

СИБИРСКИЙ ЖУРНАЛ КЛИНИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ

ISSN print 2713-2927
ISSN online 2713-265X



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЕ РЕЦЕНЗИРУЕМОЕ ИЗДАНИЕ

The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine

SCIENCE AND PRACTICE PEER-REVIEWED JOURNAL

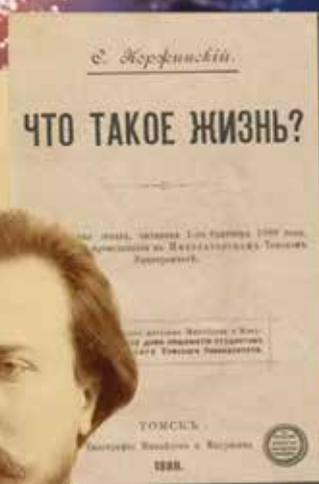
ТЕМА
ВЫПУСКА

Генетические аспекты
патогенеза
и патоморфоза
социально значимых
заболеваний

- Обзоры и лекции
- Клинические исследования
- Экспериментальные исследования
- Клинические случаи



ТОМСКИЙ НИМЦ
НИИ КАРДИОЛОГИИ



4'2021
Том 36

ISSN print 2713-2927
ISSN online 2713-265X

Научно-исследовательский институт кардиологии
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук»

СИБИРСКИЙ ЖУРНАЛ КЛИНИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ

Журнал выходит ежеквартально с 1996 г.

Том 36, № 4, 2021

Cardiology Research Institute,
Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences

THE SIBERIAN JOURNAL OF CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

The journal is published from 1996 quarterly

Volume 36, No. 4, 2021



СОДЕРЖАНИЕ CONTENTS

От научных редакторов номера 12 From the editors of the issue

ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

REVIEWS AND LECTURES

Баранов В.С.
Геномика и предиктивная медицина

14 Baranov V.S.
Genomics and predictive medicine

Бостанова Ф.М., Ижевская В.Л.
Этические проблемы генетического тестирования при наследственных заболеваниях сердечно-сосудистой системы

29 Bostanova F.M., Izhevskaya V.L.
Ethical problems of genetic testing for hereditary cardiovascular diseases

Бочарова А.В., Степанов В.А.
Современные исследования генетики многофакторных заболеваний, связанных с нарушением когнитивных функций человека

37 Bocharova A.V., Stepanov V.A.
Recent studies of the genetics of complex diseases associated with impaired cognitive functions

Пантелеев О.О., Рябов В.В.
Кардиогенный шок – что нового?

45 Panteleev O.O., Ryabov V.V.
Cardiogenic shock: What's new?

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

CLINICAL INVESTIGATIONS

Брагина Е.Ю., Гончарова И.А., Жалсанова И.Ж., Немеров Е.В., Назаренко М.С., Фрейдin М.Б.
Бронхиальная астма в структуре генетических связей синтропии сердечно-сосудистого континуума

52 Bragina E.Yu., Goncharova I.A., Zhalsanova I.Zh., Nemerov E.V., Nazarenko M.S., Freidin M.B.
Bronchial asthma in the genetic framework of cardiovascular continuum syntropy

Глотов А.С., Козюлина П.Ю., Вашукова Е.С., Илларионов Р.А., Юркина Н.О., Пачулия О.В., Бутенко М.Г., Постникова Т.Б., Беспалова О.Н.
Пилотное исследование изменения уровня piRNA в плазме и сыворотке крови у женщин на разных сроках физиологической беременности

62 Glotov A.S., Kozyulina P.Yu., Vashukova E.S., Illarionov R.A., Yurkina N.O., Pachulia O.V., Butenko M.G., Postnikova T.B., Bespalova O.N.
Pilot study of changes in the level of piRNA in plasma and serum in women at different stages of physiological pregnancy

Голубенко М.В., Шумакова Т.В., Makeeva О.А., Тарасенко Н.В., Салахов Р.Р., Шипулин В.М., Назаренко М.С.
Полиморфизм митохондриальной ДНК и ишемия миокарда: ассоциация гаплогруппы H с сердечной недостаточностью

70 Golubenko M.V., Shumakova T.V., Makeeva O.A., Tarasenko N.V., Salakhov R.R., Shipulin V.M., Nazarenko M.S.
Mitochondrial DNA polymorphism and myocardial ischemia: Association of haplogroup H with heart failure

Крахмаль Н.В., Телегина Н.С., Завьялова М.В., Вторушин С.В., Крохмаль В.А., Перельмутер В.М.
Связь особенностей экспрессии интегринов $\beta 1$ и $\beta 3$ с лимфогенным метастазированием при инвазивной карциноме неспецифического типа молочной железы с учетом морфологической гетерогенности опухоли

78 Krakhmal N.V., Telegina N.S., Zavyalova M.V., Vtorushin S.V., Krokhamal V.A., Perelmutter V.M.
Correlation between the features of $\beta 1$ and $\beta 3$ integrin expression and lymphangitic metastatic spread in nonspecific invasive breast carcinoma based on tumor morphological heterogeneity

Лугачева Ю.Г., Сулова Т.Е., Кулагина И.В., Кривошеков Е.В., Янулевич О.С.
Полиморфизм генов фолатного обмена и тромботические осложнения у пациентов с функционально единственным желудочком сердца

86 Lugacheva J.G., Suslova T.E., Kulagina I.V., Krivoshchekov E.V., Yanulevich O.S.
Polymorphism of folate metabolism genes and thrombotic complications in patients with functionally single ventricle

Макарова С.И., Митрофанов Д.В., Шинтяпина А.Б., Комова Е.Г., Зеленская В.В., Карцева Т.В., Кондюрина Е.Г., Вавилин В.А.
Поиск ассоциаций полиморфных вариантов гена кислой хитиназы человека с бронхиальной астмой у детей г. Новосибирска

92 Makarova S.I., Mitrofanov D.V., Shintyapina A.B., Komova E.G., Zelenskaya V.V., Kartseva T.V., Kondyurina E.G., Vavilin V.A.
Search for associations between polymorphic variants of human acid chitinase gene and bronchial asthma in children of Novosibirsk

Полтавская Е.Г., Федоренко О.Ю., Корнетова Е.Г.,
Иванова С.А.

Молекулярно-генетическое исследование клинических и когнитивных характеристик шизофрении: отсутствие ассоциаций с генами *SOD2*, *GSTO1*, *NQO1*

99 Poltavskaya E.G., Fedorenko O.Yu., Kornetova E.G.,
Ivanova S.A.

Molecular genetic study of clinical and cognitive features of schizophrenia: no associations with genes *SOD2*, *GSTO1*, *NQO1*

Марченко А.В., Вронский А.С., Мялюк П.А., Чебыкин Р.Н.,
Минасян В.Н., Лазарьков П.В., Синельников Ю.С.
Непосредственные и отдаленные результаты сочетанных и этапных операций у пациентов с сочетанным атеросклеротическим поражением коронарных и брахиоцефальных артерий

107 Marchenko A.V., Vronskiy A.S., Myalyuk P.A., Chebykin R.N.,
Minasyan V.N., Lazarkov P.V., Sinelnikov Y.S.

Early and late outcomes of combined and staged surgeries in patients with concomitant atherosclerotic lesions of the coronary and brachiocephalic arteries

Пономаренко И.В., Панфилов Д.С., Сондуев Э.Л.,
Козлов Б.Н.

Основные аспекты искусственного кровообращения при операциях на дуге аорты

120 Ponomarenko I.V., Panfilov D.S., Sonduev E.L., Kozlov B.N.

The main issues of cardiopulmonary bypass in aortic arch surgery

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

EXPERIMENTAL INVESTIGATIONS

Бабушкина Н.П., Постригань А.Е., Кучер А.Н., Шипулин В.М.
Ассоциации rs4244285 в гене *CYP2C19* с многофакторными заболеваниями

125 Babushkina N.P., Postrigan A.E., Kucher A.N., Shipulin V.M.

Associations of rs4244285 in the *CYP2C19* gene with multifactorial diseases

Глотов О.С., Чернов А.Н., Коробейников А.И.,
Калинин Р.С., Цай В.В., Анисенкова А.Ю., Уразов С.П.,
Лapidус А.Л., Мосенко С.В., Щербак С.Г.

Линии коронавируса SARS-CoV-2 российского происхождения: генетическая характеристика и корреляции с клиническими параметрами, тяжестью коронавирусной инфекции

132 Glotov O.S., Chernov A.N., Korobeynikov A.I., Kalinin R.S.,
Tsai V.V., Anisenkova A.Yu., Urazov S.P., Lapidus A.L.,
Mosenko S.V., Shcherbak S.G.

The lineage of coronavirus SARS-CoV-2 of Russian origin: Genetic characteristics and correlations with clinical parameters and severity of coronavirus infection

Трифонова Е.А., Марков А.В., Зарубин А.А., Бабовская А.А.,
Куценко И.Г., Габидулина Т.В., Ижойкина Е.В.,
Сереброва В.Н., Степанов В.А.

Анализ коэкспрессии генов плацентарного транскриптома как основа для поиска ключевых сигнальных путей и биомаркеров больших акушерских синдромов

144 Trifonova E.A., Markov A.V., Zarubin A.A., Babovskaya A.A.,
Kutsenko I.G., Gabidulina T.V., Izhoikina E.V., Serebrova V.N.,
Stepanov V.A.

Co-expression analysis of placental genes in the search for key signaling pathways and biomarkers of the great obstetrical syndromes

Шахтшнейдер Е.В., Иванощук Д.Е., Рагино Ю.И.,
Фишман В.С., Полонская Я.В., Каштанова Е.В.,
Чернявский А.М., Мурашов И.С., Воевода М.И.

Анализ дифференциальной экспрессии генов липидного обмена в атеросклеротических бляшках у пациентов с коронарным атеросклерозом

156 Shakhtshneider E.V., Ivanoshchuk D.E., Ragino Y.I.,
Fishman V.S., Polonskaya Y.V., Kashtanova E.V.,
Chernyavsky A.M., Murashov I.S., Voevoda M.I.

Analysis of differential expression of lipid metabolism genes in atherosclerotic plaques in patients with coronary atherosclerosis

Ложкина Н.Г., Спиридонов А.Н.

Антрациклиновая кардиотоксичность и ее роль в развитии сердечной недостаточности

164 Lozhkina N.G., Spiridonov A.N.

Anthracycline cardiotoxicity and its role in the development of heart failure

ПАМЯТИ КОЛЛЕГ

168 IN MEMORY OF COLLEAGUES

Рекомендации по оформлению статей,
содержащих результаты оригинальных исследований

170 Guidelines for preparing the original research manuscripts

Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины

Основная цель журнала — информирование читательской аудитории о новейших достижениях и перспективах развития отечественной и зарубежной медицинской науки, формирование научного мировоззрения, передача научной эстафеты от авторитетных исследователей молодым ученым, активная пропаганда принципов научно обоснованной клинической практики. Приоритетно публикуются работы, посвященные проблемам фундаментальной и прикладной кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии, а также смежным научным дисциплинам. Наряду с обсуждением общемировых трендов большое внимание уделяется результатам исследования популяционных закономерностей, особенностям клинического течения и исходов, а также специфике оказания специализированной и высокотехнологичной медицинской помощи при сердечно-сосудистых заболеваниях и коморбидной патологии в экстремальных условиях сибирских территорий.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Р.С. Карпов

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/284>

д-р мед. наук, академик РАН, профессор

karпов@cardio-tomsk.ru

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия)

<http://orcid.org/0000-0002-7011-4316>

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

С.В. Попов

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/352>

д-р мед. наук, академик РАН, профессор

psv@cardio-tomsk.ru

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия)

<https://orcid.org/0000-0002-9050-4493>

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ

Ottavio R. Alfieri

<https://www.radcliffcardiology.com/authors/ottavio-alfieri>

M.D., Ph.D., Professor

alfieri.ottavio@hsr.it; ottavio.alfieri@hsr.it

San Raffaele Scientific Institute, University Hospital (Milan, Italy)

<https://orcid.org/0000-0003-1065-8052>

Н.Д. Анфиногорова

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/213>

д-р мед. наук

cardio.intl@gmail.com

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия)

<http://orcid.org/0000-0003-1106-0730>

Г.В. Артамонова

<https://kemcardio.ru/o-kkcz/nii-kpssz/apparat-upravleniya/artamonova-galina-vladimirovna.html>

д-р мед. наук, профессор

artamonova@kemcardio.ru

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (Кемерово, Россия)

<http://orcid.org/0000-0003-2279-3307>

Dmitriy N. Atochin

<http://cvrc.massgeneral.org/faculty/dmitriy-atochin-phd/>

M.D., Ph.D., Assoc. Professor

datochin@mgh.harvard.edu; Atochin@tpu.ru

Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School (Boston, USA)

<https://orcid.org/0000-0002-2405-2070>

И.А. Трубачева

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/397>

д-р мед. наук

tia@cardio-tomsk.ru

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия)

<http://orcid.org/0000-0003-1063-7382>

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

С.Е. Пекарский

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/340>

д-р мед. наук

pekarSKI@cardio-tomsk.ru

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия)

<https://orcid.org/0000-0002-4008-4021>

С.А. Афанасьев

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/216>

д-р мед. наук, профессор

tursky@cardio-tomsk.ru

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия)

<http://orcid.org/0000-0001-6066-3998>

Л.И. Афтанас

<http://physiol.ru/structure/direktsiya/aftanas>

д-р мед. наук, академик РАН, профессор

liaftanas@gmail.com

Сибирское отделение Российской академии наук; Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины (Новосибирск, Россия)

<https://orcid.org/0000-0003-3605-5452>

Л.С. Барбараш

<https://kemcardio.ru/nauka/fond-molodyix-uchyonix/barbarash-leonid-semenovich.html>

д-р мед. наук, академик РАН, профессор

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (Кемерово, Россия)

<http://orcid.org/0000-0001-6981-9661>

О.Л. Барбараш

<https://kemcardio.ru/o-kkcz/nii-kpssz/apparat-upravleniya/barbarash-olga-leonidovna.html>

д-р мед. наук, чл.-корр. РАН, профессор

liaftanas@gmail.com

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (Кемерово, Россия)

<http://orcid.org/0000-0002-4642-3610>

А.А. Бощенко<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/227>

д-р мед. наук

bosh@cardio-tomsk.ru

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия)

<http://orcid.org/0000-0001-6009-0253>**А.В. Врублевский**<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/241>

д-р мед. наук

avr@cardio-tomsk.ru

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия)

<http://orcid.org/0000-0002-7981-8547>**А.А. Гарганеева**<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/244>

д-р мед. наук, профессор

aag@cardio-tomsk.ru

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия)

<http://orcid.org/0000-0002-9488-6900>**В.В. Гафаров**<http://assa.bionet.nsc.ru/open/department/0d29208c-217b-11e2-ae25-0025226b781e/>

д-р мед. наук, профессор

gafarovvv@bionet.nsc.ru; gafarov@gmail.com

Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук (Новосибирск, Россия)

<https://orcid.org/0000-0001-5701-7856>**Ю.И. Гринштейн**[https://krasgmu.ru/index.php?page\[common\]=user&id=1229](https://krasgmu.ru/index.php?page[common]=user&id=1229)

д-р мед. наук, профессор

grinstein.yi@mail.ru

Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения Российской Федерации (Красноярск, Россия)

<https://orcid.org/0000-0002-4621-161>**Haim Danenberg**<http://www.hadassah-med.com/doctors/prof-danenberg-haim>

M.D., Ph.D., Professor

danen@hadassah.org.il; haimd@ekmd.huji.ac.il

Head of Interventional Cardiology Unit, Dept. of Cardiology, Heart Institute (Jerusalem, Israel)

<https://orcid.org/0000-0002-1349-9627>**А.П. Дергилев**<http://ngmu.ru/users/40578>

д-р мед. наук, профессор

danen@hadassah.org.il; haimd@ekmd.huji.ac.il

Новосибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации (Новосибирск, Россия)

<https://orcid.org/0000-0002-8637-4083>**James M. Downey**<https://www.southalabama.edu/isshr/cvsimulation/JMDCVtable.htm>

