александровна**, к.м.н., доцент [*Anfisa A. Lepekhova*, MD, PhD, Associate professor];  
e-mail: anfisa.lepehova@yandex.ru, SPIN-код: 3261–3520, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4365-3090>

**Алленова Анастасия Сергеевна**, к.м.н., [*Anastasiya S. Allenova*, MD, PhD, assistant researcher];  
e-mail: erika-mma@yandex.ru, SPIN-код: 7765–7631, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0751-0073>

**Олисова Ольга Юрьевна**, д.м.н., профессор [*Olga Yu. Olisova*, MD, PhD, professor]; e-mail: olisovaolga@mail.ru,  
SPIN-код: 2500–7989, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2482-1754>

**Теплюк Наталия Павловна**, д.м.н., профессор [*Nataliya P. Teplyuk*, MD, PhD, professor]; e-mail: Teplyukn@gmail.ru,  
SPIN-код: 8013–3256, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5800-4800>

**Канарейкина Елизавета Вячеславовна**, студентка 6-го курса [*Elizaveta V. Kanareikina*]; e-mail: liza.kanareikina@mail.ru,  
SPIN-код: 8964–2703, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5846-8712>

И.Н. Кондрахина<sup>1</sup>, Д.А. Вербенко<sup>1\*</sup>, А.М. Затевалов<sup>2</sup>, А.А. Кубанов<sup>1</sup>, Д.Г. Дерябин<sup>1</sup><sup>1</sup> Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии, Москва, Российская Федерация<sup>2</sup> Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского, Москва, Российская Федерация

# Значение генетических и негенетических факторов в возникновении и развитии андрогенной алопеции у мужчин: многопараметрический анализ

**Обоснование.** Андрогенная алопеция у мужчин (МКБ-10: L64) является наиболее распространенной формой патологического выпадения волос. Однако причины возникновения и развития данного заболевания остаются во многом неясными, что затрудняет разработку обоснованных подходов к персонализированной терапии. **Цель исследования** — интегральный анализ совокупности генетических и негенетических факторов, играющих роль в патогенезе андрогенной алопеции у мужчин, с построением на данной основе многопараметрической модели, наиболее полно описывающей индивидуальные причины возникновения и развития данного заболевания. **Методы.** Генетическая предрасположенность оценивалась спектром однонуклеотидных полиморфизмов rs929626, rs5919324, rs1998076, rs12565727 и rs756853, проанализированных методом минисеквенирования. Исследованные негенетические факторы включали гормональные и метаболические маркеры, а также характеристики микроэлементного и витаминного статуса. Построение двухэтапной модели возникновения и развития андрогенной алопеции проведено с использованием нейросети (для генетических факторов) и пошагового линейного дискриминантного анализа (для негенетических факторов). **Результаты.** В исследование, выполненное методом «случай-контроль», включены 50 мужчин со I–IV стадиями андрогенной алопеции (по Norwood–Hamilton), а также 25 соответствующих им здоровых добровольцев. Анализ частоты каждого из однонуклеотидных полиморфизмов в сравниваемых группах не показал существенных различий, в то время их совместный учет позволил оценить генетические причины возникновения андрогенной алопеции, а также сформировать подгруппы низкого и высокого риска развития данного заболевания. При этом низкому уровню генетического риска соответствовало большое количество значимых негенетических факторов, в том числе повышенный уровень дигидротестостерона, 17-ОН-прогестерона, инсулина, а также дефицит микроэлементов Mg, Cu, Zn, Se и витаминов D, E, фолиевой кислоты. В свою очередь в группе лиц высокого генетического риска перечень значимых негенетических факторов ограничивался метаболическим и микронутриентными нарушениями. Построенная на данной основе многопараметрическая модель в подгруппах низкого и высокого генетического риска развития андрогенной алопеции характеризовалась 81,2 и 85,1% точностью соответственно, будучи наиболее эффективной при описании ранних стадий данного заболевания. **Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о различной значимости негенетических факторов в группах пациентов с низким и высоким уровнем генетического риска развития андрогенной алопеции. Их совместный учет в рамках предложенной двухэтапной многопараметрической модели обеспечивает высокий уровень соответствия текущему статусу пациента, что формирует основу для разработки на данной основе схем персонализированной терапии данного заболевания.

**Ключевые слова:** андрогенная алопеция, генетические факторы, негенетические факторы, многопараметрическая модель.

(Для цитирования: Кондрахина И.Н., Вербенко Д.А., Затевалов А.М., Кубанов А.А., Дерябин Д.Г. Значение генетических и негенетических факторов в возникновении и развитии андрогенной алопеции у мужчин: многопараметрический анализ. Вестник РАМН. 2019;74(3):167–175. doi: 10.15690/vramn1141)

## Обоснование

Андрогенная алопеция (код L64 по МКБ-10) является наиболее распространенной формой патологического выпадения волос [1]. Среди представителей европеоидной расы к тридцати годам данное заболевание регистрируется у 30% мужчин, а к пятидесяти — у каждого второго в популяции [2]. Несмотря на то, что андрогенная алопеция не изменяет показателей трудоспособности, инвалидизации и смертности, данное заболевание существенно ухудшает качество жизни пациентов [3], что сделало его предметом многочисленных междисциплинарных исследований.

Согласно современным представлениям, андрогенная алопеция рассматривается как генетически обусловленное заболевание, в возникновении которого важная роль принадлежит индивидуальной вариабельности и изменчивости экспрессии совокупности определенных генов [4]. Так, в недавней работе М. Marcińska и соавт. [5] при анализе 50 однонуклеотидных полиморфизмов ассоциация с развитием данного заболевания подтверждена для

29 из них, расположенных на хромосомах X, 1, 5, 7, 18 и 20. В нашем предшествующем исследовании [6] анализ пяти наиболее значимых однонуклеотидных полиморфизмов, а именно rs5919324 (выше AR гена), rs1998076 (в 20p11 локусе), rs929626 (в гене EBF1), rs12565727 (в гене TARDBP) и rs756853 (в гене HDAC9), позволил разработать компьютерный алгоритм, с высокой вероятностью оценивающий риск возникновения андрогенной алопеции. Одновременно была показана зависимость эффективности подобного прогноза от гормонального статуса пациента, что определяет актуальность дополнительного учета названного и иных негенетических факторов, играющих роль в патогенезе данного заболевания.

Среди негенетических факторов важнейшим считается повышение уровня мужских половых гормонов (андрогенов), в первую очередь тестостерона и производного от него дигидротестостерона, образующегося в результате активности фермента 5 $\alpha$ -редуктазы [7]. При этом патогенетически важным является не только повышение абсолютной концентрации тестостерона, но и его присутствие в крови пациентов в так называемой свободной

форме, обратно зависящей от концентрации глобулина, связывающего половые гормоны [2]. Кроме того, развитие андрогенной алопеции возможно и при нормальных значениях тестостерона, но при повышении концентрации дегидроэпиандростерона, дегидроэпиандростерон-сульфата или изменении содержания других стероидных гормонов [1].

Перечень прочих негенетических факторов включает ряд микроэлементов [8] и витаминов [9, 10], дефицит которых оказывает воздействие на трофику придатков кожи и связанную с этим продолжительность стадий телогена и анагена волосяных фолликулов.

Дополнительными факторами, значимыми для нормального роста волос, являются гормон инсулин и определяемая им концентрация глюкозы в сыворотке крови [11], а также иные метаболические параметры.

**Цель исследования** — интегральный многопараметрический анализ значения генетических и негенетических факторов в возникновении и развитии андрогенетической алопеции у мужчин, в том числе направленный на идентификацию ведущих негенетических параметров, определяющих клиническую картину данного заболевания у пациентов с различным уровнем генетического риска.

## Методы

### Дизайн исследования

Исследование выполнено методом «случай—контроль», который предусматривал формирование основной группы обследования из пациентов с клинической картиной андрогенной алопеции и сопоставимой ей контрольной группы здоровых добровольцев (рис. 1).

### Критерии соответствия

Формирование основной группы проводилось из состава пациентов, самостоятельно обратившихся за медицинской помощью в ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» (ГНЦДК) Минздрава России с жалобами на потерю волос, а основным критерием их включения в настоящее исследование являлось соответствие диагнозу «Андрогенная алопеция». Критериями не-включения являлись иные формы алопеции, а также случаи утраты волос как осложнения другого (основного) заболевания. Критериями включения в состав контрольной группы являлись нормальные показатели трихограммы волосистой части головы, отсутствие (на момент исследования) иных дерматологических заболеваний, а также отсутствие в анамнезе родителей и близких родственников с клинической картиной алопеции. Все лица, включенные в состав основной и контрольной групп, предоставили письменное информированное согласие на участие в исследовании.

### Условия проведения

Клиническое обследование с анализом показателей трихограммы и фототрихограммы выполнено сотрудниками консультативно-диагностического отделения ГНЦДК. Исследование генетических маркеров риска развития андрогенной алопеции проведено на базе отдела лабораторной диагностики ИППП и дерматозов, а определение негенетических показателей — в лабораторном центре того же медицинского учреждения.

### Продолжительность исследования

Все клинические, инструментальные и лабораторные исследования выполнены в период с января 2017 по декабрь 2018 г.

I.N. Kondrakhina<sup>1</sup>, D.A. Verbenko<sup>1\*</sup>, A.M. Zatevalov<sup>2</sup>, A.A. Kubanov<sup>1</sup>, D.G. Deryabin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

## The Value of Genetic and Non-Genetic Factors in the Emergence and in the Development of Androgenetic Alopecia in Men: Multifactor Analysis

**Background:** Among pathological hair loss conditions in men the androgenic alopecia (L64 according to ICD-10) has been the most common diagnosed. However, the reasons of the occurrence and development of the disease remain incompletely clarified, that determines the difficulties of personalized therapy. **Aims:** To analyze both genetic and non-genetic factors involved in the pathogenesis of androgenic alopecia in men, and to create personalized multifactorial model for description of individual causes of the disease. **Materials and methods:** The genetic predisposition to androgenic alopecia was estimated by the set of SNP rs929626, rs5919324, rs1998076, rs12565727 and rs756853, analyzed by mini-sequencing. The non-genetic factors included: hormones and metabolic markers, trace elements, and vitamins. Two-stage model creation of androgenic alopecia occurrence and development was carried out using a neural network (for genetic factors) followed by step-by-step linear discriminate analysis (for non-genetic factors). **Results:** The case-control study included 50 men revealing I–IV stages of androgenic alopecia (according to Norwood-Hamilton classification) and 25 healthy volunteers relevant in their age and origin. The analysis of each SNP separately did not show significant differences between these groups, while SNP joint consideration in neural network model made it possible to assess the genetic predisposition to androgenic alopecia, as well as to divide the low and high genetic risk subgroups. A large number of significant non-genetic factors, including elevated levels of dihydrotestosterone, 17-OH-progesterone, insulin, and deficiency of Mg, Cu, Zn, Se, vitamins D, E, folic acid was shown in low genetic risk subgroup. In turn, in the high genetic risk subgroup the set of significant non-genetic factors was limited to metabolic and micronutrient disorders only. These data were used for the multifactorial model showing 81.2–85.1% accuracy being the most effective in early (I–II) stages of androgenic alopecia. **Conclusions:** The different influence of non-genetic factors in patients with low and high genetic risk of androgenic alopecia has been revealed. The integral factors consideration in the proposed two-stage multifactorial model identifies individual causes of the disease and gives the chance for the development of personalized therapy of androgenic alopecia in men.

**Keywords:** androgenic alopecia, genetic predisposition, trace element, vitamin, hormone, statistical model.

**(For citation):** Kondrakhina IN, Verbenko DA, Zatevalov AM, Kubanov AA, Deryabin DG. The value of genetic and non-genetic factors in the occurrence and development of androgenetic alopecia in men: multifactor analysis. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2019;74(3):167–175. doi: 10.15690/vramn1141)

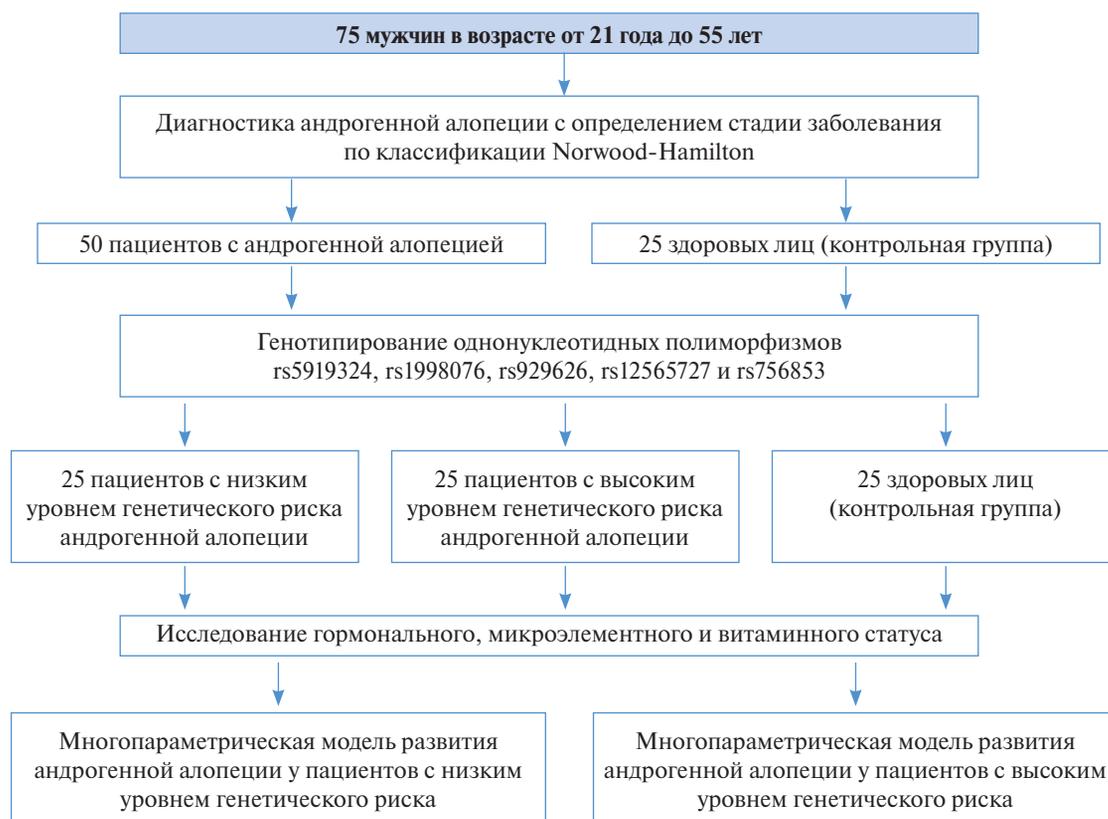


Рис. 1. Дизайн исследования роли генетических и негенетических факторов в возникновении и развитии андрогенной алопеции

### Описание медицинского вмешательства

У каждого участника основной и контрольной групп в вакуумные пробирки Vacuette K3 с ЭДТА (Greiner Bio-One, Австрия) были отобраны пробы венозной крови в объеме 5–10 мл, разделенные на клеточную и плазменную фракции при 3000 g в течение 10 мин в центрифуге Allegra X-14 (Beckman Coulter, США).

### Исходы исследования

#### Основной исход исследования

Охарактеризованы паттерны утраты волос и количественные характеристики волосяного покрова.

#### Дополнительные исходы исследования

Оценена степень генетического риска развития андрогенной алопеции на основе анализа однонуклеотидных полиморфизмов в значимых локусах; определены негенетические факторы (гормоны, микроэлементы, витамины, метаболические маркеры), потенциально значимые для возникновения и прогрессирования данного заболевания.

### Анализ в подгруппах

Группа пациентов с андрогенной алопецией дополнительно подразделялась на подгруппы, соответствующие ранним (I–II) и выраженным (III–IV) стадиями данного заболевания по классификации Норвуд–Гамильтон (Norwood–Hamilton).

По результатам анализа однонуклеотидных полиморфизмов с использованием нейросети на основании критерия «уровень доверия» (confidence level) основная группа обследования дополнительно была разделена на подгруппы с низким и высоким уровнем генетической предрасположенности к развитию андрогенной алопеции.

### Методы регистрации исходов

Оценка количественных характеристик волосяного покрова проводилась на основе данных трихограммы и фототрихограммы, выполненных с использованием микрокамеры Aramo SG (Aram HUVIS Co. Ltd., Республика Корея), с последующей обработкой полученных изображений профессиональной компьютерной диагностической программой Trichoscience PRO v. 1.4. При помощи объектива  $\times 60$  на участках  $0,1+0,004 \text{ см}^2$  определялись количество волос в андрогенозависимой (теменной) и андрогенонезависимой (затылочной) зонах, процентное соотношение терминальных и веллусоподобных волос. Измерение диаметра стержней волос проводилось с помощью объектива  $\times 200$ . Перед проведением фототрихограммы выполнялось подбрасывание волос на длину 0,2–0,3 мм на участках площадью 8–10 мм<sup>2</sup> в теменной и затылочной зонах, после чего через 48 ч на них наносился красящий состав Igora Wopacrom черного цвета (Schwartzkopf, Германия). После 10-минутной экспозиции краситель смывался спиртосодержащим средством, а покрашенные участки анализировались с помощью объектива  $\times 60$ . При длине стержня волоса менее 40 мкм он определялся как телогеновый, а при длине более 40 мкм — как анагеновый. Подсчет количества волос на 1 см<sup>2</sup> осуществлялся автоматически.

Для определения однонуклеотидных полиморфизмов A/G в локусах rs5919324, rs1998076, rs929626, rs12565727 и rs756853 из клеточной биомассы с использованием набора QIAmp genomic DNA mini kit (QIAGEN, Германия) выделяли геномную ДНК, которую анализировали методом минисеквенирования, подробно описанным в работе [6]. Первичные данные, полученные на генетическом анализаторе ABI 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems, США), после проведения мультиплексной полимераз-

ной цепной реакции с использованием набора SNaPshot обрабатывали при помощи программного обеспечения GeneMapper v. 4.0 (Applied Biosystems, США).

Определение уровней общего и свободного тестостерона, дигидротестостерона, 17-ОН-прогестерона, дегидроэпиандростерона, глобулина, связывающего половые гормоны, тиреотропного гормона и инсулина в плазме крови проводили методом иммуноферментного анализа при помощи микропланшетного фотометра Multiscan Ascent (Thermo Scientific, США) и с использованием наборов реагентов производства DRG Instruments GmbH (Германия).

Определение концентраций микроэлементов Mg, Ca, Zn, Cu, Se, Fe, а также железосвязывающего белка ферритина в плазме крови проводили с использованием прямых колориметрических тестов при помощи биохимического анализатора KONELAB 20XTi (Thermo Scientific, США) или атомно-абсорбционной спектроскопии, реализованной на платформе AA-7000 (Shimadzu, Япония).

Для определения концентраций витаминов B<sub>12</sub>, D (в форме 25(OH)-D<sub>3</sub>), E и фолиевой кислоты использованы методы иммуноферментного и иммунолюминесцентного анализа, а также высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией.

Концентрации глюкозы и холестерина в плазме крови определены стандартными биохимическими методами.

### Этическая экспертиза

Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России (протокол № 7 от 31.10.2017), согласно которому оно соответствует стандартам добросовестной клинической практики и доказательной медицины.

### Статистический анализ

#### Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался.

#### Методы статистического анализа данных

Полученные данные обработаны с использованием пакета статистических программ STATISTICA 13.0 (StatSoft Inc., США) [12]. Различия между группами и подгруппами считались статистически значимыми при значении  $p < 0,05$ . Для анализа генетических факторов возникновения андрогенной алопеции использовались искусственные нейронные сети, организованные по принципу «многослойного перцептрона» (multilayer perceptron, MLP); при многопараметрическом исследовании использован алгоритм линейного дискриминантного анализа.

## Результаты

### Объекты (участники) исследования

Постановка диагноза «Андрогенная алопеция» осуществлялась в соответствии Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10), введенной в действие на территории Российской Федерации с 01.01.1999 г. приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 170.

Возраст обследованных составлял от 18 до 55 (в среднем  $26,2 \pm 5,3$ ) лет. Длительность заболевания варьировала от нескольких месяцев до 6 лет со средней продолжительностью  $3,2 \pm 1,1$  года.

Основными жалобами являлись усиленное выпадение волос (100%) и их истончение (68%), усиление салоотде-

ления кожи волосистой части головы (75%), зуд (33%), болезненность у корней волос при механическом воздействии — расчесывании и мытье (34%).

При осмотре регистрировалось выпадение волос вдоль лобной линии роста волос (I стадия по классификации Norwood–Hamilton), образование двусторонних залысин на лобной зоне и поредение волос на теменной или макушечной области (II стадия), прогрессирующее выпадение волос в лобной и теменной зоне роста волос (III стадия) вплоть до полного слияние очагов облысения в лобной и теменной области (IV стадия). Типичные паттерны утраты волос приведены на рис. 2 (а–г).

Анализ трихограмм показал существенное истончение волос у пациентов с андрогенной алопецией по сравнению с контрольной группой, что, в частности, проявлялось снижением среднего диаметра волос в теменной области ( $41,66 \pm 1,32$  против  $59,28 \pm 0,99$  мкм;  $p < 0,00001$ ), а также выраженным увеличением доли пушковых (веллусоподобных) волос. В свою очередь анализ фототрихограмм показал почти восьмикратное увеличение доли волос в теменной области, находящихся на стадии телогена ( $32,28$  против  $4,28\%$  в контроле;  $p < 0,00005$ ), при противоположной тенденции изменения числа анагеновых волос. Типичные примеры трихограмм и фототрихограмм, соответствующих определенным стадиям заболевания, приведены на рис. 2 (д–м).

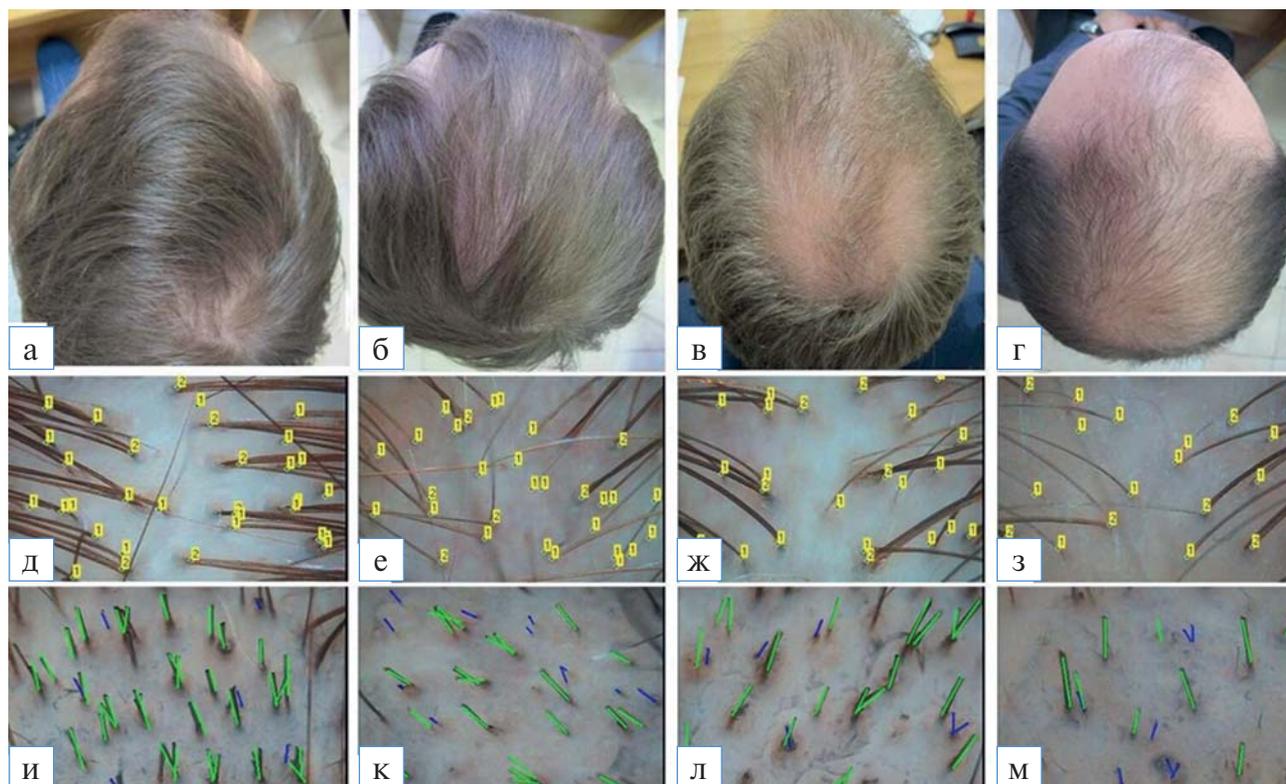
В целом, по результатам проведенного клинического обследования, ранние (I и II стадии по классификации Norwood–Hamilton) диагностированы у 24 пациентов (48%), III стадия — у 16 (32%), IV — у 10 (20%).

### Основные результаты исследования

Генетическое исследование однонуклеотидных полиморфизмов A/G в локусах rs5919324, rs1998076, rs929626, rs12565727 и rs756853 с последующим сравнением частоты их встречаемости в группе пациентов с андрогенной алопецией относительно контрольной группы показал существование аллелей риска (G), хотя ни один из исследованных однонуклеотидных полиморфизмов в отдельности не позволял достоверно дифференцировать названные группы ( $p > 0,05$ ). Для интегрального анализа результатов генетического исследования нами была задействована технология искусственных нейронных сетей, среди которых наилучшую дифференцирующую эффективность показал алгоритм MLP-14-6-2 [12]. Использование подобного подхода позволило объяснить возникновение андрогенетической алопеции у 47 из 50 обследованных пациентов, что характеризовало чувствительность предложенной модели величиной 94,0%. При этом значения критерия «уровни доверия» для отдельных индивидуальных прогнозов имели биномиальное распределение в диапазоне от 0,51 до 1,0 (рис. 3), что свидетельствовало об объективном присутствии в группе андрогенной алопеции двух равновеликих подгрупп по 25 пациентов в каждой с низким ( $\leq 0,75$ ) и высоким ( $> 0,75$ ) генетическим риском возникновения этого заболевания. Ограничениями предложенной модели оказались относительно низкая специфичность (44,0%), приводящая интегральную точность к значению 77,3%, а также невозможность дифференциации ранних и выраженных стадий андрогенной алопеции по классификации Norwood–Hamilton.

### Дополнительные результаты исследования

В соответствии с полученными результатами последующий анализ негенетических факторов, потенциаль-



**Рис. 2.** Примеры паттернов утраты волос (а–г), результатов анализа трихограмм (д–з) и фототрихограмм (и–м) теменной зоны у пациентов с I (а, д, и), II (б, е, к), III (в, ж, л) и IV (г, з, м) стадиями андрогенной алопеции по классификации Norwood–Hamilton

*Примечание.* В ряду трихограмм — количество волос на 1 см<sup>2</sup>: 246 (д), 216 (е), 174 (ж), 150 (з) при норме 300–350. В ряду фототрихограмм — доля волос, находящихся в фазе телогена (%): 16,2 (и), 23,1 (к), 35,3 (л), 41,2 (м) при норме 10%.

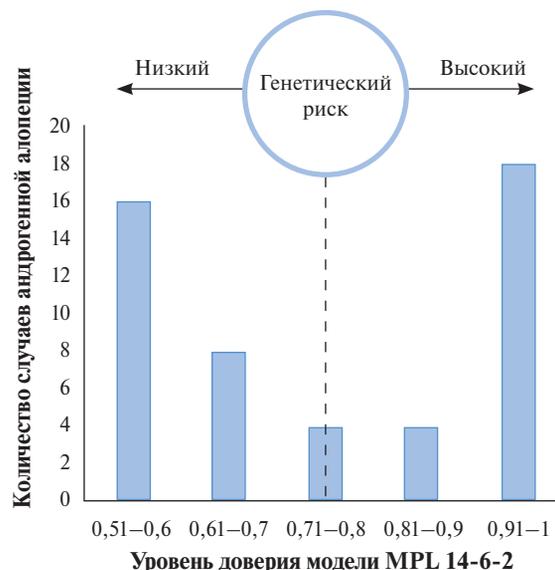
но значимых в патогенезе андрогенной алопеции, был проведен как в общей группе наблюдения ( $n=50$ ), так и в подгруппах с низким ( $n=25$ ) и высоким ( $n=25$ ) уровнем генетического риска развития данного заболевания. При этом предварительная оценка включенных в анализ данных по критерию Шапиро–Уилка свидетельствовала об отличном от нормального характере их распределения (за исключением концентраций Са и Fe в плазме крови), что потребовало использования непараметрического критерия Манна–Уитни для их корректного сравнения с контрольной группой ( $n=25$ ).

Анализ гормонального статуса в группе пациентов с андрогенной алопецией относительно контрольной группы (табл. 1) позволил констатировать у них статистически значимое повышение концентрации дигидротестостерона ( $p=0,029$ ) и 17-ОН-прогестерона ( $p=0,022$ ). Однако сравнение в подгруппах сохраняло подобную оценку только для пациентов с низким уровнем генетического риска ( $p=0,021$  и  $p=0,012$  соответственно), в то время как показатели гормонального статуса в подгруппе высокого генетического риска и контрольной группе оказывались статистически неразличимыми ( $p>0,05$ ). На этом фоне статистически значимое снижение гормона инсулина относительно контроля являлось значимым при сравнении как групп, так и подгрупп (см. табл. 1) при отсутствии различий по включенным в исследование гомеостатическим параметрам (в т.ч. глюкозе).

Статистически значимое снижение присутствия микроэлементов Mg, Cu и Se также было универсальным явлением (см. табл. 1), в то время как характерный для общей группы пациентов с алопецией дефицит Zn оказался значимым только в подгруппе с низким уровнем генетического риска.

Витаминный статус пациентов с андрогенной алопецией характеризовался статистически значимым дефицитом D, E и фолиевой кислоты, подтверждаемым при анализе групп и подгрупп (см. табл. 1), в то время как достоверное снижение содержания витамина B<sub>12</sub> было показано только в объединенной группе и подгруппе высокого генетического риска.

Выявленные факторы были использованы для построения многопараметрической модели возникнове-



**Рис. 3.** Принцип деления группы пациентов с андрогенной алопецией на подгруппы низкого и высокого генетического риска развития данного заболевания

ния и развития андрогенной алопеции, основанной на учете значимых негенетических параметров в подгруппах с разной степенью генетического риска. При этом в рамках линейного дискриминантного анализа был осуществлен дополнительный анализ сопряженности значимых негенетических факторов с пошаговым отбором наиболее информативных параметров. Проведение подобной процедуры в подгруппе низкого генетического риска позволило сократить количество учитываемых факторов с 10 до 3, сохранив в качестве параметров с наибольшей дискриминирующей значимостью содержание в плазме крови фолиевой кислоты, а также двух микроэлементов — Mg и Cu ( $p < 0,001$ ). В свою очередь

среди 8 параметров, отличающих подгруппу пациентов с высоким генетическим риском развития алопеции от контрольной группы, наибольшая дискриминирующая значимость была констатирована для Cu и витамина D ( $p < 0,001$ ).

Разработанная на этой основе система классификационных уравнений (отдельно для случаев низкого и высокого генетического риска) имела общий вид:

$$A_x = a_1(F_1) + \dots + a_n(F_n) + b,$$

где  $A_x$  — классификационное решение,  $F_1-F_n$  — лабораторно определенные значения отобранных негенетических параметров,  $a_1-a_n$  — коэффициенты, характеризующие

**Таблица 1.** Характеристика негенетических факторов в группах и подгруппах андрогенной алопеции относительно контрольной группы: медианные значения (в скобках указан диапазон 25-го и 75-го процентиля)

Анализируемые негенетические параметры	Контрольная группа $n=25$	Андрогенная алопеция		
		Общая группа $n=50$	Подгруппа с низким уровнем генетического риска $n=25$	Подгруппа с высоким уровнем генетического риска $n=25$
Тестостерон общий, нмоль/л	24,0 (18,0–39,0)	16,9 (12,2–30,0)	16,9 (8,9–27,0)	17,9 (13,5–32,0)
Тестостерон свободный, пг/мл	20,0 (11,0–23,0)	17,0 (11,0–27,1)	12,0 (6,0–22,0)	20,5 (15,0–35,0)
Дигидротестостерон, пг/мл	632,2 (547,1–742,5)	795,5 <sup>a</sup> (562,9–1400,0)	795,6 <sup>b</sup> (589,9–1413,4)	759,1 (533,7–1166,7)
17-ОН-прогестерон, нг/мл	1,0 (0,9–1,5)	1,5 <sup>a</sup> (1,0–1,9)	1,6 <sup>b</sup> (1,0–2,0)	1,4 (1,0–1,7)
Андростендион, нг/мл	2,0 (1,0–2,5)	2,0 (1,0–3,1)	2,1 (1,1–3,9)	2,0 (1,0–3,0)
ГСПГ, нмоль/мл	36,0 (19,0–55,0)	31,5 (21,0–45,0)	32,5 (25,0–51,7)	29,1 (19,0–45,0)
ТТГ, мкМЕ/мл	2,3 (1,9–2,9)	2,1 (1,9–3)	2,0 (1,8–3,0)	2,3 (2,0–3,0)
Инсулин, мкЕД/мл	14,0 (9,0–19,0)	6,0 <sup>a</sup> (3,0–12,4)	5,1 <sup>b</sup> (3,0–12,4)	7,5 <sup>c</sup> (3,0–12,9)
Глюкоза, ммоль/л	4,8 (4–5,1)	4,8 (4,1–5)	4,5 (4–5)	4,9 (4,3–5)
Холестерин общий, ммоль/л	4,7 (4,0–5,5)	4,1 (3,8–5,0)	4,6 (4,0–5,1)	4,0 (3,7–5,0)
Mg, ммоль/л	0,99 (0,89–1,0)	0,85 <sup>a</sup> (0,75–0,95)	0,85 <sup>b</sup> (0,79–0,92)	0,83 <sup>c</sup> (0,75–0,99)
Ca, ммоль/л	2,39 (2,30–2,45)	2,39 (2,30–2,50)	2,39 (2,30–2,50)	2,40 (2,30–2,50)
Zn, мкмоль/л	14,0 (12,0–15,0)	10,6 <sup>a</sup> (9,0–13,5)	10,0 <sup>b</sup> (8,6–13,2)	12,0 (9,3–14,1)
Cu, мкмоль/л	19,0 (17,0–20,0)	11,0 <sup>a</sup> (9,9–13,4)	11,0 <sup>b</sup> (10,0–17,0)	10,5 <sup>c</sup> (9,4–13,3)
Se, мкг/л	1,0 (0,9–1,0)	0,8 <sup>a</sup> (0,6–1,0)	0,7 <sup>b</sup> (0,5–1,0)	0,8 <sup>c</sup> (0,6–1,0)
Fe, мкмоль/л	26,0 (19,0–28,0)	21,4 (16,4–28,6)	23,9 (15,0–26,0)	21,2 (19,0–29,0)
Ферритин, нг/мл	198 (125–265)	177 (99–265)	160 (85–281)	188 (112–230)
Витамин B <sub>12</sub> , пг/мл	369 (290–741)	312 <sup>a</sup> (200–398)	318 (204–415)	275 <sup>c</sup> (177–357)
Витамин D, нг/мл	45 (35–59)	21 <sup>a</sup> (19–32)	20 <sup>b</sup> (19–41)	21,5 <sup>c</sup> (18–29)
Витамин E, мкг/мл	9,0 (8,0–13,0)	5,6 <sup>a</sup> (4,0–10,0)	6,0 <sup>b</sup> (4,0–11,0)	5,4 <sup>c</sup> (4,4–10,0)
Фолиевая кислота, нг/мл	10,0 (9,0–12,0)	4,7 <sup>a</sup> (3,0–9,5)	4,0 <sup>b</sup> (3,0–9,5)	5,5 <sup>c</sup> (3,1–11,0)

*Примечание.* <sup>a</sup> —  $p < 0,05$  при сравнении группы наблюдения и контрольной группы; <sup>b</sup> —  $p < 0,05$  при сравнении подгруппы пациентов с низким уровнем генетического риска развития андрогенной алопеции и контрольной группы; <sup>c</sup> —  $p < 0,05$  при сравнении подгруппы пациентов с высоким уровнем генетического риска развития андрогенной алопеции и контрольной группы. ГСПГ — глобулин, связывающий половые гормоны, ТТГ — тиреотропный гормон.