Ph.D.

jdowney@usouthal.edu; Fred.downey@unthsc.edu

College of Medicine, University of South Alabama (Mobile, USA)

<https://orcid.org/0000-0002-3430-530X>**А.В. Евтушенко**http://wiki.ssmu.ru/index.php/Евтушенко_Алексей_Валерьевич

д-р мед. наук

ave@cardio-tomsk.ru

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (Кемерово, Россия)

<http://orcid.org/0000-0001-8475-4667>**Yi Zhang**https://www.researchgate.net/profile/Yi_Zhang240

Ph.D., Professor

zhyhenryphy@163.com

Hebei Medical University (Hebei, China)

<https://orcid.org/0000-0003-0869-3940>**В.В. Калюжин**<http://www.ssmu.ru/ru/obrazovanie/departments/goster/kalyujin/>

д-р мед. наук, профессор

kalyuzhinvv@mail.ru

Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации (Томск, Россия)

<http://orcid.org/0000-0001-9640-2028>**А.М. Караськов**

д-р мед. наук, академик РАН, профессор

admin@meshalkinclinic.ru

Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина (Новосибирск, Россия)

<http://orcid.org/0000-0001-8900-8524>**Jaroslaw D. Kasprzak**https://www.researchgate.net/profile/Jaroslaw_Kasprzak

M.D., Ph.D., Professor

kebtkebt@gmail.com

Medical University of Lodz, Bieganski Hospital (Lodz, Poland)

<https://orcid.org/0000-0002-5850-8187>**Julia Kzhyshkowska**<https://persona.tsu.ru/home/UserProfile/7837>

д-р биол. наук, профессор

julia.kzhyshkowska@gmail.com

Гейдельбергский университет (Гейдельберг, Германия); Томский государственный университет (Томск, Россия)

<https://orcid.org/0000-0003-0898-3075>**И.А. Ковалев**<http://pedklin.ru/staff/kovalyov-igor-aleksandrovich>

д-р мед. наук, профессор

kovalev@pedklin.ru; kovalev64@mail.ru

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова (Москва, Россия)

<http://orcid.org/0000-0002-9269-0170>**Frantisek Kolar**<http://www.heartacademy.org/phpwpcms/index.php?09>

M.D., Ph.D., Professor

kolar@biomed.cas.cz

Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences (Prague, Czech Republic)

<https://orcid.org/0000-0002-8723-1826>



С.М. Комиссарова

<https://belmedtourism.com/vrachi/kardiologiya/konsultant-kardiolog/komissarova-s-m/>

д-р мед. наук
kom_svet@mail.ru

Республиканский научно-практический центр «Кардиология» (Минск, Республика Беларусь)
<http://orcid.org/0000-0001-9917-5932>

В.А. Кузнецов

<http://www.infarkta.net/for-patients/doctors/kuznetsov/>

д-р мед. наук, профессор
Тюменский кардиологический научный центр, Томский национальный исследовательский медицинский центр (Тюмень, Россия)
<http://orcid.org/0000-0002-0246-9131>

Р.Д. Курбанов

д-р мед. наук, академик АН Узбекистана, профессор
ravshanbek.kurbanov@minzdrav.uz
Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр кардиологии (Республика Узбекистан)
<https://orcid.org/0000-0001-7309-2071>

Н.П. Митьковская

<https://www.bsmu.by/page/11/350/>
д-р мед. наук, профессор
mitkovskaya1@mail.ru
Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Белорусский государственный медицинский университет (Минск, Республика Беларусь)
<https://orcid.org/0000-0002-9088-721X>

Navin C. Nanda

https://www.researchgate.net/profile/Navin_Nanda
M.D., Ph.D., Professor
wchapman@uabmc.edu
Echocardiography Laboratories at the University of Alabama (Birmingham, USA)
<https://orcid.org/0000-0002-9657-5620>

С.А. Некрылов

<http://www.if.tsu.ru/chair2/nekrylov.htm>
д-р ист. наук, профессор
Национальный исследовательский Томский государственный университет (Томск, Россия)
<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6504398728>

Eli Ovsyshcher

<https://www.semanticscholar.org/author/Eli-I-Ovsyshcher/14433397>
M.D., Ph.D., Professor
eliovsy@bgu.ac.il
Soroka University Medical Center for Cardiology (Beer-Sheva, Israel)
<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6505953753>

И.В. Осипова

<http://www.agmu.ru/about/fakultet/lechebnyy-fakultet/kafedra-fakultetskovy-terapii/>
д-р мед. наук, профессор
i.v.osipova@gmail.com
Алтайский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации (Барнаул, Россия)
<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7005749604>

Natesa G. Pandian

https://www.researchgate.net/profile/Natesa_Pandian2
M.D., Professor
n.pandian@gmail.com
Heart & Vascular Institute, Hoag Hospital, Tufts University School of Medicine, Tufts Medical Center (Boston, USA)
<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7102263209>

Fausto J. Pinto

<https://esc365.escardio.org/Person/345-prof-pinto-fausto-jose>
M.D., Ph.D., Professor
Academic Center of Medicine of Lisbon (Lisbon, Portugal)
<http://orcid.org/0000-0002-8034-4529>

В.П. Пузырев

<http://onco.tnimc.ru/kontakty/personalii/tnimc/puzыrev-valeriy-pavlovich/>
д-р мед. наук, академик РАН, профессор
p.valery@medgenetics.ru
Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия)
<http://orcid.org/0000-0002-2113-4556>

А.Н. Репин

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/364>
д-р мед. наук, профессор
ran@cardio-tomsk.ru
Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия)
<http://orcid.org/0000-0001-7123-0645>

В.В. Рябов

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/369>
д-р мед. наук
rvvt@cardio-tomsk.ru
Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия)
<http://orcid.org/0000-0002-4358-7329>

В.А. Труфакин

д-р мед. наук, академик РАН, профессор
Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины (Новосибирск, Россия)
<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7004708644>

Igor Feoktistov

<https://medschool.vanderbilt.edu/pharmacology/person/igor-feoktistov-ph-d-c-sc/>
M.D, Ph.D., Professor
rvvt@cardio-tomsk.ru
Vanderbilt University (Nashville, USA)
<https://orcid.org/0000-0001-5611-7732>

Leon J. Frazin

https://www.vitals.com/doctors/Dr_Leon_Frazin.html
M.D., Ph.D.
lfrazin@aol.com
UIC College of Medicine (Chicago, USA)
<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701727743>

Michal Chudzik

<https://www.pubfacts.com/author/Michal+Chudzik>
M.D., Professor
luk.szyda@gmail.com
Medical University of Lodz (Lodz, Poland)
<https://orcid.org/0000-0001-8805-9688>

Е.Л. Чойнзон

<http://onco.tnmc.ru/kontakty/personalii/tnmc/choynzonov-evgeniy-lkhamatsyrenovich/>

д-р мед. наук, академик РАН, профессор
choynzonov@tnmc.ru

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации (Томск, Россия)

<http://orcid.org/0000-0002-3651-0665>

Е.В. Шлякто

http://www.almazovcentre.ru/?page_id=125

д-р мед. наук, академик РАН, профессор
e.shlyakhto@almazovcentre.ru

Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова (Санкт-Петербург, Россия)

<http://orcid.org/0000-0003-2929-0980>

Jan Janousek

<http://www.fnmotol.cz/detske-kardiocentrum/vedeni-a-personal/>

M.D., Ph.D., Professor

jan.janousek@fnmotol.cz

Head of Children's Heart Centre, University Hospital Motol (Prague, Czech Republic)

<http://orcid.org/0000-0002-4932-1150>

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ**С.И. Карась**

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/283>

д-р мед. наук

ksi@cardio-tomsk.ru

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (Томск, Россия)

<https://orcid.org/0000-0001-6716-856X>

РЕДАКЦИОННЫЕ КОНТАКТЫ:

smj@cardio-tomsk.ru; +7 (3822) 558 263

С правилами по оформлению статей можно ознакомиться на сайте журнала по адресу:

<https://cardiotomsk.elpub.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>

История издания журнала	Регулярная публикация выпусков журнала началась в 1996 году после 65-летнего перерыва. Журнал включен в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора медицинских наук.
Периодичность	Ежеквартально
Префикс DOI	10.29001
ISSN print	2713-2927
ISSN online	2713-265X
Свидетельство о регистрации средства массовой информации	Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор). Рег. номер: ПИ № ФС 77-78659 от 30.07.2020
Стоимость одного выпуска	Свободная цена
Условия распространения материалов	Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License
Учредитель Издатель Редакция	Научно-исследовательский институт кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» 634012, Российская Федерация, Томск, ул. Киевская, 111а Тел./факс: (3822) 55-84-10, e-mail: smj@cardio-tomsk.ru , http://www.cardio-tomsk.ru
Редакторы	О.М. Рудникович, Н.Н. Исаева, Н.Д. Анфиногенова
Переводчик	Н.Д. Анфиногенова
Логистик	Д.А. Дедков
Менеджер	Т.В. Тихонова
Оригинал-макет	ООО «Литбюро» 634055, Российская Федерация, Томск, ул. Королева, 4
Тираж	500 экз.
Типография	Журнал отпечатан на полиграфическом оборудовании Издательского дома Томского государственного университета 634050, Российская Федерация, Томск, пр. Ленина, 36
Выход в свет	29.12.2021

The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine

The journal allows readers to get acquainted with the latest developments in medical science and practice. It promotes ideals and integrity that the leaders of Siberian medicine have been committed to. Primary remit of the journal focuses on the key questions of cardiology, cardiac surgery, and related scientific disciplines. We encourage publication of papers addressing the etiology, pathogenesis, epidemiology, clinical presentation, state-of-the-art diagnostics, prevention, treatment, cardiovascular comorbidities, rehabilitation, and improvement of medical care for cardiovascular patients.

EDITOR-IN-CHIEF

Rostislav S. Karpov

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/284>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Full Member of the Russian Academy of Sciences, Professor

karpov@cardio-tomsk.ru

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

<http://orcid.org/0000-0002-7011-4316>

DEPUTY EDITORS-IN-CHIEF

Sergey V. Popov

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/352>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Full Member of the Russian Academy of Sciences, Professor

psv@cardio-tomsk.ru

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

<https://orcid.org/0000-0002-9050-4493>

EDITORIAL BOARD

Ottavio R. Alfieri

<https://www.radcliffecardiology.com/authors/ottavio-alfieri>

M.D., Ph.D., Professor

alfieri.ottavio@hsr.it; ottavio.alfieri@hsr.it

San Raffaele Scientific Institute, University Hospital (Milan, Italy)

<https://orcid.org/0000-0003-1065-8052>

Nina D. Anfinogenova

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/213>

Dr. Sci. (Med.)

cardio.intl@gmail.com

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

<http://orcid.org/0000-0003-1106-0730>

Galina V. Artamonova

<https://kemcardio.ru/o-kkcz/nii-kpssz/apparat-upravleniya/artamonova-galina-vladimirovna.html>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Professor

artamonova@kemcardio.ru

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (Kemerovo, Russia)

<http://orcid.org/0000-0003-2279-3307>

Dmitriy N. Atochin

<http://cvrc.massgeneral.org/faculty/dmitriy-atochin-phd/>

M.D., Ph.D., Assoc. Professor

datochin@mgh.harvard.edu; Atochin@tpu.ru

Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School (Boston, USA)

<https://orcid.org/0000-0002-2405-2070>

Irina A. Trubacheva

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/397>

M.D., Dr. Sci. (Med.)

tia@cardio-tomsk.ru

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

<http://orcid.org/0000-0003-1063-7382>

SCIENTIFIC EDITOR

Stanislav E. Pekarsky

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/340>

M.D., Dr. Sci. (Med.)

pekarski@cardio-tomsk.ru

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

<https://orcid.org/0000-0002-4008-4021>

Sergey A. Afanasiev

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/216>

Dr. Sci. (Med.), Professor

tursky@cardio-tomsk.ru

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

<http://orcid.org/0000-0001-6066-3998>

Lubomir I. Aftanas

<http://physiol.ru/structure/direktsiya/aftanas>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Full Member of the Russian Academy of Sciences, Professor

liaftanas@gmail.com

Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Research Institute of Physiology and Basic Medicine (Novosibirsk, Russia)

<https://orcid.org/0000-0003-3605-5452>

Leonid S. Barbarash

<https://kemcardio.ru/nauka/fond-molodyix-uchyonyix/barbarash-leonid-semenovich.html>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Full Member of the Russian Academy of Sciences, Professor

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (Kemerovo, Russia)

<http://orcid.org/0000-0001-6981-9661>

Olga L. Barbarash

<https://kemcardio.ru/o-kkcz/nii-kpssz/apparat-upravleniya/barbarash-olga-leonidovna.html>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor

liaftanas@gmail.com

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (Kemerovo, Russia)

<http://orcid.org/0000-0002-4642-3610>

Alla A. Boshchenko<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/227>

M.D., Dr. Sci. (Med.)

bosh@cardio-tomsk.ru

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

<http://orcid.org/0000-0001-6009-0253>**Alexander V. Vrublevskiy**<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/241>

M.D., Dr. Sci. (Med.)

avr@cardio-tomsk.ru

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

<http://orcid.org/0000-0002-7981-8547>**Alla A. Garganeeva**<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/244>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Professor

aag@cardio-tomsk.ru

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

<http://orcid.org/0000-0002-9488-6900>**Valeriy V. Gafarov**<http://assa.bionet.nsc.ru/open/department/0d29208c-217b-11e2-ae25-0025226b781e/>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Professor

gafarovvv@bionet.nsc.ru; gafarov@gmail.com

Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, Russia)

<https://orcid.org/0000-0001-5701-7856>**Yury I. Greenstein**[https://krasgmu.ru/index.php?page\[common\]=user&id=1229](https://krasgmu.ru/index.php?page[common]=user&id=1229)

M.D., Dr. Sci. (Med.), Professor

grinstein.yi@mail.ru

Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russia)

<https://orcid.org/0000-0002-4621-161>**Haim Danenberg**<http://www.hadassah-med.com/doctors/prof-danenberg-haim>

M.D., Ph.D., Professor

danen@hadassah.org.il; haimd@ekmd.huji.ac.il

Head of Interventional Cardiology Unit, Dept. of Cardiology, Heart Institute (Jerusalem, Israel)

<https://orcid.org/0000-0002-1349-9627>**Alexander P. Dergilev**<http://ngmu.ru/users/40578>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Professor

danen@hadassah.org.il; haimd@ekmd.huji.ac.il

Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk, Russia)

<https://orcid.org/0000-0002-8637-4083>**James M. Downey**<https://www.southalabama.edu/ishr/cvsimulation/JMDCVtable.htm>

Ph.D.

jdowney@usouthal.edu; Fred.downey@unthsc.edu

College of Medicine, University of South Alabama (Mobile, USA)

<https://orcid.org/0000-0002-3430-530X>**Alexey V. Evtushenko**http://wiki.ssmu.ru/index.php/Евтушенко_Алексей_Валерьевич

M.D., Dr. Sci. (Med.)

ave@cardio-tomsk.ru

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (Kemerovo, Russia)

<http://orcid.org/0000-0001-8475-4667>**Yi Zhang**https://www.researchgate.net/profile/Yi_Zhang240

Ph.D., Professor

zhyhenryphy@163.com

Hebei Medical University (Hebei, China)

<https://orcid.org/0000-0003-0869-3940>**Vadim V. Kalyuzhin**<http://www.ssmu.ru/ru/obrazovanie/departments/goster/kalyujin/>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Professor

kalyuzhinvv@mail.ru

Siberian State Medical University (Tomsk, Russia)

<http://orcid.org/0000-0001-9640-2028>**Alexander M. Karaskov**

M.D., Dr. Sci. (Med.), Full Member of the Russian Academy of Sciences, Professor

admin@meshalkinclinic.ru

E. Meshalkin National Medical Research Center (Novosibirsk, Russia)

<http://orcid.org/0000-0001-8900-8524>**Jaroslaw D. Kasprzak**https://www.researchgate.net/profile/Jaroslaw_Kasprzak

M.D., Ph.D., Professor

kebtkebt@gmail.com

Medical University of Lodz, Bieganski Hospital (Lodz, Poland)

<https://orcid.org/0000-0002-5850-8187>**Julia Kzhyshkowska**<https://persona.tsu.ru/home/UserProfile/7837>

Ph.D., Dr. Sci. (Biol.), Professor

julia.kzhyshkowska@googlemail.com

University of Heidelberg (Heidelberg, Germany); Tomsk State University (Tomsk, Russia)

<https://orcid.org/0000-0003-0898-3075>**Igor A. Kovalev**<http://pedklin.ru/staff/kovalyov-igor-aleksandrovich>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Professor

д-р мед. наук, профессор

kovalev@pedklin.ru; kovalev64@mail.ru

Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov (Moscow, Russia)

<http://orcid.org/0000-0002-9269-0170>**Frantisek Kolar**<http://www.heartacademy.org/phpwpcms/index.php?09>

M.D., Ph.D., Professor

kolar@biomed.cas.cz

Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences (Prague, Czech Republic)

<https://orcid.org/0000-0002-8723-1826>



Svetlana M. Komissarova

<https://belmedtourism.com/vrachi/kardiologiya/konsultant-kardiolog/komissarova-s-m/>

M.D., Dr. Sci. (Med.)

kom_svet@mail.ru

Republican Scientific and Practical Centre "Cardiology" (Minsk, Belarus Republic)

<http://orcid.org/0000-0001-9917-5932>

Vadim A. Kuznetsov

<http://www.infarkta.net/for-patients/doctors/kuznetsov/>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Professor

Tyumen Cardiology Research Center, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tyumen, Russia)

<http://orcid.org/0000-0002-0246-9131>

Ravshanbek D. Kurbanov

M.D., Dr. Sci. (Med.)

ravshanbek.kurbanov@minzdrav.uz

Full Member of the Uzbekistan Academy of Sciences, Professor at the Republican Specialized Cardiology Center (Tashkent, Uzbekistan)

<https://orcid.org/0000-0001-7309-2071>

Natalya P. Mitkovskaya

<https://www.bsmu.by/page/11/350/>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Professor

mitkovskaya1@mail.ru

Scientific and Practice Center "Cardiology", Belarus State Medical University (Minsk, Belarus Republic)

<https://orcid.org/0000-0002-9088-721X>

Navin C. Nanda

https://www.researchgate.net/profile/Navin_Nanda

M.D., Ph.D., Professor

wchapman@uabmc.edu

Echocardiography Laboratories at the University of Alabama (Birmingham, USA)

<https://orcid.org/0000-0002-9657-5620>

Sergey A. Nekrylov

<http://www.if.tsu.ru/chair2/nekrylov.htm>

Dr. Sci. (History), Professor

Tomsk State University (Tomsk, Russia)

<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6504398728>

Eli Ovsyshcher

<https://www.semanticscholar.org/author/Eli-I-Ovsyshcher/14433397>

M.D., Ph.D., Professor

eliovsy@bgu.ac.il

Soroka University Medical Center for Cardiology (Beer-Sheva, Israel)

<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6505953753>

Irina V. Osipova

<http://www.agmu.ru/about/fakultet/lechebnyy-fakultet/kafedra-fakultetskoy-terapii/>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Professor

i.v.osipova@gmail.com

Altay State Medical University (Barnaul, Russia)

<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7005749604>

Natesa G. Pandian

https://www.researchgate.net/profile/Natesa_Pandian2

M.D., Professor

n.pandian@gmail.com

Heart & Vascular Institute, Hoag Hospital, Tufts University School of Medicine, Tufts Medical Center (Boston, USA)

<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7102263209>

Fausto J. Pinto

<https://esc365.escardio.org/Person/345-prof-pinto-fausto-jose>

M.D., Ph.D., Professor

Academic Center of Medicine of Lisbon (Lisbon, Portugal)

<http://orcid.org/0000-0002-8034-4529>

Valeriy P. Puzyrev

<http://onco.tnimc.ru/kontakty/personalii/tnimc/puzyrev-valeriy-pavlovich/>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Full Member of the Russian Academy of Sciences, Professor

p.valery@medgenetics.ru

Research Institute for Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

<http://orcid.org/0000-0002-2113-4556>

Alexey N. Repin

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/364>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Professor

ran@cardio-tomsk.ru

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

<http://orcid.org/0000-0001-7123-0645>

Vyacheslav V. Ryabov

<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/369>

M.D., Dr. Sci. (Med.)

rvvt@cardio-tomsk.ru

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

<http://orcid.org/0000-0002-4358-7329>

Valery A. Trufakin

M.D., Dr. Sci. (Med.), Full Member of the Russian Academy of Sciences, Professor

Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine (Novosibirsk, Russia)

<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7004708644>

Igor Feoktistov

<https://medschool.vanderbilt.edu/pharmacology/person/igor-feoktistov-ph-d-c-sc/>

M.D, Ph.D., Professor

rvvt@cardio-tomsk.ru

Vanderbilt University (Nashville, USA)

<https://orcid.org/0000-0001-5611-7732>

Leon J. Frazin

https://www.vitals.com/doctors/Dr_Leon_Frazin.html

M.D., Ph.D.

lfrazin@aol.com

UIC College of Medicine (Chicago, USA)

<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701727743>

Michal Chudzik<https://www.pubfacts.com/author/Michal+Chudzik>

M.D., Professor

luk.szyda@gmail.com

Medical University of Lodz (Lodz, Poland)

<https://orcid.org/0000-0001-8805-9688>**Evgeny L. Choyznov**<http://onco.tnimc.ru/kontakty/personalii/tnimc/choyznov-evgeniy-lkhamatsyrenovich/>

M.D., Dr. Sci. (Med.), Full Member of the Russian Academy of Sciences, Professor

choyznov@tnimc.ru

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

<http://orcid.org/0000-0002-3651-0665>**Evgeny V. Shlyakhto**http://www.almazovcentre.ru/?page_id=125

M.D., Dr. Sci. (Med.), Full Member of the Russian Academy of Sciences, Professor

e.shlyakhto@almazovcentre.ru

Almazov National Medical Research Centre (Saint Petersburg, Russia)

<http://orcid.org/0000-0003-2929-0980>**Jan Janousek**<http://www.fnmotol.cz/detske-kardiocentrum/vedeni-a-personal/>

M.D., Ph.D., Professor

jan.janousek@fnmotol.cz

Head of Children's Heart Centre, University Hospital Motol (Prague, Czech Republic)

<http://orcid.org/0000-0002-4932-1150>**EXECUTIVE SECRETARY****Sergey I. Karas**<https://www.cardio-tomsk.ru/employees/283>

Dr. Sci. (Med.)

ksi@cardio-tomsk.ru

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

<https://orcid.org/0000-0001-6716-856X>

History of publication of the journal	Regular publication of the Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine has been restarted in 1996 after 65-year gap. The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine is included in the list of peer-reviewed journals recommended for publication of the results of doctoral theses for academic degrees of Candidate and Doctor of Medical Sciences
Frequency	Quarterly
DOI Prefix	10.29001
ISSN print	2713-2927
ISSN online	2713-265X
Mass media registration certificate	The Journal is registered in the Federal Service for Supervision of IT and Communications No. FS 77-78659, 30.07.2020
The cost of one issue	Free price
Content distribution terms	This content is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 License
Founder Publisher Editorial office	Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences 111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russian Federation Tel./fax 7 (8-3822) 55-84-10, e-mail: smj@cardio-tomsk.ru , http://www.cardio-tomsk.ru
Editors:	O.M. Rudnikovich, N.N. Isaeva, N.D. Anfinogenova
Translator:	N.D. Anfinogenova
Logistician:	D.A. Dedkov
Manager:	T.V. Tikhonova
Original layout:	OOO "Litburo" 4, Koroleva str., Tomsk, 634055, Russian Federation
Circulation	500 copies
Printing house	Tomsk State University Publishing House 36, Lenina str., Tomsk, 634050, Russian Federation
Date of issue	December 29, 2021

Дорогие коллеги!

Часто употребляемый в клинической генетике термин «патогенетика» (медицинская, ветеринарная и фитопатогенетика) является кратким обозначением «генетического» патогенеза болезней (человека, животных, растений) на всем пути от генома до фенома. На этом пути возникают две трудности: «вольности генома» и бездна, бесконечность признаков, их взаимодействие. Именно в связи с этим известный терапевт Уильям Ослер в 1892 г. заметил: «Если бы не эта огромная межиндивидуальная изменчивость, медицина могла бы быть наукой, а не искусством». Понадобился «бег времени» чуть более чем в 100 лет, чтобы к началу XXI в. сложилась триада: социальная, геномная и индивидуализированная медицина. В этом номере журнала читателям представляются новые научные данные по патогенетике болезней многофакторной природы.

Открывает номер статья известного отечественного медицинского генетика, члена-корреспондента РАН В.С. Баранова, награжденного Золотой медалью Медико-генетического научного центра РАН за особый вклад в развитие науки и персонализированной медицины. Читатели познакомятся с историей движения генетической мысли: генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины.

Две статьи посвящены генетике когнитивных характеристик при шизофрении и болезни Альцгеймера. Одна из них является обзором, другая – конкретным исследованием генов антиоксидантных ферментов у больных шизофренией. Считается, что патогенетика этих психических болезней, представление о механизмах развития – «великое упрощение». Как подойти к исследованию генетических основ «жизни ума» (по Х. Арендт) – мышления, воления, суждения? Поскольку «разумных» экспериментальных адекватных моделей не существует, думайте сами, решайте сами!

Три статьи касаются генетики бронхиальной астмы. Результаты исследования осмысливались с позиций синтропно-дистропных отношений нескольких болезней у одного пациента. В данном номере журнала представлена статья новосибирских исследователей, посвященная изучению гена кислой хитиназы человека. Хитиназа – компонент эндоскелета пылевых клещей, других членистоногих, присутствующих в домашней пыли и могущих быть аллергенами. В этом случае, на наш взгляд, рассматривается необычный объект исследования – синантропные организмы (человек и в его жилье комнатные мухи, постельные клопы, тараканы и т. п.). Не следует путать термины «синантропы» и синантропы (см. ударение). Во втором случае приставка «син» означает не «вместе», а позднее латинское обозначение китайцев. Синантроп – древний представитель гоминид, найденный под Пекином и датирующийся в районе 700 тыс. лет.

Мы уже привыкли в наших объясняющих схемах употреблять термин «наследственность» в трех областях: биологическая (предковая и постзиготическая), социальная (сигнальная, средовая, мемы) и эпигенетическая наследственность. О последнем из них сообщается в статьях, касающихся идентификации генов плацентарного транскриптома при больших акушерских синдромах; исследований малых некодирующих РНК в разных сроках физиологической беременности; канцерогенеза и метастазирования при раке молочной железы. Интересная статья по теме эпигенетики посвящена дифференциальной экспрессии генов липидного обмена в атеросклеротических бляшках человека. Удивительный факт обнаружен при изучении митохондриальной ДНК: риск осложнений в лечении коронарного атеросклероза особенно высок у мужчин – носителей «европейской гаплогруппы Н».

Конечно же, в номере представлена научная публикация по актуальной теме нашего времени – пандемии, в которой показана зависимость вариантов мутаций (в белках SARS-CoV-2, молчащих-мутаций и несинонимичных) от клинического полиморфизма инфекции.

Чрезвычайно важная статья касается проблем генетического тестирования; современный врач любой специальности должен овладеть новыми знаниями в области этических и правовых норм, биоэтики и клинической генетики.

Авторы статей данного номера журнала – известные отечественные медицинские генетики, хорошо знающие друг друга, часто встречающиеся на научных форумах, сотрудничающие в изучении общих проблем клинической медицины. Всем огромная благодарность!



Пузырев Валерий Павлович,
д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки Российской Федерации, научный руководитель Томского НИМЦ и НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, заведующий кафедрой медицинской генетики СибГМУ Минздрава России



Афанасьев Сергей Александрович,
д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики НИИ кардиологии Томского НИМЦ

На первой странице обложки журнала – экстраординарный профессор кафедры ботаники Томского университета Сергей Иванович Коржинский (1861–1900). Создал мутационную теорию развития, противопоставив ее дарвинизму, что принесло ему мировую известность. В честь С.И. Коржинского названы 45 видов и один род растений. Ординарный академик Императорской Академии наук (1898), главный ботаник Императорского Ботанического сада.



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-14-28>
УДК 575.113:577.2:616-084

Геномика и предиктивная медицина

В.С. Баранов

Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта,
199034, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3

Аннотация

Достижения в понимании структурно-функциональной организации генома человека, расшифровка первичной последовательности ДНК в его клетке открыли новые, ранее недостижимые возможности медицинской генетики в понимании причин и механизмов наследственной патологии. По мере совершенствования методов молекулярного анализа генома внедрение генетики в медицину прогрессивно нарастает. Знание генома и его функций позволяет не только уточнить диагноз, но в значительной мере предвидеть наличие у человека наследственной предрасположенности к патологии, оценить вероятность развития того или иного заболевания. Данный подход составил основу нового направления медицинской генетики, получившего название предиктивной (предсказательной) медицины (ПМ). Прогресс ПМ прежде всего отражает успехи бурного развития молекулярно-генетических методов, новые возможности изучения структуры и функций генома. Менее чем за 15 лет после расшифровки генома медицинская генетика прошла сложный путь от анализа единичных генов до исследования всего генома, от сканирования генных ассоциаций до системной генетики мультифакторных заболеваний (МФЗ), от трансляционной до точной медицины, от идеи «генетического паспорта» до геномной электронной карты здоровья. Для современной практической медицины особенно актуальны разработка генетического паспорта, развитие прогностического генетического тестирования (ГТ) и карты репродуктивного здоровья.

Ключевые слова:

предиктивная медицина, системная генетика мультифакторных заболеваний, точная медицина, генетический паспорт, электронная геномная карта здоровья, геномная карта репродуктивного здоровья, прогностическое генетическое тестирование.

Конфликт интересов:

автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность финансовой деятельности:

работа выполнена в рамках темы ФНИ № АААА-А19-119021290033-1.

Для цитирования:

Баранов В.С. Геномика и предиктивная медицина. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2021;36(4):14–28. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-14-28>.

Genomics and predictive medicine

Vladislav S. Baranov

D.O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynecology, and Reproduction,
3, Mendeleevskaya liniya, Saint Petersburg, 199034, Russian Federation

Abstract

Progress in understanding of structural and functional human genome organization and deciphering primary DNA sequence in human cells allowed for hitherto unreachable new capabilities of medical genetics in identifying the causes and mechanisms of inherited and inborn pathology. Implementation of genetics into medicine is progressively advancing along with improvement of molecular analysis of genome. Knowledge of genome and its functions allows to provide more accurate diagnosis, predict, to a considerable extent, the presence of genetic predisposition of a person to pathology, and to assess the chances for developing one or another disease. This approach became the basis for a new area of medical genetics named predictive medicine. The progress of predictive medicine reflects success in tremendous upgrowth of molecular genetic methods and new capabilities of studying structure and functions of genome. Within less than 15 years after deciphering genome, medical genetics has travelled a long way from a single gene analysis to whole genome studies, from screening of genetic associations

✉ Баранов Владислав Сергеевич, e-mail: vsbar40@mail.ru.

to systems genetics of multifactorial diseases, from translational to high-precision genetics, and from genetic passport idea to electronic genetic health records. The development of a genetic passport, prognostic genetic testing, and genomic chart of reproductive health is especially relevant for current practical medicine.

Keywords:	predictive medicine, systems genetics of common diseases, personal electronic genetic certificate, genomic chart of reproductive health, prognostic genetic testing.
Conflict of interest:	the author do not declare any conflict of interest.
Financial disclosure:	the work was done as a part of basic research project #AAAA-A19-119021290033-1.
For citation:	Baranov V.S. Genomics and predictive medicine. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2021;36(4):14–28. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-14-28 .

Введение

История предиктивной медицины (ПМ), ее расцвет, сменившийся коротким периодом разочарования, последующее возрождение и бурное развитие, ближайшие и отдаленные перспективы кратко рассмотрены в данном обзоре.