**Таблица 2.** Значения нормирующих коэффициентов и констант, используемых в многопараметрической модели андрогенной алопеции

Учитываемые параметры	Дифференцируемые состояния		
	Отсутствие алопеции (A <sub>0</sub> )	Ранние стадии алопеции (A <sub>I–II</sub> )	Выраженные стадии алопеции (A <sub>III–IV</sub> )
<i>При низком генетическом риске развития заболевания</i>			
Фолиевая кислота (a <sub>1</sub> )	2,431	1,6448	1,7859
Cu (a <sub>2</sub> )	1,2013	0,7911	0,9532
Mg (a <sub>3</sub> )	97,479	82,2709	86,5415
Поправочная константа (b)	-70,4829	-44,8113	-52,2931
<i>При высоком генетическом риске развития заболевания</i>			
Витамин D (a <sub>1</sub> )	0,3063	0,1775	0,1644
Cu (a <sub>2</sub> )	2,1684	1,2912	1,7636
Поправочная константа (b)	-27,5057	-10,4727	-17,245

ющие вклад каждого из них в дискриминации подгрупп, b — поправочная константа (табл. 2). Рассчитываемое с их использованием максимальное значение классификационной функции указывало на принадлежность к определенной группе (подгруппе) наблюдения, соответствующей отсутствию андрогенной алопеции (A<sub>0</sub>), ранним (A<sub>I–II</sub>) или выраженным (A<sub>III–IV</sub>) стадиям данного заболевания.

Важным результатом использования предложенной многопараметрической модели явилась правильная классификация всех контрольных случаев, что свидетельствовало о 100% специфичности подобного анализа. Использование модели в подгруппе низкого генетического риска позволило правильно классифицировать 81,2% случаев с ранними (I–II) стадиями андрогенной алопеции и лишь 14,3% правильных заключений в отношении выраженных (III–IV) стадий данного заболевания. Аналогичные значения в группе высокого генетического риска составили 87,5 и 16,7% соответственно. В целом же интегральная точность разработанной модели характеризовалась значениями 81,2% в подгруппе пациентов низкого генетического риска и 85,1% в подгруппе высокого генетического риска развития андрогенной алопеции.

### Нежелательные явления

Нежелательных явлений зарегистрировано не было.

### Обсуждение

#### Резюме основного результата исследования

Полученные результаты развивают представления о многофакторности патогенеза андрогенной алопеции, возникающей при сочетании генетической предрасположенности, гормональных изменений и микронутриентных нарушений. При этом впервые показана неидентичность перечня негенетических факторов, действующих у пациентов с низким и высоким уровнем генетического риска данного заболевания, что свидетельствует в пользу вариативности патогенетических путей, ведущих к патологической утрате волос. Построенная на данной основе многопараметрическая модель позволила связать развитие андрогенной алопеции с дефицитом ряда витаминов и микроэлементов, но слабо объясняла прогрессирование данного заболевания, вероятно, определяемое неучтенными в настоящем исследовании факторами.

#### Обсуждение основного результата исследования

Анализ генетических причин возникновения андрогенной алопеции подтвердил значимость пяти однонуклеотидных полиморфизмов, предварительно выбранных из числа 50 хромосомных маркеров [5] и в дальнейшем использованных для построения нейросети, ориентированной на оценку риска возникновения данного заболевания [6]. Подобный подход продемонстрировал высокую чувствительность, позволив объяснить генетическую природу заболевания у большинства пациентов с диагностированной андрогенной алопецией, но характеризовался относительно низкой специфичностью, определяемой констатацией генетического риска утраты волос примерно у половины включенных в исследование здоровых добровольцев. Тем самым полученный результат является еще одним аргументом в пользу взгляда на андрогенную алопецию как заболевание, возникающее только при суперпозиции факторов генетического риска и реализующих его негенетических (средовых) факторов [3].

Биномальное распределение степени генетического риска в обследуемой группе позволило не только идентифицировать ряд негенетических факторов, значимых в патогенезе данного заболевания, но и впервые показать их неполную идентичность в выделенных подгруппах. Так, важным наблюдением представляется отсутствие значимости гормонального фактора (в том числе отсутствие статистически значимого повышения концентрации гормона дигидротестостерона) у пациентов с высоким уровнем генетического риска, развитие заболевания у которых, вероятно, определяется гормоннезависимыми нарушениями функционирования волосяного фолликула [6]. В свою очередь гормонозависимый характер данного заболевания подтвержден у пациентов с низким уровнем генетического риска, у которых наиболее вероятным механизмом утраты волос является воздействие дигидротестостерона и других стероидных гормонов через андрогенный рецептор с последующим связыванием комплекса лиганд–рецептор с генетическими элементами отклика на андрогены, располагающимися в промоторах генов-мишеней [13].

В качестве другого важного негенетического фактора, принимающего участие в возникновении и развитии андрогенной алопеции, результаты проведенного исследования позволяют назвать микронутриентную недостаточность, определяемую множественными дефицитами

витаминов и микроэлементов. В частности, после устранения мультиколлинеарности в качестве универсального дефицитного микроэлемента идентифицирован *Cu*, что согласуется с формирующимися представлениями о нем как одним из ключевых факторов развития андрогенной алопеции [14]. При этом роль *Cu* в патогенезе данного заболевания может объясняться его присутствием в активном центре металлоферментов, принимающих участие в синтезе коллагена, меланина и защите от окислительного стресса [15], а также участием в дифференциации и пролиферации клеток сосочка волосяного фолликула [16]. Другим микроэлементом, наиболее значимым при построении модели в группе пациентов низкого генетического риска, явился *Mg*, являющийся кофактором более 300 ферментных систем, связанных в том числе с биосинтезом нуклеотидов и транспортом витамина *D* [17]. В свою очередь дефицит названного витамина, универсально регистрируемый при андрогенной алопеции, оказался наиболее значимым при построении модели в группе высокого генетического риска, где его вовлеченность в развитие андрогенной алопеции традиционно объясняется его активирующим взаимодействием с *VDR*-рецептором на клетках волосяного фолликула, находящегося в фазе анагена [1–3]. На этом фоне дефицит фолиевой кислоты оказался наиболее значим в подгруппе низкого генетического риска, где обусловленные дефицитом данного витамина нарушения биосинтеза нуклеотидов и эпигенетической регуляции [18, 19] могут вести к нарушениям цитодифференцировки клеток волосяного фолликула независимо от значимых аллельных вариантов однонуклеотидных полиморфизмов [16].

Полученные результаты положены в основу двухэтапной многопараметрической модели, наиболее полно описывающей индивидуальные причины возникновения и развития андрогенной алопеции. При этом суть подобного подхода заключалась в первоначальной оценке степени генетического риска развития данного заболевания (с использованием нейросети) и последующем анализе совокупности негенетических факторов, наиболее значимых в подгруппах низкого и высокого генетического риска (с использованием дискриминантного анализа). Предложенная модель продемонстрировала высокие показатели специфичности, позволяя четко дифференцировать случаи отсутствия заболевания, а также с высокой эффективностью описывала его ранние формы, что характеризует учитываемые негенетические факторы как важные триггеры, реализующие генетические риски развития андрогенной алопеции.

### Ограничение исследования

Выявленное ограничение предложенной многопараметрической модели заключается в ее недостаточной эффективности при описании выраженных форм андрогенной алопеции, что может объясняться отсутствием среди учитываемых факторов молекулярных механизмов, обуславливающих выраженное нарушение кровотока в коже головы, истончение скальпа и другие дегенеративные изменения, характерные для прогрессирующего патологического выпадения волос [1, 2].

### Заключение

Полученные данные впервые демонстрируют различную значимость негенетических факторов в группах пациентов с низким и высоким уровнем генетического риска развития андрогенной алопеции. При этом роль гормонального фактора показана только в подгруппе с низким генетическим риском развития данного заболевания, в то время как высокий генетический риск (и определяемые им нарушения функционирования генома) может вести к патологической утрате волос и при нормальном уровне андрогенов. Кроме того, в качестве важных причин возникновения и развития андрогенной алопеции выявлены множественные дефициты микроэлементов и витаминов, в разных сочетаниях реализующих низкий или высокий риск данного заболевания. Совместный учет определенных генетических и негенетических факторов в рамках предложенной двухэтапной многопараметрической модели обеспечивает высокий уровень соответствия текущему статусу пациента, что формирует основу для разработки на данной основе схем персонализированной терапии андрогенной алопеции.

### Дополнительная информация

**Источник финансирования.** Исследование и публикация статьи осуществлены на личные средства авторского коллекттива.

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

**Выражение признательности.** Авторы выражают искреннюю благодарность пациентам и здоровым добровольцам, принявшим участие в проведении исследования.

### ЛИТЕРАТУРА

- Randall VA. *Molecular basis of androgenetic alopecia*. In: Trüeb RM, Tobin DJ (eds). *Aging hair*. Springer, Berlin; 2010. Pp. 9–24.
- Lolli F, Pallotti F, Rossi A, et al. Androgenetic alopecia: a review. *Endocrine*. 2017;57(1):9–17. doi: 10.1007/s12020-017-1280-y.
- Pirastu N, Joshi PK, de Vries PS, et al. GWAS for male-pattern baldness identifies 71 susceptibility loci explaining 38% of the risk. *Nat Commun*. 2017;8(1):1584. doi: 10.1038/s41467-017-01490-8.
- Yap CX, Sidorenko J, Wu Y, et al. Dissection of genetic variation and evidence for pleiotropy in male pattern baldness. *Nat Commun*. 2018;9(1):5407. doi: 10.1038/s41467-018-07862-y.
- Marcińska M, Pośpiech E, Abidi S, et al. Evaluation of DNA variants associated with androgenetic alopecia and their potential to predict male pattern baldness. *PLoS One*. 2015;10(5):e0127852. doi: 10.1371/journal.pone.0127852.
- Kondrakhina IN, Verbenko DA, Zatevalov AM, et al. SNP variation in male pattern hair loss in Russians with different dihydrotestosterone levels. *Meta Gene*. 2019;19(2):219–224. doi: 10.1016/j.mgene.2018.12.011.
- Sánchez P, Serrano-Falcón C, Torres JM, et al. 5 $\alpha$ -Reductase isozymes and aromatase mRNA levels in plucked hair from young women with female pattern hair loss. *Arch Dermatol Res*. 2018;310(1):77–83. doi: 10.1007/s00403-017-1798-0.
- Jin W, Zheng H, Shan B, Wu Y. Changes of serum trace elements level in patients with alopecia areata: a meta-analysis. *J Dermatol*. 2017;44(5):588–591. doi: 10.1111/1346-8138.13705.

9. Fawzi MM, Mahmoud SB, Ahmed SF, et al. Assessment of vitamin D receptors in alopecia areata and androgenetic alopecia. *J Cosmet Dermatol*. 2016;15(4):318–323. doi: 10.1111/jocd.12224.
10. Mahmood L. The metabolic processes of folic acid and Vitamin B12 deficiency. *J Health Res Rev*. 2014;1(1):5–9. doi: 10.4103/2394-2010.143318.
11. Lie C, Liew CF, Oon HH. Alopecia and the metabolic syndrome. *Clin Dermatol*. 2018;36(1):54–61. doi: 10.1016/j.clindermatol.2017.09.009.
12. STATISTICA help [Internet], 2019. STATISTICA automated neuronal networks overviews — network types. The multilayer perceptron neural networks. [cited 2019 Apr 11] Available from: <http://documentation.statsoft.com/STATISTICAHelp.aspx?path=SANN/Overview/SANNNeuralNetworksAnOverview>.
13. Panda S. A review on regulation of gene in eukaryotes. *Int J Bioassays*. 2016;5(8):4729–4732. doi: 10.21746/ijbio.2016.08.001.
14. Skalnaya MG. Copper deficiency a new reason of androgenetic alopecia? In: Pharmacology and nutritional intervention in the treatment of disease. Chapter 17. 2014. Pp. 337–348. doi: 10.5772/58416.
15. Rajendrasingh JR. Role of non-androgenic factors in hair loss and hair regrowth. *J Cosmo Trichol*. 2017;3:118. doi: 10.4172/2471-9323.1000118.
16. Madaan A, Verma R, Singh AT, Jaggi M. Review of hair follicle dermal papilla cells as in vitro screening model for hair growth. *Int J Cosmet Sci*. 2018;40(5):429–450. doi: 10.1111/ics.12489.
17. Almohanna HM, Ahmed AA, Tsatalis JP, Tosti A. The role of vitamins and minerals in hair loss: a review. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2019;9(1):51–70. doi: 10.1007/s13555-018-0278-6.
18. Crider KS, Yang TP, Berry RJ, Bailey LB. Folate and DNA methylation: a review of molecular mechanisms and the evidence for folate's role. *Adv Nutr*. 2012;3(1):21–38. doi: 10.3945/an.111.000992.
19. Hochfeld LM, Anhalt T, Reinbold CS, et al. Expression profiling and bioinformatic analyses suggest new target genes and pathways for human hair follicle related microRNAs. *BMC Dermatol*. 2017;17(1):3. doi: 10.1186/s12895-017-0054-9.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**\*Вербенко Дмитрий Анатольевич**, к.б.н. [*Dmitry A. Verbenko*, PhD]; Адрес: 107076, Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6 [address: 3 bld 6, Korolenko street, 107076 Moscow, Russia], тел.: +7 (499) 785-20-74, e-mail: [verbenko@cnikvi.ru](mailto:verbenko@cnikvi.ru), SPIN-код: 8261-6561, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1104-7694>

**Кондрахина Ирина Никифоровна**, к.м.н. [*Irina N. Kondrakhina*, MD, PhD]; e-mail: [kondrakhina77@gmail.com](mailto:kondrakhina77@gmail.com), SPIN-код: 8721-9424, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3662-9954>

**Затевалов Александр Михайлович**, д.б.н. [*Alexander M. Zatevalov*, PhD]; e-mail: [zatevalov@mail.ru](mailto:zatevalov@mail.ru), SPIN-код: 3718-6127, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1460-4361>

**Кубанов Алексей Алексеевич**, д.м.н., профессор чл.-корр. РАН [*Alexey A. Kubanov*, MD, PhD, Professor]; e-mail: [kubanov@list.ru](mailto:kubanov@list.ru), SPIN-код: 8771-4990, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7625-0503>

**Дерябин Дмитрий Геннадиевич**, д.м.н., профессор [*Dmitrij G. Deryabin*, MD, PhD, Professor]; e-mail: [dgderyabin@yandex.ru](mailto:dgderyabin@yandex.ru), SPIN-код: 8243-2537, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2495-6694>

И.А. Васютин, С.Л. Кузнецов, А.В. Ляндуп

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

# Стволовые клетки, выделенные из мочи: оценка потенциала дифференцировки

## В гладкомышечные клетки и клетки уротелия

**Обоснование.** Тканевая инженерия органов мочевой системы требует забора аутологичного биопсийного материала мочевого пузыря. В данном исследовании описан неинвазивный метод получения стволовых клеток из мочи и произведено исследование потенциала дифференцировки полученных стволовых клеток в клетки органов нижних мочевых путей — клетки уротелия и гладкомышечные клетки. **Цель исследования** — описать свойства стволовых клеток, получаемых из мочи (СКМ), и исследовать потенциал дифференцировки СКМ в клетки уротелия и гладкомышечные клетки в культуре. **Методы.** Выделение СКМ производилось у здоровых добровольцев отмыванием клеток от мочи с помощью центрифугирования и посадкой в культуральную среду на 24-луночные планшеты. Экспрессия СКМ маркеров постнатальных стволовых клеток (CD73, CD90, CD105, CD34, CD45, CD29, CD44, CD54, SSEA4) оценивалась с помощью проточной цитометрии. Экспрессия маркеров уротелия и гладкомышечных клеток оценивалась посредством флуоресцентной микроскопии с дальнейшим компьютерным анализом изображений. **Результаты.** Медиана количества СКМ в моче составила 6 клеток на 100 мл. Время удвоения популяции для культур СКМ —  $1,44 \pm 0,528$  сут ( $n=4$ ). Количество удвоенной популяции до вырождения культуры —  $26,3 \pm 4,79$  ( $n=4$ ). Медиана экспрессии СКМ второго пассажа маркеров стволовых клеток: CD73 — 79,8%, CD90 — 56,6%, CD105 — 40,7%, CD34 <1,0%, CD45 <2,0%, CD29 >99,0%, CD44 >99,0%, CD54 — 97,7%, SSEA4 >99,0%. После уротелиальной дифференцировки экспрессия цитokerатинов (СК) увеличилась на 24,9% для СК AE1/AE3 и на 7,6% для СК 7. После гладкомышечной дифференцировки экспрессия маркеров гладкомышечных клеток увеличилась на 79,6% для  $\alpha$ SMA и на 97,6% для кальпонина. **Заключение.** СКМ — клетки, которые обнаружены в моче в малых количествах, имеют высокий пролиферативный потенциал и экспрессируют маркеры постнатальных стволовых клеток. Под воздействием факторов роста PDGF-BB и TGF- $\beta$ 1 СКМ способны к дифференцировке в гладкомышечные клетки в культуре.

**Ключевые слова:** стволовые клетки, тканевая инженерия, урология, регенеративная медицина.

(Для цитирования: Васютин И.А., Кузнецов С.Л., Ляндуп А.В. Стволовые клетки, выделенные из мочи: оценка потенциала дифференцировки в гладкомышечные клетки и клетки уротелия. Вестник РАМН. 2019;74(3):176–184. doi: 10.15690/vramn1131)

### Обоснование

Тканевая инженерия — развивающаяся область биомедицинской науки. Тканеинженерные эквиваленты тканей мочевыводящих путей могут быть использованы для заместительной пластики поврежденных и/или не-

функционирующих органов и для прецизионного моделирования патологических процессов мочевыводящих путей *in vitro*. В настоящее время заместительные пластики мочевого пузыря и мочеиспускательного канала проводятся с помощью трансплантации аутологичных тканей пациента. Для осуществления данного подхода

I.A. Vasyutin, S.L. Kuznetsov, A.V. Lyundup

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

## Urine-Derived Stem Cells: Differentiation Potential into Smooth-Muscle Cells and Urothelial Cell

**Background:** Tissue engineering of low urinary tract organs requires biopsy of urinary bladder material. The current study describes non-invasive approach of obtaining autologous stem cells from urine of healthy adults. These cells were studied for potential to differentiate into epithelial cells and smooth muscle cells of the urinary bladder. **Aims:** To describe properties of urine-derived stem cells (USCs) and investigate their differentiation potential for tissue engineering of low urinary tract organs. **Materials and Methods:** USCs were isolated from urine of healthy volunteers with centrifugation and seeded in media to 24-well plates. Expression of stem cells markers (CD73, CD90, CD105, CD34, CD45, CD29, CD44, CD54, SSEA4) by USCs was assessed with flow cytometry. Expression of specific markers of smooth muscle cells and urothelial cells was assessed with fluorescence microscopy with following computational image analysis. **Results:** Median number of USCs per 100 ml urine was 6. Doubling time for USC was  $1.44 \pm 0.528$  days ( $n=4$ ) and there were  $26.3 \pm 4.79$  population doublings for USC cultures ( $n=4$ ). Median expression of markers of postnatal stem cells was CD73 — 79.8%, CD90 — 56.6%, CD105 — 40.7%, CD34 <1.0%, CD45 <2.0%, CD29 >99.0%, CD44 >99.0%, CD54 — 97.7% and SSEA4 >99.0%. Treatment of cells with high concentration of EGF in media with low concentration of FBS for 10 days increased cytokeratin (CK) expression to 24.9% for CK AE1/AE3 and to 7.6% for CK 7. Treatment of USCs with media inducing smooth muscle differentiation for 10 days increased expression of  $\alpha$ -smooth muscle actin to 79.6% and expression of calponin to 97.6%. **Conclusions:** USCs are cells that can be found in urine in small quantities. They have high proliferative potential and express markers of postnatal stem cells. Under effect of PDGF-BB and TGF- $\beta$ 1 they differentiate into smooth muscle cells.

**Keywords:** stem cells, tissue engineering, urology, regenerative medicine.

(For citation: Vasyutin IA, Kuznetsov SL, Lyundup AV. Urine-derived stem cells: differentiation potential into smooth-muscle cells and urothelial cell. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2019;74(3):176–184. doi: 10.15690/vramn1131)

необходим забор значительного объема донорской ткани, что требует отдельного операционного вмешательства и может привести к дополнительным осложнениям [1]. Поэтому тканеинженерные конструкции мочевого пузыря и мочеиспускательного канала рассматриваются в качестве будущей замены аутологичных тканей для заместительной пластики органов мочевыводящих путей [2]. Кроме использования в хирургической практике, тканеинженерные конструкции стенки мочевого пузыря позволяют моделировать различные патологические процессы *in vitro*, такие как развитие карциномы мочевого пузыря и урогенитальные инфекции [3].

Для создания тканеинженерных конструкций стенки мочевого пузыря и мочеиспускательного канала необходимо использование клеток уротелия и гладкомышечных клеток [4, 5]. Как правило, эти клетки получают из биопсийного материала мочевого пузыря. Хотя процедура забора биопсии мочевого пузыря и была улучшена в последние годы, она остается достаточно сложной и болезненной для пациентов, поэтому различные исследовательские группы рассматривают альтернативные источники клеток для тканевой инженерии органов нижних мочевых путей [6–8]. Одной из таких альтернатив являются стволовые клетки. Так, были разработаны протоколы дифференцировки плюрипотентных стволовых клеток в клетки уротелия и гладкомышечные клетки [9, 10]. Однако применение этого типа клеток в клинической практике является небезопасным из-за их высокой туморогенности.

Для изготовления тканеинженерных конструкций нижних мочевых путей потенциально могут быть использованы постнатальные стволовые клетки. Например, мезенхимальные стромальные клетки, получаемые из различных тканей взрослого организма, могут быть дифференцированы *in vitro* в гладкомышечные клетки [11]. Однако для мезенхимальных стромальных клеток дифференцировка в клетки уротелия не показала удовлетворительных результатов, и единственным надежным источником клеток уротелия для тканевой инженерии остается биопсия мочевого пузыря [5]. В недавних исследованиях было описано наличие небольшого количества клеток в моче с высоким пролиферативным потенциалом и способностью под воздействием экзогенных факторов дифференцироваться в различные клетки организма [12, 13]. Эти клетки были названы стволовыми клетками из мочи (СКМ). СКМ экспрессируют на своей поверхности маркеры мезенхимальных стромальных клеток, но в отличие от последних СКМ также экспрессируют некоторые маркеры плюрипотентных стволовых клеток и обладают эпителиальным фенотипом. В ряде исследований была показана способность СКМ дифференцироваться в клетки уротелия в культуре под воздействием высоких концентраций эпидермального фактора роста (epidermal growth factor, EGF) [14].

**Целью данной работы** было выделение и описание свойств СКМ, а также проверка гипотезы возможности дифференцировки СКМ в клетки уротелия и гладкомышечные клетки.

## Методы

### 1. Выделение и культивирование стволовых клеток из мочи

Этическая экспертиза исследования была проведена Локальным этическим комитетом Первого МГМУ имени

И.М. Сеченова (протокол № 06-19 от 15.05.2019). От всех доноров мочи было получено информированное согласие на выделение клеток из мочи и использование выделенных клеток в исследованиях *in vitro*. Выделение стволовых клеток из мочи осуществлялось по протоколу, описанному ранее [9]. Образцы мочи в объеме 100–300 мл на образец были собраны у 6 здоровых добровольцев. Выделение клеток из мочи производилось посредством двукратного центрифугирования при 1500 rpm в течение 5 мин с отбором надосадочной жидкости и ресуспендированием клеток в фосфатно-солевом буфере (phosphate buffered saline, PBS) после первого центрифугирования. После второго центрифугирования надосадочная жидкость забиралась с помощью аспиратора, а осадок, содержащий клетки, ресуспендировали в среде для культивирования СКМ. Среда для культивирования СКМ состояла из питательного субстрата для прогениторных клеток и бессывороточного — для кератиноцитов (KSFМ, Life Technologies, Inc.) в отношении 1:1. Среда для прогениторных клеток состояла из среды Игла, модифицированной Дульбекко (DMEM), и среды F12 в отношении 1:1 (Life Technologies, Inc.) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS, GE Healthcare Life Sciences), 0,4 мкг/мл гидрокортизона (Sigma-Aldrich Corp.), 5 нг/мл инсулина, 5 мкг/мл трансферрина (Life Technologies, Inc.), 24,3 мкг/мл аденина (Sigma-Aldrich Corp.), 1,3 нг/мл трийодтиронина (T3, Sigma-Aldrich Corp.), 10 нг/мл EGF (Life Technologies, Inc.), 1% пенициллина-стрептомицина (Sigma-Aldrich Corp.). Среда с клетками была перенесена на 24-луночный культуральный планшет в объеме 1 мл на лунку. Первая замена среды проводилась через 3 дня после посадки клеток, дальнейшая замена проводилась каждые два дня. При достижении покрытия СКМ 20–30% поверхности лунки клетки пересевались на 6-луночные культуральные планшеты для дальнейшего культивирования.

### 2. Проточная цитометрия

Для проведения проточной цитометрии для оценки экспрессии поверхностных маркеров были использованы СКМ второго пассажа. Клетки были трипсинизированы, отмыты и помечены флуоресцентными антителами против CD73, CD90, CD105 (BD Biosciences), CD34, CD45, CD29, CD44, CD54 и SSEA4 (Life Technologies, Inc.). Анализ флуоресценции проводился с использованием клеточного сортера MoFlo (Beckman Coulter).

### 3. Выделение клеток уротелия и гладкомышечных клеток мочевого пузыря

Выделение клеток уротелия и гладкомышечных клеток мочевого пузыря проводилось из кадаверного материала мочевого пузыря человека. Фрагмент мочевого пузыря, содержащий слизистую оболочку и мышечный слой, отмывался в PBS, после чего проводилось выделение клеток. Для выделения клеток уротелия, слизистая мочевого пузыря отделялась от мышечного слоя с помощью ножниц. После этого слизистая нарезалась на фрагменты по 2–3 мм, которые помещались в 450 U/мл раствор коллагеназы IV при 37°C на 1–2 ч. Обработанные коллагеназой IV фрагменты слизистой дважды отмывались в PBS посредством центрифугирования, ресуспендировались и переносились в 25 см<sup>2</sup> культуральные флаконы, культуральная поверхность которых была обработана поли-L-лизинном (ScienCell Research Laboratories, Inc.). Для культивирования клеток уротелия использовалась среда KSFМ, замена среды осуществлялась каждые два дня. Для выделения гладкомышечных клеток использовался остав-

шийся мышечный слой мочевого пузыря. Сперва от фрагмента мышечного слоя с помощью ножниц удалялись остатки соединительной, жировой и васкулярной тканей. После этого фрагмент нарезался с помощью ножниц и скальпеля на мелкие фрагменты, которые переносились в 50 мл пробирку, содержащую 40 мл среды DMEM, 450 U/мл диспазы II, 450 U/мл коллагеназы IV и 5 мМ CaCl<sub>2</sub>. После этого раствор, содержащий обработанную ткань, отфильтровывали с помощью 100 мкм фильтра для удаления больших частиц ткани, клетки отмывали с помощью центрифугирования и переносили в среде DMEM с 10% FBS в культуральные флаконы. Смена среды осуществлялась каждые два дня.

#### 4. Дифференцировка

Для проведения дифференцировки в клетки уротелия СКМ второго пассажа были посеяны на культуральную посуду в концентрации 2000–4000 кл./см<sup>2</sup> в среде, состоящей из DMEM, содержащей 10% FBS, и KSFM в отношении 1:4 с добавлением 30 нг/мл EGF. Дифференцировка проводилась в течение 10 дней без пассирования. Смена среды проводилась каждые два дня. Для дифференцировки в гладкомышечные клетки СКМ второго пассажа были посеяны на культуральную посуду в концентрации 500–1500 кл./см<sup>2</sup> в среде, состоящей из DMEM, и среде для прогениторных клеток, описанной выше, в отношении 1:1 с добавлением 5 нг/мл тромбоцитарного фактора роста (PDGF-BB, Life Technologies, Inc.) и 2,5 нг/мл трансформирующего фактора роста β1 (TGF-β1, Life Technologies, Inc.). Дифференцировка проводилась в течение 10 дней без пассирования. Смена среды проводилась каждые два дня.

#### 5. Иммуноцитохимическое окрашивание

Для флуоресцентного окрашивания клетки в культуральных 24-луночных планшетах были зафиксированы с помощью 16% формальдегида, пермеабиллизованы с помощью Тритона X-100 и инкубированы при 4°C в течение ночи с первичными антителами против цитокератинов (cytokeratin, CK) AE1/AE3 (Thermo Fisher Scientific Inc., MA5-13156), CK 7 (Thermo Fisher Scientific Inc., MA1-06316), CK 13 (Thermo Fisher Scientific Inc., MA5-12135) для оценки уротелиального фенотипа и против α-гладкомышечного актина (α-SMA, Thermo Fisher Scientific Inc., 14-9760-80), десмина (Abcam, ab32362) и кальпонины (Thermo Fisher Scientific Inc., MA5-11620) для оценки гладкомышечного фенотипа. После инкубации с первичными антителами клетки отмывали и инкубировали со вторичными антителами, конъюгированными с флуоресцентной меткой FITC или Texas Red (Vector Laboratories, Inc.), в течение 1 ч при комнатной температуре.

#### 6. Флуоресцентная микроскопия и количественный анализ

Для оценки интенсивности флуоресценции использовался флуоресцентный микроскоп IN Cell Analyzer 2000 (General Electric) с высокой пропускной способностью с последующим автоматическим анализом изображений. Количественные данные интенсивности флуоресценции, полученные после анализа изображений, были обработаны с помощью программного обеспечения R для получения агрегированных статистических показателей для каждого типа клеток, после чего делался вывод об уровне экспрессии маркеров клеток уротелия и гладкомышечных клеток. Для оценки экспрессии каждого маркера исполь-

зовались 5 различных клонов клеток СКМ. Для статистического анализа уровня экспрессии каждого из маркеров дифференцировки использовалось значение относительного уровня флуоресценции, полученного по формуле:

$$E_i = \frac{I_i - I_{NC}}{I_{PC} - I_{NC}},$$

где  $I_i$  — среднее значение интенсивности флуоресценции маркера для клона  $i$  СКМ,  $I_{NC}$  — среднее значение интенсивности флуоресценции отрицательного контроля (в качестве отрицательного контроля использовалось значение флуоресценции клеток, инкубированных только со вторичными антителами),  $I_{PC}$  — среднее значение флуоресценции положительного контроля (для маркеров клеток уротелия в качестве положительного контроля использовалась культура клеток уротелия, для гладкомышечных маркеров использовалась культура гладкомышечных клеток).

Описательная статистика для экспрессии каждого маркера, а также относительное изменение экспрессии маркеров после проведения дифференцировки приведены с использованием медианы и минимального–максимального значения (Me [мин.–макс.]) интенсивности флуоресценции. Статистическое сравнение уровней экспрессии каждого маркера до и после дифференцировки осуществлялось с использованием теста Стьюдента.

### Результаты

#### 1. Получение и культивирование клеток

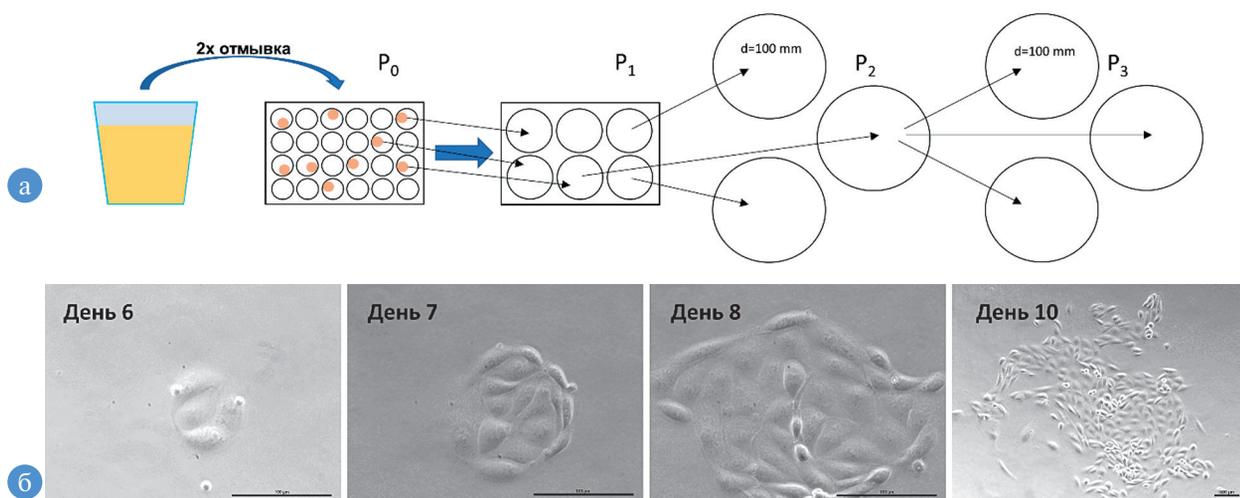
СКМ были выделены у 6 здоровых добровольцев. Количество СКМ в моче было крайне мало (медиана — 6 клеток на 100 мл мочи). Первые клоны делящихся клеток были выявлены через 4–5 дней после посадки клеток на культуральную посуду (рис. 1). Количество клонов стволовых клеток в моче было крайне мало (медиана — 6 клонов на 100 мл мочи). Время удвоения популяции для культур стволовых клеток, выделенных из мочи, составило 1,44±0,528 сут ( $n=4$ ). Количество удвоений популяции до вырождения культуры — 26,3±4,79 ( $n=4$ ).