Цель обзора: укрепить в сознании медицинских работников, студентов и сотрудников учреждений медицинского профиля необходимость углубленных знаний по медицинской генетике, обратить их внимание на важные для клинической медицины и практических врачей достижения в этом сравнительно новом направлении молекулярной медицины.

Расшифровка генома человека в 2000 г. предопределила переход медицины на молекулярный (геномный) уровень. Генетические тесты, направленные на поиск новых методов диагностики, профилактики и лечения наследственных (НБ) и частых ненаследственных болезней, получили широкое распространение. Менее чем за 10 лет идентифицировано более 1500 генов, мутации которых ответственны за тысячи НБ.

В начале 90-х гг. XX в. стремительное развитие получили молекулярно-генетические исследования по изучению многих частых мультифакторных заболеваний (МФЗ), вызванных как генетическими вариациями, так и неблагоприятными факторами внешней среды. Существенный вклад в развитие этого важного направления внесли работы известных отечественных ученых-генетиков академиков Н.П. Бочкова, Е.К. Гинтера (Москва), В.П. Пузырева (Томск), Е.И. Шварца (Санкт-Петербург), О.В. Евграфова, В.В. Носикова, Д.В. Залетаева (Москва), Э.К. Хуснутдиновой (Уфа) и др. [1–5].

Таким образом, ПМ явилась естественным итогом внедрения достижений генетики человека в медицину. Принимая во внимание уникальность генома каждого человека и реальную возможность его анализа на любой стадии онтогенеза [6], ПМ *a priori* является не только предиктивной (предсказательной), но персонализированной (индивидуальной) и превентивной (упреждающей). Отсюда очевидно ее полное название – предиктивная, превентивная, персонализированная медицина (ПППМ) или медицина 3 П [7]. Основные данные о геноме человека, мутациях, полиморфизме и НБ суммированы в монографиях [7–10].

Таким образом, ПМ – раздел геномной медицины, направленный на досимптоматическое выявление лиц с высокой предрасположенностью к наследственным и частым МФЗ с целью их профилактики, диагностики и лечения.

Introduction

The article reviews a history of predictive medicine (PM), its progress with a brief period of disappointment, its further revival, rapid development, and the nearest and long-term prospects.

The review aims at increasing awareness of medical professionals, medical students, and specialists working in medical institutions of the need for in-depth knowledge of medical genetics and at drawing their attention to the essential achievements in this relatively new area of molecular medicine.

Deciphering human genome in 2000s predetermined the transition of medicine to the molecular (genomic) level. Genetic tests aimed at a search for new methods of diagnostics, prevention, and treatment for hereditary diseases (HD) and common non-hereditary diseases became widespread. Over 1,500 genes with mutations responsible for thousands of HD have been identified for less than 10 years.

The molecular-genetic studies of many common multifactorial diseases (MFD), caused by both genetic variations and unfavorable environmental factors, gained momentum during the early 1990s. The works of recognized national genetic scientists, full members of the Russian Academy of Sciences, N.P. Bochkov, E.K. Ginter (Moscow), V.P. Puzyrev (Tomsk), E.I. Schwarz (Saint Petersburg), O.V. Evgrafov, V.V. Nosikov, D.V. Zaletayev (Moscow), E.K. Khusutdinov (Ufa), and others significantly contributed to the development of this priority research area [15].

From this perspective, PM became a natural outcome of implementing the advances of human genetics into medicine. Considering the uniqueness of every person's genome and a realistic possibility for its analysis at any stage of ontogenesis [6], PM is *a priori* not only a predictive, but also a personalized (individual) and preventive (preemptive) discipline. Obviously, this consideration clarifies the meaning of its full name: Predictive, Preventive, and Personalized Medicine (PPPM) or 3P-Medicine [7]. Key data on human genome, mutations, polymorphisms, and HDs are summarized in the monographs [710].

In this regard, PM is a field of genomic medicine focusing on the presymptomatic identification of persons with a high predisposition to HDs and common MFDs and aiming at their prevention, diagnosis, and treatment.

Методическую основу ПППМ составляет тестирование генов «предрасположенности» – мутантных генов (аллелей), совместимых с ante- и постнатальным развитием, но приводящих при неблагоприятных условиях к различным заболеваниям [7, 8]. Первые 10 лет (2000–2010 гг.) были отмечены бурным внедрением ПППМ не только в отношении болезней, но и для решения различных проблем лечения, старения и спорта. Возникли и давно самостоятельно развиваются такие направления ПМ, как фармакогеномика, нутригеномика, токсикогеномика, кардиогеномика, психогеномика, дерматогеномика, геномика старения, спортивная геномика и др. [8].

Успехи и разочарования

Исследования генома человека в течение первых лет XXI в. позволили не только идентифицировать гены большинства НБ, но и выявить некоторые редкие моногенные формы ряда частых МФЗ, таких как остеопороз, болезни Паркинсона и Альцгеймера, некоторых форм сердечно-сосудистой патологии, ряда нервно-мышечных заболеваний [1]. Кроме того, эти же исследования убедительно показали недостаточную прогностическую силу генетического тестирования (ГТ) МФЗ. Информационный и прогностический дефицит ГТ в отношении МФЗ получил название феномена «недостающей наследуемости» (missing heritability). Причины этого феномена были предметом оживленной дискуссии в 2009–2013 гг., и в настоящее время ее причины уже хорошо изучены (см. ниже) [11–14].

Концептуальную основу ПППМ, ее квинтэссенцию составляет генетический паспорт (ГП) – индивидуальная база ДНК-данных, которая отражает уникальные генетические особенности каждого человека, его предрасположенность к тем или иным наследственным и МФЗ. Отмечается, что ГП сегодня позволяет судить лишь о том, в какой мере человек относится к группе риска того или иного МФЗ, но не позволяет достоверно утверждать наличие/отсутствие данного МФЗ у конкретного человека в будущем. Важно также отметить, что ГП – отнюдь не вся первичная последовательность нуклеотидов (сиквенс) всего генома, но только тех его составляющих (фрагментов), для которых показана (доказана) причинная связь с патологией человека. Основные причины неопределенности кроются в сложности реальных межгенных и белковых взаимодействий в организме, в трудностях объективной оценки вклада эпигенетических и внешних факторов в возникновение МФЗ. Перспективы внедрения современных методов геномики в ПМ, ее будущее как предтечи точной (precision) медицины и ГП и как современного варианта электронной «Генетической карты здоровья» (Genetic Health Chart) [8] будут рассмотрены в заключительной части обзора. Специального внимания заслуживает анализ МФЗ с позиции системной генетики, то есть персонализированное изучение патогеномики МФЗ на всех уровнях реализации наследственной информации [15].

Таким образом, ПМ прошла трудный путь от тестирования единичных генов до исследования всего генома, от генных сетей и скрининга ассоциаций до полногеномного секвенирования, от ГП с вариациями единичных генов до генетической карты здоровья, составленной на основе индивидуальных омических исследований (геном, транскриптом, метаболон). За последние 20 лет ПМ не только сильно изменилась и благополучно перенесла все слож-

The basis of PPPM methodology integrates testing for the predisposing genes, which are the mutant genes (alleles) compatible with ante- and postnatal development, but causing various diseases under unfavorable conditions [7, 8]. The first decade (2000–2010) was marked by a vigorous implementation of PPPM in the contexts of not only diseases, but also solving the different problems of treatments, aging, and sport. The following areas of PM have emerged and long ago started their self-sustaining development: pharmacogenomics, nutrigenomics, toxicogenomics, cardiogenomics, psychogenomics, dermatogenomics, genomics of aging, sports genomics, etc. [8].

Achievements and disappointments

During the early 2000s, human genome studies allowed for identification of genes responsible for the most HD as well as for elucidation of rare monogenic forms of common MFDs including osteoporosis, Parkinson's disease, Alzheimer's disease, certain forms of cardiovascular pathology, and some neuromuscular disorders [1]. Besides, the same studies convincingly demonstrated insufficient prognostic strength of genetic testing (GT) for MFDs. Missing heritability phenomenon acquired its name from the prognostic and information deficits of GT in regard to MFDs. The causes of this phenomenon sparked a lively discussion in 2009–2013 and have been thoroughly studied (see below) [11–14].

A conceptual basis of PPPM and its quintessence consists in genetic passport (GP), an individual DNA database representing the unique genetic features of person and their predisposition to some genetic disorders and MFDs. It is noted that the GP today only allows to estimate the extent a person belongs to the risk group for a particular MFD, but does not allow to reliably assert the future presence or absence of this MFD in a particular person.

It is also important to note that GP is by no means the complete primary nucleotide sequence of the entire genome, but only those genomic components (fragments) for which a causal relationship with human pathology has been shown (proven). The main causes of this uncertainty are rooted in the complexity of real intergenic and protein-based interactions in the organism, in difficulties to unbiased assessment of contribution of epigenetic and exogenous factors to the occurrence of MFDs. Prospects of implementing the advanced genomics techniques in PM and its future as an ancestor for precision medicine, GT, and current version of electronic genetic health chart [8] are discussed in the last section of the review. Special attention is given to the analysis of MFDs from the perspective of systems genetics i.e. the personalized study of MFD pathogenomics at all levels of unfolding hereditary information [15].

Therefore, PM has come a long way from a single gene testing to whole genome studies, from gene networks and association screening to whole genome sequencing, and from GP with single gene variations to genetic health chart based on individual omics studies (genome, transcriptome, and metabolome). Over the past 20 years, PM has not only significantly evolved and successfully endured all the difficulties of establishing and implementing new

ности становления и внедрения новых технологий, но по мере прогресса ГТ стала важным источником оперативной информации для клинической и профилактической медицины.

История возникновения и развития ПМ находится в прямой зависимости от прогресса в развитии направлений наук о человеке. ПМ сегодня – признанная методология современной науки о геномной медицине. Очевидный параллелизм хронологии развития геномики и прогресс ПМ представлены в таблице 1.

technologies, but, along with the progress in GT, it also became an important source of operational information for clinical and preventive medicine.

The history of the emergence and development of PM has much to do with the progress in the development of human research areas. Current PM is the recognized methodology for the modern science of genomic medicine. The clear parallelism between the chronology of advances in genomics and PM is presented in Table 1.

Таблица 1. Прогресс молекулярных технологий и эволюция геномной медицины [8]

Table 1. Advancements of molecular technologies and genomic medicine evolution [8]

Хронология геномики человека Chronology of human genomics	Эволюция медицинской генетики Evolution of medical genetics
1990–2003 — Проект «Геном человека» и идентификация генов моногенных болезней 1990–2003 — Human Genome Project and identification of genes involved in monogenic diseases	Генетическая медицина — Моногенные болезни Genetic medicine — Monogenic diseases
2002–2006 — Проекта «Гаплоидный геном» (НарМaп) 2002–2006 — Human Genome Project (НарМaп)	Геномная медицина — Мультифакторные болезни Genomic medicine — Multifactorial diseases
2002–2017 — Полногеномный анализ ассоциаций (GWAS) 2002–2017 — Genome-wide association studies (GWAS)	Молекулярная медицина — ДНК-диагностика Molecular medicine — DNA diagnostics
2009–2010 — Коммерциализация генетического тестирования и «исчезающая наследуемость» 2009–2010 — Commercialization of genetic testing and vanishing heritability	Предиктивная медицина — Индивидуальные базы ДНК-данных Predictive medicine — Individual DNA databases
2011 — настоящее время — Системная биология и генетика, онтология МФЗ 2011 – present — Systems biology and genetics and multifactorial disease ontology	Персонализированная медицина — Геномные профили МФЗ Personalized medicine — Genomic profiles of multifactorial diseases
2005 – настоящее время — Секвенирование нового поколения (NGS). 2005 – present — New-generation sequencing (NGS).	Трансляционная медицина — Биомаркеры МФЗ Translational medicine — Multifactorial disease biomarkers
Программы сегментирования геномов: 2008–2021 — «1000 геномов» 2021–2018 — «Геномы англичан» —100 000 2015–2021 — «Российские геномы» —2 500 2016 – настоящее время — Мировые геномные проекты — более 1 000 000	Точная (доказательная) медицина — Электронная генетическая карта High-precision (evidence-based) medicine — Electronic genetic chart
Программы для секвенирования генома: 2008–2021 — The 1000 Genomes Project 2021–2018 — The 100,000 Genomes Project — England 2015–2021 — The 2,500 Genomes Project — Russia 2016 – present — World Genomes Projects — over 1,000,000	

Уместно напомнить, что понятия ПМ и ГП родились на Стрелке Васильевского Острова в Санкт-Петербурге еще в 2000 г. [7]. Их внедрение в генетику происходит прогрессивно и постоянно [16]. Благодаря молекулярным методам возникла генетическая медицина (генные/моногенные болезни), а внедрение геномных технологий (GWAS, NGS), методов биоинформатики и омического анализа определило смещение научных интересов в сторону мультифакторной патологии. Началась эра геномной медицины и ее производных: молекулярной, предиктивной, трансляционной, персонализированной и точной медицины. Информация о генах-кандидатах, а также о вариантах, ассоциированных с МФЗ, можно почерпнуть в различных базах и международных каталогах НБ: OMIM (<http://www.omim.org>).

Несмотря на генетическую идентичность, совпадение в парах близнецов за малым исключением (форма ушей,

It is worthy to note that the concepts of PM and GP came into existence on the Spit of Vasilievsky Island in Saint Petersburg back in 2000s [7]. Their introduction to genetics has been occurring progressively and continuously [16]. Genetic medicine focusing on genetic/monogenic diseases emerged due to the development of molecular methods, whereas implementation of genomic technologies such as genome-wide association studies (GWAS), new-generation sequencing (NGS), bioinformatics methods, and omics analysis resulted in the shift of research interests towards multifactorial pathology. The era of genomic medicine and its derivatives including molecular, predictive, translational, personalized, and precision medicine began. Information on candidate genes and variants associated with MFDs may be obtained from the various databases and international catalogues: OMIM (<http://www.omim.org>).

цвет глаз, кожи, волос) находится в пределах 70–80%, а для типичных, наиболее частых МФЗ (диабет, атеросклероз, гипертония) – 40–45%. С большой вероятностью это означает, что при тестировании даже всех известных генетических факторов (аллелей) предрасположенности окончательная оценка наследственного риска МФЗ не достигнет 100% и не может превысить частоту совпадения фенотипических признаков у однояйцовых близнецов. Следовательно, сложные взаимодействия генотипа и фенотипа в процессах онтогенеза являются основной причиной трудностей интерпретации результатов ГТ МФЗ. По мнению известного американского генетика Э. Ландера, ситуацию с разгадкой результатов ГТ МФЗ можно уподобить gordиеву узлу, который можно развязать, только разрубив его, а в случае ПМ – исследовать методом NGS геномы большого числа пациентов с точно установленным диагнозом и с подробными результатами лабораторных и клинических исследований [17]. Для хранения больших массивов данных создаются крупные коллекции биологических образцов, так называемых биобанков. Считается, что широкое внедрение метода NGS позволит идентифицировать новые гены-кандидаты и патогенетически важные мутации МФЗ, провести качественный и количественный анализ таких нарушений, как вариации числа копий (copy number variations – CNV). В США был создан Центральный институт по исследованию пациентов (Patient Centered Outcomes Research Institute – PCORI), цель которого совместить медицинские карты больных с результатами их лабораторных анализов, с данными их персональных геномов для улучшения качества диагностики, профилактики и лечения частых заболеваний. В 2015 г. при участии и с благословения президента США Б. Обамы в США была запущена программа «Точная медицина» (Precision Medicine). По мнению Фр. Коллинза, «результаты исследования на такой большой группе позволяют получить доказательства реальности концепции точной медицины».

Идеологическим продолжением проекта «Точная медицина» является американский проект «All of Us» (<https://allofus.nih.gov/news-events>) или «Сделай свою медицину сам» («Self-made Medicine»), направленные на решение задач персонализированной медицины. Их цель – поиск и совершенствование путей интерпретации геномных и медицинских данных. В проекте участвуют крупнейшие американские университеты: Медицинский Бэйлор колледж, Университет Джонса Хопкинса, Техасский Университет, Вашингтонский Университет и Кембриджский Университет. Проекты включают полные данные о здоровье добровольцев, у которых тестируются 59 генов тяжелых НБ.

В 2015 г. в странах Европейского Союза было создано Европейское общество предиктивной, превентивной и персонализированной медицины (ЕОПППМ), которое опубликовало программу «Персонализированная медицина для европейцев: на пути к более точной медицине с целью диагностики, лечения и предотвращения болезней – Интегративная Персонализированная Медицина», 2015.

Внедрение новых технологий (GWAS) идентификации и тестирования генов-кандидатов, ассоциированных с МФЗ, не привело к повышению эффективности предиктивного тестирования [18]. Увеличение числа генов, ассоциированных с МФЗ, стимулировало создание сложных наборов генов или SNP-панелей, которые применяются для ГТ наследственной предрасположенности. Некото-

Despite the genetic identity, the phenotypic concordance with few exceptions (shape of ears and eye, skin, and hair color) in twin pairs is within 70–80% and within 40–45% for typical most common MFDs (diabetes, atherosclerosis, and hypertension). With a high probability, this means that the final estimation of familial risk for MFDs will not reach 100% even while testing all known genetic predisposing factors (alleles) and cannot exceed the frequency of concordance of phenotypic traits in identical twins. Therefore, the complex genotype-and phenotype interactions in the processes of ontogenesis are the main reason for the difficulties in interpreting the GT results on MFDs. According to the well-known American geneticist E. Lander, solving the results of GT for MFD may be likened to the Gordian knot, which could be loosed only by cutting it, and, in case of PM, by studying large number of genomes by NGS method with accurately established diagnosis and detailed results of laboratory and clinical tests [17]. Large collections of biological samples known as biobanks are being created to store large amounts of data. It is believed that implementation of NGS method will allow to identify new candidate genes and pathogenetically significant mutations in MFDs and perform qualitative and quantitative analyses of abnormalities such as copy number variations (CNV). The Patient Centered Outcomes Research Institute (PCORI) in the U.S.A. has been created to match patient medical charts containing the results of patient laboratory tests with their personal genome data to improve the quality of diagnosis, prevention, and treatment of common diseases. In 2015, the Precision Medicine Program has been launched with the participation and official blessing of the U.S. President B. Obama. According to Francis Collins, study results obtained on such a large group would allow to obtain the proof of concept of precision medicine.

The U.S. projects “All of Us” (<https://allofus.nih.gov/news-events>) or “Self-Made Medicine” are the ideological continuation of Precision Medicine Project. They aim at solving the tasks of personalized medicine. Their goal consists in a search for and improvement of interpretation of genomic and medical data. The greatest American universities are involved in the project including Baylor College of Medicine, Johns Hopkins University, University of Texas, Washington University, and University of Cambridge. The projects comprise complete data on health of volunteers undergoing testing for 59 genes involved in severe HD.

The European Association for Predictive, Preventive and Personalized Medicine was established in the countries of European Union in 2015. The society published the program “Personalized Medicine for the European citizen - towards more precise medicine for the diagnosis, treatment and prevention of disease” (2015).

Implementation of new technologies (GWAS) for identification of candidate genes associated with MFDs has not resulted in an increase in the effectiveness of predictive testing [18]. An increase in the number of genes associated with MFDs stimulated the development of complex sets of genes or SNP-panels used for GT of genetic predisposition. Some panels are currently used for testing on demand by the DNA sequencing method, but

рые панели уже используются в настоящее время при тестировании «по запросу» методом ДНК-секвенирования, однако их прогностическая ценность не велика (см. ниже). Подсчет генетического риска на основе SNP не достаточен для предсказания сложных МФЗ, т. е. не покрывает полностью недостающую наследуемость. Считается поэтому, что поиск причинных генов МФЗ методом GWAS следует дополнять экзомным и даже полногеномным секвенированием с целью идентификации редких SNP [19, 20].

Правильность прогноза некоторых заболеваний при таком ГТ возросла до 20% (рак простаты) и даже 80% (болезнь Крона). Успех объясняется созданием сложных панелей высокой плотности, позволяющих одновременно тестировать несколько сотен генов предрасположенности или целевых фрагментов ДНК, включающих кластеры таких генов. Исследование этих панелей с целью поиска мутаций и неблагоприятных полиморфных сайтов продолжается.

Тестирование панелей генов предрасположенности к МФЗ применяется в некоторых отечественных лабораториях и коммерческих фирмах. Существенные изменения претерпели панели генов для тестирования генов системы детоксикации, сердечно-сосудистой патологии, остеопороза, сахарного диабета и др. (табл. 2).

its prognostic value is not high (see below). The SNP-based genetic risk calculation is insufficient for prediction of complex MFDs, i.e. it does not completely cover the missing heritability. Therefore, it is believed that a search for causal genes of MFDs by the GWAS method should be complimented by exome sequencing and even whole genome sequencing aimed at identification of rare SNPs [19, 20].

The accuracy of prognosis in some diseases increased to 20% (prostate cancer) and even 80% (Crohn's disease) while using such GT. The success is explained by the creation of sophisticated high-density panels allowing for simultaneous testing of several hundred predisposition genes or target DNA fragments containing clusters of such genes. The study of predisposition gene panels aimed at search for mutations and disadvantageous polymorphic sites is ongoing.

Testing of panels for MFD predisposition genes is used in some national laboratories and commercial companies. The gene panels for testing genes related to the detoxification system, cardiovascular pathology, osteoporosis, diabetes mellitus, etc. underwent significant modifications (табл. 2).

Таблица 2. Генетические платформы для предиктивного тестирования частых мультифакторных заболеваний

Table 2. Genetic platforms for predictive testing of common multifactorial diseases

Генетические платформы для предиктивного тестирования частых мультифакторных заболеваний Genetic arrays for predictive testing of common multifactorial diseases		
GeneSCKits	Systemas	Genomicos
Биобанки генов Gene Biobanks	Полногеномное секвенирование Whole-Genome Sequencing	Биоинформатический анализ / Интерпретация Bioinformatic Analysis & Interpretation
Онко- Onco-	111 генов 111 genes	Наследственные опухоли Hereditary cancers
Нейродегенерации Neurodegenerations	326 генов 326 genes	Нервов, мышц, дисплазии, атаксии Nerve & muscle degeneration disorders, dysplasias, ataxias
Остео- Osteo-	241 ген 241 genes	Остеодисплазии, коллагенозы Osteodysplasia, connective tissue diseases
Кардио- Cardio-	238 генов 238 genes	Каналопатии, коронарная болезнь, кардиомиопатии, патология аорты, синдром внезапной смерти Channelopathies, coronary heart disease, cardiomyopathy, pathology of aorta, sudden death syndrome
Митохондрии Mitochondria	207 генов 207 genes	Митохондриальные болезни Mitochondrial disorders
Эпилепсия Epilepsy	200 генов 200 genes	Энцефалопатии, неонатальные и детские контрактуры Encephalopathies, neonatal & baby seizures
Дислипидемия Dyslipidemia	24 гена 24 genes	Атеросклероз, коронарная болезнь сердца Atherosclerosis, coronary heart disease

ПМ и патогеномика МФЗ

Увеличение числа генов-кандидатов оказалось малоуспешным для повышения эффективности ГТ наследственной предрасположенности к МФЗ. Более перспективным является сравнительный анализ функциональной активности причинных генов в норме и при патологии на разных уровнях (геном, протеом, метаболом), который позволяет понять динамику патологического процесса – его патогеномику (ландшафт) МФЗ [13, 22]. Каждая технология в отдельности не может описать весь патологический процесс.

PM and pathogenomics of MFDs

An increase in the number of candidate genes was found to be of little success in improving GT for inherited predisposition to MFDs. A comparative analysis of functional activities of causal genes at different levels (genome, proteome, and metabolome) allows for understanding the pathological process dynamics, i.e. MFD pathogenomics (landscape) is more promising [13, 22]. Each technology on its own cannot describe the entire pathological process.

Имеется много методов интегративного анализа результатов омиксных исследований (Network analysis) с помощью сетей белок-белковых взаимодействий, регуляторных и коэкспрессирующихся сетей, которые сужают ареал поисков и позволяют выйти на реальные гены болезней и белковые биомаркеры МФЗ [19, 22]. Для этого проводят полногеномное исследование экспрессии причинных генов, найденных с помощью SNP анализа. Интеграцию данных белкового анализа, секвенирования всего генома и SNP (GWAS) анализа используют для диабета типа 2, болезней сердца, аутизма. Интегративный подход с позиции системной генетики позволяет понять генетическую архитектуру МФЗ и становится доминирующим в современной ПМ. На современном этапе интегративная медицина обретает все необходимые качества точной медицины [23].

Согласно программе ЕОППМ, дорожная карта ПМ в качестве своего основного компонента включает массовые секвенирования геномов с целью выяснения их популяционных, этнических, социальных и даже межклеточных особенностей. Посредством интегративного анализа экспрессии генов, белок-белковых взаимодействий формируются индивидуальные омиксные профили, которые проходят клиническую апробацию – сопоставляются с результатами клинических и лабораторных анализов того же пациента. Наличие этих данных позволяет создать интегрированные генные сети пораженных органов и систем пациента и работать с ним в виртуальном мире. Следовательно, сами пациенты являются не только источником информации, но и пользователями данных ПППМ. Акцент «дорожной карты» на предпочтение работы не с самим пациентом, а с его «виртуальными моделями» заслуживает дальнейшего обсуждения, равно как и сам термин «точная медицина». Более адекватным представляется название «индивидуальная медицина».

Анализ итогов GWAS скрининга позволил прийти к заключению, что МФЗ не являются результатом сочетания неблагоприятных аллельных вариантов многих генов. Сами по себе частые полиморфизмы генов-кандидатов МФЗ оказались недостаточными для объяснения возникновения МФЗ. Так, была опровергнута гипотеза «common diseases – common genes», предложенная для объяснения феномена исчезающей наследуемости. Предпринимались попытки объяснить развитие МФЗ наличием редких доминантных аллелей, встречающихся в геноме с частотой менее 0,5% и потому не улавливаемых методом GWAS. Так появилась гипотеза «редких» аллелей как причинных факторов МФЗ (rare variants – common diseases hypothesis) [24]. Однако для ее проверки необходим сравнительный анализ результатов секвенирования тысяч геномов здоровых и больных людей, и такие исследования уже проводятся в Великобритании, а также в странах Европы и Америки. Вместе с тем теоретические расчеты убеждают в неправомочности гипотезы редких аллелей в этиологии частых МФЗ [25, 26]. Согласно гипотезе S. Hussain, причиной МФЗ является биаллельная инактивация одного из причинных генов соответствующего МФЗ. Постулируется, что первая мутация (рецессивный аллель) наследуется от одного из родителей, тогда как второй (слабый аллель) имеет соматическое происхождение и возникает еще в эмбриогенезе или вскоре после рождения. Важную роль в инактивации второго аллеля могут играть эпигенетические нарушения, в частности мутации, вызванные дезаминированием метил-цитози-

There are many methods for integrative analysis of omics study results (Network Analysis) using the protein-protein interaction networks, regulatory networks, and gene co-expression networks, which narrow the search area and allow to identify causal genes of diseases and protein biomarkers of MFDs [19, 22]. Whole genome studies of the expression of causal genes identified based on SNP analysis are performed for this purpose. The integration of data from protein analysis, whole genome sequencing, and SNP analysis (GWAS) are used for type 2 diabetes mellitus, cardiac diseases, and autism. Integrative approach from the perspective of systems genetics allows to understand genetic architectonics of MFDs and becomes predominant in current PM. At the modern stage, integrative medicine acquires all necessary qualities of precision medicine [23].

According to EAOPM program, PM roadmap includes mass sequencing of genomes as an essential element aimed at elucidation of their population, ethnic, social, and even tissue-specific features. Integrative analysis of gene expression and protein-protein interactions allow to form individual omics profiles, which undergo clinical approbation, i.e. are compared with the results of clinical and laboratory tests in the same patient. The availability of these data allows to create the integrated gene networks of damaged organ systems in a patient and work with them in virtual reality. Therefore, patients themselves are both information source and users of PPM data. Roadmap focus on the preferred work with the virtual models of patients rather than with the patients themselves deserves a further discussion along with the term “precision medicine”. “Personalized medicine” is a more adequate term.

The analysis of GWAS screening outcomes allowed to conclude that MFDs are not the result of a superposition of disadvantageous allelic variants of many genes. The common polymorphisms of candidate MFD genes on their own are insufficient to explain the onset of MFDs. Indeed, the hypothesis “common diseases – common genes”, proposed to explain missing heritability phenomenon, was rejected. The attempts were made to explain the development of MFDs through the presence of rare dominant alleles present in the genome with a frequency less than 0.5%, which, therefore, could not be detected by GWAS. It led to establishing the hypothesis of rare alleles as the causal factors for MFDs (rare variants – common diseases hypothesis) [24]. However, testing this hypothesis requires a comparative analysis of results from sequencing thousands of genomes from healthy and diseased persons, and such studies are currently ongoing in the United Kingdom and countries of Europe and America. At the same time, theoretical considerations suggest inappropriateness of rare variant hypothesis in regard to the etiology of common MFDs [25, 26]. According to the hypothesis of S. Hussain, a cause of MFD is a biallelic inactivation of one of causal genes related to MFD. It is postulated that the first mutation (recessive allele) is inherited from one of parents, whereas the other (weak allele) has a somatic origin and emerges in embryogenesis or soon after the birth. Epigenetic abnormalities, in particular, mutations caused by methyl-cytosine deamination to thymidine in CpG islands of the structural genes, may play

на в тимидин в CpG-островках структурных генов. Итак, доминантные мутации структурных генов, сочетания неблагоприятных аллелей нескольких генов одного метаболического пути, а также гомозиготные мутации многочисленных рецессивных генов могут быть причиной разнообразия и высокой популяционной частоты различных МФЗ [26]. Исследование любого количественного признака, равно как и патогенеза МФЗ, невозможно без анализа функции генома, то есть выяснения всех этапов реализации генетической информации на разных уровнях организации живой материи: молекулярном (ДНК, РНК), биохимическом (белки, функциональные белковые модули, метаболические пути), клеточном, межклеточном и др. [27].

Таким образом, для углубленного понимания МФЗ необходим переход от анализа отдельных составляющих патологического процесса (геном, транскриптом, метаболом и т. д.) к их обобщению [22].

Необходимость перехода естественных наук от анализа к синтезу, от «редукционизма к холизму» была обоснована еще в 1968 г. Л. Берталанффи, который предложил и математически обосновал «теорию систем», положенную в основу «системной биологии» – междисциплинарной науки, направленной на изучение и моделирование сложных взаимосвязей в биологических системах с позиции целого (холизм/редукционизм) [28–30]. Одним из ее направлений является системная генетика, которая призвана изучать процессы реализации генетической информации, взаимосвязь генетических компонентов метаболических путей и функциональных модулей в развитии фенотипических признаков [22, 30]. Особенно перспективным на данном этапе представляется поиск взаимосвязей между экспрессией причинных генов и клиническими симптомами МФЗ. Уточнение структуры генных сетей, их экспрессии, свойств и взаимодействия продуктов причинных генов, состояние соответствующих метаболических путей лежат в основе молекулярной медицины.

ПМ и системная генетика МФЗ

Важным итогом исследований по ПМ является интеграция полученных результатов, их совмещение с клиническими данными, создание на этой основе биоинформационной модели заболевания, идентификация ключевых пусковых механизмов, (молекулярных драйверов), использование которых важно для профилактики и целенаправленного (таргетного) лечения МФЗ [25]. Широкое внедрение подходов и методов системной генетики знаменует начало нового этапа ПМ – трансляционной (таргетной) медицины.