#### 2. Проточная цитометрия для оценки экспрессии маркеров стволовых клеток

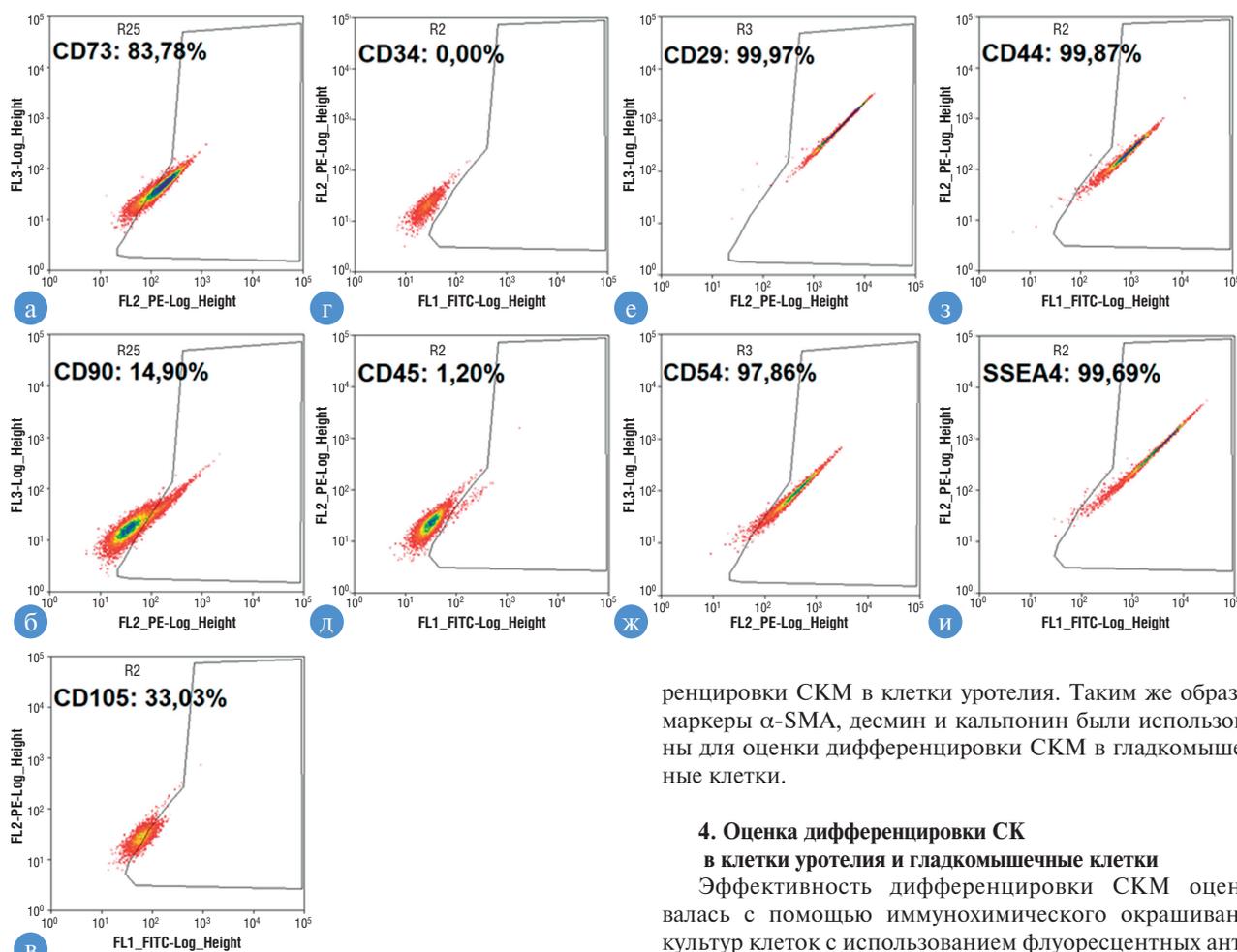
Проточная цитометрия показала, что СКМ экспрессируют классические маркеры мезенхимальных стромальных клеток: CD73 — 79,8% [67,5–99,2], CD90 — 56,6% [10,2–99,6], CD105 — 40,7% [25,7–74,2] (рис. 2, а–в), при этом имеют отрицательную экспрессию маркеров гемопоэтических стловых клеток: CD34 <1,0% и CD45 <2,0% (рис. 2, г, д). Также СКМ обладают высокой экспрессией маркера плюрипотентных стволовых клеток: SSEA4 >99,0% и высокой экспрессией других маркеров, ассоциированных с тканеспецифичными стволовыми клетками: CD29 >99,0%, CD44 >99,0%, CD54 — 97,7% [95,5–99,0] (рис. 2, е–и). Результаты экспрессии маркеров согласуются с данными, представленными ранее, и подтверждают, что полученные клетки соответствуют СКМ.

#### 3. Фенотип клеток уротелия и гладкомышечных клеток мочевого пузыря в культуре

Для определения характеристик клеток уротелия и гладкомышечных клеток мочевого пузыря было проведено иммуноцитохимическое окрашивание клеток уротелия и гладкомышечных клеток в культуре на различные внутриклеточные маркеры. Для клеток уротелия в куль-



**Рис. 1.** Схема выделения стволовых клеток из мочи (а); рост клона СКМ в культуре (б): световая микроскопия  
*Примечание.* СКМ — стволовые клетки из мочи.



**Рис. 2.** Проточная цитометрия СКМ  
*Примечание.* СКМ — стволовые клетки из мочи.

туре была показана высокая экспрессия СК АЕ1/АЕ3, СК 7, СК 13 и низкая экспрессия СК 20 (рис. 3). Для гладкомышечных клеток была показана высокая экспрессия  $\alpha$ -SMA, десмина и кальпонины (рис. 4). В соответствии с результатами окрашивания маркеры СК АЕ1/АЕ3, СК 7 и СК 13 были выбраны как характеризующие для клеток уротелия в культуре и использованы для оценки диффе-

ренцировки СКМ в клетки уротелия. Таким же образом маркеры  $\alpha$ -SMA, десмин и кальпонин были использованы для оценки дифференцировки СКМ в гладкомышечные клетки.

**4. Оценка дифференцировки СК**

**в клетки уротелия и гладкомышечные клетки**

Эффективность дифференцировки СКМ оценивалась с помощью иммунохимического окрашивания культур клеток с использованием флуоресцентных антител против специфических маркеров, характерных для клеток уротелия и гладкомышечных клеток. Интенсивность флуоресценции имеет прямую корреляцию с количеством соответствующего маркера в клетке, поэтому при одинаковой интенсивности испускаемого лазера и времени экспозиции интенсивность флуоресценции, измеренная с помощью анализа изображений, позволяет оценить относительное количество маркера в клетках. Интенсивность флуоресценции для каждого маркера в культуре СКМ оценивалась в период до и после дифференцировки и сравнивалась с положительным кон-

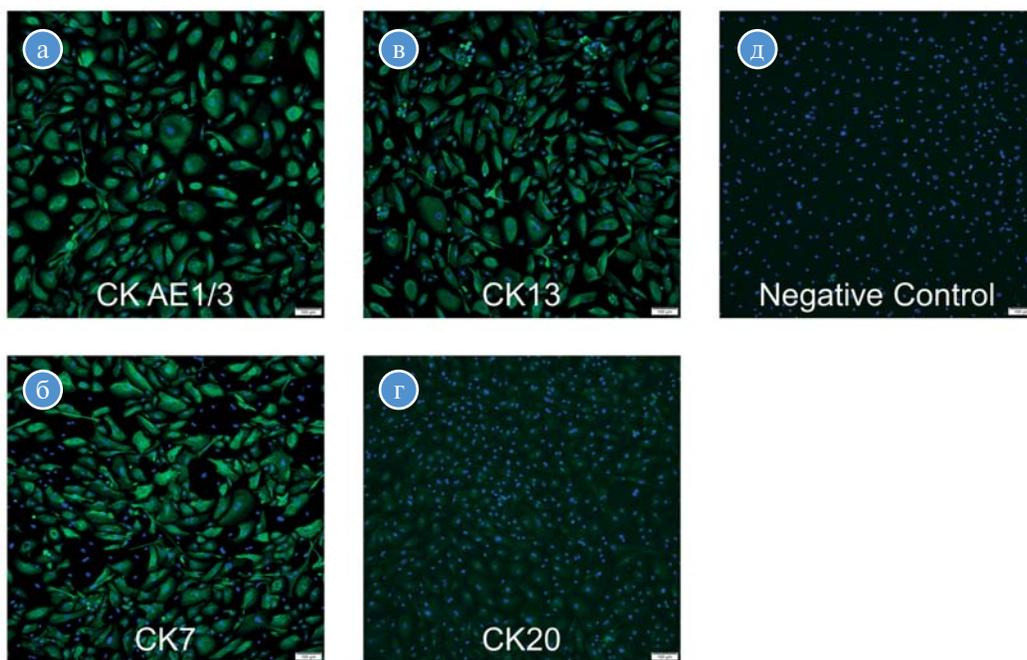


Рис. 3. Экспрессия цитокератинов клетками уротелия в культуре (флуоресцентная микроскопия): СК AE1/AE3 (а); СК 7 (б); СК 13 (в); СК 20 (г); отрицательный контроль — покраска клеток без первичных антител (д). Синий — DAPI.

180

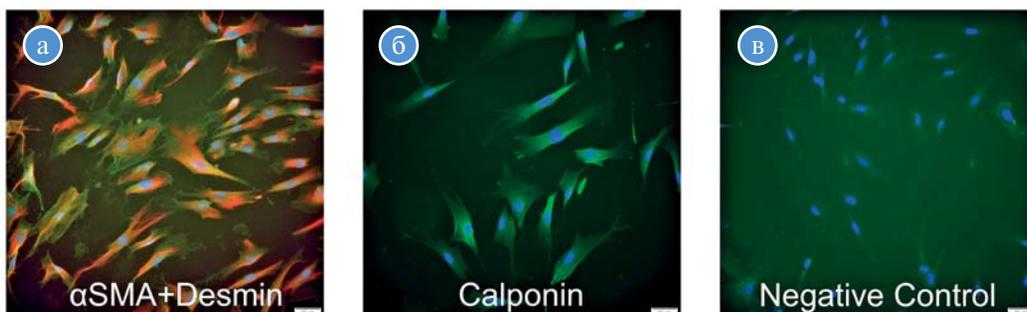


Рис. 4. Экспрессия филаментов гладкомышечными клетками в культуре (флуоресцентная микроскопия): αSMA (зеленый), десмин (красный) (а); кальпонины (б); отрицательный контроль — покраска клеток без первичных антител (в). Синий — DAPI.

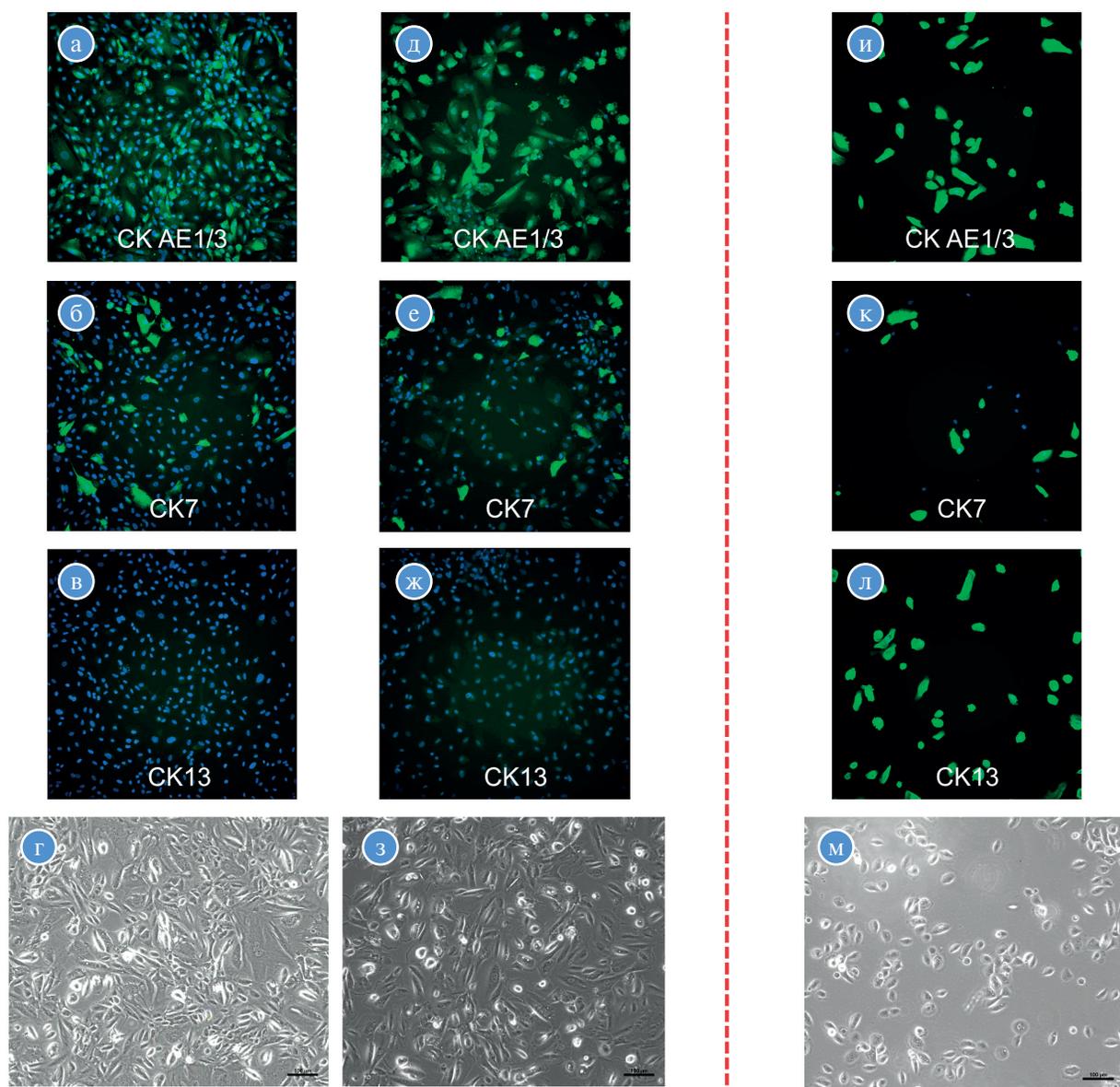
тролем. Для маркера гладкомышечных клеток десмина количественного анализа изображений не проводилось, так как его внутриклеточная локализация крайне неоднородна (см. рис. 4, а). После содержания СКМ в среде для уротелиальной дифференцировки на протяжении 10 дней интенсивность флуоресценции изменилась на 24,9% [-14,6–66,7] ( $p=0,2598$ ) для СК AE1/AE3 и 7,6% [-28,9–24,6] ( $p=0,9512$ ) для СК 7. К концу дифференци-

ровки интенсивность флуоресценции для СК AE1/AE3 и СК 7 составила 11,0% [8,1–22,8] и 8,6% [4,3–33,3] от положительного контроля соответственно. Для СК 13 интенсивность флуоресценции СКМ как до, так и после дифференцировки не отличалась от отрицательного контроля, в то время как для клеток уротелия интенсивность флуоресценции для СК 13 была значительной (табл., рис. 5).

Таблица. Относительные значения экспрессии маркеров до и после дифференцировки

Маркер дифференцировки	Относительный уровень экспрессии маркеров		Относительное изменение экспрессии маркера после дифференцировки Me [мин.–макс.]*
	До дифференцировки Me [мин.–макс.]	После дифференцировки Me [мин.–макс.]	
<i>Маркеры клеток уротелия</i>			
СК AE1/AE3	0,104 [0,071–0,137]	0,11 [0,081–0,228]	0,249 [-0,146–0,667] $p=0,2598$
СК 7	0,080 [0,060–0,267]	0,086 [0,043–0,333]	0,076 [-0,289–0,246] $p=0,9512$
СК 13	0,007 [0,004–0,015]	0,007 [-0,006–0,032]	-
<i>Маркеры гладкомышечных клеток</i>			
α-SMA	0,468 [0,277–0,659]	0,790 [0,570–0,867]	0,796 [0,213–1,192] $p=0,0115$
Кальпонин	0,376 [0,212–0,554]	0,668 [0,518–1,311]	0,976 [-0,064–2,488] $p=0,0379$

Примечание. \* — для СК 13 относительное значение экспрессии до и после дифференцировки для стволовых клеток из мочи было на уровне отрицательного контроля, поэтому относительное изменение экспрессии не подсчитано.



**Рис. 5.** а–в: экспрессия цитокератинов в СКМ до дифференцировки (флуоресцентная микроскопия, синий — DAPI); д–ж: экспрессия цитокератинов в СКМ после дифференцировки в клетки уротелия (флуоресцентная микроскопия, синий — DAPI); г: световая микроскопия культуры СКМ до дифференцировки; з: световая микроскопия культуры СКМ после уротелиальной дифференцировки; и–л: экспрессия цитокератинов клетками уротелия в культуре (флуоресцентная микроскопия, синий — DAPI); м: световая микроскопия культуры клеток уротелия; н: относительный уровень экспрессии цитокератинов в различных клонах СКМ до дифференцировки; о: относительный уровень экспрессии цитокератинов в различных клонах СКМ после уротелиальной дифференцировки; п: относительное изменение уровня экспрессии цитокератинов после уротелиальной дифференцировки.

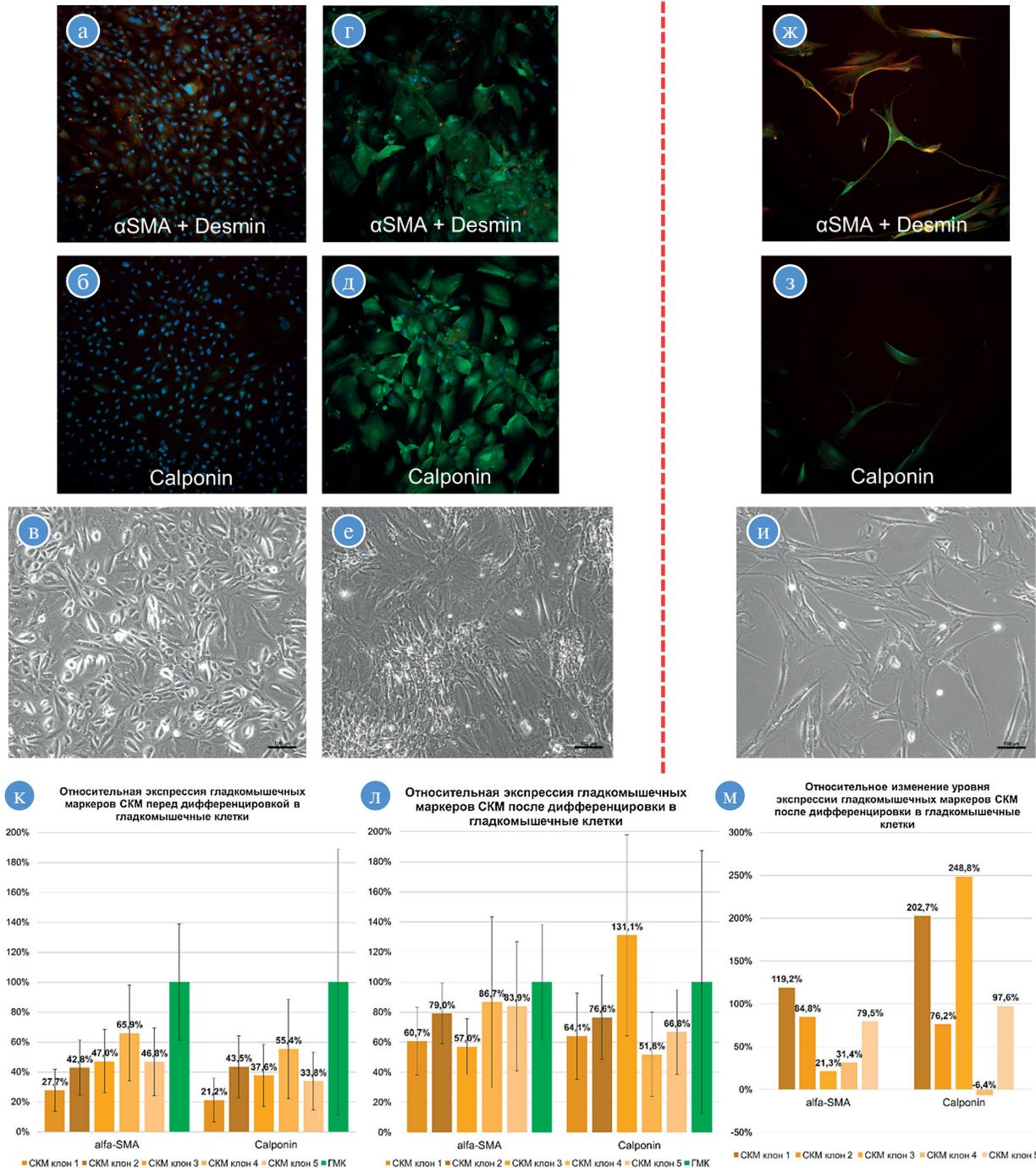
*Примечание.* СКМ — стволовые клетки из мочи.

После дифференцировки СКМ в гладкомышечные клетки на протяжении 10 дней интенсивность флуоресценции изменилась на 79,6% [21,3–119,2] ( $p=0,0115$ ) для  $\alpha$ SMA и 97,6% [-6,4–248,8] ( $p=0,03794$ ) для кальпонина. К концу дифференцировки интенсивность флуоресценции для  $\alpha$ SMA составила 79,0% [57,0–86,7], а для кальпонина — 66,8% [51,8–131,1] от интенсивности флуоресценции в культуре гладкомышечных клеток мочевого пузыря (см. табл., рис. 6).

**Обсуждение**

**Резюме основного результата исследования**

Содержание СКМ в среде с высокой концентрацией EGF в течение 10 дней не приводило к значимому повышению экспрессии маркеров клеток уротелия СКМ: 24,9% ( $p=0,2598$ ) и 7,6% ( $p=0,9512$ ) для СК AE1/AE3 и СК 7 соответственно. Содержание СКМ в среде с TGF- $\beta$ 1 и PDGF-BB приводило к увеличению экспрессии СКМ



**Рис. 6.** а, б: экспрессия миофиламентов в СКМ до дифференцировки (флуоресцентная микроскопия, синий — DAPI); г, д: экспрессия миофиламентов в СКМ после дифференцировки в гладкомышечные клетки (флуоресцентная микроскопия, синий — DAPI); в: световая микроскопия культуры СКМ до дифференцировки; е: световая микроскопия культуры СКМ после дифференцировки в гладкомышечные клетки; ж, з: экспрессия миофиламентов гладкомышечными клетками в культуре (флуоресцентная микроскопия, синий — DAPI); и: световая микроскопия культуры гладкомышечных клеток; к: относительный уровень экспрессии миофиламентов в различных клонах СКМ до дифференцировки; л: относительный уровень экспрессии миофиламентов в различных клонах СКМ после гладкомышечной дифференцировки; м: относительное изменение уровня экспрессии миофиламентов после гладкомышечной дифференцировки.

маркеров гладкомышечных клеток: 79,6% ( $p=0,0115$ ) и 97,6% ( $p=0,0379$ ) относительно исходного уровня для  $\alpha$ SMA и кальпонины соответственно.

### Обсуждение основного результата исследования

Стволовые клетки, выделяемые из мочи, являются клетками с высоким пролиферативным потенциалом. СКМ экспрессируют на своей поверхности маркеры мезенхимальных стромальных клеток CD73, CD90, CD105, однако эта экспрессия у СКМ в целом ниже, чем у мезенхимальных стромальных клеток. В отличие от мезенхимальных стромальных клеток, СКМ имеют эпителиальный фенотип. Кроме показанной в данной работе экспрессии СК AE1/AE3 и СК 7, мы выявили положительную окраску СКМ на протеин плотных контактов ZO-1 в культуре при достижении конfluence.

В данной работе мы определили набор внутриклеточных элементов цитоскелета как свойства, характеризующие клетки уротелия и гладкомышечные клетки. Цитокератины — это жесткие промежуточные филаменты, характерные для эпителиальных клеток, обеспечивающие механическую прочность и поддержание формы эпителиальных клеток. Мы использовали антитела к панцитокератину (СК AE1/AE3), которые распознают консервативный домен, присутствующий у множества видов цитокератинов, для оценки общего уровня экспрессии СК в клетке, а также антитела против СК 7 и СК 13 для оценки экспрессии цитокератинов, характерных для клеток уротелия. В свою очередь, для гладкомышечных клеток характеризующими элементами цитоскелета были выбраны структурные составляющие гладкомышечных филаментов —  $\alpha$ SMA, десмин, кальпонин.

Несмотря на то, что цитоскелет СКМ имеет в своем составе цитокератины, на основании полученных нами данных, уровень экспрессии цитокератинов в СКМ значительно ниже, чем в клетках уротелия. Кроме того, набор цитокератинов в СКМ различается с набором цитокератинов в клетках уротелия: так, СКМ не экспрессируют СК 13, тогда как в клетках уротелия выявлена высокая экспрессия этого цитокератина. Содержание СКМ в среде с низким содержанием сыворотки и высоким содержанием EGF не показало значительного увеличения содержания цитокератинов в СКМ. Этот факт вместе с тем, что экспрессия СК 13 СКМ в конце периода уротелиальной дифференцировки осталась отрицательной, позволяет нам утверждать, что СКМ не дифференцируются в клетки уротелия в культуре под воздействием высоких концентраций EGF.

В отличие от уротелиальной дифференцировки, СКМ под воздействием факторов роста PDGF-BB и TGF- $\beta$ 1 в течение 10 дней значительно увеличивают экспрессию структурных белков гладкомышечных филаментов  $\alpha$ SMA, десмина и кальпонины. Эти данные подтверждают результаты предыдущих исследований и позволяют предложить СКМ в качестве источника гладкомышечных клеток для тканевой инженерии и регенеративной медицины.

### Ограничения исследования

В данном исследовании были получены достоверные данные увеличения экспрессии маркеров гладкомышечных клеток стволовыми клетками мочи в культуре под воздействием TGF- $\beta$ 1 и PDGF-BB. Между тем остаются открытыми вопросы о сохранности клетками гладкомышечного фенотипа в тканеинженерной конструкции после трансплантации, а также выживаемости клеток. Для проверки этой гипотезы необходимо проведение исследований тканеинженерной конструкции с использованием животных моделей. Хотя нами не были получены данные, что СКМ способны к дифференцировке в клетки уротелия, следует отметить, что мы использовали только один метод по дифференцировке СКМ в клетки уротелия. Данный метод заключается в содержании стволовых клеток в среде с высокой концентрацией EGF — индуктора эпителиальной дифференцировки. Возможно, использование иных факторов приведет к более эффективной дифференцировке СКМ в клетки уротелия. Так, в исследовании по дифференцировке эмбриональных стволовых клеток в клетки уротелия *in vitro* в финальные фазы дифференцировки был использован активатор транскрипционного индуктора экспрессии уроплакинов PPAR $\gamma$  [8].

### Заключение

Стволовые клетки из мочи имеют высокий пролиферативный потенциал, экспрессируют на своей поверхности маркеры мезенхимальных стромальных клеток и имеют эпителиальный фенотип. Эти клетки способны к дифференцировке в гладкомышечные клетки *in vitro* под воздействием TGF- $\beta$ 1 и PDGF-BB, в то время как высокие концентрации EGF не приводят к дифференцировке СКМ в клетки уротелия.

### Дополнительная информация

**Источник финансирования.** Данная работа была выполнена на базе лаборатории Института регенеративной медицины Университета Уэйк Форест (Уинстон-Сейлем, Северная Каролина, США) без привлечения внешних источников финансирования.

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

**Участие авторов:** Васютин И.А., Люндуп А.В., Кузнецов С.Л. — разработка дизайна экспериментов, интерпретация результатов, написание статьи; Люндуп А.В., Кузнецов С.Л. — руководство; Васютин И.А. — проведение экспериментов, обсчет результатов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Lee YJ, Kim SW. Current management of urethral stricture. *Korean J Urol.* 2013;54(9):561–569. doi: 10.4111/kju.2013.54.9.561.2.
2. Atala A, Kasper FK, Mikos AG. Engineering complex tissues. *Sci Transl Med.* 2012;4(160):160rv12. doi: 10.1126/scitranslmed.3004890.3.
3. Vasyutin I, Zerihun L, Ivan C, Atala A. Bladder organoids and spheroids: potential tools for normal and diseased tissue modelling. *Anticancer Res.* 2019;39(3):1105–1118. doi: 10.21873/anticancer.13219.4.
4. Васютин И.А., Люндуп А.В., Винаров А.З., и др. Реконструкция уретры с помощью технологий тканевой инженерии //

- Вестник РАМН.* — 2017. — Т.72. — №1. — С. 17–25. [Vasyutin IA, Lyundup AV, Vinarov AZ, et al. Urethra reconstruction with tissue-engineering technology. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2017;72(1):17–25. (In Russ.)] doi: 10.15690/vramn771.
5. Orabi H, AbouShwareb T, Zhang Y, et al. Cell-seeded tubularized scaffolds for reconstruction of long urethral defects: a preclinical study. *Eur Urol.* 2013;63(3):531–538. doi: 10.1016/j.eururo.2012.07.041.6.
  6. Atala A, Danilevskiy M, Lyundup A, et al. The potential role of tissue-engineered urethral substitution: clinical and preclinical studies. *J Tissue Eng Regen Med.* 2017;11(1):3–19. doi: 10.1002/term.2112.7.
  7. Bhargava S, Patterson JM, Inman RD, et al. Tissue-engineered buccal mucosa urethroplasty-clinical outcomes. *Eur Urol.* 2008;53(6):1263–1269. doi: 10.1016/j.eururo.2008.01.061.8.
  8. Yang B, Zheng JH, Zhang YY. Myogenic differentiation of mesenchymal stem cells for muscle regeneration in urinary tract. *Chin Med J (Engl).* 2013;126(15):2952–2959. doi: 10.5772/55961.
  9. Osborn SL, Thangappan R, Luria A, et al. Induction of human embryonic and induced pluripotent stem cells into urothelium. *Stem Cells Transl Med.* 2014;3(5):610–619. doi: 10.5966/sctm.2013-0131.10.
  10. Wang Z, Wen Y, Li YH, et al. Smooth muscle precursor cells derived from human pluripotent stem cells for treatment of stress urinary incontinence. *Stem Cells Dev.* 2016;25(6):453–461. doi: 10.1089/scd.2015.0343.11.
  11. Kanematsu A, Yamamoto S, Iwai-Kanai E, et al. Induction of smooth muscle cell-like phenotype in marrow-derived cells among regenerating urinary bladder smooth muscle cells. *Am J Pathol.* 2005;166(2):565–573. doi: 10.1016/S0002-9440(10)62278-X.
  12. Zhang Y, McNeill E, Tian H, et al. Urine derived cells are a potential source for urological tissue reconstruction. *J Urol.* 2008;180(5):2226–2233. doi: 10.1016/j.juro.2008.07.023.14.
  13. Bharadwaj S, Liu G, Shi Y, et al. Multipotential differentiation of human urine-derived stem cells: potential for therapeutic applications in urology. *Stem Cells.* 2013;31(9):1840–1856. doi: 10.1002/stem.1424.15.
  14. Shi JG, Fu WJ, Wang XX, et al. Transdifferentiation of human adipose-derived stem cells into urothelial cells: potential for urinary tract tissue engineering. *Cell Tissue Res.* 2012;347(3):737–746. doi: 10.1007/s00441-011-1317-0.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Васютин Игорь Алексеевич**, аспирант [*Igor A. Vasyutin*, MD]; адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2 [address: 8 bld 2, Trubetskaya street, 119991 Moscow, Russia], e-mail: ivasyutin@yahoo.com, SPIN-код: 1872-8347, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0594-7423>

**Людуп Алексей Валерьевич**, к.м.н. [*Aleksey V. Lyundup*, MD, PhD]; e-mail: lyundup@gmail.com, SPIN-код: 4954-3004, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0102-5491>

**Кузнецов Сергей Львович**, д.м.н., профессор, член-корр. РАН [*Sergey L. Kuznetsov*, MD, PhD, Professor]; e-mail: vakmedbiol@rambler.ru, SPIN-код: 3824-2646, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0704-1660>

М.С. Застрожин<sup>1, 2\*</sup>, В.В. Смирнов<sup>3, 4</sup>, А.С. Сорокин<sup>1</sup>,  
Е.А. Гришина<sup>2</sup>, К.А. Рыжикова<sup>2</sup>, В.В. Шипицын<sup>1</sup>, Л.М. Савченко<sup>2</sup>, О.Ж. Бузик<sup>1, 2</sup>,  
С.Г. Копоров<sup>1</sup>, Е.А. Брюн<sup>1, 2</sup>, Д.А. Сычѳв<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Московский научно-практический центр наркологии, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования,  
Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup> Гематологический научный центр «Институт иммунологии», Москва, Российская Федерация

<sup>4</sup> Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет),  
Москва, Российская Федерация

# Влияние полиморфизма CYP2D6\*4 на профиль эффективности и безопасности миртазапина у пациентов с депрессивным расстройством, коморбидным с алкогольной зависимостью

**Обоснование.** Аффективные расстройства, в частности депрессивные расстройства, часто коморбидно сочетаются с алкогольной зависимостью, что негативно сказывается на прогнозе течения обоих заболеваний. Для лечения депрессивного расстройства используют лекарственные средства из группы тетрациклических антидепрессантов, представителем которого является миртазапин. Терапия миртазапином сопряжена с риском развития нежелательных лекарственных реакций и фармакорезистентности. **Цель исследования** — оценить влияние полиморфного маркера CYP2D6\*4 на профиль эффективности и безопасности терапии миртазапином у пациентов с депрессивным расстройством, коморбидным с алкоголизмом. **Методы.** Исследование проведено на 109 русских пациентах с депрессивным расстройством, коморбидным с алкогольной зависимостью. Пациентам с целью коррекции депрессивных расстройств в рамках циклотимии был назначен миртазапин в дозировке 15–45 мг/сут. Генотипирование CYP2D6\*4 (1846G>A, rs3892097) осуществлялось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с аллельспецифической гибридизацией. Эффективность и безопасность оценивали с помощью валидизированных психометрических шкал и шкалы оценки выраженности нежелательных лекарственных реакций. **Результаты.** К 9-му дню исследования выраженность депрессивной симптоматики по шкале HAMD статистически значимо отличалась у пациентов с разными генотипами: (GG) 7,0 [6,0; 8,0], (GA) 4,0 [3,8; 5,0] ( $p<0,001$ ), показатель безопасности, оцененный по шкале UKU: (GG) 3,0 [3,0; 3,0], (GA) 4,0 [4,0; 5,0] ( $p<0,001$ ). Наличие различий сохранялось и на 16-й день: (GG) 5,0 [3,0; 6,0], (GA) 1,5 [0,8; 3,2] ( $p<0,001$ ), показатель безопасности, оцененный по шкале UKU: (GG) 6,0 [6,0; 7,0], (GA) 8,5 [8,0; 10,0] ( $p<0,001$ ). **Заключение.** По результатам исследования было продемонстрировано влияние полиморфного маркера CYP2D6\*4 на профиль эффективности и безопасности терапии миртазапином. Носительство минорного аллеля A сопряжено с повышенным риском развития нежелательных лекарственных реакций, но улучшением показателей профиля эффективности.

**Ключевые слова:** фармакогенетика, миртазапин, персонализированная медицина, CYP2D6.

**(Для цитирования):** Застрожин М.С., Смирнов В.В., Сорокин А.С., Гришина Е.А., Рыжикова К.А., Шипицын В.В., Савченко Л.М., Бузик О.Ж., Копоров С.Г., Брюн Е.А., Сычѳв Д.А. Влияние полиморфизма CYP2D6\*4 на профиль эффективности и безопасности миртазапина у пациентов с депрессивным расстройством, коморбидным с алкогольной зависимостью. *Вестник РАМН.* 2019;74(3):185–191. doi: 10.15690/vramn1075

## Обоснование

На сегодняшний день имеются данные эпидемиологических исследований о том, что алкогольная зависимость часто коморбидно встречается у пациентов с иными психическими заболеваниями [1], что негативно сказывается на прогнозе течения обоих заболеваний и их исходов, проявляясь увеличением риска алкогольного эксцесса и рецидива психического расстройства [2]. Самыми часто встречающимися коморбидными расстройствами у пациентов с алкогольной зависимостью являются расстройства аффективного спектра [3]. Терапия пациентов данной группы остается непростой задачей для врачей психиатров-наркологов.

Миртазапин рекомендуется для лечения пациентов с депрессивным расстройством [4]. При этом исследования показывают, что частота встречаемости случаев

первичной фармакорезистентности пациентов с депрессивным расстройством составляет почти 40% [5].

Ген CYP2D6 обладает выраженным полиморфизмом [6]. Выделяют четыре основные группы носителей различных полиморфизмов в зависимости от уровня активности CYP2D6: нормальные (распространенные), медленные, промежуточные, ультрабыстрые метаболизаторы. К медленным метаболизаторам относят носителей аллельных вариантов \*3, \*4, \*5 и \*6. Быстрые метаболизаторы являются носителями мультимпликаций нормальных генов: (CYP2D6\*1) $\times$ N и (CYP2D6\*2) $\times$ N. Данные о влиянии активности CYP2D6 на показатели индивидуального ответа для некоторых антидепрессантов уже имеются: для пароксетина [7], флуоксетина [7, 8], флувоксамина [9–11], нортриптилина [12], амитриптилина [12].

Замена азотистого основания гуанина на аденин в 1846-й позиции CYP2D6 (CYP2D6\*4, CYP2D6 1846G>T,

rs3892097) приводит к нарушению процесса сплайсинга и снижению активности *CYP2D6*, что в свою очередь обуславливает замедление скорости элиминации ксенобиотиков-субстратов *CYP2D6* из организма [1]. Таким образом, у пациентов, являющихся носителями мутантного аллеля А, будет наблюдаться замедление биотрансформации и элиминации мirtазапина [13].

Несмотря на относительно частое применение мirtазапина врачами, в настоящее время отсутствуют данные о связи полиморфного маркера с эффективностью и безопасностью мirtазапина в популяции русских пациентов. Актуальности теме добавляет проведение данного исследования на пациентах с алкоголизмом, так как частота встречаемости депрессивных расстройств у пациентов указанной категории намного выше, чем в общей популяции: по данным сравнительного исследования L. Boschloo и соавт. [3], количество пациентов с тревогой и депрессией в группе больных алкогольной зависимостью составляет 20,3%, в то время как при отсутствии патологической зависимости — лишь 5,5%. При этом наличие зависимости от алкоголя может негативно сказываться на течении депрессивного расстройства, и наоборот, депрессивное расстройство может усугублять течение заболевания [2]. Помимо этого, у большинства пациентов с алкогольной зависимостью имеется в той или иной степени выраженный алкогольный гепатит или иная патология печени, что теоретически может оказывать влияние на метаболизм ксенобиотиков. Данные факты свидетельствуют об актуальности проведения исследования среди представителей русской популяции ввиду особенностей генетического

профиля, связанных с уникальным распределением частоты встречаемости отдельных полиморфизмов.

Основной целью исследования было изучить влияние полиморфного маркера *CYP2D6*\*4 на профиль эффективности и безопасности мirtазапина у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкоголизмом.

## Методы

### Дизайн исследования

Выполнено обсервационное многоцентровое проспективное неконтролируемое исследование.

### Критерии соответствия

#### Критерии включения:

- диагноз «Депрессивное расстройство (F.32)» и коморбидное расстройство «Психические и поведенческие расстройства, вызванные употреблением алкоголя; синдром зависимости средней стадии неосложненный; воздержание в условиях, ограничивающих потребление алкоголя (F.10.212)»;
- терапия, содержащая мirtазапин в таблетированной форме в дозировке 30 [15; 45] мг/сут длительностью 16 дней;
- наличие подписанного информированного согласия.

#### Критерии невключения:

- использование в качестве терапии иных психотропных препаратов, помимо мirtазапина (за исключением

M.S. Zastrozhin<sup>1, 2\*</sup>, V.V. Smirnov<sup>3, 4</sup>, A.S. Sorokin<sup>1</sup>, E.A. Grishina<sup>2</sup>, K.A. Ryzhikova<sup>2</sup>, V.V. Shipitsyn<sup>1</sup>, L.M. Savchenko<sup>2</sup>, O.Zh. Buzik<sup>1, 2</sup>, S.G. Koporov<sup>1</sup>, E.A. Bryun<sup>1, 2</sup>, D.A. Sychev<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Moscow Research and Practical Centre for Narcology of the Department of Public Health, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> National Research Center- Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russian Federation

<sup>4</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

## The Effect of *Cyp2d6* Gene Polymorphism on the Efficacy and Safety of Mirtazapine in Patients with Depressive Disorders Comorbid with Alcohol

**Background:** Alcohol dependence is often combined with affective disorders, in particular, depressive disorder, which adversely affects the prognosis of the course of both diseases. For the treatment of a depressive disorder, drugs from the group of tetracyclic antidepressants, of which mirtazapine is a representative, are used. Therapy with mirtazapine is associated with the risk of undesirable drug reactions and pharmacoresistance. **Aim:** To study the effect of *CYP2D6* isoenzyme activity on the efficacy and safety of mirtazapine therapy in patients with depressive disorders comorbid with alcoholism. **Methods:** The study was conducted on 109 Russian patients with a depressive disorder, comorbid with alcohol dependence. For the correction of depressive disorders within the framework of cyclothymia, mirtazapine was prescribed to patients at a dosage of 15–45 mg/day. *CYP2D6*\*4 genotyping (1846G>A, rs3892097) was carried out using Real-time polymerase chain reaction with allele-specific hybridization. Efficacy and safety were assessed using validated psychometric scales and an assessment of the severity of adverse drug reactions. **Results:** By the 9th day of the study, the severity of depressive symptoms on the HAM-D scale was significantly different in patients with different genotypes: (GG) 7.0 [6.0; 8.0], (GA) 4.0 [3.8; 5.0] ( $p<0.001$ ), safety indicator, estimated on a UKU scale: (GG) 3.0 [3.0; 3.0], (GA) 4.0 [4.0; 5.0] ( $p<0.001$ ). The presence of differences persisted on the 16th day: (GG) 5.0 [3.0; 6.0], (GA) 1.5 [0.8; 3.2] ( $p<0.001$ ), safety indicator, estimated on a UKU scale: (GG) 6.0 [6.0; 7.0], (GA) 8.5 [8.0; 10.0] ( $p<0.001$ ). **Conclusion:** In this study, the effect of *CYP2D6* gene polymorphism on the efficacy and safety of therapy with mirtazapine was demonstrated. Carrying a minor allele A is associated with an increased risk of adverse drug reactions, but improving performance profile performance.

**Keywords:** pharmacogenetics, mirtazapine, personalized medicine, *CYP2D6*.

**(For citation):** Zastrozhin MS, Smirnov VV, Sorokin AS, Grishina EA, Ryzhikova KA, Shipitsyn VV, Savchenko LM, Buzik OZh, Koporov SG, Bryun EA, Sychev DA. The effect of *CYP2D6* gene polymorphism on the efficacy and safety of mirtazapine in patients with depressive disorders comorbid with alcohol. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2019;74(3):185–191. doi: 10.15690/vramn1075)

получаемого в период лечения синдрома отмены алкоголя бромдигидрохлорфенилбензодиазепаина);

- наличие иных психических расстройств;
- масса тела <60 или >100 кг с целью исключения пациентов с крайними значениями показателя объема распределения;
- клиренс креатинина <50 мл/мин, концентрация креатинина в плазме крови >1,5 мг/дл (133 мкмоль/л);
- наличие противопоказаний к применению мirtазапина.

Феназепам (бромдигидрохлорфенилбензодиазепин) назначался всем пациентам в течение 5 дней, предшествующих терапии мirtазапином (в период терапии синдрома отмены алкоголя), в дозе 4,0 [2,0; 6,0] мг/сут.

### Условия проведения

Исследование проводилось на базе круглосуточных стационаров ГБУЗ «МНПЦ наркологии» ДЗМ, включая два клинических филиала.

### Продолжительность исследования

Исследование проводилось с октября 2016 по октябрь 2017 г. В исследование включали всех пациентов, которые в этот период соответствовали критериям включения/исключения.

Исследование проводилось в течение 16 дней. Промежуточный контроль осуществлялся на 9-й день исследования.

### Описание медицинского вмешательства

Пациенты с целью терапии депрессивной симптоматики в течение 16 сут получали терапию мirtазапином в таблетированной форме в дозе 15–45 мг/сут. В первые сутки пациентов обследовали с помощью психометрических шкал и шкалы оценки выраженности нежелательных лекарственных реакций (НЛР), брали анализ мочи. На 9-й и 16-й дни пациенты повторно проходили опрос с помощью указанных шкал. На 16-й день пациенты сдавали мочу и кровь.

### Исходы исследования

#### Основной исход исследования

Безопасность терапии мirtазапином, оцененная с помощью шкалы оценки выраженности НЛР (Udvalg for kliniske undersogelser side-effect rating scale, UKU).

#### Дополнительные исходы исследования

Эффективность терапии мirtазапином, оцененная с помощью психометрических шкал.

### Анализ в подгруппах

Подгруппы сформированы в соответствии с генетическим полиморфизмом *CYP2D6*: пациенты с генотипами GG, GA и AA.

### Методы регистрации исходов

Для оценки эффективности мirtазапина применяли международные психометрические шкалы: Пенсильванскую шкалу патологического влечения (Penn alcohol craving scale, PACS) [14], Шкалу общего клинического впечатления (Clinical global impression scale, CGI) [15], Госпитальную шкалу тревоги и депрессии (Hospital anxiety and depression scale, HADS) [16], Шкалу депрессии Гамильтона (Hamilton rating scale for depression, HAM-D) [17], визуально-аналоговую шкалу оценки влечения к алкоголю (ВАШ). Профиль безопасности исследовали

с помощью шкал оценки побочного действия (UKU) [18]. Исследование пациентов с помощью данных шкал проводили на 1-й, 9-й и 16-й дни терапии ввиду того, что редукция депрессивной симптоматики при применении антидепрессантов у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью, развивается быстрее, чем у пациентов с люцидной депрессией.

Генотипирование проводили с использованием венозной крови, собранной на 16-й день от начала проведения исследования. Кровь собиралась в пробирки фирмы VACUETTE (Greiner Bio-One, Австрия). Для изучения однонуклеотидного генетического полиморфизма *CYP2D6*\*4 (1846G>A, rs3892097) применяли метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (real-time PCR). Использовали амплификаторы Dtlite (ДНК-Технология, Россия) и CFX96 Touch Real Time System с ПО CFX Manager (BioRad, США), а также наборы SNP-Скрин (ЗАО «Синтол», Россия). Методика была отработана в наших более ранних исследованиях [19, 20].

### Этическая экспертиза

Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования Минздрава России (Протокол № 6 от 16.05.2017).

### Статистический анализ

#### Принципы расчета размера выборки

Расчет размера выборки производился с использованием пакета *rwr* на основе данных, полученных в ранее проведенном исследовании с участием 45 пациентов, получавших флувоксамин [9].

#### Методы статистического анализа данных

Статистический анализ данных осуществлялся с использованием языка программирования R [версии MRAN 3.3.2 (2016-10-31)] с установленным пакетом *checkpoint* с целью контроля версий используемых пакетов. Для программирования использовали RStudio версии 1.0.136. При выборе метода учитывали нормальность распределения данных в выборках, оценку которой осуществляли с помощью W-теста Шапиро–Уилка. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$  (при мощности более 80%). Выборки непрерывных независимых данных сравнивали с помощью U-теста Манна–Уитни с последующей поправкой на множественное сравнение (тест Бенджамин–Хохберга). Данные в работе представлялись в виде медианы и интерквартильного интервала (Me [Q1; Q3]) либо среднего арифметического и стандартного отклонения (Mean±SD) в случае нормального характера их распределения. Сравнение частоты осуществляли с помощью теста  $\chi^2$  Пирсона.

## Результаты

### Объекты (участники) исследования

В исследование включено 109 пациентов мужского пола (средний возраст  $36,22 \pm 8,34$  года). Клинико-демографические характеристики включенных пациентов представлены в табл. 1. Отсутствие статистически значимых различий по изучаемым показателям подтверждает репрезентативность сравниваемых выборок пациентов.

**Таблица 1.** Клинико-демографическая характеристика испытуемых пациентов

Шкала	GG, n=81	GA, n=28	p*
Возраст, лет	36,4±9,8	35,7±8,9	>0,05
Масса, кг	84,8±17,7	86,5±20,38	>0,05
Рост, см	178,9±19,2	175,4±18,62	>0,05
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	27,6±3,4	27,8±3,8	>0,05
Доза миртазапина, мг/сут	30,5±14,5	30,5±14,6	>0,05
Алкогольный стеатогепатит, n (%)	79 (97,53)	26 (92,86)	>0,05
Токсическая энцефалопатия, n (%)	74 (91,36)	26 (92,86)	>0,05
Токсическая полинейропатия верхних конечностей, n (%)	21 (25,93)	6 (21,43)	>0,05
Токсическая полинейропатия нижних конечностей, n (%)	6 (7,41)	3 (10,71)	>0,05
Вирусный гепатит С, n (%)	4 (4,94)	2 (7,14)	>0,05
Язвенная болезнь желудка, n (%)	8 (9,88)	3 (10,71)	>0,05
Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, n (%)	0 (0,00)	1 (3,57)	>0,05
Артериальная гипертензия, n (%)	15 (18,52)	7 (25,00)	>0,05
Активное курение, n (%)	76 (93,83)	27 (96,43)	>0,05

*Примечание.* \*p — p-value по результатам теста Бенджамина–Хохберга (на основе результатов U-теста Манна–Уитни), PACS — Пенсильванская шкала патологического влечения, VAS — Визуальная аналоговая шкала оценки влечения к алкоголю, CGI — Шкала общего клинического впечатления, HADS — Госпитальная шкала тревоги и депрессии, HAM-D — Шкала депрессии Гамильтона, UKU — Шкала оценки выраженности нежелательных реакций.

**Основные результаты исследования**

По результатам проведенного генотипирования по полиморфному маркеру 1846G>A (rs3892097) гена *CYP2D6* были получены следующие данные:

- пациенты, являющиеся носителями генотипа GG, — 81 (74,3%);
- пациенты, являющиеся носителями генотипа GA, — 28 (25,7%);
- пациентов с генотипом AA не обнаружено.

Распределение подчинялось закону Харди–Вайнберга ( $\chi^2$  Пирсона = 2,37, p=0,12).

Результаты анализа данных психометрических шкал и шкалы оценки выраженности нежелательных лекарственных реакций для пациентов, получавших миртазапин, представлены в табл. 2–4.

На рис. 1 представлено графическое отображение изменения суммарного балла по шкале депрессии Гамильтона (HAM-D) у пациентов с разными генотипами. Как видно, на момент начала исследования сравниваемые группы были сопоставимы по изучаемому показателю: (GG) 13,0 [12,0; 14,0], (GA) 13,0 [12,0; 13,0], p=0,194. К 9-му дню исследования выраженность депрессивной симптоматики по шкале HAM-D статистически значимо отличалась у пациентов с разными генотипами: (GG) 7,0 [6,0; 8,0], (GA) 4,0 [3,8; 5,0], p<0,001. Наличие различий сохранялось и на 16-й день: (GG) 5,0 [3,0; 6,0], (GA) 1,5 [0,8; 3,2], p<0,001. По другим психометрическим шкалам

также наблюдалось наличие статистически значимой разницы у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру 1846G>A гена *CYP2D6* (rs3892097) на 9-й и 16-й дни исследования.

Сравнение баллов по шкале выраженности нежелательных лекарственных реакций UKU у пациентов с разными генотипами представлено на рис. 2. На момент начала исследования сравниваемые группы были сопоставимы по данному показателю: (GG) 1,0 [1,0; 1,0], (GA) 1,0 [1,0; 2,0], p=0,774. К 9-му дню исследования выраженность НЛР по шкале UKU статистически значимо различалась в группах пациентов с разными генотипами: (GG) 3,0 [3,0; 3,0], (GA) 4,0 [4,0; 5,0], p<0,001. Разница нарастала на 16-й день терапии: (GG) 6,0 [6,0; 7,0], (GA) 8,5 [8,0; 10,0], p<0,001.

**Таблица 2.** Данные психометрических шкал и шкалы оценки выраженности нежелательных лекарственных реакций у пациентов, получавших миртазапин (баллы), на 1-й день исследования

Шкала	GG, n=81	GA, n=28	p*
PACS	7,0 [6,0; 7,0]	6,0 [6,0; 7,0]	0,600
ВАШ	30,0 [27,0; 32,0]	30,5 [29,0; 32,0]	0,373
CGI	3,0 [3,0; 3,0]	3,0 [3,0; 3,0]	0,610
HADS	22,0 [21,0; 24,0]	22,0 [20,0; 23,2]	0,341
HAMD	13,0 [12,0; 14,0]	13,0 [12,0; 13,0]	0,194
UKU	1,0 [1,0; 1,0]	1,0 [1,0; 2,0]	0,774

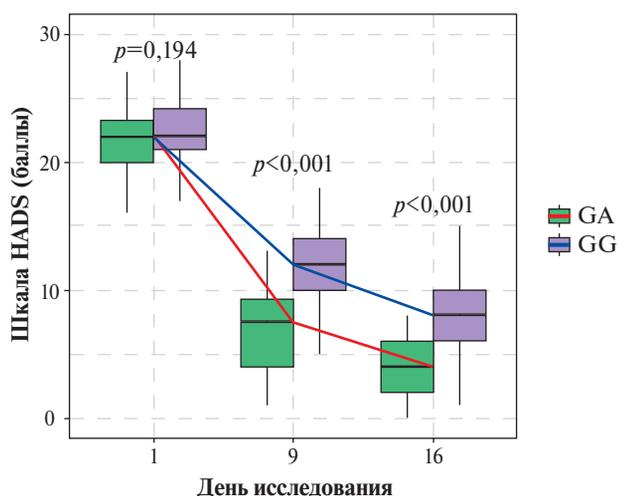
*Примечание.* Здесь и в табл. 3, 4: p — p-value по результатам теста Бенджамина–Хохберга (на основе результатов U-теста Манна–Уитни), PACS — Пенсильванская шкала патологического влечения, VAS — Визуальная аналоговая шкала оценки влечения к алкоголю, CGI — Шкала общего клинического впечатления, HADS — Госпитальная шкала тревоги и депрессии, HAM-D — Шкала депрессии Гамильтона, UKU — Шкала оценки выраженности нежелательных реакций.

**Таблица 3.** Данные психометрических шкал и шкалы оценки выраженности нежелательных лекарственных реакций у пациентов, получавших миртазапин (баллы), на 9-й день исследования

Шкала	GG, n=81	GA, n=28	p*
PACS	4,0 [3,0; 4,0]	2,0 [2,0; 2,0]	<0,001
ВАШ	17,0 [14,0; 18,0]	11,0 [9,8; 12,0]	<0,001
CGI	2,0 [2,0; 2,0]	1,0 [1,0; 1,0]	<0,001
HADS	12,0 [10,0; 14,0]	7,5 [4,0; 9,2]	<0,001
HAMD	7,0 [6,0; 8,0]	4,0 [3,8; 5,0]	<0,001
UKU	3,0 [3,0; 3,0]	4,0 [4,0; 5,0]	<0,001

**Таблица 4.** Данные психометрических шкал и шкалы оценки выраженности нежелательных лекарственных реакций у пациентов, получавших миртазапин (баллы), на 16-й день исследования

Шкала	GG, n=81	GA, n=28	p*
PACS	2,0 [2,0; 3,0]	1,0 [1,0; 2,0]	<0,001
ВАШ	11,0 [9,0; 13,0]	4,5 [2,0; 6,5]	<0,001
CGI	1,0 [1,0; 1,0]	0,0 [0,0; 1,0]	<0,001
HADS	8,0 [6,0; 10,0]	4,0 [2,0; 6,0]	<0,001
HAMD	5,0 [3,0; 6,0]	1,5 [0,8; 3,2]	<0,001
UKU	6,0 [6,0; 7,0]	8,5 [8,0; 10,0]	<0,001



**Рис. 1.** Динамика симптоматики по шкале депрессии Гамильтона (HAMD) у пациентов с разными генотипами

*Примечание.* Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (цветные линии соединяют медианы в разные дни исследования).

### Нежелательные явления

Было зарегистрировано развитие следующих нежелательных явлений: седативный эффект, сонливость, заторможенность, головные боли, эмоциональная лабильность, жажда, боли в животе.

### Обсуждение

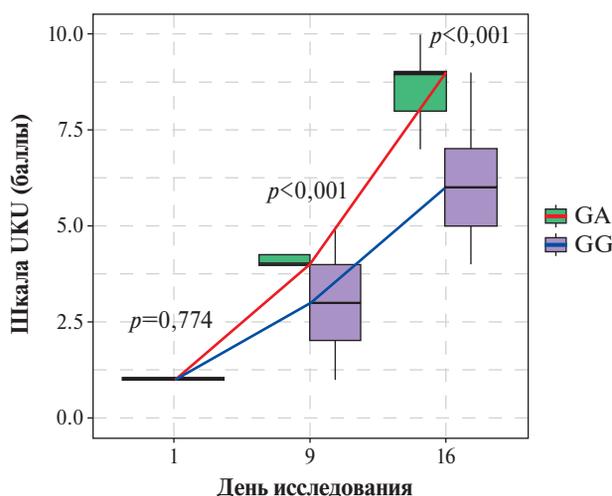
#### Резюме основного результата исследования

В ходе исследования статистически показано, что профиль эффективности и безопасности миртазапина у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью, различался у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру 1846G>A (rs3892097) гена *CYP2D6*. У пациентов-носителей генотипов GA отмечалось более быстрое нарастание баллов по шкале UKU: это свидетельствует о том, что у пациентов, носителей минорного аллеля A, терапия миртазапином сопряжена с развитием более выраженных нежелательных реакций, чем у носителей аллеля A. При этом эффективность терапии миртазапином, оцененная с помощью психометрических шкал, была более выражена у пациентов с генотипом GA в сравнении с пациентами, имеющими генотип GG.

#### Обсуждение основного результата исследования

Результаты нашей работы совпадают с данными метаанализа, опубликованного Каролинским фармакогенетическим консорциумом: исследования, вошедшие в него, были проведены с участием европейских пациентов с рекуррентным депрессивным расстройством [7].

Анализируя показатель безопасности миртазапина, можно предположить, что у пациентов, являющихся носителями минорного аллеля A, повышается риск развития нежелательных реакций. Вероятнее всего, это может быть связано с замедлением активности изофермента *CYP2D6*, что способствует замедлению биотрансформации и элиминации миртазапина из организма, нарастанию его



**Рис. 2.** Динамика симптоматики по шкале выраженности нежелательных лекарственных реакций (UKU) у пациентов с разными генотипами

*Примечание.* Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (цветные линии соединяют медианы в разные дни исследования).

плазменной концентрации, что в свою очередь приводит к тому, что до рецепторов-мишеней может дойти больше активного лекарства, а это может повысить риск развития нежелательных лекарственных реакций. Аналогичным механизмом можно объяснить и более выраженный эффект терапии миртазапином пациентов с депрессивными расстройствами.

В дальнейшем, когда будут получены результаты фармакометаболического исследования (оценка активности изоферментов с помощью метаболических отношений концентраций субстратов и метаболитов), фармакокинетического исследования (плазменные уровни равновесных концентраций миртазапина, полученные с помощью терапевтического лекарственного мониторинга), а также данные фармакотранскриптомного исследования (уровни равновесных концентрация микро-РНК, с помощью которых возможно произвести оценку активности *CYP2D6*), мы планируем улучшить доказательную базу данного исследования.

#### Ограничения исследования

Основными ограничениями исследования являются небольшой объем выборки, малая продолжительность лечения миртазапином, которая не позволяет в полной мере оценить эффективность и безопасность препарата. Дополнительным ограничением является отсутствие результатов терапевтического лекарственного мониторинга, что позволяет лишь предполагать изменение скорости метаболизма миртазапина путем оценки эффективности и безопасности терапии.

### Заключение

В исследовании пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью, было изучено влияние полиморфизма *CYP2D6* на показатель эффективности и безопасности терапии миртазапином. По результатам показано существование разницы в показателях эффективности и безопасности у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру *CYP2D6*

1846G>A. Проанализировав полученные данные и на основании имеющихся результатов других исследований, мы предположили, что носительство аллеля А пациентами в положении 1846G>A гена *CYP2D6* может приводить к замедлению скорости элиминации миртазапина, что клинически может выражаться повышенным риском развития нежелательных лекарственных реакций, но в то же время и более выраженным эффектом препарата.

### Дополнительная информация

**Источник финансирования.** Исследование выполнено за при поддержке Российского научного фонда (грант № 18-75-10073).

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

**Участие авторов:** Застрожин М.С. — разработка дизайна исследования, набор участников исследования, взятие биоматериала, проведение генотипирования, статистическая обработка данных, написание статьи; Смирнов В.В. — проведение фенотипирования, проверка и редактирование текста статьи; Сорокин А.С., Рыжико-

ва К.А. — проведение генотипирования, проверка и редактирование текста статьи; Гришина Е.А. — разработка дизайна лабораторной части исследования, проведение генотипирования, проверка и редактирование текста статьи; Шипицын В.В., Бузик О.Ж. — участие в наборе участников исследования, проверка и редактирование текста статьи; Савченко Л.М. — разработка дизайна клинической части исследования, проверка и редактирование текста статьи; Копоров С.Г. — разработка дизайна исследования, помощь в решении административных и этических вопросов, проверка и редактирование текста статьи; Брюн Е.А. — разработка дизайна исследования, проверка и редактирование текста статьи; Сычѳв Д.А. — идея проведения исследования, разработка дизайна исследования, проверка и редактирование текста статьи. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию текста перед публикацией.

**Благодарности.** Авторы выражают глубокую благодарность всем врачам и заведующим Московского научно-практического центра наркологии Департамента здравоохранения города Москвы за неоценимую помощь в проведении данного исследования, а также сотрудникам и администрации учреждений, на базе которых проводились лабораторные исследования.

190

### ЛИТЕРАТУРА

- Zanger UM, Raimundo S, Eichelbaum M. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol.* 2004;369(1):23–37. doi: 10.1007/s00210-003-0832-2.
- Zarkin GA, Bray JW, Aldridge A, et al. The effect of alcohol treatment on social costs of alcohol dependence: results from the COMBINE study. *Med Care.* 2010;48(5):396–401. doi: 10.1097/MLR.0b013e3181d68859.
- Boschloo L, Vogelzangs N, Smit JH, et al. Comorbidity and risk indicators for alcohol use disorders among persons with anxiety and/or depressive disorders: findings from the Netherlands study of depression and anxiety (NESDA). *J Affect Disord.* 2011;131(1–3):233–242. doi: 10.1016/j.jad.2010.12.014.
- Gautam S, Jain A, Gautam M, et al. Guidelines for the pharmacological management of depression. *Indian J Psychiatry.* 2017;59(Suppl 1):S34–S50. doi: 10.4103/0019-5545.196973.
- Spear BB, Heath-Chiozzi M, Huff J. Clinical application of pharmacogenetics. *Trends Mol Med.* 2001;7(5):201–204. doi: 10.1016/s1471-4914(01)01986-4.
- Haufroid V, Hantson P. CYP2D6 genetic polymorphisms and their relevance for poisoning due to amfetamines, opioid analgesics and antidepressants. *Clin Toxicol (Phila).* 2015;53(6):501–510. doi: 10.3109/15563650.2015.1049355.
- Hicks JK, Bishop JR, Sangkuhl K, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of selective serotonin reuptake inhibitors. *Clin Pharmacol Ther.* 2015;2(98):127–134. doi: 10.1002/cpt.147.
- Wang Z, Wang S, Huang M, et al. Characterizing the effect of cytochrome P450 (CYP) 2C8, CYP2C9, and CYP2D6 genetic polymorphisms on stereoselective N-demethylation of fluoxetine. *Chirality.* 2014;3(26):166–173. doi: 10.1002/chir.22289.
- Zastrozhin MS, Grishina EA, Denisenko NP, et al. Effects of CYP2D6 genetic polymorphisms on the efficacy and safety of fluvoxamine in patients with depressive disorder and comorbid alcohol use disorder. *Pharmgenomics Pers Med.* 2018;11:113–119. doi: 10.2147/PGPM.S160763.
- Zastrozhin M.C., Смирнов В.В., Сорокин А.С., и др. Влияние активности CYP2D6 на эффективность и безопасность флувоксамина у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью // *Вестник РАМН.* — 2018. — Т.73. — №6. — С. 411–419. [Zastrozhin MS, Smirnov VV, Sorokin AS, et al. Influence of CYP3A activity on the efficacy and safety of fluvoxamine in patients depressive disorders and comorbid alcohol use disorder. *Annals of the Russian academy of medical sciences.* 2018;73(6):411–419. (In Russ.)] doi: 10.15690/vramn1035.
- Zastrozhin M.C., Антоненко А.П., Гришина Е.А., и др. Оценка влияния CYP2C19\*3 на показатели эффективности и безопасности флувоксамина у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкоголизмом // *Психиатрия, психотерапия и клиническая психология.* — 2018. — Т.9. — №4. — С. 578–589. [Zastrozhin MS, Antonenko AP, Grishina EA, et al. Evaluation of CYP2C19\*3 effectiveness and safety of fluvoxamine in patients with depressive disorders, comorbide with alcoholism. *Psikhiatriya, psikhoterapiya i klinicheskaya psikhologiya.* 2018;9(4):578–589. (In Russ.)]
- Hicks JK, Swen JJ, Thorn CF, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of tricyclic antidepressants. *Clin Pharmacol Ther.* 2013;93(5):402–408. doi: 10.1038/clpt.2013.2.
- Swen JJ, Nijenhuis M, de Boer A, et al. Pharmacogenetics: from bench to byte — an update of guidelines. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;89(5):662–673. doi: 10.1038/clpt.2011.34.
- Flannery BA, Volpicelli JR, Pettinati HM, et al. Psychometric properties of the Penn Alcohol Craving Scale. *Alcohol Clin Exp Res.* 1999;23(8):1289–1295. doi: 10.1111/j.1530-0277.1999.tb04349.x.
- Busner J, Targum SD. The clinical global impressions scale: applying a research tool in clinical practice. *Psychiatry (Edgmont).* 2007;4(7):28–37.
- Zigmond AS, Snaith RP. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand.* 1983;67(6):361–370. doi: 10.1111/j.1600-0447.1983.tb09716.x.

17. Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1960;23(1):56–62. doi: 10.1136/jnnp.23.1.56.
18. Lingjaerde O, Ahlfors UG, Bech P, et al. The UKU side effect rating scale: a new comprehensive rating scale for psychotropic drugs and a cross-sectional study of side effects in neuroleptic-treated patients. *Acta Psychiatr Scand Suppl*. 1987;76(334):1–100. doi: 10.1111/j.1600-0447.1987.tb10566.x.
19. Sychev DA, Zastrozhin MS, Smirnov VV, et al. The correlation between CYP2D6 isoenzyme activity and haloperidol efficacy and safety profile in patients with alcohol addiction during the exacerbation of the addiction. *Pharmacogenomics Pers Med*. 2016;9:89–95. doi: 10.2147/PGPM.S110385.
20. Sychev DA, Zastrozhin MS, Miroshnichenko II, et al. Genotyping and phenotyping of CYP2D6 and CYP3A isoenzymes in patients with alcohol use disorder: correlation with haloperidol plasma concentration. *Drug Metab Pers Ther*. 2017;32(3):129–136. doi: 10.1515/dmpt-2017-0021.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

\***Застрожин Михаил Сергеевич**, к.м.н. [*Mikhail S. Zastrozhin*, MD, PhD]; **адрес:** 109390, Москва, ул. Люблинская, д. 37/1 [address: 37/1 Lyublinskaya street, 109390 Moscow, Russia], **тел.:** +7 (495) 709-64-04, **e-mail:** mszastrozhin@gmail.com, **SPIN-код:** 5681-4767, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-0607-4812>

**Смирнов Валерий Валериевич**, к.фарм.н. [*Valery V. Smirnov*, PhD]; **e-mail:** valsmirnov@gmail.com, **SPIN-код:** 4171-3871, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-8232-6682>

**Сорокин Александр Сергеевич** [*Alexander S. Sorokin*]; **e-mail:** assorokin@gmail.com, **SPIN-код:** 5874-3924, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0053-8252>

**Гришина Елена Анатольевна**, к.б.н., доцент [*Elena A. Grishina*, PhD]; **e-mail:** eagrishina@gmail.com, **SPIN-код:** 3357-3591, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-5621-8266>

**Рыжикова Кристина Анатольевна** [*Kristina A. Ryzhikova*]; **e-mail:** karyzhikova@gmail.com, **SPIN-код:** 2604-1922, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-3505-8520>

**Шипицын Валерий Валериевич** [*Valery V. Shipitsyn*, MD]; **e-mail:** vshipitsyn@gmail.com, **SPIN-код:** 2261-1516, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-9385-9275>

**Савченко Людмила Михайловна**, к.м.н., доцент, профессор [*Ludmila M. Savchenko*, MD, PhD, Professor]; **e-mail:** lmsavchenko@gmail.com, **SPIN-код:** 6638-6651, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-2411-3494>

**Бузик Олег Жанович**, д.м.н., доцент [*Oleg Z. Buzik*, MD, PhD, assistant professor]; **e-mail:** ozhbuzik@gmail.com, **SPIN-код:** 2747-6209, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-8265-9274>

**Копоров Сергей Георгиевич**, к.м.н. [*Sergey S. Koporov*, MD, PhD]; **e-mail:** sergeykoporov@gmail.com, **SPIN-код:** 2747-6209, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-2584-4832>

**Брюн Евгений Алексеевич**, д.м.н., профессор [*Evgeny A. Bryun*, MD, PhD, Professor]; **e-mail:** evgenybryunrmapo@gmail.com, **SPIN-код:** 6736-7656, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-8366-9732>

**Сычёв Дмитрий Алексеевич**, д.м.н., профессор, член-корр. РАН [*Dmitry A. Sychev*, MD, PhD, Professor]; **e-mail:** dmitrysychevrmapo@gmail.com, **SPIN-код:** 4525-7556, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-4496-3680>

М.А. Грачева<sup>1</sup>, А.А. Казакова<sup>1, 2</sup>, Д.Ф. Покровский<sup>2</sup>, И.Б. Медведев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

## Таблицы для оценки остроты зрения: аналитический обзор, основные термины

Обзор посвящен таблицам для оценки остроты зрения для дали. В первой части обзора приведены определения основных терминов: оптопты, шаги таблицы, дизайн таблицы; рассмотрены правила завершения процедуры измерения и перечислены наиболее распространенные единицы измерения, используемые для оценки остроты зрения. В следующем разделе дается исторический обзор развития табличного метода измерения остроты зрения, начиная с первых буквенных таблиц начала XIX в. Приводится общее описание самых распространенных российских и зарубежных таблиц — Снеллена, Головина–Сивцева, ETDRS, Lea; отмечены особенности их структуры и использованных оптоптов. При обсуждении достоинств и недостатков разных таблиц обращается внимание на удобство их применения на практике, в том числе возможность их использования для детей младшего возраста. Отмечается соответствие таблиц требованиям и рекомендациям существующих стандартов в отношении использованных оптоптов и их размещения. Отдельно обсуждаются современные тенденции видоизменения оптоптов в целях достижения большей точности и лучшей повторяемости результатов измерений остроты зрения, в том числе возможности использования «исчезающих» оптоптов.

**Ключевые слова:** острота зрения, оптопты, таблицы для проверки остроты зрения.

(Для цитирования: Грачева М.А., Казакова А.А., Покровский Д.Ф., Медведев И.Б. Таблицы для оценки остроты зрения: аналитический обзор, основные термины. Вестник РАМН. 2019;74(3):192–199. doi: 10.15690/vramn1142)

192

### Введение

Острота зрения — важнейший показатель состояния зрительной системы, и сегодня самым популярным способом ее оценки являются табличные тесты. Существующие таблицы сильно различаются по своим параметрам, хотя работы по стандартизации как таблиц, так и методов измерения этого показателя ведутся довольно давно. В одном из обзоров [1] подробно рассматривались основные требования различных стандартов США и акцентировалось внимание на том, когда можно обойтись без стандартизации таблиц, а в каких клинических процедурах она необходима. Авторы, цитируя один из стандартов [2], отмечают, что стандартизация позволяет: 1) сравнивать результаты текущего обследования с предыдущим; 2) сравнивать между собой результаты, полученные разными исследователями в разных клиниках; 3) единообразно оценивать результаты лечения; 4) оценивать изменение

остроты зрения с течением времени (например, проводить многолетние исследования возрастной динамики показателя).

В существующих стандартах и тематической литературе обсуждаются различные факторы, которые могут влиять на оценку остроты зрения — физические факторы и параметры таблиц (форма и контраст тестовых знаков, межзнаковые расстояния, характер освещения таблицы); особенности процедуры (дистанция наблюдения, монокулярное или бинокулярное рассматривание, степень понимания испытуемым инструкции, знакомство с процедурой, использование или отсутствие указки, правило завершения процедуры); состояние пациента (показатели рефракции, степень прозрачности глазных сред, величина зрачка, уровень утомления) [3–6].