Новый подъем интереса к ПМ был обусловлен стремительным ростом эффективности полногеномного секвенирования, внедрением секвенирования следующего поколения (Next Generation Sequencing). Применение NGS позволило в сравнительно короткий срок провести секвенирование геномов 1500 жителей Европы, активно секвенировать миллионы геномов жителей Великобритании, Северной Америки, Китая [22]. Предполагается, что NGS позволит решить ряд основных проблем ПМ, в частности идентифицировать новые гены-кандидаты МФЗ и обнаружить новые патогенетически важные мутации: провести качественный и количественный анализ вариаций числа копий (CNV), оценить их вклад в патогенез МФЗ, индивидуальную генетическую специфичность МФЗ, создать новую генетическую классификацию болезней.

an essential role. Dominant mutations of structural genes, combinations of unfavorable alleles of several genes in one metabolic pathway, and homozygous mutations of multiple recessive genes may be the cause of diversity and high population frequency of various MFDs [26]. The study of any qualitative variable and likewise MFD pathogenesis is impossible without the functional genome analysis, i.e. elucidation of all stages of genetic information unfolding at different levels of live matter organization: molecular (DNA, RNA), biochemical (proteins, functional protein modules), cellular, intercellular, etc. [27].

Therefore, an in-depth understanding of MFDs requires a transition from the analysis of individual elements of pathological process such as genome, transcriptome, metabolome, etc. to their integration [22].

The need for natural science transition from analysis to synthesis and from reductionism to holism was justified in 1968 by Karl Ludwig von Bertalanffy who proposed and provided mathematical foundation for general systems theory that became a foundation of systems biology, an interdisciplinary scientific discipline aimed at study and modeling of complex interrelationships in biological systems from the perspective of the whole (holism/reductionism) [28–30]. One of its areas is systems genetics aimed at studying the processes of genetic information unfolding and the relationships between genetic components of metabolic pathways and functional modules in the development of phenotypic traits [22, 30]. A search for relationships between causal gene expression and clinical symptoms of MFDs seems especially promising at the current stage. Refinement of the structure of genetic networks, their expression, properties, causal gene product interactions, and states of the corresponding metabolic pathways underlie molecular medicine.

PM and systems genetics of MFDs

The PM studies essentially result in an integration of obtained data, their alignment with clinical data, creation of bioinformatics model of disease, and identification of key trigger mechanisms (molecular drivers), whose use is essential for prevention and target treatment of MFDs [25]. Wide implementation of systems genetics approaches and methods signifies the beginning of new stage of PM: translational (target) medicine.

New surge of interest in PM was caused by rapidly growing effectiveness of whole genome sequencing and implementation of NGS. Within a short period of time, the use of NGS allowed to perform genome sequencing of 1,500 residents of Europe and vigorously sequence millions of genomes of people living in the United Kingdom, North America, and China [22]. It is proposed that NGS will allow to solve the essential problems in PM, in particular, identify the new candidate genes for MFDs and detect new pathogenetically significant mutations: to perform qualitative and quantitative analysis of copy number variations (CNV), assess their contribution to MFD pathogenesis and individual genetic specificity of MFDs, and create new genetic classification of diseases.

It is proposed to combine the results of wide-spread whole genome sequencing with analysis of causal gene expression in relationships with individual clinical data and

Предполагается совместить результаты массового полногеномного секвенирования с экспрессией причинных генов в сочетании с индивидуальными клиническими данными и результатами лабораторных исследований. Достижение этой глобальной цели, столь важной для человечества, предполагает следующие этапы:

- создание репрезентативных биобанков ДНК и образцов тканей больных с различными МФЗ;
- идентификация генов-кандидатов, определение генетического профиля МФЗ (метод GWAS, экзомное и геномное секвенирование);
- сравнительный анализ эпигенетической регуляции генов-кандидатов (метилование, спектры регуляторных miRNAs, экспрессионные профили генов-кандидатов в норме и при патологии);
- разработка компьютерных программ и биоинформационных моделей;
- определение главных метаболических путей, которые нарушаются при разных МФЗ;
- поиск и идентификация биомаркеров МФЗ, пригодных для ранней диагностики, лечения и объективной оценки индивидуального риска МФЗ.

В течение ближайших 5 лет будут получены доказательства основных стратегических принципов PPPM, через 10 лет начнется ее практическое внедрение, через 20 лет она полностью войдет в клиническую практику и, возможно, выйдет на уровень персонализированной телемедицины.

В 2013 г. в США был создан НИИ по генетическому контролю здоровья пациентов (Patient Centered Outcomes Research Institute – PCORI), целью которого является совмещение медицинских карт конкретных больных с результатами их лабораторных анализов и с данными их персональных геномов для улучшения качества диагностики, профилактики и лечения частых заболеваний. В настоящее время NGS является наиболее важным методом диагностики редких заболеваний, но его вклад в ПМ мультифакторной патологии однозначный.

Реальный подход к преодолению этой трудности открывает системная генетика. Анализ экспрессионных и эпигенетических профилей причинных генов, функциональных модулей, эффектов эпистаза, ген-генных и белок-белковых взаимодействий в соответствии с правилами системной генетики существенно расширяет возможности диагностики МФЗ [19]. Омиксные технологии и основанный на них интегративный подход дают возможность заглянуть в глубинные молекулярные механизмы патогеномики МФЗ, идентифицировать главные метаболические пути, нарушение которых является причиной болезни, предложить персонализированное лечение. Результаты геномного, транскриптомного и протеомного анализов должны составлять основу электронной карты здоровья человека, его ГП и семейной карты репродуктивного здоровья в недалеком будущем [31, 32].

В настоящее время Генетическая карта репродуктивного здоровья (ГКРЗ) [8] все чаще рассматривается как набор генетических и других лабораторных тестов, направленных на выяснение особенностей и прогнозирование репродуктивного риска в семье. Она включает не только кариотипирование супругов, но и их тестирование на скрытое носительство более 1000 аутосомно-рецессивных заболеваний, включая семейные формы гиперхолестеринемии, наследственные раки, кардиомиопатии и др. Особое значение для прогноза репродуктивной

results of laboratory tests. An achievement of this global goal, which is so important for humanity, implies the following milestones:

- Creation of representative DNA biobanks and tissue samples from patients with various MFDs
- Identification of candidate genes and determination of MFD genetic profiles (GWAS, exome and genome sequencing)
- Comparative analysis of epigenetic regulation of candidate genes (methylation, spectrums of regulatory miRNA, and expression profiles of candidate genes in health and disease)
- Development of computer software and bioinformatics models
- Determination of main metabolic pathways disrupted in various MFDs
- Search and identification of MFD biomarkers suitable for early diagnosis, treatment, and unbiased assessment of individual MFD risk

The proofs of main strategic PPPM principles will be acquired during the following five years, and, in ten years, PPPM will be included in clinical practice, and, possibly, it will achieve the level of personalized medicine.

Patient Centered Outcomes Research Institute (PCORI) has been established in the U.S. in 2013 aimed at aligning the medical charts of patients with the results of their laboratory tests and personal genome data to improve quality of diagnosis, prevention, and treatment of common diseases. NGS is currently the most important diagnostic method in rare diseases, but its contribution to PM of multifactorial pathology is certain.

Systems genetics opens the true way to overcoming this challenge. The analysis of expression and epigenetic profiles of causal genes, functional modules, epistasis effects, and gene-gene and protein-protein interactions according to the rules of systems genetics significantly expands capabilities of MFD diagnostics [19]. Omics technologies and omics-based integrative approach allow to get in-depth insights into the molecular mechanisms of MFD pathogenomics, identify the main metabolic pathways causing disease if disrupted, and offer personalized treatment. The results of genomic, transcriptomic, and proteomic analysis may provide the basis for electronic records of human health, GP, and family charts of reproductive health in the near future [31, 32].

Currently available genetic chart of reproductive health (GCRH) [8] is increasingly often considered an array of genetic and other laboratory tests aimed at detection of traits and prediction of reproductive risk in the family. It comprises not only karyotyping of spouses, but also testing for latent carriership of over 1,000 autosomal recessive diseases including familial forms of hypercholesterolemia, hereditary cancers, cardiomyopathies, etc. Testing for the genetic markers of recurrent pregnancy loss, infertility, fetoplacental insufficiency, and thrombophilia are especially significant for the prognosis of reproductive function. To preserve reproductive health in the presence of appropriate clinical indications, GT for hereditary causes of male and female infertility deserves a special attention.

A current variant of familial GCRH comprises the results of medical genetic testing, reproductive functional

функции имеет тестирование генетических маркеров невынашивания беременности, бесплодия, фетоплацентарной недостаточности, тромбофилии. Для сохранения репродуктивного здоровья при наличии соответствующих клинических показаний специального внимания заслуживает ГТ наследственных причин мужского и женского бесплодия.

state, and the factors of male and female infertility (Fig. 1) [6, 21]. Other relevant goals on the way to advanced GP include the need for creation of up-to-date biobanks of DNA samples of blood and tissues from patients with various MFDs [20, 26] and development and implementation of artificial intelligence, which will help to significantly deepen the deciphering of DNA sequencing results [18].

Прекоцепционный скрининг Preconception screening	Карта репродуктивного здоровья семьи Family reproductive health chart	Карта общего здоровья семьи Genetic family chart
Медико-генетическое консультирование супружеской пары Medical genetic consulting of a couple		
Кариотип Karyotype	Кариотип Karyotype	Кариотип Karyotype
Скрининг гетерозиготного носительства мажорных мутаций частых наследственных заболеваний (ПЦР, микрочипы, секвенирование и т.п.): Screening for major mutations carriers and pathologic variants of common genetic disorders (PCR, CGH, NGS, etc.): Муковисцидоз Cystic fibrosis Миодистрофия Дюшена Duchenne muscular dystrophy Гемофилия А Hemophilia A Фенолкетонурия Phenylketonuria Адено-генитальный синдром Спинальная мышечная атрофия Spinal muscular atrophy	Анализ геномных перестроек методом arrayCGH Analysis of genomic rearrangements by arrayCGH method Исследование на носительство более 1000 наследственных аутосомно-рецессивных заболеваний с помощью NGS секвенирования Study of carriership of over 1,000 hereditary autosome recessive disorders by NGS sequencing Поиск «вторичных» находок, согласно рекомендациям ACGVG (наследственные раки, кардиомиопатии, семейные формы гиперхолестеринемии и др.) Search for secondary findings according to ACMG recommendations (inherited cancers, cardiomyopathies, familial forms of hypercholesterolemia, etc.) <div style="background-color: #4CAF50; color: white; text-align: center; padding: 2px;">HLA-типирование HLA-typing</div> <div style="background-color: #9c27b0; color: white; padding: 2px;">Женское здоровье: Female health: Преждевременная недостаточность яичников, гипергонадотропная недостаточность яичников, преждевременная менопауза (FMR1) Premature ovarian insufficiency, hypergonadotropic ovarian insufficiency, premature menopause (FMR1) Неудачные попытки (тромбофилия) In vitro fertilization failures, thrombophilia Поиск синдромальных причин или мутаций в других генах Search for syndromic causes or mutations in other genes</div> <div style="background-color: #4dd0e1; color: white; padding: 2px;">Мужское здоровье: Male health: Необструктивная азооспермия, олигозооспермия от вредней до тяжелой (AZF) Non-obstructive azoospermia, oligozoospermatism of moderate to severe degree (AZF) Обструктивная азооспермия, врожденная двусторонняя аплазия семявыносящих протоков или тяжелая олигозооспермия, аплазия семявыносящих протоков (CFTR) Obstructive azoospermia, congenital bilateral absence of the vas deferens (CFTR)</div>	Исследование на носительство более 1000 наследственных аутосомно-рецессивных заболеваний с помощью NGS секвенирования Study of carriership of over 1,000 hereditary autosome recessive disorders by NGS sequencing Маркеры невынашивания беременности Miscarriage markers Маркеры бесплодия Infertility markers Тромбофилия Thrombophilia Маркеры фетоплацентарной недостаточности Fetoplacental insufficiency markers
Базы данных (геном, транскриптом, протеом, метаболом) Data bases (genome, transcriptome, proteome, metabolome)		

Рис. 1. Вариант генетической карты репродуктивного здоровья семьи [6]
Fig. 1. Tentative genetic chart of family reproductive health [6]

Современный вариант ГКРЗ семьи включает результаты медио-генетического тестирования, состояния репродуктивной функции, факторов мужского и женского бесплодия (рис. 1) [6, 21]. В качестве других актуальных задач на пути к современному ГП рассматривается необходимость создания современных биобанков образцов ДНК крови и тканей пациентов с разными МФЗ [20, 26], разработка и внедрение искусственного интеллекта, который поможет существенно углубить расшифровку результатов ДНК секвенирования [18].

Gene panels for selective screening of newborns, spouses, and adults under 25 years are currently under development. Standardization of screening procedure and known gene variant testing is warranted [6].

PM nowadays

Pathogenomics of common obstetric pathology (endometriosis and uterine myoma)

An approach to MFDs from the standpoint of PM has allowed to significantly advance understanding the

Сегодня разрабатываются и начинают использоваться панели генов для селективного скрининга новорожденных, супругов и взрослых до 25 лет. Отмечается необходимость стандартизации процедуры скрининга, тестирование известных вариантов генов [6].

ПМ сегодня

Патогеномика частой акушерской патологии (эндометриоз и миома матки)

Подход к МФЗ с позиции ПМ позволил существенно продвинуться вперед в понимании патогеномики типичных МФЗ, таких как эндометриоз (ЭМ) и миома матки (ММ), в частности уточнить пути профилактики, улучшить диагностику и повысить эффективность персонализированного лечения, начать разработку методов генной терапии.

Проведенные исследования убедительно показали, что именно интегративный подход является наиболее продуктивным и единственным для объективного понимания патогеномики заболевания. Вопрос о том, в какой мере идентифицированные «причинные» гены и продукты их экспрессии могут рассматриваться как биомаркеры, требует дополнительной проверки. Однако уже сейчас с полным основанием можно сделать вывод, что оба заболевания (ЭМ и ММ) являются сборными понятиями, так как представляют собой наборы клинически сходных, но патогенетически разных заболеваний, каждое из которых имеет свой эпигеном, которому соответствуют свои клинические формы. Именно внутри таких субъединиц наиболее вероятны находки специфических биомаркеров ЭМ и ММ [33].

Непременным условием успешности такого поиска является наличие репрезентативных групп соответствующих больных с точным диагнозом. Отсюда логичным и своевременным является организация ДНК-биомаркеров больных ЭМ, секвенирование их геномов, дополненное биоинформатическим анализом. ЭМ – комплексное системное заболевание эндометрия, имеющее свою собственную генетическую программу развития (ГПРЭ), которая регулирует и направляет основные генетические и эпигенетические процессы в клетках эндометрия. Предложена гипотеза, согласно которой ГПРЭ включает, по крайней мере, три критических периода (КП), во время которых происходит репрограммирование генома клеток эндометрия. КП-1 соответствует закладке женской репродуктивной системы, КП-2 – трансформации эпителиальных клеток эндометрия и брюшины в мезенхимальные стволовые клетки, КП-3 – становлению и развитию эндометриоидных гетеротопий (ЭГТ) [34]. Интегративный подход к изучению патогеномики наружного генитального эндометриоза (НГЭ) позволил получить новые данные о генетических и эпигенетических факторах, лежащих в основе возникновения и развития заболевания. Установлено, что ЭМ – не самостоятельная нозология, а скорее, набор («букет») сходных или фенотипически близких клинических форм, вызванных мутациями разных генов или неблагоприятным сочетанием функционально неполноценных аллелей и их эпигенетической дисрегуляцией. Каждая клиническая форма ЭМ имеет свой эпигенетический ландшафт (ЭЛ) – специфические функциональные изменения транскрипции причинных генов. Эквивалентность патологического процесса (его окончательный клинический фенотип) определяется индивидуальными особенностями генома и эпигенома больных женщин.

pathogenomics of typical MFDs such as endometriosis and uterine myoma, in particular, specify the ways of prevention, improve diagnosis, increase efficacy of personalized treatment, and begin the development of gene therapy methods.

Performed studies convincingly demonstrate that the very integrative approach is the most productive and the only unbiased way to understanding pathogenomics of disease. The question to what extent identified causal genes and products of their expression may be considered biomarkers requires further studies. However, one may currently conclude that both diseases (endometriosis and uterine myoma) are miscellaneous entities because they comprise clinically similar, but pathogenetically diverse diseases, each of which has its own epigenome with the corresponding clinical forms. Specific biomarkers of endometriosis and uterine myoma may be found within these subunits [33].

An essential condition for such a search is the presence of representative groups of relevant patients with accurate diagnosis. Therefore, the organization of DNA biobanks of patients with endometriosis and sequencing of their genomes supplemented by bioinformatic analysis is a logical and timely measure. Endometriosis is a complex systemic endometrial disease, which has its own genetic program of development regulating and directing the main genetic and epigenetic processes in the endometrial cells. The proposed hypothesis suggesting that the genetic program of endometriosis development includes at least three critical periods when the reprogramming of genome of endometrial cells occurs. Critical period 1 corresponds to the establishment of female reproductive system; critical period 2 corresponds to the transformation of epithelial cells of the endometrium and peritoneum to the mesenchymal stem cells; critical period 3 corresponds to the establishment and development of endometrioid heterotopies [34]. Integrative approach to studying pathogenomics of external genital endometriosis allowed to obtain new data regarding the genetic and epigenetic factors underlying the onset and progression of disease. Evidence suggests that endometriosis is not a self-sufficient nosology, but rather an array (bunch) of similar or phenotypically close clinical forms caused by the mutations of different genes or unfavorable combination of dysfunctional alleles and their epigenetic dysregulation. Each clinical form of endometriosis has its own epigenetic landscape i.e. specific functional changes in the transcription of causal genes. Equifinality of pathological process (its final clinical phenotype) is determined by the individual features of genome and epigenome of affected women.

Therefore, the study of endometriosis pathogenesis, based on omics technologies and methods of systems genetics, open the prospects for the development of effective methods of prevention, diagnostics, and personalized treatment of endometriosis, a common socially significant disease.

Uterine Myoma (UM)

Studies of PM in the uterine myoma (UM) suggest the presence of at least two diverse molecular mechanisms of pathogenesis: genetic and epigenetic [35]. The first and

Таким образом, изучение патогеномики ЭМ с помощью омиксных технологий и методов системной генетики открывает перспективы для разработки эффективных методов профилактики, диагностики и персонализированного лечения ЭМ – частого социально значимого заболевания.

Миома матки (ММ)

Исследования по ПМ миомы матки (ММ) указывают на наличие по крайней мере двух разных молекулярных механизмов патогенеза: генетического и эпигенетического [35]. Первый и наиболее частый (80–85%) касается гена *MED12*, мутации которого сопряжены с повышенной экспрессией «раннего» гена – *WNT4*, который активируется в стволовые клетки миометрия матки под действием различных повреждающих факторов (инфекции, механотрансдукции). Мутация гена *MED12* нарушает метаболические пути, связанные с пролиферацией миобластов и формированием межклеточного матрикса (*Wnt/β-катенин*, пролактин, и инсулиновый ростовой фактор – *IGF*). В результате этих нарушений развиваются множественные ММ – узлы среднего размера. Второй механизм характеризуется наличием транслокации *t(12;14)(q14-q15;q23-q24)* и повышением активности гена *HMGA2*, продукт которого полипептид, относящийся к семейству ДНК-связывающих гистоновых белков, стимулирует пролиферацию клеток и их трансформацию в клетки ММ. Экспрессия гена *HMGA2* активируется гипоксией, ксенобиотиками, нарушением системы детоксикации, хромосомными aberrациями. Продукт гена *HMGA2* является главным драйвером развития ММ. Гиперэкспрессия гена *HMGA2* активирует протоонкоген *PLAG1* и ген *WIF1* – ингибитор метаболического пути *Wnt/β-катенин*. Результатом второго эпигенетического пути являются крупные солитарные ММ-узлы.

Многочисленные данные свидетельствуют о глобальных нарушениях процессов метилирования/деметилирования генома в клетках лейомиомы (ЛМ). Это указывает на важный вклад нарушений эпигенетической регуляции в патогенез этого заболевания [35]. Существенная роль в эпигенетической регуляции отводится микроРНК. Уже первые исследования ЛМ показали значительные нарушения профиля синтеза регуляторных микроРНК, особенно *let7*, *miR-21*, *miR-93*, *miR-106b*, *miR-200*. Многие из них (*let-7*, *200a*, *200c*, *93*, *106b* and *21*) регулируют процессы пролиферации, воспаления, ангиогенеза, контролируют синтез компонентов внеклеточного матрикса, процессы апоптоза клеток ЛМ.

Достижения в изучении патогеномики ММ открывают новые стратегические перспективы в диагностике и лечении этого заболевания. В частности, подавление сигнального пути инсулинового ростового фактора (ген *IGF2BP2*) для снижения экспрессии гена *HMGA2*; подавление роста внеклеточного матрикса путем супрессии генов *TGF-β* и *ACVR1* – новая перспективная стратегия фармакогенетики ММ.

Таким образом, используя современные молекулярные технологии и методы системной генетики, удалось существенно продвинуться в понимании патогеномики ММ и предложить новые перспективные подходы к ее лечению.

Существенный прогресс достигнут и в других разделах ПМ, как традиционных (фармакогенетика, генетика старения, нутригеномика, спортивная геномика [8]), так и

the most common mechanism (8085%) refers to *MED12* gene whose mutations are associated with an increased expression of early *WNT4* gene, which is activated in the uterine myometrium stem cells in response to various damaging factors (infections, mechanotransductions). Mutation of *MED12* gene disrupts the metabolic pathways associated with myoblast proliferation and intracellular matrix formation (*Wnt/β-catenin*, prolactin, and insulin growth factor (*IGF*)). These abnormalities result in the development of multiple moderate-size UM nodes. The second mechanism is characterized by the presence of translocation *t(12;14)(q14-q15;q23-q24)* and an increase in the activity of *HMGA2* gene whose product, a polypeptide belonging to the family of NA-binding histone proteins, stimulates cell proliferation and transformation to UM cells. The expression of *HMGA2* gene is activated by hypoxia, xenobiotics, detoxification system abnormalities, and chromosome aberrations. *HMGA2* gene product is the main driver of UM development. The *HMGA2* gene hyperexpression activates protooncogene *PLAG1* and *WIF1* gene, an inhibitor of metabolic pathway of *Wnt/β-catenin*. Large solitary UM nodes result from the second epigenetic pathway.

Abundant data suggest the globally abnormal processes of methylation/demethylation in the genome of leiomyoma (LM) cells. This observation denotes a significant contribution of abnormal epigenetic regulation to the pathogenesis of the disease [35]. MicroRNAs play a significant role in the epigenetic regulation. Even the first studies of LM showed the presence of significant abnormalities in the profile of synthesis of regulatory microRNA especially *let7*, *miR-21*, *miR-93*, *miR-106b*, and *miR-200*. Many of them (*let-7*, *200a*, *200c*, *93*, *106b*, and *21*) regulate the processes of proliferation, inflammation, and angiogenesis and control synthesis of extracellular matrix components and apoptotic processes in the LM cells.

The achievements of studying the UM pathogenomics open new strategic perspectives for diagnosis and treatment of this disease. In particular, a new promising strategy of UM pharmacogenetics consists in the downregulation of insulin growth factor (*IGF2BP2* gene) signaling pathway to attenuate the *HMGA2* gene expression and the decrease in extracellular matrix growth via suppression of *TGF-β* and *ACVR1* genes.

Therefore, the use of cutting-edge molecular technologies and methods of systems genetics allowed to succeeded in understanding the UM pathogenomics and propose new promising approaches to its treatment.

A significant success has been also achieved in other PM subdisciplines including both traditional (pharmacogenetics, genetics of aging, nutrigenetics, and sports genetics [8]) and relatively recent areas (prenatal GT [6] and hereditary features of sensitivity to COVID-19 infection).

These areas of PM represent the focus of a second edition of new book “Predictive medicine evolution”, which is currently in press.

Conclusion

PM is a natural result of implementing molecular technologies in human genetics. Over 20 years of its existence, PM has travelled the difficult path from the first

сравнительно новых направлениях (пренатальное ГТ [6] и наследственные особенности чувствительности к ковидной инфекции).

В настоящее время эти направления ПМ составили основу 2-томного издания новой монографии «Эволюция предиктивной медицины», которая находится в печати.

Заключение

ПМ – естественный результат внедрения молекулярных технологий в генетику человека. За 20 лет существования ПМ прошла сложный путь от первых попыток досимптоматической диагностики моногенных болезней до функционального картирования кандидатных генов частых МФЗ. Внедрение метода полногеномного скрининга аллельных ассоциаций (GWAS) способствовало идентификации многих ранее неизвестных причинных генов МФЗ, однако не вызвало решительного перелома в эффективности предиктивного ГТ. Ее низкая эффективность, как стало понятным, была обусловлена «недостающей наследуемостью», связанной с несовершенством тестирования. Подход к ПМ с позиции системной генетики (исследование патологии на разных уровнях реализации генетической информации) существенно укрепил позиции ПМ и позволил лучше понять патогеномику МФЗ. Стремительный прогресс геномики позволяет утверждать, что в обозримом будущем уже при рождении человек может получать результаты анализа индивидуального генома не только на наличие уже существующей или потенциальной, неманифестирующей патологии, но и об индивидуальной предрасположенности к частым МФЗ [34], информацию, важную для фармакотерапии. С возрастом результаты секвенирования генома предполагается интегрировать с медицинской картой новорожденного, что положит начало электронной карте здоровья. В настоящее время ПППМ все еще находится на ранних этапах развития. ГТ сегодня дает возможность определить для конкретного человека только группу риска МФЗ, но за малым исключением не позволяет делать никаких объективных прогнозов в отношении будущих болезней. Уместно подчеркнуть, что любые клинические исследования и анализы (биохимические, функциональные, серологические и др.) дают возможность судить только о текущем состоянии организма, тогда как ГТ, проведенное раз в жизни, предоставляет информацию об уникальных особенностях всей наследственной программы человека [36].

Итак, ПМ, возникшая еще в 2000 г., претерпела серьезную эволюцию и сохранила свою актуальность. Она положила начало ПППМ, которая в обозримом будущем вместе с биоинформатикой и системной генетикой станет неотъемлемой частью трансляционной (таргетной) медицины. Не исключено, что уже упоминавшийся «генетический паспорт» в той или иной форме трансформируется в электронную карту здоровья, совмещенную с индивидуальными геномными данными [37]. Внедрение секвенирования нового поколения (NGS), создание обобщенных генетических и клинических баз данных – путь к «точной геномной персонализированной медицине» будущего. Разработка и внедрение масштабных международных проектов (EPPPM, Precision Medicine), направленных на анализ корреляций между молекулярными изменениями генома и особенностями их фенотипического проявления, включая МФЗ, свидетельствует об актуальности, перспективности и практической значимости исследований по ПМ.

attempts of presymptomatic diagnostics in monogenic diseases to functional mapping of candidate genes in common MFDs. Implementation of GWAS method contributed to the identification of many previously unknown causal MGF genes, but it did not result in breakthrough effectiveness of predictive GT. It became clear that low effectiveness of PM was caused by missing heritability associated with the imperfections of testing. An approach to PM from perspective of systems genetics (study of pathology at different levels of genetic information unfolding) significantly reinforced a stand of PM and allowed for better understanding the MFD pathogenomics. Tremendous progress of genomics allows to state that, in the foreseeable future, a person even at birth may receive the results of individual genome analysis not only for the presence of already existing or potential not-yet manifesting pathology, but also for individual predisposition to common MFDs [34], which is essential for pharmacotherapy. It is perceived that, the results of genome sequencing are proposed to be integrated with medical record of a newborn, which will lay foundation for the life-long electronic health record. Current PPPM is still at the early stages of its development. Nowadays, GT provides an opportunity for a given person to determine only their risk group for MFD, but, with very few exceptions, it does not allow to make any unbiased predictions in regard to occurrence of future diseases. It is reasonable to emphasize that any clinical studies and tests (biochemical, functional, serological, etc.) provide an opportunity to estimate only a current state of organism, whereas GT, once made, provides information on unique features of the entire inheritable program of person [36].

In summary, PM, which emerged in 2000s, has undergone a significant evolution and preserved its relevance. This discipline gave rise to PPPM, which, along with bioinformatics and systems genetics, will become an essential element of translational (target) medicine. The above-mentioned GP in one or another form will potentially turn into the electronic health record integrated with individual genomic data [37]. Implementation of NGS and creation of integrated genetic and clinical databases are the way to future precision genomic personalized medicine. Development and implementation of large-scale projects (EPPPM, Precision Medicine) aimed at the analysis of correlations between molecular changes in genome and features of the phenotypic manifestation including MFDs suggests the relevance, bright prospects, and practical significance of PM studies.

References

1. Hereditary diseases. National guidelines; ed. by N.P. Bochkov, E.K. Ginter, V.P. Puzyrev. Moscow: GEOTAR-Media; 2012:757 (In Russ.).
2. Baranov V.S. The program "Human Genome" as a scientific basis for preventive medicine. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2000;(10):27–37 (In Russ.).
3. Baranov V.S. Genome paths: A way to personalized and predictive medicine. *Acta Naturae*. 2009;1(3):77–88.
4. Puzyrev V.P. Genetics of multifactorial diseases: between the past and the future. *Medical Genetics*. 2003;2(12):498–508 (In Russ.).
5. Puzyrev V.P. Medical pathogenetics. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2014;18(1):7–21 (In Russ.).
6. Baranov V.S., Kuznetsova T.V., Kashcheeva T.K., Ivashchenko T.E. Prenatal diagnosis of hereditary diseases. State and prospects. St. Petersburg: Publishing house of ECO «Vector»; 2020:569 (In Russ.).