В обзоре рассмотрены табличные тесты и оптопты для оценки остроты зрения для дали. В первой части обзора определены основные термины (оптопты, ди-

М.А. Gracheva<sup>1</sup>, А.А. Kazakova<sup>1, 2</sup>, D.F. Pokrovskiy<sup>2</sup>, I.B. Medvedev<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute for Information Transmission Problems (Kharkevich Institute) Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

## Visual Acuity Charts: Analytical Review, Basic Terms

The review is dedicated to the visual acuity charts for assessment vision at far. The first part of the review provides definitions of basic terms: optotypes, step of the chart (change in the sign size from line to line), chart design; also, termination rules for measurement procedure and the main measuring units (logMAR, decimal units) are discussed. The second part of the paper provides historical review of charts development, starting from the beginning of the XIX century. The most wide spread visual acuity charts are described: Snellen chart, Sivtsev-Golovin chart, ETDRS chart, Lea chart, etc. The features of their structure and the optotypes used are discussed, taking into account their usefulness, practicality and feasibility in children vision assessment. Charts compliance with the standard in view of recommendations about optotypes properties and optotypes distribution on the chart field are reviewed. A special attention is drawn to the modern tendencies in optotypes development in order to obtain better repeatability of visual acuity assessment.

**Keywords:** visual acuity, optotypes, visual acuity charts.

(For citation: Gracheva MA, Kazakova AA, Pokrovskiy DF, Medvedev IB. Visual acuity charts: analytical review, basic terms. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2019;74(3):192–199. doi: 10.15690/vramn1142)

зайн и шаги таблицы), рассмотрены правила завершения процедуры измерения остроты зрения. Вторая часть знакомит с историей появления и совершенствования пространственных таблиц, предлагая их описание.

**Основные понятия**

Таблицы для оценки остроты зрения различаются по общей структуре и виду тестовых знаков. *Оптотипами* называются используемые для измерения тестовые изображения — буквы, картинки, кольца Ландольта и др. В разных статьях для оптотипов используют термины «знаки», «символы», «стимулы», «паттерны». *Дизайн* таблицы объединяет в себе распределение знаков по таблице, количество знаков в строке, расстояние между знаками и строками, шаги изменения размера знаков от строки к строке.

Различные виды таблиц и оптотипов расположены в хронологическом порядке на рис. 1.

На сегодняшний день разработано довольно много различных видов оптотипов и, несмотря на это, продолжается разработка новых [7, 8]. Все оптотипы условно можно подразделить на буквы, цифры, картинки и специальные символы (кольца Ландольта, трехполосные стимулы, «кувыркающиеся» E — tumbling-E и др.).

В качестве важного критерия при разработке оптотипов часто упоминают необходимость обеспечить сходство их размытых фигур: когда оптотипы видны нечетко, все символы одного размера должны иметь одинаковую форму размытого пятна [2, 8–11]. В некоторых исследованиях по этому параметру критикуют буквенные оптотипы [7, 12]. Кроме того, в стандарте 1984 года [5] есть такое замечание: из 26 букв английского алфавита только одна имеет форму треугольника с основанием внизу («А»), поэтому для ее опознания достаточно увидеть общий контур

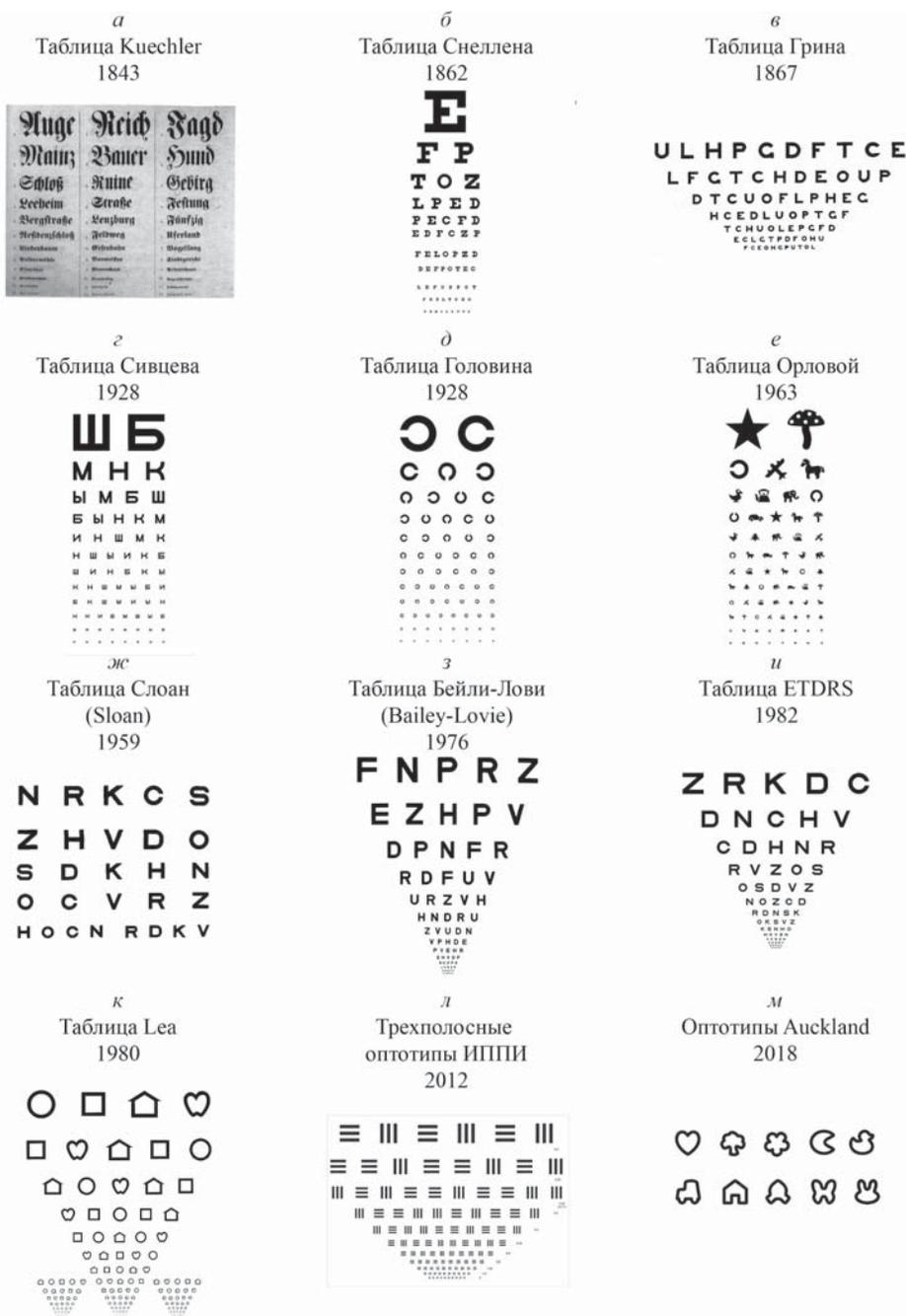
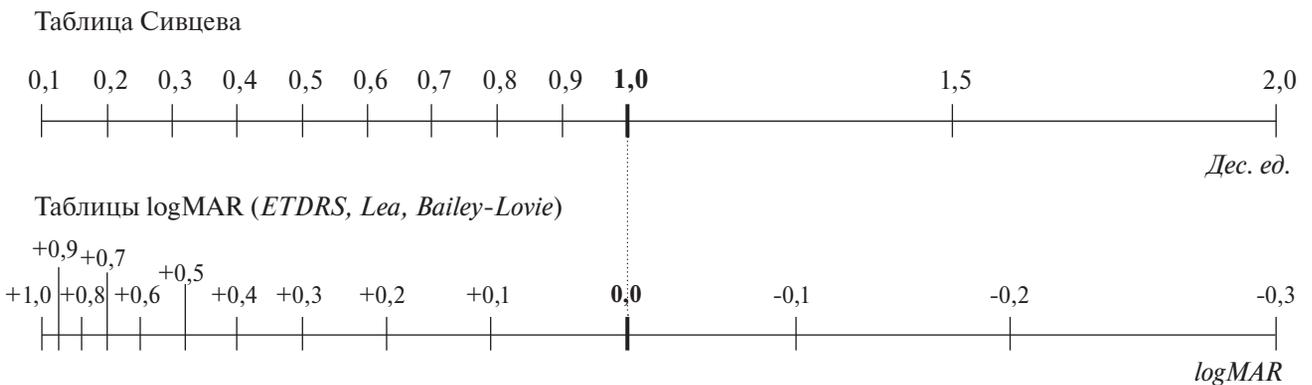


Рис. 1. Виды таблиц и оптотипов с указанием года первой публикации



**Рис. 2.** Шаги изменения значений остроты зрения от строки к строке в таблице Сивцева и в logMAR-таблицах (таких как ETDRS, Lea, Bailey–Lovie)

треугольника, а не тонкую структуру линий, что искажает результаты измерения. В данном обзоре сходство формы при размытии и одинаковую вероятность угадывания опто типов одного размера мы будем называть «одинаковой различимостью на пороге узнавания».

Оценка остроты зрения требует определенного правила окончания процедуры, и в литературе описываются разные алгоритмы поиска порогового значения. Например, в работе [13] в качестве самых часто используемых перечисляются следующие: 1) учитывается последняя строка, которую испытуемый называет без ошибок; 2) учитывается последняя строка, в которой испытуемый может назвать все опто типы, кроме одного; 3) учитывается последняя строка, в которой испытуемый может распознать не менее половины опто типов (50% и более); 4) алгоритм, при котором каждый распознанный стимул вносит вклад в итоговое значение измеряемой остроты зрения (впервые введенный в практику в работе I. Vailey и J. Lovie (Иэн Бейли, Джен Лоуви-Китчин) в 1976 г. [14]. Выбранный алгоритм существенно влияет на получаемые значения, что важно учитывать при анализе и интерпретации данных.

В качестве меры остроты зрения используют различные единицы: десятичные (самые распространенные в России и Европе), logMAR, дробь Снеллена и др. Существует множество работ по сравнению различных единиц измерения, но все еще нет однозначного мнения, какие из них лучше использовать в клинической и научной практике [15–17]. По мнению некоторых авторов, logMAR-единицы являются более подходящими для статистической обработки данных [18, 19], однако недавно ведущие офтальмологические журналы начали рекомендовать при публикации результатов в logMAR приводить рядом соответствующее значение в привычных десятичных единицах [20], т.к. большинство специалистов плохо понимают данные, представленные в logMAR. Различные единицы используются не только для выражения полученных результатов, но и для определения шага изменения размера опто типа от строки к строке при создании таблиц [1, 5].

Самые распространенные виды дизайна таблиц — пропорциональный и равномерный. Первые таблицы в основном имели *равномерный дизайн* (wide-spaced design), при котором расстояние между знаками и строками не зависит от размера знака, так что все поле таблицы покрыто знаками равномерно (например, см. рис. 1, б, г–ж). Чуть позже появились работы, свидетельствующие о том, что близкорасположенные знаки могут влиять друг на друга (*краудинг-эффект*, или взаимодействие контуров), и в связи с этим в разных работах обсуждался вопрос о необходимости эквивалентной плотности при всех размерах опто типов. Исходя из

предположения, что зона проявления краудинг-эффекта пропорциональна размеру тестового знака, при *пропорциональном дизайне* (proportional design) расстояние между стимулами и строчками меняется пропорционально размеру стимула (т.е. с уменьшением опто типа расстояние между опто типами и строками тоже уменьшается) (например, см. рис. 1, в, з, и). Считается, что при пропорциональном дизайне краудинг-эффект уравнивается по всей таблице, что может быть преимуществом этого дизайна [5]. Иногда встречается также *линейный дизайн* (linear-spaced design), при котором горизонтальные расстояния между опто типами в строках пропорциональны их размерам, а вертикальные расстояния между строками подбираются под общий размер таблицы (т.е. никакими строгими правилами не регулируются), и создатели размещают в таблице столько строк, сколько считают нужным) [1].

Дизайн таблиц описывает расположение знаков по площади таблицы. Помимо этого, независимо от дизайна в разных таблицах используется разный принцип изменения размера букв от строки к строке — шага (рис. 2). Шаг может соответствовать арифметической или геометрической прогрессии изменения значений остроты зрения (часто используется так называемый *логарифмический шаг*) или может быть подобран без конкретного правила (по усмотрению разработчиков таблицы). При *арифметической прогрессии* размер знаков в следующей строке соответствует изменению остроты зрения на постоянную величину в десятичных единицах, например на 0.1: за строкой 0.7 следуют строки 0.8, 0.9, 1.0 и т.д. При *геометрической прогрессии* размер знаков следующей строки определяется умножением размера знаков предыдущей строки на некоторый коэффициент: например, во многих распространенных таблицах (ETDRS, Lea, Bailey–Lovie) используется коэффициент 1.26, где за строкой, соответствующей остроте зрения 0.5, идут строки 0.63, 0.8, 1.0, 1.26. Коэффициент 1.26 соответствует шагу 0.1 в величинах logMAR, т.е. те же значения при переводе в logMAR будут меняться с шагом 0.1 logMAR: 0.5 в десятичных единицах соответствует (+0.3) logMAR, 0.63 — (+0.2) logMAR, 0.8 — (+0.1) logMAR, 1.0 — (0) logMAR, 1.26 — (-0.1) logMAR. Проще всего переводить значения из десятичных единиц в logMAR и обратно, опираясь на то, что значение 1.0 в привычных десятичных единицах соответствует значению 0 logMAR.

Важно понимать, что логарифмический шаг — изменение размера букв — не обязательно означает таблицу с logMAR-дизайном (logMAR chart), т.к. logMAR-дизайн включает и шаг, и распределение опто типов по таблице (принцип logMAR-таблиц будет описан ниже).

**Исторический обзор создания таблиц, краткое описание достоинств и недостатков**

До середины XIX в. состояние зрения у пациентов в историях болезней описывали только в общем виде: нормальное зрение, зрение испортилось, зрение улучшилось, зрение ослабло [21]. Период от середины XIX в. Коленбрандер (A. Colenbrander) [22] в своем обзоре назвал «золотым веком» офтальмологии — именно тогда Гельмгольц, Грефе, Боумен и Дондерс активно разрабатывали новые, революционные методы подробной оценки зрительных функций, среди которых можно перечислить и изобретенный Гельмгольцем в 1851 г. офтальмоскоп.

На рис. 3 представлена хронологическая схема появления наиболее известных таблиц для оценки остроты зрения для дали.

Первые известные таблицы для проверки остроты зрения для дали были предложены Кюхлером (Kuechler) в 1843 г. (см. рис. 1, а; [22]), а в 1854 появились первые таблицы для близости — таблицы Джагера, которые во многих странах используются до сих пор.

На протяжении долгого времени в западных странах наиболее распространенной таблицей была таблица, разработанная Германом Снелленом (H. Snellen) в 1862 г. [1, 23, 24], внешний вид которой представлен на рис. 1, б. Дизайн таблицы близок к равномерному, она имеет различное количество букв в каждой строке и непропорциональные расстояния между буквами и строками. Согласно обзору [22], идея создания таблиц для дали принадлежала руководителю Снеллена — Дондерсу, который в тот период активно занимался вопросами оценки остроты зрения: он одним из первых предложил используемую до сих пор количественную меру остроты зрения — десятичные единицы [25], а после создания Снелленом таблиц проводил вместе со своими учениками масштабные исследования возрастной динамики остроты зрения [22, 26].

В России самой распространенной таблицей для проверки остроты зрения является парная таблица Сивцева–Головина, разработанная Д. Сивцевым и С. Головиным в 1928 г. [21]. Данная таблица в одной части содержит буквенные оптоотипы — 7 буквенных оптоотипов с повторами (таблица Сивцева; см. рис. 1, г), в другой — кольца Ландольта (таблица Головина; см. рис. 1, д). Обе части таблицы сделаны в равномерном дизайне, шаг от строки к строке выбран по десятичной шкале (от 0.1 до 1.0 шаг между строками — 0.1, затем идут строки со значениями 1.5 и 2.0), в строках имеется разное количество букв. Для

детей чаще всего используется похожая по структуре таблица Орловой с картинками (см. рис. 1, е).

Из рис. 1 видно, что по принципу построения таблица Сивцева–Головина похожа на таблицу Снеллена. Вероятно, именно таблица Снеллена была взята за основу при разработке отечественного инструмента. Проверка зрения за рубежом до сих пор иногда проводится по таблице Снеллена, несмотря на то, что ее недостатки обсуждались почти с момента появления, и, согласно опубликованным данным, оценки остроты зрения, полученные с ее помощью, имеют плохую повторяемость: до 13% испытуемых при повторном тестировании показывают различие результатов в две строки или более [27, 28].

В работе A. Bennett [24] проведен обзор развития тестовых таблиц для проверки остроты зрения со времен таблицы Снеллена. Из множества идей и предложенных усовершенствований две рекомендации устойчиво продолжают повторяться в международных стандартах и использоваться при разработке тестовых таблиц.

Во-первых, размер знаков от строки к строке рекомендуется выбирать в соответствии с логарифмическим шагом значений остроты зрения 0.1 log unit. Упрощенно это значит, что острота зрения в десятичных единицах, соответствующая каждой следующей строке, отличается от предыдущей примерно в 1.26 раза [29]. Эта идея впервые была предложена J. Green (см. рис. 1, в; [30]), всего через 5 лет после публикации таблиц Снеллена. Тогда эта идея не была оценена и не получила распространения. Однако в 1953 г. данный принцип был принят Международным советом по офтальмологии (International Council of Ophthalmology Committee on Optotypes) [31], после чего в 1959 г. L. Sloan (Слоан) опубликовала новые варианты таблиц, составленные в соответствии с этим требованием [32], а затем оно стало официальной рекомендацией немецкого стандарта [33]. Позже это требование закрепилось в большинстве международных стандартов по оценке остроты зрения. Некоторые авторы также утверждают, что геометрическая прогрессия изменения оптоотипов от строки к строке облегчает измерение остроты зрения по таблицам с разных расстояний: если дистанции выбраны в отношении, соответствующем шагу в таблице (1.26), то при изменении расстояния в один шаг от рекомендуемого расстояния до таблицы острота зрения засчитывается с изменением на одну строчку (выше либо ниже в зависимости от того, увеличено или уменьшено расстояние на один шаг) [29]. В России идея геометрической прогрессии размера букв (с коэффициентом 1,1) предлагалась А. Холиной [34], но разработанные ею таблицы не получили

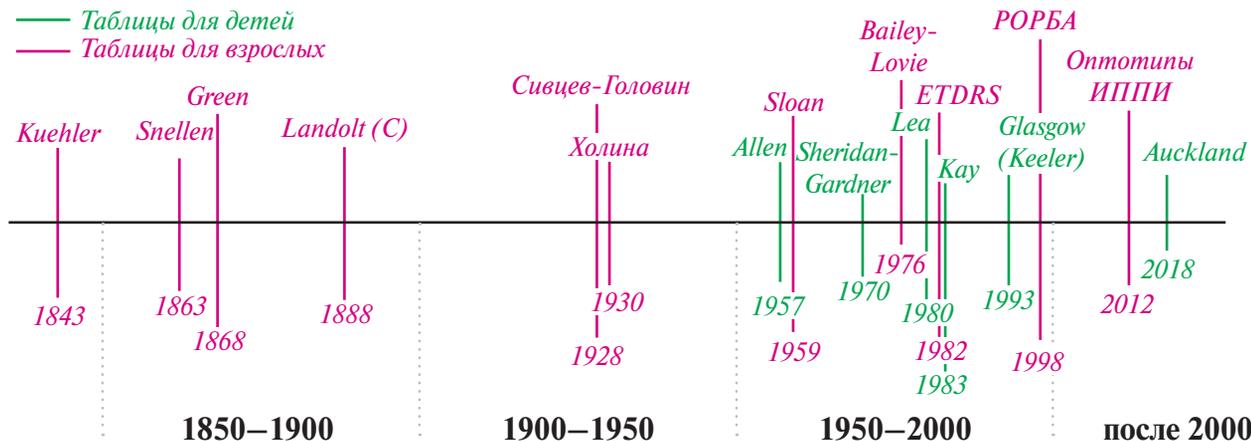


Рис. 3. Хронологическая схема появления различных таблиц для оценки остроты зрения вдаль

широкого распространения, в отличие от таблиц Сивцева и Головина, вероятно, из-за их громоздкости, что отмечается в качестве недостатка и сама автор.

Во-вторых, до сих пор сохраняется правило использовать оптоотипы одинаковой различимости (legibility). Это лучше соблюдается в случае колец Ландольта, «кувыркающихся» Е и похожих оптоотипов; для буквенных оптоотипов это правило соблюсти почти невозможно. Ряд работ был проведен для подбора букв одинаковой различимости в зависимости от используемого шрифта [24, 32, 35, 36].

В работе L. Sloan [32] была сделана попытка учесть обе этих рекомендации: в своих таблицах автор использовала логарифмический шаг размера, а также предложила набор из 10 букв в таком начертании, чтобы они имели пропорции 5×5 и одинаковую, по ее мнению, различимостью (см. рис. 1, ж). Однако более поздние работы с оценкой психометрических функций каждой отдельной буквы из этого набора показывают, что различимость букв все же существенна [37].

В 1976 г. И. Бейли и Д. Лоуви предложили свои новые таблицы [14], в которых были использованы оптоотипы, рекомендуемые британским стандартом [38], и разработали новый дизайн — строгие критерии расположения оптоотипов на таблице. Таблица Бейли–Лоуви (см. рис. 1, з) построена в пропорциональном дизайне (шаг между буквами равен ширине буквы, а шаг между строками — высоте меньшей строки); изменение размера букв от строки к строке идет в геометрической прогрессии, как в таблицах Слоан; в каждой строке используется одинаковое число букв, при этом подобранные буквы, по мнению авторов таблицы, одинаковы по различимости [14]. Разработанный дизайн вне зависимости от используемых оптоотипов часто называют «золотым стандартом» [28, 39], и он часто упоминается как logMAR-дизайн, или logMAR-таблицы (logMAR chart).

Одной из самых известных logMAR-таблиц является таблица ETDRS. ETDRS расшифровывается как «Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study» — исследование по раннему лечению диабетической ретинопатии. Несмотря на словосочетание «диабетическая ретинопатия», таблица используется в качестве диагностического средства для всех пациентов, в том числе и не имеющих патологии. Такая аббревиатура закрепилась за таблицей, т.к. ее разработчиками была группа ученых с одноименным названием из Национального глазного института (National Eye Institute, США). В 1978 г. группа ETDRS планировала масштабное мультицентровое исследование, для чего требовались наиболее точные и стандартизированные таблицы. Взяв за основу таблицы Бейли–Лоуви и адаптировав их согласно рекомендациям NAS-NRC (National Academy of Sciences–National Research Council, Национальная академия наук–Национальный исследовательский совет) [2], ученые опубликовали работы, представлявшие новые таблицы ETDRS [29, 40]. В упомянутом стандарте NAS-NRC рекомендуется использовать кольца Ландольта или буквы Слоан, и F. Ferris с соавт. заменили в таблице Бейли–Лоуви буквы Британского стандарта [38], имеющие пропорции 5×4, на буквы Слоан с пропорциями 5×5. Еще одно отличие таблицы ETDRS от таблицы Бейли–Лоуви — расстояние измерения, т.е. расстояние от пациента до таблицы: таблица Бейли–Лоуви рассчитана для расстояния 6 м, а таблица ETDRS — для 4 м, что также согласуется с рекомендациями NAS-NRC [2]. В остальном дизайн двух таблиц не отличался. Обзор разработки дизайна logMAR-таблиц и история появления таблиц ETDRS представлены в работе I. Bailey и J. Lovie-Kitchin [39].

Таблицы с оптоотипами-картинками наиболее удобны для диагностики зрения у детей младшего возраста, т.к. многие из них не знают алфавита или называют буквы неуверенно. Специальные символы (кольца Ландольта или буквы Е) не всегда для этого подходят: многие дети довольно долго путаются в определении правого и левого направления, а картинки упрощают процесс тестирования и вызывают у детей большую заинтересованность. Среди самых популярных таблиц для детей можно назвать таблицу Орловой, тест Аллена (Allen figures test), таблицу с жемчужинами (Handy eye chart), таблицу Кэй (Kay Pictures) и др. Однако все они часто подвергаются критике, т.к. не всегда соответствуют главному принципу, предъявляемому к разработке и отбору оптоотипов: одинаковая различимость при нечеткой фокусировке изображения. Одной из самых известных таблиц с картинками, которые, по мнению разработчиков, имеют одинаковую различимость на пороге разрешения, является таблица Lea (от имени разработчицы — Леи Хювяринен) (см. рис. 1, к) [9]. Таблица использует четыре оптоотипа-картинки — домик, квадрат, круг и яблочко (сердечко). Сама автор таблиц пишет, что вид картинки при расфокусировке был одним из главных параметров при разработке [41]. В оригинальной работе автор описывает процесс выбора параметров для оптоотипов: референтной таблицей, под значения которой подбирались оптоотипы, была таблица с буквами Е (tumbling-Е). Сегодня таблица с «кувыркающимися» Е реже используется как стандартное средство измерения, и в сравнительных работах часто появляются данные, что таблица Lea несколько превышает получаемые значения остроты зрения [42–45]. Например, в работе V. Dobson и соавт. [43] при сравнении таблиц Lea и ETDRS на одних и тех же испытуемых значения, полученные по Lea, на 0.5 строчки выше, чем по ETDRS. Учитывая структуру таблиц, можно видеть, что переход к следующей строке вблизи медицинской нормы 1.0 дес.ед. соответствует шагу в 0.2 дес.ед., т.е. половина строки может означать разницу в 0.1 десятичную единицу. В работе R. Becker и соавт. [44] при сравнении Lea и колец Ландольта результат по Lea был выше на 1 строку.

Несмотря на большое количество существующих оптоотипов и таблиц, разработка новых методов и тестов продолжается как за рубежом [7, 37, 46, 47], так и в России [10, 11, 48–51].

Одним из перспективных отечественных методов диагностики остроты зрения являются модифицированные трехполосные стимулы, разработанные в ИППИ РАН [10, 11]. Оптоотипы представляют собой решетки из трех полос, расположенных горизонтально или вертикально (см. рис. 1, л). Главным критерием при разработке этих оптоотипов являлась одинаковая форма размытых изображений. Этот критерий эквивалентен отсутствию возможности узнавания оптоотипов на основе низкочастотных составляющих Фурье-спектров. Для определения параметров оптоотипов авторы использовали анализ двумерных Фурье-спектров изображений и их уравнивание в области низких частот (низкими считали частоты ниже характеристической частоты, определяющей остроту зрения). Экспериментальное сравнение этих оптоотипов показало их лучшую повторяемость в сравнении с оптоотипами Е [8, 11] и при предварительном сравнении с таблицами Lea, ETDRS и Сивцева [52]. Оптоотипы могут быть удобны при тестировании детей, т.к. не являются буквами и не имеют горизонтальной асимметрии (т.е. для тестирования не нужно различать правое и левое направления). Из недостатков оптоотипов можно назвать малое количество символов: всего два варианта, вертикальный и горизон-

тальный, и из-за этого вероятность случайного угадывания такого оптотипа довольно высока, поэтому для корректного результата требуется предъявление большего числа оптотипов (в сравнении с оптотипами E — в два раза). Тем не менее на данный момент оптотипы успешно применяются при точной оценке остроты зрения, например после хирургии катаракты [53].

Проблема неодинаковой различимости оптотипов в разных наборах не перечеркивает удобства использования давно привычных методов, однако приводит к появлению все большего числа работ по модификации и улучшению существующих оптотипов. Например, упомянутые трехполосные оптотипы ИППИ РАН являются усовершенствованной версией классических трехполосных оптотипов; аналогично в Великобритании проводятся работы по усовершенствованию популярных там Kay optotypes [54], а на базе оптотипов Lea были разработаны оптометрические таблицы Patti pics (оптотипы Патти).

Оптотипы в виде картинок, удобные для работы с детьми (такие как Kay и Lea), не теряют популярности при тестированиях. Недавно были разработаны новые оптотипы-картинки [7, 55], для создания которых авторы тщательно проанализировали свойства предлагаемых изображений и провели подробную сравнительную работу на молодых взрослых. В своей работе авторы делают акцент, что данная область задач еще не исчерпана, и призывают сообщество разрабатывать новые методы и тесты. В частности, свои оптотипы — Auckland optotypes (Окленд оптотипы; см. рис. 1, м) — они выложили в открытом доступе в интернет (в векторном формате), так что каждый исследователь может оценить эффективность разработки и предложить свои доработки к любому из изображений (<https://github.com/dakinlab/OpenOptotypes>). В открытом доступе также можно найти и оптотипы Sloan (<http://psych.nyu.edu/pelli/software.html>). Хочется надеяться, что и другие исследователи будут поддерживать эту волну открытых разработок.

В упомянутой статье, помимо описания разработки новых оптотипов, авторы также подробно рассматривают перспективность использования исчезающих оптотипов (vanishing optotypes) [7, 49, 55, 56]. Обычные оптотипы выглядят как знаки, начертанные черной линией на белом фоне; исчезающие оптотипы выглядят как изображения, выполненные двойными или тройными линиями из черных и белых полос на сером фоне (рис. 4).

При расфокусировке такого изображения, когда полосы, формирующие фигуру оптотипа, перестают различаться, оптотип сливается с фоном, и благодаря этому различимость формы оптотипа оказывает меньшее влияние на измерение. В отдельных работах [7, 57] было показано, что исчезающая модификация дает лучшую повторяемость в сравнении с обычными оптотипами. К тому же такие оптотипы при соответствующем дизайне можно использовать для тестирования пациентов с ограниченными когнитивными возможностями и детей, которые не умеют говорить (по методике предпочтительного разглядывания — preferential looking). Самыми известными исчезающими оптотипами являются Cardiff optotypes (Кардифф-оптотипы) [58, 59]. Исчезающие оптотипы также имеют большие перспективы при проведении врачебной экспертизы, т.к. не дают возможности симулянтам и диссимулянтам показывать значения остроты зрения, не соответствующие истинным (например, умышленно занижать показатели при желании избежать исполнения служебных обязанностей, или завышать их для успешного прохождения медосмотров) [49]. Однако оптотипы в исчезающей модификации имеют некоторые недостатки:



Рис. 4. Иллюстрация принципа создания исчезающей модификации оптотипов на примере оптотипов Auckland

*Примечание.* а — привычный вид двух оптотипов (сверху, на белом фоне) и исчезающая модификация (снизу, на сером фоне); б — применение обработки, имитирующей размытие изображений путем добавления линзы, к обычным и исчезающим оптотипам. Как видно, исчезающая модификация почти полностью сливается с фоном.

их труднее реализовать при печати на бумаге (требуется тщательно подбирать уровни серого; аккуратно подбирать профиль яркости контура изображения), и при правильной реализации они занимают больше места, чем обычные оптотипы.

Несмотря на тенденции к компьютеризации измерений зрительных функций, таблицы для оценки остроты зрения не теряют своей популярности в силу компактности, дешевизны и простоты их использования. Основное, для чего используются таблицы в клинической практике, — это подбор оптической коррекции и выделение групп пациентов с явными нарушениями. С обеими этими задачами удовлетворительно справляются все применяемые таблицы, в том числе и широко используемая в России таблица Сивцева–Головина. Однако для проведения научных исследований, для точной оценки улучшения зрения после проведенного лечения, мониторинга зрительных функций и наблюдения возрастной динамики, а также для проведения точной медико-социальной экспертизы требуются более надежные и точные методы. Поиск оптотипов, протоколов и методов, позволяющих проводить такие измерения, все еще является открытой областью исследований.

### Дополнительная информация

**Источник финансирования.** Работа частично выполнена в рамках государственного задания ИППИ РАН (тема №0061-2019-0004).

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

**Выражение признательности.** Авторы выражают огромную благодарность Рожковой Галине Ивановне за содержательные замечания, консультации и конструктивную критику рукописи.

**Участие авторов:** все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chaplin PK, Bradford GE A historical review of distance vision screening eye charts: what to toss, what to keep, and what to replace. *NASN School Nurse*. 2011;26(4):221–228. doi: 10.1177/1942602X11411094.
2. NAS-NRC. Recommended standard procedures for the clinical measurement and specification of visual acuity. Report of working group 39. Committee on vision. Assembly of Behavioral and Social Sciences, National Research Council, National Academy of Sciences, Washington, D.C. *Adv Ophthalmol*. 1980;41:103–148.
3. Hazel CA, Elliott DB. The dependency of LogMAR visual acuity measurements on chart design and scoring rule. *Optom Vis Sci*. 2002;79(12):788–792. doi: 10.1097/00006324-200212000-00011.
4. Рожкова Г.И., Матвеев С.Г. *Зрение детей: проблемы оценки и функциональной коррекции*. — М.: Наука, 2007. — 314 с. [Rozhkova GI, Matveev SG. *Zrenie detei: problemy otsenki i funktsional'noi korrektsii*. Moscow: Nauka; 2007. 314 p. (In Russ).]
5. International Council of Ophthalmology. Visual acuity measurement standard [Internet]. 1984 [cited 1984 October 5]. Available from: <http://www.icoph.org/dynamic/attachments/resources/icovisualacuity1984.pdf>.
6. Riggs LA. *Visual acuity*. In: Vision and visual perception; Graham CH. (ed). New York: Wiley; 1965. pp. 321–349.
7. Hamm LM, Yeoman JP, Anstice NS, Dakin SC. The Auckland optotypes : an open-access pictogram set for measuring recognition acuity. *J Vis*. 2018;18(3):13. doi: 10.1167/18.3.13.
8. Rozhkova G, Lebedev D, Gracheva M, Rychkova S. Optimal optotype structure for monitoring visual acuity. *J Latv Acad Sci*. 2017;71(5):327–338. doi: 10.1515/prolas-2017-0057.
9. Hyvärinen L, Näsänen R, Laurinen P. New visual Acuity test for pre-school children. *Acta Ophthalmol*. 1980;58(4):507–511. doi: 10.1111/j.1755-3768.1980.tb08291.x.
10. Рожкова Г.И., Белозеров А.Е., Лебедев Д.С. Измерение остроты зрения: неоднозначность влияния низкочастотных составляющих спектра Фурье оптоотипов // *Сенсорные системы*. — 2012. — Т.26. — №2. — С. 160–171. [Rozhkova GI, Belozеров AE, Lebedev DS. Visual acuity measurement: uncertain effect of the low-frequency components of the optotype fourier spectra. *Sensornye Sistemy*. 2012;26(2):160–171. (In Russ).]
11. Рожкова Г.И., Грачева М.А., Лебедев Д.С. *Оптимизация тестовых знаков и таблиц для измерения остроты зрения*. / Материалы научной конференции офтальмологов «Невские горизонты-2014». — СПб., 2014. — С. 563–567. [Rozhkova GI, Gracheva MA, Lebedev DS. *Optimizatsiya testovykh znakov i tablits dlya izmereniya ostrotы zreniya*. Materialy nauchnoi konferentsii oftal'mologov «Nevskie gorizontы-2014». St. Petersburg; 2014. Pp. 563–567. (In Russ).]
12. Candy TR, Mishoulam SR, Nosofsky RM, Dobson V. Adult discrimination performance for pediatric acuity test optotypes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(7):4307–4313. doi: 10.1167/iovs.10-6391.
13. Shamir RR, Friedman YG, Joskowicz L, et al. The influence of varying the number of characters per row on the accuracy and reproducibility of the ETDRS visual acuity chart. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2016;254(5):971–976. doi: 10.1007/s00417-015-3252-3.
14. Bailey IL, Lovie JE. New design principles for visual acuity letter charts. *Am J Optom Physiol Opt*. 1976;53(11):740–745. doi: 10.1097/00006324-197611000-00006.
15. Рожкова Г.И. LogMAR для остроты зрения хуже, чем лошадиная сила для мощности электрической лампочки // *Сенсорные системы*. — 2017. — Т.31. — №1. — С. 31–43. [Rozhkova GI. LogMAR for visual acuity is worse than horsepower for electric lamp. *Sensornye Sistemy*. 2017;31(1):31–43. (In Russ).]
16. Рожкова Г.И. Есть ли реальные основания считать таблицы ETDRS «золотым стандартом» для измерений остроты зрения? // *Известия Российской Военно-медицинской академии*. — 2018. — Т.37. — №2. — С. 120–123. [Rozhkova GI. Are there true reasons to consider etdrs charts as a “golden standard” for measuring visual acuity? *Izvestiya Rossiiskoi Voенno-meditsinskoi akademii*. 2018;37(2):120–123. (In Russ).]
17. Holladay JT. Proper method for calculating average visual acuity. *J Refract Surg*. 1997;13(4):388–391. doi: 10.3928/1081-597X-19970701-16.
18. Elliott DB. The good (logMAR), the bad (Snellen) and the ugly (BCVA, number of letters read) of visual acuity measurement. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2016;36(4):355–358. doi: 10.1111/opo.12310.
19. Wild JM, Hussey MK. Some statistical concepts in the analysis of vision and visual acuity. *Ophthalmic Physiol Opt*. 1985;5(1):63–71. doi: 10.1111/j.1475-1313.1985.tb00637.x.
20. Tsou BC, Bressler NM. Visual acuity reporting in clinical research publications. *JAMA Ophthalmol*. 2017;135(6):651–653. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2017.0932.
21. Головин С.С., Сивцев Д.А. *Шрифты для измерения зрения на близком расстоянии*. — М., 1928. [Golovin SS, Sivtsev DA. *Shrifty dlya izmereniya zreniya na blizkom rasstoyanii*. Moscow; 1928. (In Russ).]
22. Colenbrander A. The historical evolution of visual acuity measurement. *Vis Impair Res*. 2008;10(2–3):57–66. doi: 10.1080/13882350802632401.
23. Snellen H, Graham CH. *Probuchstaben zur bestimmung der sehschärfe*: Test letters for determining visual acuity. Utrecht; 1862. 19 p.
24. Bennett AG. Ophthalmic test types. A review of previous work and discussions on some controversial questions. *Br J Physiol Opt*. 1965;22(4):238–271.
25. Linksz A. The development of visual standards: Snellen, Jaeger, and Giraud-Teulon. *Bull N Y Acad Med*. 1975;51(2):277–285.
26. de Haan V. *Onderzoekingen naar de invloed van de leeftijd op de gezichtsscherpte* Research on the influence of age on visual acuity [Doctoral Dissertation]. Utrecht; 1862.
27. Gibson SA, Sanderson HF. Observer variation in ophthalmology. *British J Ophthalmol*. 1980;64(6):457–460. doi: 10.1136/bjo.64.6.457.
28. McGraw P, Winn B, Whitaker D. Reliability of the Snellen chart. *BMJ*. 1995;310(6993):1481–1482. doi: 10.1136/bmj.310.6993.1481.
29. Ferris FL 3rd, Kassoff A, Bresnick GH, Bailey I. New visual acuity charts for clinical research. *Am J Ophthalmol*. 1982;94(1):91–96. doi: 10.1016/0002-9394(82)90197-0.
30. Green J. On a new series of test-letters for determining the acuteness of vision. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1868;1(4–5):68–71.
31. Ogle KN. On the problem of an international nomenclature for designating visual acuity. *Am J Ophthalmol*. 1953;36(7):909–921. doi: 10.1016/0002-9394(53)92172-2.
32. Sloan LL. New test charts for the measurement of visual acuity at far and near distances. *Am J Ophthalmol*. 1959;48:807–813. doi: 10.1016/0002-9394(59)90626-9.
33. Sehscharfenbestimmung. Prüfung für Gutachten (DIN 58220). DIN Deutsches Institut für Normung e.V. (Ed.). DIN Taschenbuch 177, Berlin, Beuth-Verlag, 1991.
34. Холина А. Новая таблица для исследования остроты зрения // *Русский офтальмологический журнал*. — 1930. — Т.11. — №1. — С. 42–47. [Kholina A. Novaya tablitsa dlya issledovaniya ostrotы zreniya. *Russkii oftal'mologicheskii zhurnal*. 1930;11(1):42–47. (In Russ).]
35. Coates WR. *Visual acuity and test letters, transactions of the Institute of ophthalmic opticians*, III, 1935. In: Bennett AG. Ophthalmic test types. *British J Physiolog Optics*. 1965;22:238.
36. Woodruff EW. *Visual acuity and the selection of test letters*. In: Some Recent Advances in Ophthalmic Optics. London: Hatton Press; 1947. pp. 59–70.

37. Plainis S, Tzatzala P, Orphanos Y, Tsilimbaris MK. A modified ETDRS visual acuity chart for European-wide use. *Optom Vis Sci.* 2007;84(7):647–653. doi: 10.1097/OPX.0b013e3180dc9a60.
38. *Test charts for determining distance visual acuity: BS 4274-1968.* British Standards Institute, London; 1968.
39. Bailey IL, Lovie-Kitchin JE. Visual acuity testing. From the laboratory to the clinic. *Vision Res.* 2013;90:2–9. doi: 10.1016/j.visres.2013.05.004.
40. Kassoff A; Diabetic Retinopathy Study Research Group. Design of a new visual acuity chart (modified Bailey–Lovie). *Investigative Ophthalmology and Visual Science.* 1979;18:S219.
41. Хювяринен Л. *Зрение у детей: нормальное и с нарушениями.* / Пер. с англ. Е.В. Бобровой, С.В. Куликовой. — СПб.: Петербург — XXI век, 1996. — 71 с. [Khyuvyarinen L. *Zrenie u detei: normal'noe i s narusheniyami.* Transl. from English EV Bobrova, SV Kulikova. St. Petersburg: Peterburg — XXI vek; 1996. 71 p. (In Russ).]
42. Mercer ME, Drover JR, Penney KJ, et al. Comparison of Patti Pics and Lea Symbols. *Optom Vis Sci.* 2013;90(3):236–241. doi: 10.1097/OPX.0b013e3182825eb7.
43. Dobson V, Clifford-Donaldson CE, Miller JM, et al. A comparison of Lea Symbol vs ETDRS letter distance visual acuity in a population of young children with a high prevalence of astigmatism. *J AAPOS.* 2009;13(3):253–257. doi: 10.1016/j.jaapos.2009.01.007.
44. Becker R, Hübsch S, Gräf MH, Kaufmann H. Examination of young children with Lea symbols. *Br J Ophthalmol.* 2002;86(5):513–516. doi: 10.1136/bjo.86.5.513.
45. Singman EL, Matta NS, Tian J, Silbert DI. Comparing visual acuity measured by Lea Symbols and Patti Pics. *Am Orthopt J.* 2015;65(1):94–98. doi: 10.3368/aoj.65.1.94.
46. Sailoganathan A, Siderov J, Osuobeni E. A new Gujarati language logMAR visual acuity chart: development and validation. *Indian J Ophthalmol.* 2013;61(10):557–561. doi: 10.4103/0301-4738.121069.
47. Negiloni K, Mazumdar D, Neog A, et al. Construction and validation of logMAR visual acuity charts in seven Indian languages. *Indian J Ophthalmol.* 2018;66(5):641–646. doi: 10.4103/ij. IJO\_1165\_17.
48. Патент РФ на изобретение RU № 2447826. Лебедев Д.С., Белозеров А.Е., Рожкова Г.И. *Оптитипы для точной оценки остроты зрения.* [Patent RUS № 2447826. Lebedev DS, Belozеров AE, Rozhkova GI. *Optotipy dlya tochnoi otsenki ostrotы zreniya.* (In Russ).] Доступно по: <https://patentinform.ru/inventions/reg-2447826.html>. Ссылка активна на 13.02.2019.
49. Коскин СА. *Система определения остроты зрения в целях врачебной экспертизы:* Дис. ... докт. мед. наук. — Санкт-Петербург, 2009. — 178 с. [Koskin SA. *Sistema opredeleniya ostrotы zreniya v tselyakh vrachebnoy ekspertizы.* [dissertation] St. Petersburg; 2009. 178 p. (In Russ).] Доступно по: <https://search.rsl.ru/ru/record/01004294992>. Ссылка активна на 26.01.2019.
50. Росляков В.А. Новые таблицы для измерения остроты зрения: Комментарий к Первому международному стандарту и его реализации // *Рус. офтальмол. журн.* — 2001. — Т.2. — №1. — С. 36–38. [Roslyakov VA. *Novye tablitsy dlya izmereniya ostrotы zreniya: Kommentarii k Pervomu mezhdunarodnomu standartu i ego realizatsii.* *Rus Oftal'mol Z.* 2001;2(1):36–38. (In Russ).]
51. Розенблюм Ю.З., Проскурина О.В. *Острота зрения, рефракция и аккомодация у детей. Зрительные функции и их коррекция у детей: руководство для врачей.* / Под ред. С.Э. Аветисова, Т.П. Кашенко, А.М. Шамшиновой. — М.: Издательство «Медицина», 2005. — 872 с. [Rozenblyum YuZ., Proskurina OV. *Ostrota zreniya, refraktsiya i akkomodatsiya u detei. Zritel'nye funktsii i ikh korrektsiya u detei: rukovodstvo dlya vrachei.* Ed by SE Avetisov, TP Kashchenko, AM Shamshinova. — Moscow: Izdatel'stvo «Meditsina»; 2005. 872 p. (In Russ).]
52. Kazakova A, Gracheva M. *Comparison of four charts for visual acuity in view of repeatability.* Proc. of 10th Conference Of The Lithuanian Neuroscience Association. LNA and 2nd International Symposium On Visual Physiology, Environment and Perception. Visper; 2018. p. 48.
53. Мalyugin Б.Э., Соболев Н.П., Фомина О.В. Анализ функциональных результатов имплантации новой модели трифокальной интраокулярной линзы // *Офтальмохирургия.* — 2017. — №4. — С. 6–14. [Malyugin BE, Sobolev NP, Fomina OV. *Visual assessment performance after implantation of a new trifocal intraocular lens.* *Oftal'mokhirurgiya.* 2017;(4):6–14. (In Russ).] doi: 10.25276/0235-4160-2017-4-6-14.
54. Milling A, Newsham D, Tidbury LP, et al. The redevelopment of the Kay picture test of visual acuity. *Br Ir Orthopt J.* 2016;13(6):14–21.
55. Hamm LM, Anstice NS, Black JM, Dakin SC. Recognition acuity in children measured using the Auckland optotypes. *Ophthalmic Physiol Opt.* 2018;38(6):596–608. doi: 10.1111/opo.12590.
56. Frisén L. Vanishing optotypes. New type of acuity test letters. *Arch Ophthalmol.* 1986;104(8):1194–1198. doi: 10.1001/archophth.1986.01050200100060.
57. Shah N, Dakin SC, Dobinson S, et al. Visual acuity loss in patients with age-related macular degeneration measured using a novel high-pass letter chart. *Br J Ophthalmol.* 2016;100(10):1346–1352. doi:10.1136/bjophthalmol-2015-307375.
58. Anstice NS, Thompson B. The measurement of visual acuity in children: an evidence-based update. *Clin Exp Optometry.* 2014;97(1):3–11. doi: 10.1111/cxo.12086.
59. Adoh TO, Woodhouse JM. The Cardiff acuity test used for measuring visual acuity development in toddlers. *Vision Res.* 2003;34(4):555–560. doi: 10.1016/0042-6989(94)90168-6.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Казакова Анна Алексеевна**, аспирант [Anna A. Kazakova, MD]; адрес: 127051, Москва, Большой Каретный пер., д. 19, стр. 1 [address: 19 bld 1, Bolshoy Karetniy pereulok, 127051 Moscow, Russia], тел.: +7 (495) 536-92-92, e-mail: AnneKazakova@mail.ru, SPIN-код: 2648-5849, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5184-5316>

**Грачева Мария Александровна**, к.б.н. [Maria A. Gracheva, PhD]; e-mail: mg.iitp@gmail.com, SPIN-код: 1164-7489, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0196-148X>

**Покровский Дмитрий Фёдорович**, к.м.н., доцент [Dimitry F. Pokrovsky, MD, PhD, assistant professor]; e-mail: dfpokrovskiy@gmail.com, SPIN-код: 6487-5793, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5475-0398>

**Медведев Игорь Борисович**, д.м.н., профессор [Igor B. Medvedev, MD, PhD, Professor]; e-mail: glazmed@list.ru, SPIN-код: 5779-2406, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9155-8736>

О.Ю. Кытикова, Т.П. Новгородцева, Ю.К. Денисенко, М.В. Антонюк, Т.А. Гвозденко

Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» —  
 Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения,  
 Владивосток, Российская Федерация

# Роль эндоканнабиноидной сигнальной системы в патофизиологии бронхиальной астмы и ожирения

Бронхиальная астма (БА) и ожирение представляют собой одну из серьезных проблем современности, требующих разработки эффективной терапевтической стратегии. Частое сочетание данных заболеваний у одного пациента свидетельствует об общих патофизиологических механизмах и необходимости их изучения для целенаправленного лекарственного воздействия. В качестве общего механизма и потенциальной терапевтической мишени может рассматриваться эндоканнабиноидная система, участвующая во множестве физиологических и патологических процессов, рецепторы которой экспрессируются во многих центральных и периферических тканях. Данная сигнальная система модулирует функции автономной нервной системы, иммунной системы и микроциркуляции; играет важную роль в регуляции баланса энергии, метаболизма углеводов и липидов. Основные исследования, направленные на изучение вопросов функционирования эндоканнабиноидной системы, были сфокусированы в области неврологии и психиатрии, в то же время многочисленные научные данные демонстрируют важность ее участия и в патогенезе других заболеваний. В частности, эндоканнабиноидная система вовлечена в механизмы развития ожирения. Активно изучается ее роль в патогенезе бронхиальной астмы. Широкая распространенность эндоканнабиноидной сигнальной системы и ее регуляторная роль в организме открывают перспективы терапевтического воздействия при лечении бронхиальной астмы и ожирения, а также, возможно, и фенотипа бронхиальной астмы, сочетанной с ожирением. Обзор посвящен современным представлениям об эндоканнабиноидах, их рецепторах, механизмах действия и их роли в патофизиологии бронхиальной астмы и ожирения. Обсуждаются терапевтические перспективы и сложности, связанные с применением эндо- и фитоканнабиноидов в медицине.

**Ключевые слова:** ожирение, бронхиальная астма, эндоканнабиноиды.

(Для цитирования: Кытикова О.Ю., Новгородцева Т.П., Денисенко Ю.К., Антонюк М.В., Гвозденко Т.А. Роль эндоканнабиноидной сигнальной системы в патофизиологии бронхиальной астмы и ожирения. *Вестник РАМН*. 2019;74(3):200–209. doi: 10.15690/vramn1133)

## Введение

Бронхиальная астма (БА) — широко распространенное хроническое заболевание органов дыхания, которое является актуальной медико-социальной проблемой мирового уровня [1]. Данное заболевание поражает от 1

до 18% населения в разных странах и имеет тенденцию к неуклонному увеличению числа больных [2], что сопряжено с поиском эффективной лекарственной стратегии. Ожирение также становится глобальной мировой эпидемией, и потребность в разработке новых терапевтических вмешательств не теряет своей актуальности [3].

Oxana Y. Kytikova, Tatyana P. Novgorodtseva, Yulia K. Denisenko, Marina V. Antonyuk, Tatyana A. Gvozdenko

Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration —  
 Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment, Vladivostok, Russian Federation

## The Role of the Endocannabinoid Signaling System in the Pathophysiology of Asthma and Obesity

*Bronchial asthma (BA) and obesity are one of the major modern problem, requiring the development of an effective therapeutic strategy. The frequent combination of these diseases in one patient indicates the general pathophysiological mechanisms and future study for targeted drug exposure are needed. The endocannabinoid system is involved in a variety of physiological and pathological processes and can be considered as a general mechanism and a potential therapeutic target in asthma and obesity, the receptors of the system are expressed in many central and peripheral tissues. This signal system modulates the functions of the autonomic nervous system, immune system and microcirculation, plays an important role in the regulation of energy balance, metabolism of carbohydrates and lipids. The main research aimed at studying the functioning of this system was focused on neurology and psychiatry, while numerous scientific data demonstrate the importance of the participation of this system in the pathogenesis of other diseases. In particular, this system is involved in the mechanisms of obesity. The role of the endocannabinoid system in the pathogenesis of asthma is actively studied. The wide prevalence of the endocannabinoid signaling system and its regulatory role in the body opens up prospects for therapeutic effects in the treatment of asthma and obesity, as well as the possible phenotype of asthma, combined with obesity. The review is devoted to modern ideas about endocannabinoids, their receptors, mechanisms of action and their role in the pathophysiology of asthma and obesity. The therapeutic prospects and difficulties associated with the use of endocannabinoids and phytocannabinoids in medicine are discussed.*

**Keywords:** obesity, asthma, endocannabinoids.

(For citation: Kytikova OYu, Novgorodtseva TP, DenisenkoYuK, Antonyuk MV, Gvozdenko TA. The role of the endocannabinoid signaling system in the pathophysiology of asthma and obesity. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2019;74(3):200–209. doi: 10.15690/vramn1133)

Наличие взаимосвязи между ожирением и БА позволяет рассматривать их сочетание не только как коморбидную патологию, но выделять как самостоятельный фенотип [4, 5]. Частое сочетание данных заболеваний у одного пациента свидетельствует об общих патофизиологических механизмах и необходимости их изучения для целенаправленного лекарственного воздействия. В качестве общего механизма и потенциальной терапевтической мишени может рассматриваться эндоканнабиноидная система (endocannabinoid system, eCA), к которой в последнее десятилетие приковано пристальное внимание специалистов [6–8].

Компоненты данной системы широко экспрессируются в центральных и периферических тканях и участвуют во множестве физиологических процессов. Хотя основные исследования, направленные на изучение вопросов функционирования eCA, были акцентированы в области неврологии и психиатрии, многочисленные научные данные продемонстрировали важность данной системы при различных заболеваниях. Активно изучается терапевтический потенциал фитоканнабиноидов и эндоканнабиноидов при различных заболеваниях, таких как рак [9], болезнь Альцгеймера [10], рассеянный склероз [11], кардиоваскулярные заболевания [12], хроническая боль [13], ожирение [14] и БА [15, 16].

Обзор посвящен современным представлениям об эндоканнабиноидах, их рецепторах, механизмах действия и их роли в патофизиологии БА и ожирения, а также вариантах их сочетанного течения. Обсуждаются терапевтические перспективы и сложности, связанные с применением эндо- и фитоканнабиноидов в медицине.

В базе данных PubMed осуществлялся поиск научных публикаций по заданной теме за последние 10 лет. В обзор включали только те источники информации, в которых освещались вопросы функционирования эндоканнабиноидной системы, роль эндоканнабиноидов при различных заболеваниях с акцентом на БА и ожирение, рассматривались перспективы применения эндоканнабиноидов в медицине. Информационные запросы включали следующую совокупность ключевых слов: «obesity» и «asthma» (545 статей), «endocannabinoids» (1034 статьи). Найденные по данному запросу названия статей просматривали и в случае их соответствия выбранной тематике рефераты статей подвергали анализу. Если анализ реферата соответствовал критериям включения, проводили поиск и анализ полнотекстового варианта статьи.

В базе PubMed из публикаций российских авторов, соответствующих критериям включения, было 692 журнальных статьи, 19 клинических испытаний и 2 метаанализа.

### Эндоканнабиноидная система

Эндоканнабиноидная система является универсальной сигнальной системой, выполняющей в организме важные функции — от регуляции баланса энергии, метаболизма углеводов и липидов до участия в реализации иммунного ответа. Эндогенная каннабиноидная система включает в себя нейротрансмиттеры, или эндоканнабиноиды, каннабиноидные рецепторы для психоактивного ингредиента марихуаны  $\Delta^9$ -тетрагидроканнабинола ( $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol,  $\Delta^9$ -THC), а также ферментативные системы, участвующие в их синтезе, транспорте, метаболизме и деградации. Данная сигнальная система играет важную роль в регуляции функций мозга и физиологических процессов в организме, модулирует функции авто-

номной нервной системы, иммунной системы и микроциркуляции [17].

Эндоканнабиноиды являются эндогенными лигандами каннабиноидных рецепторов и представляют собой биоактивные липиды, высвобождаемые из клеточной мембраны при активации клетки. Эндоканнабиноиды включают в себя амиды, сложные эфиры и эфиры длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот. Наиболее изучены два эндоканнабиноида, являющихся производными арахидоновой кислоты — анандамид (N-арахидоноилэтаноламин; *N*-arachidonylethanolamide; anandamide, AEA) и 2-арахидоноилглицерол (2-AG; 2-arachidonoylglycerol, 2-AG) [18].

В настоящее время детально исследованы два каннабиноидных рецептора — CB1 и CB2 (cannabinoid receptor 1, 2). Однако последние научные данные свидетельствуют о существовании других каннабиноидных рецепторов, связанных с G-белками, которые расположены в центральной нервной системе, кишечнике, печени, костях, скелетных мышцах и жировой ткани (например, GPR18, GPR55, GPR119 и ряд других) [19] (рис. 1).

Рецепторы CB1 экспрессируются в областях мозга, ответственны за двигательные и когнитивные функции, память, способность к обучению и развитию положительных эмоций. Данные рецепторы обнаружены в структурах головного и спинного мозга, участвующих в регуляции гомеостаза и репродукции, температуры тела, сна и бодрствования, периферических и висцеральных ощущений [20]. Активация рецепторов CB1 на концах бронхиального нерва оказывает бронхолитическое действие. Эндоканнабиноидные CB1-рецепторы также вовлечены в модуляцию энергетического гомеостаза [21] и присутствуют в периферических органах, участвующих в энергетическом обмене [22, 23]. CB1-рецепторы экспрессируются в белой и бурой жировой тканях, печени, скелетных мышцах и поджелудочной железе.

Рецепторы CB2 локализируются в лимфоидных органах, клетках иммунной системы и обладают иммунорегуляторными функциями. Экспрессия CB2 была зарегистрирована для В-клеток, моноцитов/макрофагов и эозинофилов. Активация каннабиноидного CB2-рецептора приводит к снижению синтеза лейкотриенов и миграции лейкоцитов, а также снижению уровня Т-хелпера 2 (Th2) [19]. По данным М. Motwani и соавт., селективный агонист CB2-рецептора продемонстрировал сильную противовоспалительную активность, опосредованную ингибированием хемоаттрактанта лейкоцитов лейкотриена В4 и антиагрегационных простагландинов PGE2, тромбоксана В2 и простагландина F2 $\alpha$  [24]. Активация данного типа рецепторов на тучных клетках оказывает прямое противовоспалительное действие. Исследовательские данные свидетельствуют о важной роли тучных клеток в патофизиологии БА и раскрывают механизм их влияния на функции дыхательных путей. В норме содержание CB2-рецептора на иммунокомпетентных клетках — не менее 90%, по данным цитометрического анализа [25].

Фармакология эндоканнабиноидов продолжает расширяться за счет идентификации новых сигнальных путей. Так, в дополнение к рецепторам CB оба эндоканнабиноида могут также связывать и активировать некоторые ваниллоидные рецепторы (TRPV); кроме того, 2-AG является агонистом для нескольких подтипов семейства ядерных рецепторов, активируемых пролифератором пероксисом (peroxisome proliferator-activated receptors, PPAR  $\alpha/\gamma/\delta$ ) [26]. Лиганды каннабиноидного рецептора также обнаружены в фитоканнабиноидах,

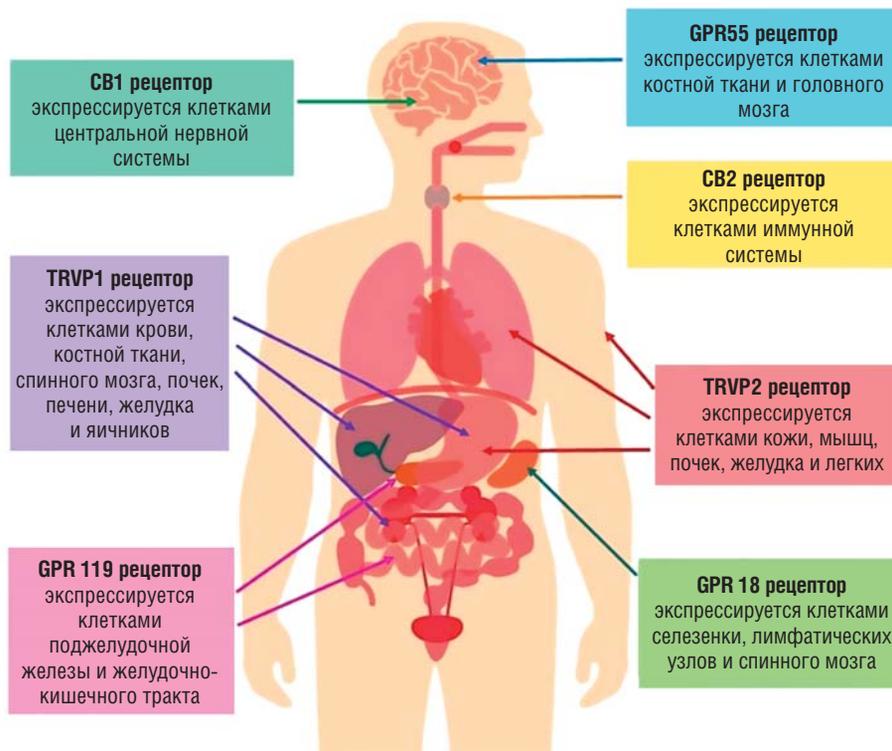


Рис. 1. Виды и локализация эндоканнабиноидных рецепторов

в частности  $\Delta^9$ -тетрагидроканнабиноле, продуцируемом растением каннабис [27].

Суперсемейство ионных каналов с транзиторным рецепторным потенциалом (transient receptor potential, TRP) у млекопитающих состоит из 28 каналов и 6 подсемейств: canonical (TRPC), vanilloid (TRPV), polycystin (TRPP), mucolipin (TRPML), ankyrin (TRPA), melastatin (TRPM) [28]. Каналы TRP представляют собой группу мембранных белков, участвующих в трансдукции множества химических и физических раздражителей. Шесть каналов (TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPA1, TRPM8) могут быть активированы различными эндогенными, фитогенными и синтетическими каннабиноидами [29]. Первым обнаруженным эндогенным агонистом TRPV1 и антагонистом TRPM8 был эндоканнабиноид анандамид. Существуют результаты исследований, указывающие на то, что 2-AG также выполняет роль агониста канала TRPV1 [30]. Кроме того,  $\Delta^9$ -тетрагидроканнабинол активно влияет на TRPV2 и оказывает умеренное модулирующее влияние на TRPV3, TRPV4, TRPA1 и TRPM8. Дисфункция TRP-каналов составляет патогенетическую основу многих воспалительных заболеваний. С активностью данных каналов связана чувствительность ноцицепторов, количество которых значительно увеличивается в легких пациентов с БА. С сенсibilизацией ванилоидного рецептора 1 (transient receptor potential vanilloid 1, TRPV1) связывают хроническое воспаление дыхательных путей и гиперсекрецию слизи [31].

PPAR $\alpha$  влияет на метаболизм жирных кислот, а его активация снижает уровень липидов, тогда как PPAR $\gamma$  участвует в регуляции адипогенеза, энергетического баланса и биосинтеза липидов. PPAR $\beta/\delta$  участвуют в окислении жирных кислот и регулируют в крови уровни глюкозы и холестерина. Было показано, что каннабиноиды, выступающие в качестве двойных агонистов PPAR $\gamma$  и CB2, такие как VCE-004.8 и Ajulemic acid, нивелируют воспаление кожи [11].

Помимо большого количества лигандов и потенциальных рецепторов, сложность каннабиноидной передачи сигналов обусловлена часто наблюдаемым смещенным агонизмом (один рецептор демонстрирует предпочтение передачи сигналов среди его возможных путей). Кроме того, каннабиноидные рецепторы способны образовывать гетеромеры друг с другом или с другими рецепторами, связанными с G-белком [32].

Биосинтетические и катаболические пути метаболизма для обоих эндоканнабиноидов также были детально изучены в последние годы [33]. Синтез эндоканнабиноидов представлен в виде схемы на рис. 2. Ферментативные системы, участвующие в синтезе, транспорте, метаболизме и деградации эндоканнабиноидов, представляют собой эндоканнабиноидные метаболические ферменты, к которым относятся гидролизующая фосфолипаза D (hydrolyzing phospholipase D, NAPE-PLD), N-ацил-фосфатидилэтаноламин (N-acylphosphatidylethanolamine, NAPE) и амидгидролаза жирных кислот (fatty acid amide hydrolase, FAAH), отвечающая за биосинтез и деградацию анандамида соответственно; sn-1-селективная диацилглицерол-липаза (sn-1 selective diacylglycerol lipase, DAGL) и моноацилглицероллипаза (monoacylglycerol lipase, MAGL), ответственные за образование и гидролиз 2-AG [34]. Таким образом, несмотря на то, что субстратом для биосинтеза обоих эндоканнабиноидов являются фосфолипиды, содержащие арахидоновую кислоту [6, 7, 25], их уровни регулируются по-разному [35]. Повышенная экспрессия цистеиниллейкотриеновых рецепторов и синтетических ферментов направляет арахидоновую кислоту к провоспалительному 5-липоксигеназному пути, увеличивая выработку воспалительных лейкотриенов. Арахидоновая кислота также образуется путем расщепления эндоканнабиноида и CB2-лиганда 2-AG амидгидролазой жирных кислот или моноацилглицероллипазой [18]. 2-AG может служить субстратом для ферментов, кото-

рые метаболизируют свободную арахидоновую кислоту, включая циклооксигеназу 2 и некоторые подтипы липоксигеназы [36].

Хотя эндоканнабиноиды могут быть измерены как в плазме, так и в сыворотке крови, есть доказательства того, что концентрации анандамида выше в сыворотке, чем в плазме, а концентрации 2-AG более надежно измеряются в сыворотке [33]. Эндоканнабиноиды также могут быть количественно определены в других биологических образцах, включая слюну [37], волосы [38], сперму, грудное молоко и амниотическую жидкость [39]. Измерения уровней эндоканнабиноидов в данных биологических образцах встречаются в литературе гораздо реже, чем измерения в крови, однако они могут иметь важные преимущества в силу более легкой доступности получения.

Уровни циркулирующих эндоканнабиноидов значительно увеличиваются при ряде заболеваний, патогенетическим механизмом которых является системное воспаление. Например, уровни 2-AG и анандамида повышаются при эндотоксическом шоке, циррозе печени, хроническом гепатите С и атеросклерозе [22]. В то же время уровни 2-AG и анандамида изменяются разнонаправленно при ожирении и БА, что диктует необходимость их дальнейшего изучения.

### Эндоканнабиноиды и ожирение

Эндоканнабиноиды играют важную роль в регуляции обмена веществ как на системном, так и на клеточном уровнях [20]. В обзоре I. Ruiz de Azua и B. Lutz сделан акцент на существование множественных эндоканнабиноидопосредованных механизмов в регуляции энергетического гомеостаза в мозге и периферических тканях [14]. Гиперактивность эндоканнабиноидной системы играет важную патофизиологическую роль в развитии висцерального ожирения и резистентности к инсулину. Повышение уровней эндоканнабиноидов обусловлено измененной экспрессией эндоканнабиноидсинтезирующих и разрушающих ферментов, индуцируемых медиаторами воспаления (цитокины или липиды). Так, активность eCB в физиологических условиях направлена на потребление и сохранение энергии, что в патологических условиях может способствовать развитию ожирения. Примечательно, что передача сигналов данной системы активируется как при голоде, так и в условиях избыточного питания. Этот парадокс предполагает роль eCB как в начале набора веса, так и при развитии ожирения.

Анандамид и 2-AG, а также связанный с ними ацилэтаноламид олеоилэтаноламид (acylethanolamide oleoylethanolamide, OEA) участвуют в регуляции расхода энергии и опосредуют развитие метаболических заболе-

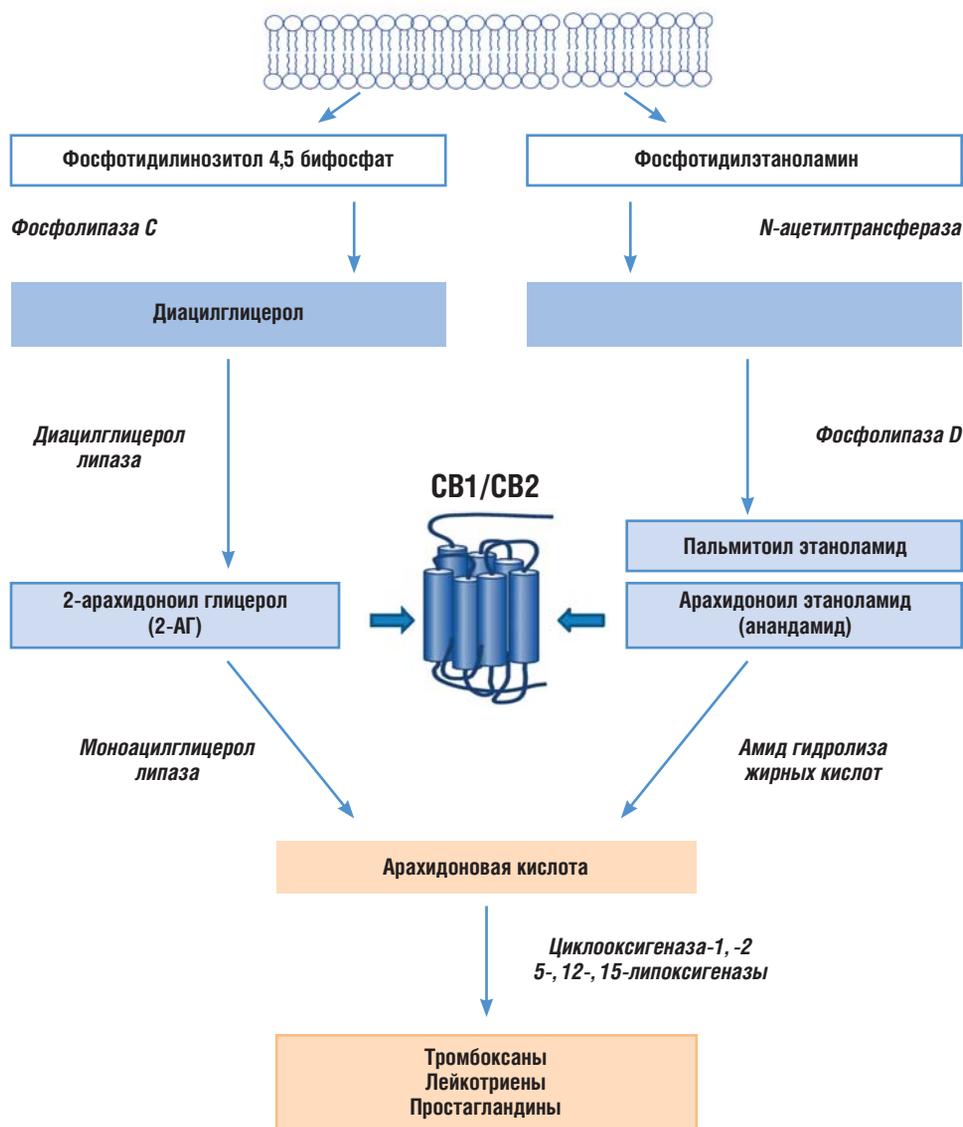


Рис. 2. Схема биосинтеза эндоканнабиноидов

ваний [40]. Недавно был идентифицирован новый участник эндоканнабиноидной сигнальной системы —  $\alpha/\beta$ -гидролазный домен 6 ( $\alpha/\beta$ -hydrolase domain-containing 6, AVHD6), участвующий в липидном обмене, который рассматривается в качестве перспективной терапевтической мишени ряда заболеваний и, возможно, может представлять интерес в терапии ожирения [41]. Анандамид и 2-AG способствуют развитию ожирения посредством поддержания повышенного соотношения омега-6/омега-3 жирных кислот [42]. Омега-6 жирные кислоты являются предшественниками анандамида и 2-AG. Повышенное соотношение омега-6/омега-3 приводит к увеличению уровней анандамида и 2-AG, стимуляции активности СВ1-рецепторов и нарушению регуляции энергетического гомеостаза, что обуславливает увеличение веса [43]. Результаты исследования С. Hindmarch и соавт. продемонстрировали повышенную экспрессию СВ1-рецепторов в гипоталамусе в ответ на изменения метаболического статуса организма [44]. СВ1-рецепторы присутствуют в ядрах гипоталамуса, которые модулируют энергетический гомеостаз посредством взаимодействий с грелином [21]. СВ1-рецепторы обнаружены в жировой ткани, поджелудочной железе, мышцах и печени [23]. Активация данного типа рецепторов эндоканнабиноидами приводит к увеличению потребления пищи и накоплению энергии посредством активации процессов поглощения глюкозы, стимуляции накопления жировой массы и активации адипогенеза в адипоцитах, индукции процессов липогенеза в печени. Кроме того, активация рецепторов первого типа стимулирует процессы, которые снижают термогенез бурого жира и поглощение глюкозы в скелетных мышцах [45]. В то же время анандамид снижает энергетические затраты, в том числе во время сна [46]. Таким образом, циркулирующие эндоканнабиноиды координируют роли СВ1-рецепторов в накоплении и хранении энергии между тканями и органами, а также в накоплении жировой массы в организме. Очевидно, что данная функция СВ1-рецепторов eCA системы имеет важное значение в патогенезе ожирения и развитии метаболического синдрома [42]. Доклинические и клинические исследования показывают, что ослабление эндоканнабиноидной системы через антагонизм СВ1-рецептора является перспективной стратегией для лечения ожирения и метаболического синдрома [47].

Высказана гипотеза о том, что концентрация эндоканнабиноидов чувствительна к некоторым аспектам потребления пищи и не регулируется у людей, страдающих ожирением [22]. До приема пищи у людей с ожирением уровень анандамида не изменялся, а уровень 2-AG был значительно повышен и положительно коррелировал с показателем индекса массы тела и с массой висцерального жира [48]. В ответ на прием любимой пищи у данных лиц значительно снижался уровень анандамида, но не наблюдалось увеличения уровня 2-AG [49]. Индуцированное потреблением пищи снижение уровня анандамида было менее выражено у нечувствительных к инсулину лиц, страдающих ожирением. В исследовании E. Kijers и соавт. продемонстрировано, что высокожировая диета у мышей достаточно быстро увеличивает циркулирующие уровни эндоканнабиноидов с быстрым начальным увеличением уровня анандамида и более медленным увеличением уровня 2-AG в ходе развития ожирения [50]. В настоящее время неизвестно, какие органы способствуют повышению уровня эндоканнабиноидов в плазме при ожирении, вызванном высокожировой диетой [22].

Исследования, в которых участвовали только женщины, показали, что уровни анандамида и 2-AG значительно выше у лиц с ожирением, чем у лиц с нормальным индексом массы тела. У мужчин с ожирением уровни анандамида до приема пищи значительно ниже, чем у мужчин с нормальным индексом массы тела [51]. Возможно, имеющиеся гендерные различия обусловлены распределением запасов висцерального и подкожного жира. В исследовании R. Abdulnour и соавт. установлено, что у инсулинорезистентных лиц, страдающих ожирением, более высокие уровни 2-AG [48]. Учитывая стимулирующее влияние 2-AG на накопление жира в жировой ткани и печени [20] и его способность стимулировать потребление вкусных продуктов за счет непосредственного влияния на мозг [52], СВ1-рецепторы вовлечены в процессы повышения аппетита и увеличения массы тела у лиц, страдающих ожирением. Соответственно, увеличение запасов жира сопровождается увеличением уровня 2-AG по механизму прямой связи.

Текущие данные подтверждают идею о том, что eCA является регулятором энергетического гомеостаза организма и вовлечена в механизмы развития ожирения [14].

### Эндоканнабиноиды и бронхиальная астма

БА представляет собой хроническое воспалительное заболевание бронхов, характеризующееся эозинофильным воспалением, экспрессией цитокинов типа Th2, повышенной секрецией слизи, а также гиперреактивностью и ремоделированием дыхательных путей. Нарушение метаболизма арахидоновой кислоты представляет собой пусковой механизм воспаления дыхательных путей при БА и может являться специфической мишенью для таргетной терапии данной патологии [53].

В бронхах мышей локализованы рецепторы PPAR- $\alpha$ , GRP55, TRPV1, СВ1 и СВ2 [30], с которыми непосредственно взаимодействуют эндоканнабиноиды [26]. В исследовании J. Zhou и соавт. показано, что уровни СВ2 и GPR55 изменяются у сенсibilизированных мышей [54]. В исследованиях *in vitro* был продемонстрирован непосредственный вклад эндоканнабиноида 2-AG [55] и селективного агониста рецептора СВ2 — JWH-133 [56] в миграцию эозинофилов посредством взаимосвязи с СВ2-рецептором. Установлено, что экспрессия белка СВ2 повышается на клеточной поверхности эозинофилов периферической крови пациентов с аллергопатологией, поддерживая роль СВ2-рецептора и его лигандов в регуляции алергениндуцированного эозинофильного воспаления. Результаты исследований данных авторов свидетельствуют о новом СВ2-индуцированном специфическом для эозинофилов «праймирующем механизме», который усиливает эффекторную функцию эозинофилов *in vitro* и усиливает воспаление бронхов *in vivo*. Таким образом, активация СВ2 вследствие системного повышенного уровня 2-AG может способствовать миграции эозинофилов в дыхательные пути.

Тучные клетки (mast cells, MC) наряду с эозинофилами вовлечены в патогенез БА и становятся гипореактивными после длительной активации TLR4 бактериальным липополисахаридом (LPS) [57]. В исследовании Z. Espinosa-Riquer и соавт. продемонстрировано, что эндоканнабиноид 2-AG и его рецептор СВ2 играют важную роль в ингибировании MC-зависимых врожденных иммунных реакций *in vivo* [57].

Данные исследования V. Shang и соавт. указывают на провоспалительное действие анандамида путем влияния на проницаемость бронхиального эпителия, опосредован-

ного метаболитами циклооксигеназы и липоксигеназы. Авторы предполагают, что это может обеспечить новый подход к лечению воспаления дыхательных путей [16].

По данным A. Corrado и соавт., eCA может быть вовлечена в патогенез аспирилиндуцированного респираторного заболевания (aspirin-exacerbated respiratory disease, AERD) посредством прямого производства арахидоновой кислоты и регуляции адаптивного иммунитета [53]. В данном пилотном исследовании авторы продемонстрировали, что измененная экспрессия CB2 специфически связана с AERD и представляет собой новую цель для будущих открытий, хотя CB1 может быть увеличен как неспецифический маркер синоназального воспаления или полипоза [58]. Можно предположить, что подавление функций данной иммуномодулирующей системы будет связано с неконтролируемым воспалением дыхательных путей при AERD. Терапевтический потенциал CB2-рецепторов и других модуляторов eCA при AERD заслуживает дальнейшего изучения.

Механизм иммуносупрессии каннабиноидами был исследован в условиях как *in vitro*, так и *in vivo* на многих моделях заболеваний, таких как рассеянный склероз, диабет, септический шок, ревматоидный артрит и аллергическая БА [59]. В исследованиях *in vitro* выявлено, что каннабиноиды ингибируют способность иммунных клеток экспрессировать интерлейкины (interleukin, IL) 2, 8, фактор некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor alpha, TNF $\alpha$ ) [25]. Каннабиноиды проявляют свои иммуносупрессивные свойства посредством индукции апоптоза, индукции регуляторных T-клеток (T-regs), ингибирования пролиферации клеток, а также продукции цитокинов и хемокинов. Блокада экспрессии CB2-рецептора при формировании иммунного ответа является важным механизмом регуляции воспалительного процесса. Так, при стимуляции иммунной системы *in vivo* интракорпоральным облучением крови и обогащением крови озонокислородной смесью наблюдалось снижение количества клеток, имеющих CB2-рецепторы, до 60 и 70% соответственно [25].

Ряд клеток врожденного иммунитета, включая эпителиальные клетки дыхательных путей, дендритные клетки, макрофаги, естественные клетки-киллеры (natural killer cells, NK) и лимфоидные клетки 2-й группы (group 2 innate lymphoid cells, ILC2), представляют собой важные компоненты патогенеза БА [60]. Результаты исследования M. Ferrini и соавт. показали важную роль активации CB2 в ответ на действие аллергена и инициацию хронического воспаления в легких путем регуляции активности NK [15]. У мышей, лишенных рецепторов CB2, наблюдалось преобладание NK-клеток в легких при уменьшенном количестве ILC2. Это позволяет предположить, что NK ограничивают ответы ILC2. Применение антагониста CB2-рецепторов эффективно влияло на разрешение аллергического воспаления легких, в то время как применение агониста CB2 усиливало эозинофильное воспаление, указывая на то, что активация CB2 играет ключевую роль в воспалительном ответе. Полученные данные согласуются и с результатами других исследователей [56]. M. Ferrini и соавт. предполагают, что NK-клетки служат для ограничения ответов ILC2 во время аллергического воспаления дыхательных путей [15]. Известно, что зрелые ILC2 продуцируют цитокины типа Th2 (IL 4, 5, 9, 13), вовлеченные в инициацию адаптивного иммунного ответа при БА [61]. Производство IL5, происходящего из ILC2, способствует накоплению эозинофилов, а IL13 может воздействовать на бокаловидные клетки, вызывая выработку слизи [62].

Примечательно, что NK-клетки, играющие ключевую роль в ограничении аллергических воспалительных реакций при БА, регулируются рядом эндогенно продуцируемых эйкозаноидов, включая простагландины D2, E2 и CB2 [15]. Авторами было исследовано влияние 2-AG на продукцию цитокинов NK-клетками легких *in vitro*. Установлено, что данный каннабиноид ингибировал продукцию интерферона  $\gamma$  легочными NK-клетками. Вероятно, эндоканнабиноиды посредством взаимодействия с CB2-рецепторами играют ключевую роль в подавлении продукции цитокинов NK-клетками в легких.

В ряде работ продемонстрировано, что каннабиноиды оказывают противовоспалительное действие и могут вызывать бронходилатацию в дыхательных путях. Так, результаты исследований T. Bockrath и соавт. показали, что применение агониста каннабиноидного рецептора CB1 (ACEA) может предотвращать развитие гиперреактивности трахеи к 5-гидрокситриптамину (5-hydroxytryptamine) при экспериментальной неатопической астме у мышей, индуцированной динитрофторбензолом (dinitrofluorobenzene, DNFB) [63].

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о терапевтическом потенциале эндоканнабиноидов при БА и перспективности дальнейших исследований в данном направлении.

205

#### **Эндоканнабиноиды, бронхиальная астма и ожирение**

Ассоциация БА с ожирением является широко распространенной синтропией, имеющей гендерные и возрастзависимые особенности [4, 5, 64]. В настоящее время признано, что ассоциация между БА и ожирением является не обычным статистическим совпадением, а фенотипом, проявляющимся трудно контролируемым течением. Этиология взаимосвязи между данными заболеваниями, несмотря на имеющиеся механические, иммунологические, генетические и гормональные концепции, остается неясной [65]. Пристального внимания удостоены иммунологическая и гормональная концепции, рассматривающие роль механизма развития хронического системного воспаления, проявляющегося иммунным дисбалансом и нарушениями липорегуляторных процессов при ожирении в патогенезе БА. Поиск характерных патологических и молекулярных особенностей фенотипа БА с ожирением, которые могут стать основой прогнозирования течения и разработки индивидуальной терапии, продолжается. Как представлено выше, эндоканнабиноидная система участвует в регуляции баланса энергии, метаболизма углеводов и липидов, а также в реализации иммунного ответа, поэтому может рассматриваться в качестве общего для БА и ожирения патогенетического механизма, вовлеченного в развитие хронического системного воспаления. В то же время работ, касающихся участия eCA в формировании фенотипа БА, сочетанной с ожирением, в доступной литературе не найдено.

Известно, что эндоканнабиноиды взаимодействуют с CB1 и CB2 рецепторами. CB1-рецепторы вовлечены в модуляцию энергетического гомеостаза и присутствуют в периферических органах, участвующих в энергетическом обмене [21–23], в то время как рецепторы CB2 локализируются в лимфоидных органах, клетках иммунной системы и обладают иммунорегуляторными функциями [19, 24].

Висцеральная жировая ткань секретирует провоспалительные и противовоспалительные медиаторы (лептин, резистин, адипонектин, TNF $\alpha$ , IL1, IL6, IL10), инициирующие развитие хронического латентного системного

воспалительного процесса в организме [66]. Хроническое воспаление дыхательных путей характеризуется развитием дисбаланса между провоспалительными (гистамин, лейкотриены, простагландины, IL1, IL2, IL6, TNF $\alpha$ ) и противовоспалительными медиаторами (IL4, IL10), угнетением Т-клеточного звена иммунной системы, активацией гуморального звена иммунитета и системы неспецифической иммунорезистентности [6, 53]. Кроме того, в механизмах формирования системной воспалительной реакции при БА одна из важных ролей отводится жирным кислотам и их метаболитам [6].

В ряде исследований показана взаимосвязь между развитием системного воспаления при ожирении и формированием БА у тучных больных [67]. Существуют взаимоотношения между модификацией состава жирных кислот крови и нарушением иммунорегуляторных механизмов системного воспаления, сопровождающего развитие и течение БА [6]. Важная роль в патофизиологии системного воспаления отводится изменению уровней ключевых гормонов жировой ткани — лептина и адипонектина. Лептин и адипонектин играют важную иммунопатофизиологическую роль в хроническом воспалении при БА, сочетанной с ожирением [68]. Однако, несмотря на признанный факт участия анандамида, 2-AG, OEA и AVHD6 в липидном обмене и развитии метаболических заболеваний, их влияние на уровни ключевых гормонов жировой ткани при БА, сочетанной с ожирением, не изучено [40–42]. Циркулирующие эндоканнабиноиды координируют роли CB1-рецепторов в накоплении и хранении энергии между тканями и органами, а также к накоплению жировой массы в организме [42, 51], поэтому их изучение может быть эффективным направлением в разработке терапевтической стратегии для данных заболеваний.

Активность тучных клеток и эозинофилов, вовлеченных в патогенез БА, тесно взаимосвязана с эндоканнабиноидной системой [55–57]. Каннабиноиды ингибируют способность иммунных клеток экспрессировать IL2, IL8, TNF $\alpha$ ; индуцируют апоптоз, Tregs; ингибируют пролиферацию клеток, а также продукцию цитокинов и хемокинов [25]. Активация CB2 играет ключевую роль в воспалительном ответе [19], так как применение антагониста CB2-рецепторов способствует разрешению аллергического воспаления легких, в то время как применение агониста CB2 усиливает эозинофильное воспаление [56]. Активация CB2 инициирует хроническое воспаление в легких путем регуляции активности NK-клеток, вовлеченных в патогенез БА [15, 60]. Агонист CB2-рецептора обладает противовоспалительной активностью, опосредованной ингибированием хемоаттрактанта лейкоцитов лейкотриена B4 и антифагоцитарных простаноидов PGE2, тромбксана B2 и простагландина F2 $\alpha$  [24]. Однако, несмотря на имеющиеся данные о влиянии эндоканнабиноидов на реализацию иммунного ответа при хроническом воспалении дыхательных путей, их влияние на звенья иммунной системы при БА, сочетанной с ожирением, практически не изучено.

Кроме рецепторов CB1 и CB2, эндоканнабиноиды могут активировать некоторые TRP и PPAR  $\alpha/\gamma/\delta$  рецепторы [26]. Дисфункция TRP-каналов составляет патогенетическую основу многих воспалительных заболеваний, в частности БА [31]. PPAR $\alpha$  влияет на метаболизм жирных кислот; PPAR $\gamma$  участвует в регуляции адипогенеза, энергетического баланса и биосинтеза липидов; PPAR $\beta/\delta$  вовлечены в окисление жирных кислот и регуляцию в крови уровня глюкозы и холестерина. Было показано, что каннабиноиды, выступающие в качестве двойных

агонистов PPAR $\gamma$  и CB2, нивелируют хроническое воспаление [11]. Таким образом, изучение взаимоотношений эндоканнабиноидов и данных рецепторов при БА, сочетанной с ожирением, является актуальным и перспективным направлением современных исследований.

Таким образом, эндоканнабиноидная система, активно участвующая в развитии и прогрессировании системного воспаления при БА и ожирении, может рассматриваться в качестве общего механизма и потенциальной терапевтической мишени при фенотипе БА, сочетанной с ожирением.

### ***Терапевтические перспективы и сложности, связанные с применением эндоканнабиноидов в медицине***

Психоактивные свойства каннабиноидов хорошо известны, однако в настоящее время в научном мире существует некоторое противоречие в отношении целесообразности использования данных соединений в терапевтических целях, несмотря на имеющийся потенциал фитоканнабиноидов и эндоканнабиноидов при лечении различных заболеваний [10–16].

Данное противоречие обусловлено имеющимся спектром побочных эффектов каннабиноидов. Так, ограничением к клиническому применению каннабиноидов при болях является развитие побочных эффектов (сонливость, головокружение, нарушения речи, ухудшение памяти и спутанность сознания) при дозировках, обладающих терапевтической активностью [13, 69]. Исследования показывают, что ослабление активности эндоканнабиноидной системы через антагонизм CB1-рецептора является перспективной стратегией для лечения ожирения и метаболического синдрома [47]. Были предприняты попытки обратить ожирение путем блокирования CB1-рецепторов римонабантом (rimonabant). Применение антагонистов CB1-рецепторов показало многообещающие результаты в лабораторных исследованиях, однако клинические испытания были прекращены из-за серьезных психических побочных эффектов [70]. Установлено, что антагонисты центрального действия CB1 вызывают побочные эффекты, такие как депрессия и беспокойство. В настоящее время усилия направлены на оптимизацию поиска антагонистов и модуляторов CB1, которые имеют ограниченное проникновение в мозг и обладают периферическим действием. Активно изучаются новые антагонисты CB1 и CB2 рецепторов [40, 46]. Разработка новых лекарств, таких как ингибиторы амидгидролазы жирных кислот и нейтральные антагонисты CB1, обещает расширить спектр терапевтического применения каннабиноидов [71]. С точки зрения стратегии разработки новых лекарств, очевидная задача состоит в том, чтобы избежать развития потенциальных психотропных побочных эффектов из-за активации CB1. С начала 2015 года было зарегистрировано около 30 новых изобретений, подчеркивающих важность изучения и перспективность терапевтического применения каннабиноидов [47].

Помимо побочных эффектов, сомнение в отношении целесообразности использования данных соединений в терапевтических целях обусловлено и наличием противоречащих друг другу результатов клинических исследований. Вероятно, что противоречивые эффекты, наблюдаемые в клинических испытаниях с использованием каннабиноидов, могут быть связаны с высокой разнородностью их рецепторов и сложностями каннабиноидной передачи сигналов [32]. Как было отмечено, каннабиноиды взаимодействуют не только с CB1 и CB2

рецепторами, но и с рецепторами GPR18 и GPR55. В связи с этим необходимы дальнейшие исследования, нацеленные на изучение терапевтического потенциала каннабиноидов.

Таким образом, данная работа является попыткой обратить внимание исследователей на функцию эндоканнабиноидной системы и эффективность применения эндоканнабиноидов в качестве терапевтических агентов при различных заболеваниях, в частности при БА, ожирении и, возможно, их сочетанном течении.

### Заключение

Бронхиальная астма и ожирение, а также их сочетанное течение представляют собой глобальную проблему современности, решение которой направлено на поиск эффективной терапевтической мишени. В качестве общего механизма и целенаправленного лекарственного воздействия может рассматриваться эндоканнабиноидная система, которая играет важную роль в регуляции обмена веществ на системном и клеточном уровнях и вовлечена в патогенез бронхиальной астмы. Обобщенные и представленные в настоящем обзоре литературные данные

свидетельствуют о терапевтическом потенциале эндоканнабиноидов при БА и ожирении и перспективности дальнейших исследований в данном направлении.

Широкая распространенность эндоканнабиноидной сигнальной системы, и ее регуляторная роль в организме открывает перспективы терапевтического воздействия при лечении бронхиальной астмы и ожирения, а также, возможно, и фенотипа БА, сочетанной с ожирением.

### Дополнительная информация

**Источник финансирования.** Исследование проводилось за счет средств федерального бюджета в рамках государственного задания ФНИ № 0547-2019-0006-С-01.

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

**Участие авторов:** все авторы внесли значимый вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Кыткова О.Ю., Гвозденко Т.А., Антонюк М.В. Современные аспекты распространенности хронических бронхолегочных заболеваний // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. — 2017. — Т.64. — С. 94–100. [Kytikova OYu, Gvozdenko TA, Antonjuk MV. Modern aspects of prevalence of chronic bronchopulmonary diseases. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhanija*. 2017;(64):94–100. (In Russ).] doi: 10.12737/article\_5936346fdcf1f3.32482903.
2. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Global Initiative for Asthma; 2018. Available from: <https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2019/01/2018-GINA.pdf>.
3. WHO. Follow-up to the political declaration of the High-level meeting of the General Assembly on the prevention and control of non-communicable diseases. Geneva, Switzerland: World Health Assembly, 66; 2013. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/150161>.
4. Кыткова О.Ю., Антонюк М.В., Гвозденко Т.А., Новгородцева Т.П. Метаболические аспекты взаимосвязи ожирения и бронхиальной астмы // *Ожирение и метаболизм*. — 2018. — Т.15. — №4. — С. 9–14. [Kytikova OYu, Antonjuk MV, Gvozdenko TA, Novgorodceva TP. Metabolic aspects of the relationship of asthma and obesity. *Obesity and metabolism*. 2018;15(4):9–14. (In Russ).] doi: 10.14341/omet9578.
5. Huang F, Del-Río-Navarro BE, Torres-Alcántara S, et al. Adipokines, asymmetrical dimethylarginine, and pulmonary function in adolescents with asthma and obesity. *J Asthma*. 2017;54(2):153–161. doi: 10.1080/02770903.2016.1200611.
6. Караман Ю.К., Лобанова Е.Г. Эндоканнабиноиды и эйкозаноиды: биосинтез, механизмы их взаимосвязи, роль в иммунных процессах // *Медицинская иммунология*. — 2013. — Т.15. — №2. — С. 119–130. [Karaman YuK, Lobanova EG. Endocannabinoids and eicosanoids: biosynthesis and interactions with immune response. *Med Immunol*. 2013;15(2):119–130. (In Russ).]
7. Denisenko YK, Lobanova EG, Novgorodtseva TP, et al. The role of arachidonic acid metabolites (endocannabinoids and eicosanoids) in the immune processes: a review. *Int J Chem Biomed Sci*. 2015;1(3):70–78.
8. Wu J. Cannabis, cannabinoid receptors, and endocannabinoid system: yesterday, today, and tomorrow. *Acta Pharmacol Sin*. 2019;40(3):297–299. doi: 10.1038/s41401-019-0210-3.
9. Fraguas-Sánchez AI, Martín-Sabroso C, Torres-Suárez AI. Insights into the effects of the endocannabinoid system in cancer: a review. *British J Pharmacol*. 2018;175(13):2566–2580. doi: 10.1111/bph.14331.
10. Maurya N, Velmurugan BK. Therapeutic applications of cannabinoids. *Chem Biol Interact*. 2018;293:77–88. doi: 10.1016/j.cbi.2018.07.018.
11. García-Martín A, Garrido-Rodríguez M, Navarrete C, et al. Cannabinoid derivatives acting as dual PPAR $\gamma$ /CB2 agonists as therapeutic agents for systemic sclerosis. *Biochem Pharmacol*. 2019;163:321–334. doi: 10.1016/j.bcp.2019.02.029.
12. Ghosh M, Naderi S. Cannabis and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2019;21(6):21. doi: 10.1007/s11883-019-0783-9.
13. Mlost J, Waśik A, Starowicz K. Role of endocannabinoid system in dopamine signalling within the reward circuits affected by chronic pain. *Pharmacol Res*. 2019;143:40–47. doi: 10.1016/j.phrs.2019.02.029.
14. Ruiz de Azua I, Lutz B. Multiple endocannabinoid-mediated mechanisms in the regulation of energy homeostasis in brain and peripheral tissues. *Cell Mol Life Sci*. 2019;76(7):1341–1363. doi: 10.1007/s00018-018-2994-6.
15. Ferrini ME, Hong S, Stierle A, et al. CB2 receptors regulate natural killer cells that limit allergic airway inflammation in a murine model of asthma. *Allergy*. 2017;72(6):937–947. doi: 10.1111/all.13107.
16. Shang VC, O'Sullivan SE, Kendall DA, Roberts RE. The endogenous cannabinoid anandamide increases human airway epithelial cell permeability through an arachidonic acid metabolite. *Pharmacol Res*. 2016;105:152–163. doi: 10.1016/j.phrs.2016.01.023.
17. Le Boisselier R, Alexandre J, Lelong-Boulouard V, Debruyne D. Focus on cannabinoids and synthetic cannabinoids. *Clin Pharmacol Ther*. 2017;101:220–229. doi: 10.1002/cpt.563.
18. Turcotte C, Chouinard F, Lefebvre JS, Flamand N. Regulation of inflammation by cannabinoids, the endocannabinoids 2-arachidonoyl-glycerol and arachidonoyl-ethanolamide, and their metabolites. *J Leuk Biol*. 2015;97(6):1049–1070. doi: 10.1189/jlb.3RU0115-021R.

19. Martín-Saldaña S, Trinidad A, Ramil E. Spontaneous cannabinoid receptor 2 (CB2) expression in the cochlea of adult albino rat and its up-regulation after cisplatin treatment. *PLoS One*. 2016;11(8):e0161954. doi: 10.1371/journal.pone.0161954.
20. Mazier W, Saucisse N, Gatta-Cherifi B, Cota D. The endocannabinoid system: pivotal orchestrator of obesity and metabolic disease. *Trends Endocrinol Metab*. 2015;26:524–537. doi: 10.1016/j.tem.2015.07.007.
21. De Luca MA, Solinas M, Bimpisidis Z, et al. Cannabinoid facilitation of behavioral and biochemical hedonic taste responses. *Neuropharmacology*. 2012;63:161–168. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.10.018.
22. Hillard CJ. Circulating endocannabinoids: from whence do they come and where are they going? *Neuropsychopharmacology*. 2018;43(1):155–172. doi: 10.1038/npp.2017.130.
23. Silvestri C, Di Marzo V. The endocannabinoid system in energy homeostasis and the etiopathology of metabolic disorders. *Cell Metab*. 2013;17(4):475–490. doi: 10.1016/j.cmet.2013.03.001.
24. Motwani MP, Bennett F, Norris PC. Potent anti-inflammatory and pro-resolving effects of anabasum in a human model of self-resolving acute inflammation. *Clin Pharmacol Ther*. 2018;8:47(2):S78. doi: 10.1002/cpt.980.
25. Lobanova EG. Role of endocannabinoid receptors in immune response regulation. *Medical Immunol*. 2014;14(3):189–194. doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-189-194.
26. Morales P, Isawi I, Reggio PH. Towards a better understanding of the cannabinoid-related orphan receptors GPR3, GPR6, and GPR12. *Drug Metab Rev*. 2018;50(1):74–93. doi: 10.1080/03602532.2018.1428616.
27. Carlier J, Diao X, Scheidweiler KB, Huestis MA. Distinguishing intake of new synthetic cannabinoids ADB-PINACA and 5F-ADB-PINACA with human hepatocyte metabolites and high-resolution mass spectrometry. *Clin Chem*. 2017;63(5):1008–1021. doi: 10.1373/clinchem.2016.267575.
28. Winter Z, Buhala A, Ötvös F, et al. Functionally important amino acid residues in the transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) ion channel: overview of the current mutational data. *Mol Pain*. 2013;9:30. doi: 10.1186/1744-8069-9-30.
29. Muller C, Morales P, Reggio PH. Cannabinoid ligands targeting TRP channels. *Front Mol Neurosci*. 2019;11:487. doi: 10.3389/fnmol.2018.00487.
30. Petrosino S, Di Marzo V. The pharmacology of palmitoylethanolamide and first data on the therapeutic efficacy of some of its new formulations. *Br J Pharmacol*. 2017;174(11):1349–1365. doi: 10.1111/bph.13580.
31. Aghazadeh Tabrizi M, Baraldi PG, Baraldi S, et al. Medicinal chemistry, pharmacology, and clinical implications of trpv1 receptor antagonists. *Med Res Rev*. 2017;37(4):936–983. doi: 10.1002/med.21427.
32. Ibsen MS, Connor M, Glass M. Cannabinoid CB1 and CB2 receptor signaling and bias. *Cannabis Cannabinoid Res*. 2017;2(1):48–60. doi: 10.1089/can.2016.0037.
33. Hillard CJ. The endocannabinoid signaling system in the CNS: a primer. *Int Rev Neurobiol*. 2015;125:1–47. doi: 10.1016/bs.irm.2015.10.001.
34. Di Marzo V. New approaches and challenges to targeting the endocannabinoid system. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2018;17(9):623–639. doi: 10.1038/nrd.2018.115.
35. Baggelaar MP, Maccarrone M, van der Stelt M. 2-Arachidonoylglycerol: a signaling lipid with manifold actions in the brain. *Prog Lipid Res*. 2018;71:1–17. doi: 10.1016/j.plipres.2018.05.002.
36. Urquhart P, Nicolaou A, Woodward DF. Endocannabinoids and their oxygenation by cyclooxygenases, lipoxygenases and other oxygenases. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1851:366–376. doi: 10.1016/j.bbalip.2014.12.015.
37. Matias I, Gatta-Cherifi B, Tabarin A, et al. Endocannabinoids measurement in human saliva as potential biomarker of obesity. *PLoS ONE*. 2012;7(7):e42399. doi: 10.1371/journal.pone.0042399.
38. Krumbholz A, Anielski P, Reisch N, et al. Diagnostic value of concentration profiles of glucocorticosteroids and endocannabinoids in hair. *Ther Drug Monit*. 2013;35:600–607. doi: 10.1097/FTD.0b013e3182953e43.
39. Lam PM, Marczylo TH, Konje JC. Simultaneous measurement of three N-acyl ethanolamides in human bio-matrices using ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2010;398:2089–2097. doi: 10.1007/s00216-010-4103-z.
40. Heinitz S, Basolo A, Piaggi P, et al. Peripheral endocannabinoids associated with energy expenditures in Native Americans of Southwestern heritage. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018;103:1077–1087. doi: 10.1210/je.2017-02257.
41. Cao JK, Kaplan J, Stella N. ABHD6: its place in endocannabinoid signaling and beyond. *Trends Pharmacol Sci*. 2019;40(4):267–277. doi: 10.1016/j.tips.2019.02.002.
42. Freitas HR, Isaac AR, Malcher-Lopes R, et al. Polyunsaturated fatty acids and endocannabinoids in health and disease. *Nutr Neurosci*. 2018;21(10):695–714. doi: 10.1080/1028415X.2017.1347373.
43. Simopoulos AP. An increase in the omega-6/omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity. *Nutrients*. 2016;8(3):128. doi: 10.3390/nu8030128.
44. Hindmarch CC, Ferguson AV. Physiological roles for the subfornical organ: a dynamic transcriptome shaped by autonomic state. *J Physiol*. 2016;594(6):1581–1589. doi: 10.1113/JP270726.
45. Verty AN, Allen AM, Oldfield BJ. The effects of rimonabant on brown adipose tissue in rat: implications for energy expenditure. *Obesity (Silver Spring)*. 2009;17(2):254–261. doi: 10.1038/oby.2008.509.
46. Argueta DA, DiPatrizio NV. Peripheral endocannabinoid signaling controls hyperphagia in western diet-induced obesity. *Physiol Behav*. 2017;171:32–39. doi: 10.1016/j.physbeh.2016.12.044.
47. Amato G, Khan NS, Maitra R. A patent update on cannabinoid receptor 1 antagonists (2015–2018). *Expert Opin Ther Pat*. 2019;29(4):261–269. doi: 10.1080/13543776.2019.1597851.
48. Abdunour RE, Dalli J, Colby JK, et al. Maresin 1 biosynthesis during platelet-neutrophil interactions is organ-protective. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(46):16526–16531. doi: 10.1073/pnas.1407123111.
49. Monteleone AM, Di Marzo V, Monteleone P, et al. Responses of peripheral endocannabinoids and endocannabinoid-related compounds to hedonic eating in obesity. *Eur J Nutr*. 2016;55(4):1799–1805. doi: 10.1007/s00394-016-1153-9.
50. Kuipers EN, Kantae V, Maarse BC, et al. High fat diet increases circulating endocannabinoids accompanied by increased synthesis enzymes in adipose tissue. *Front Physiol*. 2019;9:1913. doi: 10.3389/fphys.2018.01913.
51. Gatta-Cherifi B, Matias I, Vallee M, et al. Simultaneous postprandial deregulation of the orexigenic endocannabinoid anandamide and the anorexigenic peptide YY in obesity. *Int J Obes (Lond)*. 2012;36(6):880–885. doi: 10.1038/ijo.2011.165.
52. Wei D, Lee D, Li D. A role for the endocannabinoid 2-arachidonoyl-sn-glycerol for social and high-fat food reward in male mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 2016;233(10):1911–1919. doi: 10.1007/s00213-016-4222-0.
53. Corrado A, Battle M, Wise SK, et al. Endocannabinoid receptor CB2R is significantly expressed in aspirin-exacerbated respiratory disease: a pilot study. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2018;8(10):1184–1189. doi: 10.1002/alr.22163.
54. Zhou J, Burkovskiy I, Yang H, et al. CB<sub>2</sub> and GPR55 receptors as therapeutic targets for systemic immune dysregulation. *Front Pharmacol*. 2016;7:264. doi: 10.3389/fphar.2016.00264.

55. Larose MC, Turcotte C, Chouinard F, et al. Mechanisms of human eosinophil migration induced by the combination of IL5 and the endocannabinoid 2-arachidonoyl-glycerol. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133(5):1480–1482. doi: 10.1016/j.jaci.2013.12.1081.
56. Frei RB, Luschning P, Parzmair GP, et al. Cannabinoid receptor 2 augments eosinophil responsiveness and aggravates allergen-induced pulmonary inflammation in mice. *Allergy*. 2016;71(7):944–956. doi: 10.1111/all.12858.
57. Espinosa-Riquer ZP, Ibarra-Sánchez A, Vibhushan S, et al. TLR4 receptor induces 2-AG-dependent tolerance to lipopolysaccharide and trafficking of CB2 receptor in mast cells. *J Immunol*. 2019;202(8):2360–2371. doi: 10.4049/jimmunol.1800997.
58. Hoyt AE, Borish L, Gurrola J, Payne SC. Allergic fungal rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016;4(4):599–604. doi: 10.1016/j.jaip.2016.03.010.
59. Oláh A, Szekanecz Z, Bíró T. Targeting cannabinoid signaling in the immune system: “High”-ly exciting questions, possibilities, and challenges. *Front Immunol*. 2017;8:1487. doi: 10.3389/fimmu.2017.01487.
60. Smith SG, Chen R, Kjarsgaard M, et al. Increased numbers of activated group 2 innate lymphoid cells in the airways of patients with severe asthma and persistent airway eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(1):75–86. doi: 10.1016/j.jaci.2015.05.037.
61. Roediger B, Weninger W. Group 2 innate lymphoid cells in the regulation of immune responses. *Adv Immunol*. 2015;125:111–154. doi: 10.1016/bs.ai.2014.09.004.
62. Nussbaum JC, Van Dyken SJ, von Moltke J, et al. Type 2 innate lymphoid cells control eosinophil homeostasis. *Nature*. 2013;502(7470):245–248. doi: 10.1038/nature12526.
63. Bozkurt TE, Kaya Y, Durlu-Kandilci NT, et al. The effect of cannabinoids on dinitrofluorobenzene-induced experimental asthma in mice. *Respir Physiol Neurobiol*. 2016;231:7–13. doi: 10.1016/j.resp.2016.05.012.
64. Scott H, Gibson P, Garg M, et al. Sex hormones and systemic inflammation are modulators of the obese-asthma phenotype. *Allergy*. 2016;71(7):1037–1047. doi: 10.1111/all.12891.
65. Shore SA. Obesity and asthma: possible mechanisms. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(5):1087–1093. doi: 10.1016/j.jaci.2008.03.004.
66. De Lima Azambuja R, da Costa Santos Azambuja L, Costa S, et al. Adiponectin in asthma and obesity: protective agent or risk factor for more severe disease? *Lung*. 2015;193(5):749–755. doi: 10.1007/s00408-015-9793-8.
67. Song Y. Asthma, chronic obstructive pulmonary disease, and type 2 diabetes in the women’s health study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010;90(3):365–437. doi: 10.1016/j.diabres.2010.09.010.
68. Sood A, Shore SA. Adiponectin, leptin, and resistin in asthma: basic mechanisms through population studies. *J Allergy (Cairo)*. 2013;2013:785835. doi: 10.1155/2013/785835.
69. Kalliomäki J, Segerdahl M, Webster L, et al. Evaluation of the analgesic efficacy of AZD1940, a novel cannabinoid agonist, on post-operative pain after lower third molar surgical removal. *Scand J Pain*. 2013;4(1):17–22. doi: 10.1016/j.sjpain.2012.08.004.
70. Gertsch J. Cannabimimetic phytochemicals in the diet — an evolutionary link to food selection and metabolic stress adaptation? *Br J Pharmacol*. 2017;174(11):1464–1483. doi: 10.1111/bph.13676.
71. Sloan ME, Gowin JL, Ramchandani VA, et al. The endocannabinoid system as a target for addiction treatment: trials and tribulations. *Neuropharmacology*. 2017;124:73–83. doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.05.031.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Кытjikова Оксана Юрьевна**, д.м.н. [*Oksana Y. Kytikova*, MD, PhD, Professor]; адрес: 690105, Владивосток, ул. Русская, д. 73Г [address: 73G, Russkaya street, 690105 Vladivostok, Russia], тел./факс: +7 (423) 278-82-01, e-mail: kytjikova@yandex.ru, SPIN-код: 3006-5614, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5018-0271>

**Новгородцева Татьяна Павловна**, д.б.н., профессор [*Tatyana P. Novgorodtseva*, PhD, Professor]; e-mail: nauka@niivl.ru, SPIN-код: 5888-6099, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6058-201X>

**Денисенко Юлия Константиновна**, д.б.н. [*Yuliya K. Denisenko*, PhD]; e-mail: karaman@inbox.ru, SPIN-код: 4997-3432, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4130-8899>

**Антонюк Марина Владимировна**, д.м.н., профессор [*Marina V. Antonyuk*, MD, PhD, Professor]; e-mail: antonyukm@mail.ru, SPIN-код: 3446-4852, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2492-3198>

**Гвозденко Татьяна Александровна**, д.м.н., профессор РАН [*Tatyana A. Gvozdenko*, MD, PhD, Professor]; e-mail: vfdnz@mail.ru, SPIN-код: 7869-1692, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6413-9840>

В.М. Тимербулатов, Ш.В. Тимербулатов, Р.Р. Фаязов,  
М.В. Тимербулатов, Э.Н. Гайнуллина, Р.А. Смыр

Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Российская Федерация

## Диагностика и выбор метода лечения интраабдоминальной гипертензии и абдоминального компартмент-синдрома

**Обоснование.** Интраабдоминальная гипертензия (ИАГ) и абдоминальный компартмент-синдром (АКС) остаются сложной проблемой абдоминальной хирургии. К настоящему времени достаточно глубоко изучены патофизиологические механизмы, методы определения интраабдоминального давления, частоты его измерения, методы консервативного и хирургического лечения. В последние десятилетия все больше исследователей рассматривают хирургическую декомпрессию как вариант лечения при рефрактерных формах ИАГ и АКС.

**Цель исследования** — анализ результатов внедрения мониторинга показателей внутрибрюшного давления и его влияния на исходы лечения пациентов с тяжелой формой острого панкреатита и острой непроходимостью толстой кишки. **Методы.** Проведено ретроспективное исследование 397 больных с экстренной абдоминальной патологией, в том числе 197 с острой обтурационной непроходимостью толстой кишки и 200 с тяжелым острым панкреатитом. В I (основную) группу включены пациенты ( $n=201$ ), которым исследование и лечение проводились с учетом показателей интраабдоминального давления как главного критерия оценки состояния больного и выбора метода лечения, во II (сравнения) — без учета и мониторинга показателей. Измерение интраабдоминального давления, лактата крови определяли первично, далее через 4–6 ч. Обследование включало изучение биохимических показателей, проведение эндоскопических методов визуализации (ультразвуковое сканирование, компьютерную томографию органов брюшной полости). Наблюдение и клиническую оценку проводили в раннем послеоперационном периоде (в период госпитализации). **Результаты.** В I группе ИАГ I и II степени отмечена в 73,1% случаев, во II группе — в 78,5%, III и IV степени — в 26,9 и 21,5% соответственно ( $p>0,05$ ). Измерение интраабдоминального давления проводилось по методике Кроп, повторные измерения в зависимости от степени ИАГ — через 4–6 ч; одновременно определяли концентрацию лактата в крови как показатель ишемии внутренних органов и перфузионного абдоминального давления (разница между средним артериальным и интраабдоминальным давлением). Предложен алгоритм ранней диагностики при подозрении на наличие избыточного интраабдоминального давления. При I и II степени ИАГ применяли агрессивную консервативную терапию, безуспешность агрессивной интенсивной терапии при III степени заболевания требовала хирургического лечения, при IV степени выполняли экстренную декомпрессию лапаротомией. В I группе пациентов летальность была значимо ниже по сравнению с группой II — 16,4 против 25,0% ( $p<0,05$ ), при III степени обтурационной непроходимости толстой кишки — 27,8 и 50% ( $p>0,05$ ), при тяжелом остром панкреатите — 37,5 и 80% ( $p<0,01$ ), при IV степени обтурационной непроходимости толстой кишки — 75 и 90% ( $p>0,05$ ), при тяжелом остром панкреатите — 75 и 88,9% соответственно ( $p>0,05$ ). **Заключение.** Результаты лечения пациентов с ИАГ любой степени могут быть улучшены ее ранней диагностикой. При I и II степенях ИАГ показано консервативное лечение, настойчивое агрессивное консервативное лечение необходимо проводить при наличии III степени, но при безуспешности мероприятий, при IV степени необходимо выполнить экстренную декомпрессию лапаротомией.

**Ключевые слова:** интраабдоминальная гипертензия, абдоминальный компартмент-синдром, диагностика, выбор метода лечения.

(Для цитирования: Тимербулатов В.М., Тимербулатов Ш.В., Фаязов Р.Р., Тимербулатов М.В., Гайнуллина Э.Н., Смыр Р.А. Диагностика и выбор метода лечения интраабдоминальной гипертензии и абдоминального компартмент-синдрома. Вестник РАМН. 2019;74(3):210–215. doi: 10.15690/vramn1080)

### Обоснование

В последние три десятилетия в исследованиях показана важная роль избыточного, особенно острого, быстрого повышения интраабдоминального давления (ИАД), клинически значимые патологические эффекты которого принято называть синдромом интраабдоминальной гипертензии (ИАГ), абдоминальным компартмент-синдромом (АКС).

Ввиду разнообразных этиологических факторов, ведущих к повышению интраабдоминального давления (воспалительные, деструктивные процессы, травмы, сепсис, послеоперационные осложнения и др.), а также отрицательного влияния повышенного интраабдоминального давления на функции гастроинтестинальной, дыхательной, сердечно-сосудистой, центральной нервной систем и почек, состояние ИАГ клинически зачастую не распознается, хотя (ИАД $>12$  мм рт.ст.) встречается у 25–30% терапевтических и более чем у 40% экстренных хирургических больных [1–3], а смертность может достигать от 10 до 68% и выше [3, 4].

В 2013 г. были внесены существенные поправки в рекомендации Всемирного общества по абдоминальному

компартмент-синдрому (World Society of the Abdominal Compartment Syndrome, WSACS) 2006, 2007 и 2009 гг. В настоящее время важная роль отводится результатам клинических исследований и подтверждению предложенных рекомендаций практическим опытом [5]. В целом, лечебная тактика при ИАГ и АКС представляется менее «агрессивной» и более консервативной, открытая хирургическая декомпрессия применяется, когда исчерпан весь арсенал известных методов консервативного медикаментозного лечения [6].

Клинические симптомы также являются точным предиктором высокого интраабдоминального давления, а его регулярные измерения позволяют выявлять больных с риском развития ИАГ и АКС [7, 8]. Алгоритм рекомендаций WSACS основан на трех принципах [5]. Во-первых, регулярные измерения интраабдоминального давления необходимы для диагностики ИАГ и АКС. Во-вторых, когда интраабдоминальное давление увеличивается, медикаментозное лечение должно быть проведено как можно скорее для его снижения и предупреждения развития АКС. В-третьих, целенаправленная оптимизация системной гемодинамики важна для поддержания функции

органов во время хирургической декомпрессии брюшной полости, в случае когда ранее упомянутые меры бывают безуспешными.

**Цель исследования** — анализ результатов внедрения мониторинга показателей внутрибрюшного давления и его влияние на исходы лечения пациентов с тяжелой формой острого панкреатита и острой непроходимостью толстой кишки.

## Методы

### Дизайн исследования

Выполнено открытое наблюдательное контролируемое моноцентровое ретроспективное исследование.

### Критерии соответствия

Предметом изучения служила медицинская документация — медицинские карты стационарного больного, пациентов, госпитализированных в клинику хирургии с января 2009 по декабрь 2017 г. с экстренной абдоминальной патологией. Сбор материала проведен сплошным методом.

### Критерии включения медицинских карт в исследование:

- возраст пациентов от 18 лет, имеющих высокий риск развития ИАГ и АКС в первые 96 ч госпитализации (вздутие живота, ацидоз, олигурия, рефрактерная к восстановлению объема циркулирующей крови, гипоксемия, рефрактерная к увеличению фракции кислорода, повышению пикового инспираторного давления; внутрибрюшное давление  $\geq 15$  мм рт.ст.);
- наличие острой обтурационной непроходимости толстой кишки;

- тяжелый острый панкреатит;
- наличие информированного добровольного согласия пациентов на медицинские вмешательства;
- возможность использования медицинских данных в научных целях.

### Критерии исключения:

- отсутствие информированного согласия;
- внутрибрюшное давление  $< 15$  мм рт.ст.;
- пациенты с нарушениями функции мочевого пузыря и нейрогенным мочевым пузырем;
- пациенты с переломом или гематомой таза.

### Условия проведения

Исследование выполнено на базе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Республики Башкортостан «Больница скорой медицинской помощи» (Уфа), отделений неотложной хирургической помощи и реанимации и интенсивной терапии.

### Продолжительность исследования

Исследование проведено с 1.02.2018 по 31.07.2018 г.

### Описание медицинского вмешательства

Интраабдоминальное давление измеряли по методике I. Kron [9], применяли мониторы Spiegelberg (Германия) и Triton (Россия). В отдельных случаях использовали косвенный способ измерения давления путем введения катетера диаметром 2 мм с боковым отверстием во влагалище прямой мышцы живота, который присоединяли к устройству Stryker (США). Точность такого способа измерения мы подтвердили путем сопоставления субфасциального (во влагалище прямой мышцы

211

V.M. Timerbulatov, Sh.V. Timerbulatov, R.R. Fayazov, M.V. Timerbulatov,  
E.N. Gaynullina, R.A. Smir

Department of surgery Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation

## Diagnosis and Choice of a Method of Treatment of Intraabdominal Hypertension and Abdominal Compartment Syndrome

**BACKGROUND:** Intra-abdominal hypertension (IAH) and abdominal compartment syndrome (ACS) remain a complex problem of abdominal surgery. To date, the pathophysiological mechanisms, methods for determining intra-abdominal pressure (IAP) the frequency of its measurement, and the methods of conservative and surgical more and more researchers consider surgical decompression as a treatment. **AIMS:** Analysis of the results of the implementation of monitoring of intra-abdominal pressure and its impact on the outcomes of treatment of patients with severe acute pancreatitis and acute colon obstruction. **MATERIALS AND METHODS:** A study of 397 patients with emergency abdominal pathology including 197 with acute obstructive obstruction of the colon (AOOC), 200 severe acute pancreatitis (SAP) was performed. Patients ( $n=201$ ) were included in the I (main) group, which was carried out using IAP as the main criterion for assessing the patient's condition and when choosing a method of treatment, in II — without taking then into account and monitoring. Measurement of IAP, blood lactate was determined primarily, then alternatively 4 to 6 hours. The survey included the study of biochemical indicators, endoscopic methods, visualization (ultrasound scanning, CT of the abdominal cavity organs). **RESULTS:** In the I group of IAH patients, I and II degrees were in 73.13%, in the II group — in 79.5% IAH III and IV degrees, respectively, in 26.87% and 21.5% ( $p>0.05$ ). Measurement of IAP was carried out according to the I.L. Kron method, repeated measurement depending on the degree of IAH after 4–6 hours, simultaneously, as a predictor of internal ischemia, determined the level of lactate in blood and perfusion abdominal pressure. An algorithm for early diagnosis is suggested excess intraabdominal pressure. For I and II, the degree of IAH was treated with aggressive conservative therapy, with failure of intensive therapy III of IAH degree — surgical treatment, with IV degree IAH — emergency decompressive laparotomy. In the I group, the mortality was significantly lower than in the II group: IAH at III, with AOOC 27.7% and 50%, respectively ( $p>0.05$ ), at SAP — 37.5% and 80% ( $p<0.01$ ), respectively, at IV degree IAH — for AOOC — 75% and 90% ( $p>0.05$ ), with SAP — 75% and 88.8% ( $p>0.05$ ) respectively. **CONCLUSIONS:** The results of treatment of patients with IAH can be improved by its early diagnosis, intensive, aggressive therapy of IAH I–III degrees. At IAH I, II degrees conservative treatment is shown, persistent aggressive conservative treatment should be performed at IAH III degree, if it is unsuccessful and IV degree of IAH, an emergency decompressive laparotomy should be performed.

**Keywords:** intraabdominal hypertension, abdominal compartment syndrome, diagnosis, choice of treatment method.

**(For citation):** Timerbulatov VM, Timerbulatov ShV, Fayazov RR, Timerbulatov MV, Gaynullina EN, Smir RA. Diagnosis and choice of a method of treatment of intraabdominal hypertension and abdominal compartment syndrome. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2019;74(3):210–215. doi: 10.15690/vramn1080



**Рис.** Обследование при подозрении на интраабдоминальную гипертензию

*Примечание.* ИАД — интраабдоминальное давление, ПДБП — перфузионное давление в брюшной полости.

живота) давления и интраабдоминального давления при лапароскопии.

Измерение интраабдоминального давления проводилось при госпитализации пациентов, а в зависимости от степени ИАГ проводились повторные измерения через 4–6 ч. При показателях интраабдоминального давления >12 мм рт.ст., лактата крови >1,6 ммоль/л, отклонении одного и более других показателей (рис.) предполагали наличие ИАГ и начинали проводить мониторинг показателя.

В сомнительных случаях проводилось повторное измерение интраабдоминального давления в течение 2–4–6 ч и более. Одновременно определяли уровень перфузионного давления в брюшной полости (ПДБП), который свидетельствует о степени ишемии органов брюшной полости.

Перфузионное давление в брюшной полости рассчитывали как разницу между средним артериальным (САД) и интраабдоминальным (ИАД) давлением:

$$\text{ПДБП} = \text{САД} - \text{ИАД}.$$

Измерение диаметра бедренных вен с целью сравнения проводилось у больных в возрасте 20–35 лет без кардиореспираторной патологии. В качестве результативного признака использовались диаметр общих бедренных вен и скорость кровотока в них.

### Исходы исследования

#### Основной исход исследования

Оценивалась клиническая эффективность разработанной методики по показателям интраабдоминального давления, частоте случаев госпитализации с летальным исходом в раннем послеоперационном периоде.

#### Анализ в подгруппах

Для оценки эффективности данного подхода к лечению исследование проведено в два этапа.

На I этапе был проведен ретроспективный анализ историй болезни 201 пациента (основная группа), госпитализированного в клинику хирургии с 2013 по 2017 г., в т.ч. 101 (50,2%) с острой обтурационной непроходимостью толстой кишки и 100 (49,8%) с тяжелым острым панкреатитом, которым исследование и лечение проводили с учетом показателей интраабдоминального давления и концентрации лактата крови как главных критериев оценки состояния больных при выборе метода лечения.

На II этапе в ходе ретроспективного анализа историй болезни 196 пациентов, лечившихся в клинике с 2009 по 2012 г. традиционными методами без учета мониторинга интраабдоминального давления, была сформирована II группа (сравнения), из них 96 (49,0%) пациентов с острой обтурационной непроходимостью толстой кишки и 100 (51,0%) — с тяжелым острым панкреатитом.

Пациенты обеих групп были сопоставимы по половозрастным показателям, нозологическим формам, степени ИАГ ( $p > 0,05$ ).

### Методы регистрации исходов

Симптомы ИАГ неспецифичны, и при тщательном целенаправленном анализе присутствуют у большинства больных в критическом состоянии, госпитализированных в отделение интенсивной терапии и реанимации. Степень ИАГ определяли в соответствии с классификацией D. Meldrum и соавт [2]: при I степени интраабдоминальное давление составляет 10–15 мм рт.ст., при II — 16–25 мм рт.ст., при III — 26–35 мм рт.ст., при IV — более 35 мм рт.ст.

Для подтверждения синдрома ИАГ измерение внутрибрюшного давления проводилось каждые 4–6 ч, одновременно определялся уровень перфузионного давления в брюшной полости.

При подозрении на ИАГ проводили обследование с оценкой следующих клинико-лабораторных параметров (см. рис.).

### Этическая экспертиза

Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 14 от 31.01.2013) с учетом того, что в ходе госпитализации пациенты давали разрешение на использование их медицинских данных в научных целях.

### Статистический анализ

#### Методы статистического анализа данных

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакетов статистических программ Microsoft Excel и Statistica 10. Анализ количественных данных на его соответствие нормальному распределению проводился по критерию Шапиро–Уилка. В случае нормального распределения переменные представляли в виде средней арифметической (M), стандартного отклонения (SD), ошибки средней арифметической (m). Для сравнения категориальных переменных определяли критерий Пирсона  $\chi^2$ . Корреляционные связи анализировали по многофакторному регрессионному анализу, коэффициенту линейной корреляции (r). Для сравнения процентных долей применяли угловое преобразование Фишера (φ-преобразование). Для оценки эффективности нового метода лечения рассчитывали отношение шансов (odds ratio, OR) и 95% доверительный интервал (95% ДИ). Для оценки степени (доли) влияния фактора проводился однофакторный дисперсионный анализ, где были рассчитаны F-критерий и уровень статистической значимости (p). Отличия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Таблица 1.** Распределение пациентов по степени интраабдоминальной гипертензии [2]

Степень ИАГ	Основная группа (n=201)		Группа сравнения (n=196)	
	ООНТК n=101(%)	ТОП n=100(%)	ООНТК n=96(%)	ТОП n=100(%)
I	43 (42,5)	52 (52,0)	47 (48,9)	50 (50,0)
II	28 (27,7)	24 (24,0)	23 (23,9)	26 (26,0)
III	18 (17,8)	16 (16,0)	16 (16,6)	15 (15,0)
IV	12 (11,8)	8 (8,0)	10 (10,4)	9 (9,0)

*Примечание.* ИАГ — интраабдоминальная гипертензия, ООНТК — острая обтурационная непроходимость толстой кишки, ТОП — тяжелый острый панкреатит.

## Результаты

### Объекты (участники) исследования

В исследование были включены 397 медицинских карт пациентов, в том числе 197 с острой обтурационной непроходимостью толстой кишки и 200 с тяжелым острым панкреатитом. Средний возраст пациентов составил  $55,9 \pm 5,84$  года, доля мужчин — 63,2%, женщин — 36,8%. В I группе ИАГ I и II степени была установлена в 73,1% случаев, во II группе — в 78,5% ( $p > 0,05$ ), III и IV степени — в 26,9 и 25,5% соответственно ( $p > 0,05$ ) (табл. 1).

### Основные результаты исследования

В основной группе при показателях интраабдоминального давления  $>12$  мм рт.ст., лактата крови  $>1,6$  ммоль/л и наличии отклонения одного и более других показателей предполагали наличие ИАГ и начинали мониторинг показателей интраабдоминального давления. В сомнительных случаях осуществляли повторные измерения внутрибрюшного давления в течение 2–4–6 ч и более. Одновременно определяли уровень перфузионного давления в брюшной полости, который свидетельствует о степени ишемии органов брюшной полости.

По мере повышения интраабдоминального давления пропорционально его росту прогрессивно увеличивался диаметр бедренных вен: при нулевом показателе давления диаметр вен составлял в среднем  $8,6 \pm 0,8$  мм, при максимальном (20 мм рт.ст.) —  $13,9 \pm 0,47$  мм ( $p < 0,001$ ).

В ходе однофакторного дисперсионного анализа установлено статистически значимое влияние интраабдоминального давления на скорость кровотока в общих бедренных венах: для правой вены влияние фактора составило 81% ( $F=101$ ,  $p < 0,0001$ ), для левой — 92% ( $F=104$ ,  $p < 0,0001$ ). Кроме того, выявлена сильная прямая взаимосвязь скорости кровотока от интраабдоминального давления —  $r=0,90$ ,  $p < 0,001$  и  $r=0,96$ ,  $p < 0,001$  соответственно.

**Таблица 2.** Показатели летальности в исследуемых группах пациентов

Степень ИАГ	Основная группа (n=201)			Группа сравнения (n=196)		
	ООНТК n=101(%)	ТОП n=100(%)	в I группе	ООНТК n=96(%)	ТОП n=100(%)	во II группе
I	1 (2,3)	1 (1,9)	2 (2,1)	2 (4,3)	1 (2,0)	3 (3,1)
II	3 (10,7)	2 (8,3)	5 (9,6)	5 (21,7)	4 (15,4)	9 (18,4)
III	5 (27,8)	<b>6 (37,5)**</b>	<b>11 (32,4)**</b>	8 (50,0)	12 (80,0)	20 (64,5)
IV	9 (75,0)	6 (75,0)	15 (75,0)	9 (90,0)	8 (88,9)	17 (89,5)
Всего	18 (17,8)	<b>15 (15,0)*</b>	<b>33 (16,4)*</b>	24 (25,0)	25 (25,0)	49 (25,0)

*Примечание.* Жирным шрифтом отмечена достоверность различий ( $p$ ) между группами (подгруппами) при соответствующей степени ИАГ при  $<0,05$  (\*) и  $<0,01$  (\*\*). ИАГ — интраабдоминальная гипертензия, ООНТК — острая обтурационная непроходимость толстой кишки, ТОП — тяжелый острый панкреатит.

У пациентов с I степенью ИАГ проводили консервативную терапию, адекватную центральному венозному давлению, почасовому диурезу, сердечному выбросу (инфузия растворов; декомпрессия желудка, толстой кишки; ингибиторы протеаз, внутривенно антибиотики). У всех больных удалось добиться снижения или нормализации интраабдоминального давления (до  $9,5 \pm 0,8$  мм рт.ст.). Больные с острой обтурационной непроходимостью толстой кишки в последующем были оперированы в сроки от 24 до 48 ч. Экстренных хирургических вмешательств у пациентов с тяжелым острым панкреатитом не потребовалось.

У пациентов со II степенью ИАГ проводили измерение интраабдоминального давления через 2–4 ч, других показателей — через 4–6 ч, лечебная тактика была дополнена малообъемной инфузионной терапией. При нарастании ИАГ, снижении перфузионного давления в брюшной полости, увеличении лактата крови в течение 6–12 ч устанавливали показания к нейромышечной блокаде — длительной перидуральной блокаде (0,2% раствор ропивакаина со скоростью инфузии 6 мл/ч). При отсутствии эффекта и нарастании интраартериального давления выше 25 мм рт.ст. выполняли лапаротомию. Анализ показал, что в этой группе больных консервативная терапия была успешной у 18 (64,3%) из 28 пациентов с острой обтурационной непроходимостью толстой кишки и у 20 (83,3%) из 24 пациентов с тяжелым острым панкреатитом. После консервативного лечения больные с острой обтурационной непроходимостью толстой кишки в течение первых 12–24 ч подвергнуты хирургическому лечению, пациентам с тяжелым острым панкреатитом была продолжена консервативная терапия.

У пациентов с ИАГ III степени проводили интенсивную терапию в течение 2–4 ч, включая нейромышечную блокаду, оценивали ее эффективность; проводили мониторинг интраабдоминального давления и при его снижении на 5–10 мм рт.ст. продолжали консервативное лечение. При сохранении исходного уровня внутрибрюшного давления или его увеличении выполняли экстренную декомпрессию лапаротомию параллельно с реанимационными мероприятиями.

Мониторинг интраабдоминального давления позволяло своевременно проводить декомпрессию живота, что обеспечило статистически значимое снижение летальности у пациентов I группы по сравнению пациентами группы II, которым декомпрессию лапаротомию выполняли после 6–12-часовой консервативной терапии.

В табл. 2 отражена динамика летальности в исследуемых группах пациентов. В целом, в I группе летальность статистически значимо снизилась (в 1,5 раза) по сравнению с группой II ( $p < 0,05$ ). У пациентов с острой

обтурационной непроходимостью толстой кишки летальность снизилась на 7,2% ( $p>0,05$ ), с тяжелым острым панкреатитом — на 10,0% ( $p<0,05$ ). Снижение летальности произошло преимущественно у пациентов с III степенью ИАГ — на 32,1% ( $p<0,01$ ), у пациентов с острой обтурационной непроходимостью толстой кишки — на 22,3% ( $p>0,05$ ), с тяжелым острым панкреатитом — на 42,5% ( $p<0,01$ ). Несмотря на то, что среди пациентов с IV степенью ИАГ в основной группе летальность оставалась высокой, отмечалось ее снижение при острой обтурационной непроходимости толстой кишки на 15,0% ( $p>0,05$ ), при тяжелом остром панкреатите — на 13,8% ( $p>0,05$ ). Эффективность новой методики подтверждает показатель  $OR=0,599$  (95% ДИ 0,349–0,994;  $p<0,05$ ).

### Нежелательные явления

У 5 (9,6%) из 52 пациентов с I степенью ИАГ в течение 3 нед проводилось пункционное лечение панкреатических абсцессов I степени под контролем ультрасонографии.

У 4 (16,7) из 24 пациентов со II степенью ИАГ при отсутствии эффекта от консервативной терапии выполнены миниинвазивные вмешательства на поджелудочной железе или перипанкреатической клетчатке (интервенционные или минилумботомные вмешательства). У пациентов с ИАГ III степени прогностически неблагоприятные ситуации возникали при перфузионном давлении в брюшной полости  $<50$  мм рт.ст., что чаще всего было при АКС (прогностическая вероятность смерти  $>50\%$ ).

### Обсуждение

В проведенном ретроспективном исследовании нами продемонстрированы результаты, отражающие эффективность лечения группы пациентов с ИАГ, проводимого под контролем интраабдоминального давления и других параметров. Широкий спектр потенциальных причин развития ИАГ требует внимательного отношения к тяжелым больным, находящимся в критическом состоянии, госпитализированным преимущественно в отделения реанимации и интенсивной терапии, с экстренной хирургической патологией, которым измерение интраабдоминального давления должно проводиться первично в обязательном порядке.

### Резюме основного результата исследования

Комплексная оценка результатов мониторинга интраабдоминального давления с другими показателями (уровнем перфузионного абдоминального давления, концентрацией лактата в крови и др.), позволяющая своевременно определять ИАГ, ее степень, возможные риски, является основой хирургической тактики ведения таких пациентов. При I и II степени ИАГ применялась агрессивная консервативная терапия, при III степени с учетом отсутствия эффекта интенсивной терапии — хирургическое лечение, при IV степени — экстренная декомпрессивная лапаротомия. Кратковременная нейромышечная блокада эффективна при умеренных формах ИАГ.

### Обсуждение основного результата исследования

Предварительная оценка функционального состояния легких, почек, определение уровня сатурации крови, рН и лактата крови могут способствовать раннему распознаванию ИАГ. Измерение диаметра и ско-

рости кровотока в бедренных венах поможет заподозрить наличие повышенного интраабдоминального давления.

До настоящего времени не сформулированы четкие принципы лечения ИАГ и АКС. Оптимизация медицинской помощи таким пациентам позволила сократить число неблагоприятных результатов, в частности в неотложной общей хирургии, при переломах таза, где контроль кровотечения снижает существенно смертность, частоту АКС [9, 10].

Агрессивная нехирургическая интенсивная терапия имеет решающее значение для предупреждения осложнений ИАГ и АКС [11, 12]. Необходимо отметить, что не все пациенты требуют хирургического лечения или агрессивной инфузионной терапии, зачастую бывает достаточно чрескожного дренирования абсцесса или асцита.

Как показало проведенное исследование, последовательный мониторинг интраабдоминального давления, оптимизация системной перфузии и функции органов, обоснованная срочная хирургическая декомпрессия для рефрактерных форм ИАГ позволяют улучшить результаты лечения и снизить летальность.

### Ограничения исследования

Настоящее исследование носит ретроспективный характер, что не может не повлиять на качество собранного материала; не учитывались отдаленные результаты проведенного лечения; ограничением может служить одноцентровой характер исследования.

### Заключение

Своевременная диагностика ИАГ, адекватная терапия в зависимости от степени заболевания, опирающаяся на мониторинг интраабдоминального давления и других показателей (при I–II степени ИАГ — консервативное лечение, при III — настойчивое агрессивное консервативное агрессивное лечение, при безуспешности мероприятий и при IV степени — экстренная декомпрессивная лапаротомия), в большинстве случаев дают улучшение ближайших результатов. Своевременно выполненная хирургическая декомпрессия при ИАГ III и IV степени позволила статистически значимо снизить летальность — на 32,1 ( $p<0,01$ ) и 14,5% ( $p<0,05$ ) соответственно. Однако показатели летальности при тяжелых формах ИАГ все-таки остаются высокими, что требует внедрения в клиническую практику алгоритмов своевременной диагностики и совершенствования методов лечения.

### Дополнительная информация

**Источник финансирования.** Исследование проведено на личные средства авторского коллектива.

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

**Участие авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Malbrain ML, Chiumello D, Pelosi P, et al. Incidence and prognosis of intra-abdominal hypertension in a mixed population of critically ill patients: a multiple-center epidemiological study. *Crit Care Med.* 2005;33(2):315–322. doi: 10.1097/01.ccm.0000153408.09806.1b.
2. Meldrum DR, Moore FA, Moore EE, et al. Prospective characterization and selective management of the abdominal compartment syndrome. *Am J Surg.* 1997;174(6):667–672; discussion 672–673. doi: 10.1016/s0002-9610(97)00201-8.
3. Ertel W, Oberholzer A, Platz A, et al. Incidence and clinical pattern of the abdominal compartment syndrome after “damage-control” laparotomy in 311 patients with severe abdominal and/or pelvic trauma. *Crit Care Med.* 2000;28(6):1747–1753. doi: 10.1097/00003246-200006000-00008.
4. Toens C, Schachtrupp A, Hoer J, et al. A porcine model of the abdominal compartment syndrome. *Shock.* 2002;18(4):316–321. doi: 10.1097/00024382-200210000-00005.
5. Kirkpatrick AW, Roberts DJ, De Waele J, et al. Intra-abdominal hypertension and the abdominal compartment syndrome: updated consensus definitions and clinical practice guidelines from the world society of the abdominal compartment syndrome. *Intensive Care Med.* 2013;39(7):1190–1206. doi: 10.1007/s00134-013-2906-z.
6. De Keulenaer BL, De Waele JJ, Malbrain ML. Nonoperative management of intra-abdominal hypertension and abdominal compartment syndrome: evolving concepts. *Am Surg.* 2011;77Suppl 1:S34–41.
7. Sugrue M, Bauman A, Jones F, et al. Clinical examination is an inaccurate predictor of intra-abdominal pressure. *World J. Surgery.* 2002;26:1428–1431. doi: 10.1007/s00268-002-6411.
8. Cheatham ML, Malbrain ML, Kirkpatrick A, et al. Results from the international conference of experts on intra-abdominal hypertension and abdominal compartment syndrome. II. Recommendations. *Intensive Care Med.* 2007;33(6):951–962. doi: 10.1007/s00134-007-0592-4.
9. Kron IL, Harman PK, Nolan SP. The measurement of intra-abdominal pressure as a criterion for abdominal re-exploration. *Ann Surg.* 1984;199(1):28–30. doi: 10.1097/0000658-198401000-00005.
10. Balogh Z, Caldwell E, Heetveld M, et al. Institutional practice guidelines on management of pelvic fracture-related hemodynamic instability: do they make a difference? *J Trauma.* 2005;58(4):778–782. doi: 10.1097/01.ta.0000158251.40760.b2.
11. Simon RJ, Friedlander MH, Ivatury RR, et al. Hemorrhage lowers the threshold for intra-abdominal hypertension-induced pulmonary dysfunction. *J Trauma.* 1997;42(3):398–403; discussion 404–405. doi: 10.1097/00005373-199703000-00006.
12. Balogh Z, McKinley BA, Holcomb JB, et al. Both primary and secondary abdominal compartment syndrome can be predicted early and are harbingers of multiple organ failure. *J Trauma.* 2003;54(5):848–859; discussion 859–861. doi: 10.1097/01.ta.0000070166.29649.f3.

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Тимербулатов Виль Мамилович**, член-корр. РАН, д.м.н., профессор [*Vil M. Timerbulatov*, MD, PhD, professor]; адрес: 450008, Уфа, ул. Ленина, д. 3, тел./факс: +7 (347)255-54-57, e-mail: timervil@yandex.ru, SPIN-код: 1682-1775, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6410-9003>

**Тимербулатов Шамиль Вилевич**, д.м.н., профессор [*Shamil V. Timerbulatov*, MD, PhD, professor]; e-mail: timersh@yandex.ru, SPIN-код: 7919-6659, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4832-6363>

**Фаязов Радик Радифович**, д.м.н., профессор [*Radik R. Fayazov*, MD, PhD, professor]; e-mail: kaf-hirurg@yandex.ru, SPIN-код: 4886-8764, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1890-2865>

**Тимербулатов Махмуд Вилевич**, д.м.н., профессор [*Mahmud V. Timerbulatov*, MD, PhD, professor]; e-mail: timerm@yandex.ru, SPIN-код: 4941-3126, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6664-1308>

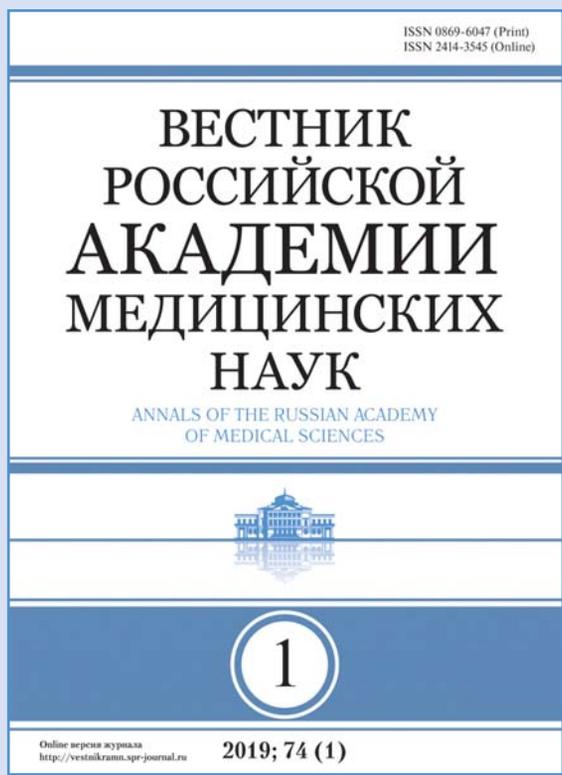
**Гайнуллина Эльза Нажиповна** [*Elza N. Gaynullina*, MD]; e-mail: kaf-hirurg@yandex.ru, SPIN-код: 8053-1433, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2320-9558>

**Смир Руслан Александрович**, к.м.н. [*Ruslan A. Smir*, MD, PhD]; e-mail: kaf-hirurg@yandex.ru, SPIN-код: 9180-9392, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6709-9381>

# 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 завершенных 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.