Литература

1. Наследственные болезни. Национальное руководство; под ред. Н.П. Бочкова, Е.К. Гинтера, В.П. Пузырева. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012:757.
2. Баранов В.С. Программа «Геном человека» как научная основа профилактической медицины. *Вестник РАМН*. 2000;(10):27–37.
3. Baranov V.S. Genome paths: A way to personalized and predictive medicine. *Acta Naturae*. 2009;1(3):77–88.
4. Пузырев В.П. Генетика мультифакториальных заболеваний: между прошлым и будущим. *Медицинская генетика*. 2003;2(12):498–508.
5. Пузырев В.П. Медицинская патогенетика. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2014;18(1):7–21.
6. Баранов В.С., Кузнецова Т.В., Кашеева Т.К., Иващенко Т.Э. Пренатальная диагностика наследственных болезней. Состояние и перспективы. СПб.: Изд-во ЭКО «Вектор»; 2020:569.
7. Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Э., Асеев М.В. Геном человека и гены предрасположенности. Введение в предиктивную медицину. СПб.: Изд-во «Интермедика»; 2000:263.
8. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины; под ред. В.С. Баранова. СПб.: Изд-во «Н-Л»; 2009:527.
9. Пузырев В.П. Геномная медицина – настоящее и будущее. В кн.: Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике; под ред. В.П. Пузырева. Вып. 3. Новосибирск: Альфа Виста; 2003:3–26.
10. Пузырев В.П., Степанов В.А. Патологическая анатомия генома человека. Новосибирск: Наука; 1997:223.
11. Manolio T.A., Collins Fr.S., Cox N.J., Goldstein D.B., Hindorf L.A., Hunter D.J. et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*. 2009;461(7265): 747–753. DOI: 10.1038/nature08494.
12. Eicher E., Flint J., Gibson G., Kong A., Leal S.M., Moore J.H. et al. Missing heritability and strategies for finding the underlying causes of complex diseases. *Nat. Rev. Genet.* 2010;11(6):446–450. DOI: 10.1038/nrg2809.
13. Пузырев В.П. Феномно-геномные отношения и патогенетика многофакторных заболеваний. *Вестник Российской АМН*. 2011;(9):17–27.
14. Баранов В.С. Геном человека, «недостающая» наследственность и генетический паспорт. *Медицинская генетика*. 2011;10(3):3–10.
15. Wand H., Lambert S.A., Tamburro C., Iacocca M.A., O'Sullivan J.W., Sillari C. et al. Improving reporting standards for polygenic scores in risk prediction studies. *Nature*. 2021;591(7849):213–219. DOI: 10.1038/s41586-021-03243-6.
16. Баранов В.С., Баранова Е.В. Геном человека. Эпигенетика многофакторных заболеваний и персонализированная медицина. *Биосфера*. 2012;4(1):77–85.
17. Lander E.S. Cutting the Gordian helix-regulating genomic testing in the era of precision medicine. *N. Engl. J. Med.* 2015;372(13):1185–1186. DOI: 10.1056/NEJMp1501964.
18. Hussain S. A new conceptual framework for investigating complex genetic disease. *Front. Genet.* 2015;6:327. DOI: 10.3389/fgene.2015.00327.
19. Подколотный Н.А., Подколотная Е. Онтология и биоинформатика в системной биологии. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;19(6):652–663. DOI: 10.18699/VJ15.090.
20. Williams S. Companies are building platforms based on blockchain technology to let individuals control and directly profit from their genomic ad medical inflammation. *The Scientists*. 2018. URL: <https://www.the-scientist.com>.
21. Purcell S.M., Moran J.L., Fromer M., Ruderfer D., Solovieff N., Roussos P. et al. Apolygenic burden of rare disruptive mutations in schizophrenia. *Nature*. 2014;506(7487):185–190. DOI: 10.1038/nature12975.
22. Van El C.G., Cornel M.C., Borry P., Hastings R.J., Fellmann F., Hodgson S.V. et al. Whole-genome sequencing in health care: Recommendations of the European Society of Human Genetics. *Eur. J. Hum. Genet.* 2013;21(6):580–584. DOI: 10.1038/ejhg.2013.46.
23. Баранов В.С., Баранова Е.В. Генетический паспорт: вчера, сегодня завтра. *Вестник Росздравнадзора*. 2018;(2):22–29.
24. Karczewski K.J., Syder M.P. Integrative omics for health and disease. *Nat. Rev. Gen.* 2018;19(5):299–310. DOI: 10.1038/nrg.2018.4.
25. Gibson G. Rare and common variants: Twenty arguments. *Nat. Rev. Genet.* 2012;13(2):135–145. DOI: 10.1038/nrg3118.
26. Robinson M.R., Wray N.R., Visscher P.M. Explaining additional genetic variation I in complex traits. *Trends Genet.* 2014;30(4):124–132. DOI: 10.1016/j.tig.2014.02.003.
27. Пузырев В.П., Кучер А.Н. Эволюционно-онтогенетические аспекты патогенетики хронических болезней человека. *Генетика*. 2011;47(12):1573–1585.
28. Ritchi M.D., Andrade M., Kuivaniemi H. The foundation of precision medicine integration of electronic health records with genomics through basic, clinical and translational research. *Front. Genet.* 2015;6:104. DOI: 10.3389/fgene.2015.00104.
29. Von Bertalanffy L. General system theory: Foundations, development and perspective. New York: George Brazzillier; 1968:295.
30. Sieberts S.K., Schadt E.E. Moving toward a system genetics view of disease. *Mamm. Genome*. 2007;18(6–7):389–401. DOI: 10.1007/s00335-007-9040-6.
31. Middha S., Lindor N.M., McDonnell S.K., Olson J.E., Johnson K.J., Wieben E.D. et al. How well do whole exome sequencing results correlate with medical findings? A study of 89 Mayo Clinic Biobank samples. *Front. Genet.* 2015;6:244. DOI: 10.3389/fgene.2015.00244.
32. Zeng T., Huang T., Lu C. Editorial: Machine learning advances dynamic omics data analysis for precision medicine. *Front. Genet.* 2020;10:1343. DOI: 10.3389/fgene.2019.01343.
33. Baranov V.S., Ivaschenko T.E., Yarmolinskaya M.I. Comparative systems genetics view of endometriosis and uterine leiomyoma. Two sides

29. Von Bertalanffy L. General system theory: Foundations, development and perspective. New York: George Brazillier; 1968:295.
30. Sieberts S.K., Schadt E.E. Moving toward a system genetics view of disease. *Mamm. Genome*. 2007;18(6–7):389–401. DOI: 10.1007/s00335-007-9040-6.
31. Middha S., Lindor N.M., McDonnell S.K., Olson J.E., Johnson K.J., Wieben E.D. et al. How well do whole exome sequencing results correlate with medical findings? A study of 89 Mayo Clinic Biobank samples. *Front. Genet*. 2015;6:244. DOI: 10.3389/fgene.2015.00244.
32. Zeng T., Huang T., Lu C. Editorial: Machine learning advances dynamic omics data analysis for precision medicine. *Front. Genet*. 2020;10:1343. DOI: 10.3389/fgene.2019.01343.
33. Baranov V.S., Ivaschenko T.E., Yarmolinskaya M.I. Comparative systems genetics view of endometriosis and uterine leiomyoma. Two sides of the same coin? *Syst. Biol. Reprod. Med*. 2016;62(2):93–105. DOI: 10.3109/19396368.2015.1123325.
34. Baranov V.S., Ivaschenko T.E., Liehr T., Yarmolinskaya M.I. Systems genetics view of endometriosis: A common complex disorder. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol*. 2015;185:59–65. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2014.11.036.
35. Osinovskaya N.S., Malysheva O.V., Shved N.Y., Ivashchenko T.E., Sultanov I.Y., Efimova O.A. et al. Frequency and spectrum of MED12 exon 2 mutations in multiple versus solitary uterine leiomyomas from Russian patients. *Int. J. Gynecol. Pathol*. 2016;35(6):509–515.
36. European Science Foundation. Personalized Medicine for the European citizen – towards more precise medicine for the diagnosis, treatment and prevention of disease. 2012. URL: <http://archives.esf.org>
37. Bank M.A. Researches develop standards for reporting polygenic risk scores. *The Scientists*. 2021. URL: <https://www.the-scientist.com>
- of the same coin? *Syst. Biol. Reprod. Med*. 2016;62(2):93–105. DOI: 10.3109/19396368.2015.1123325.
34. Baranov V.S., Ivaschenko T.E., Liehr T., Yarmolinskaya M.I. Systems genetics view of endometriosis: A common complex disorder. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol*. 2015;185:59–65. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2014.11.036.
35. Osinovskaya N.S., Malysheva O.V., Shved N.Y., Ivashchenko T.E., Sultanov I.Y., Efimova O.A. et al. Frequency and spectrum of MED12 exon 2 mutations in multiple versus solitary uterine leiomyomas from Russian patients. *Int. J. Gynecol. Pathol*. 2016;35(6):509–515.
36. European Science Foundation. Personalized Medicine for the European citizen – towards more precise medicine for the diagnosis, treatment and prevention of disease. 2012. URL: <http://archives.esf.org>
37. Bank M.A. Researches develop standards for reporting polygenic risk scores. *The Scientists*. 2021. URL: <https://www.the-scientist.com>

Благодарности

Глубокая признательность ведущим научным сотрудникам отдела геномной медицины докторам биологических наук Т.В. Кузнецовой и Т.К. Кашчевой за помощь в подготовке рукописи в печать, академику РАН В.П. Пузыреву за активное обсуждение и конструктивную критику.

Сведения об авторе

Баранов Владислав Сергеевич, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, Заслуженный деятель науки Российской Федерации, главный научный сотрудник отдела геномной медицины, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта. ORCID 0000-0002-6518-1207.

E-mail: vsbar40@mail.ru.

Баранов Владислав Сергеевич, e-mail: vsbar40@mail.ru.

Acknowledgements

Author expresses profound gratitude to the leading research scientists of Department of Genomic Medicine, T.V. Kuznetsova, Dr. Sci. (Biol.) and T.K. Kashcheeva, Dr. Sci. (Biol.), for their contribution to preparing the manuscript for publication and to Professor V.P. Puzyrev, Full Member of the Russian Academy of Science, for positive criticism.

Information about the author

Vladislav S. Baranov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Honored Scientist of the Russian Federation, Chief Research Scientist, Department of Genomic Medicine, D.O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynecology, and Reproduction. ORCID 0000-0002-6518-1207.

E-mail: vsbar40@mail.ru.

Vladislav S. Baranov, e-mail: vsbar40@mail.ru.

Received June 03, 2021

Поступила 03.06.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-29-36>

УДК 575.113.1:616.1-056.7:614.253

Этические проблемы генетического тестирования при наследственных заболеваниях сердечно-сосудистой системы

Ф.М. Бостанова, В.Л. Ижевская

Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова,
115522, Российская Федерация, Москва, ул. Москворечье, 1

Аннотация

В обзоре представлены отечественные и зарубежные данные, отражающие особенности медико-генетического консультирования и прогностического тестирования пациентов с наследственными заболеваниями сердечно-сосудистой системы. Освещены этические проблемы геномного тестирования, особенно вторичных (случайных) находок, каскадного скрининга, обследования детей и подростков, посмертного генетического тестирования. Особое внимание уделено психосоциальному воздействию генетического тестирования.

Ключевые слова:	наследственные сердечно-сосудистые заболевания, генетическое консультирование, секвенирование ДНК, каскадный скрининг.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-18-00422).
Для цитирования:	Бостанова Ф.М., Ижевская В.Л. Этические проблемы генетического тестирования при наследственных заболеваниях сердечно-сосудистой системы. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2021;36(4):29–36. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-29-36 .

Ethical problems of genetic testing for hereditary cardiovascular diseases

Fatima M. Bostanova, Vera L. Izhevskaya

Research Centre for Medical Genetics,
1, Moskvorechye str., Moscow, 115522, Russian Federation

Abstract

Data on the features of genetic counseling and predictive testing in patients with hereditary cardiovascular diseases are presented in the review. The ethical problems of genomic testing especially in regard to secondary (incidental) findings, cascade screening, examination of children and adolescents, and postmortem genetic testing are discussed. Particular attention is paid to the psychosocial impact of genetic testing.

Keywords:	hereditary cardiovascular disease, genetic counseling, DNA sequencing, cascade screening.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	the study was carried out with a grant from the Russian Science Foundation (project No. 19-18-00422).
For citation:	Bostanova F.M., Izhevskaya V.L. Ethical problems of genetic testing for hereditary cardiovascular diseases. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2021;36(4):29–36. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-29-36 .

✉ Ижевская Вера Леонидовна, e-mail: izhevskaya@med-gen.ru.

Введение

Развитие технологий генетического тестирования способствовало установлению генетической причины многих заболеваний сердечно-сосудистой системы, уточнению патогенетических механизмов и разработке эффективной терапии. В настоящее время описано более 2,5 тыс. моногенных наследственных синдромов с вовлечением в патологический процесс сердца и/или сосудов. Нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы часто наблюдаются при хромосомных болезнях, моногенных синдромах врожденных пороков развития. Помимо этого, известны генетические гетерогенные группы заболеваний с преимущественным поражением сердечно-сосудистой системы, самыми распространенными из которых являются гипертрофическая кардиомиопатия, семейная гиперхолестеринемия и синдром удлинённого интервала QT. Наследственные заболевания сердечно-сосудистой системы нередко приводят к внезапной сердечной смерти (ВСС) подростков или молодых людей [1].

По мере того, как мы узнаем больше о генетических причинах этих состояний, становится очевидным, что информация о результатах генетического тестирования пациента важна не только для него самого, но и для его родственников. Тот факт, что для все большего числа болезней установлена генетическая причина, влияет на стратегию оказания медицинской помощи и семейной профилактики этих заболеваний, основными компонентами которой становятся генетическое тестирование и генетический скрининг. Наследственные заболевания сердечно-сосудистой системы, таким образом, представляют собой пример плодотворного сотрудничества специалистов разных областей (генетиков, кардиологов, хирургов, неврологов и др.) [2]. Однако при генетическом тестировании и скрининге нередко возникают этические проблемы. Эти проблемы во многом схожи с этическими проблемами генетического тестирования и скрининга в других областях медицины, однако они имеют некоторую специфику, связанную с особенностями клинических проявлений и оказания медицинской помощи при наследственных сердечно-сосудистых заболеваниях (ССЗ). Этические проблемы генетического тестирования в основном касаются вопросов использования личной генетической информации и решаются в рамках защиты автономии пациента, принципов благодеяния, непричинения вреда и справедливости.

Генетическое тестирование и медико-генетическое консультирование

Благодаря высокопроизводительным методам анализа генома, генетическое тестирование на наследственные заболевания сердечно-сосудистой системы дает информацию, которую невозможно получить при проведении других клинико-лабораторных исследований. К преимуществам генетического тестирования относятся неинвазивность, потенциально высокая диагностическая точность, возможность раннего обнаружения заболевания и профилактического вмешательства при некоторых курабельных генетических состояниях [3]. Идентификация патогенного варианта в гене является ключевым аспектом оценки прогноза течения заболевания и выбора тактики медицинского наблюдения и лечения пациента, а также для оценки риска заболевания у его потомков и родственников. Генетическое тестирование стало стандартом обследования, особенно пациентов с известным семейным анамнезом [3, 4].

Генетическое консультирование должно проводиться как до, так и после генетического тестирования, чтобы гарантировать, что пациенты понимают его преимущества и ограничения. До теста необходимо информировать пациентов о механизмах рассматриваемого наследственного заболевания и значении тестирования для больного и его родственников, а также получить информированное согласие на тестирование.

Основной целью дотестового консультирования по существу является необходимость добиться понимания пациентами процесса и последствий генетического тестирования для себя и членов семьи, возможностей и ограничений различных видов генетического тестирования [5–7]. Пациенту должно быть разъяснено, что выявленный в результате генетического тестирования вариант последовательности ДНК в гене, приводящем к наследственному заболеванию, может находиться в континууме от доброкачественного до патогенного, а идентификация вариантов неопределённого значения может потребовать дальнейшего семейного обследования для выяснения его патогенности [8]. Также следует обсудить вероятность изменения классификации выявленного варианта по мере накопления данных [9]. Должна быть обсуждена и проблема неполной пенетрантности, особенно при обследовании членов семьи пациента. Показано, что пенетрантность многих распространённых патогенных вариантов последовательности ДНК ниже, чем оценивалась первоначально, вследствие чего у части лиц с выявленными патогенными вариантами клинических проявлений не будет на протяжении всей жизни [10]. Однако такие результаты тестирования могут вызвать повышенную тревожность пациента, избыточное использование дополнительных обследований и профилактических вмешательств, что приведет к увеличению расходов на здравоохранение, а иногда может вызвать ятрогенные заболевания [11].

С другой стороны, если не удалось выявить патогенный вариант, это не означает отсутствие в семье наследственного заболевания. Существует огромная разница между утверждениями «пациент не подвержен риску заболевания» и «генетические факторы, повышающие риск заболевания, не выявлены». Но эта разница часто неправильно понимается пациентами, что может привести к проблеме ложного убеждения [12]. В результате бдительность в отношении своего здоровья может снизиться, и больные могут остаться без должного медицинского наблюдения, полагая, что они не подвержены повышенному риску развития заболевания, или что этот риск у них полностью отсутствует.

Задача врача-генетика помочь пациентам понять биологическую основу болезни и принять личные решения о том, как жить в долгосрочной перспективе. Решение остается за пациентом, но врач может помочь ему учесть различные факторы, которые могут иметь значение для оказания ему медицинской помощи, формирования жизненных и репродуктивных планов, о которых он не думал [13]. При этом для реализации принципа защиты автономии личности важно признание права пациентов не знать свой генетический статус и риск заболевания [14]. Решение о генетическом тестировании является личным, на него влияет ряд факторов, которые врач не всегда может полностью оценить. Пациент, вероятно, будет принимать во внимание предполагаемую излечимость и предотвратимость заболевания, а также восприятие своего личного риска [15].

Основная этическая дилемма состоит в противоречии между этическими принципами благотворительности и непричинения вреда, с одной стороны, и уважения автономии пациента, с другой. Эти принципы являются центральными в медицинской этике. Если пациент, воспользовавшись правом не знать свой генетический статус, не пройдет обследование, он может упустить возможность лечения и дородовой диагностики наследственного заболевания у ребенка [16].

Чтобы найти баланс между этими этическими принципами, важно, чтобы врач и пациент рассмотрели клиническую и личную полезность теста. Клиническая полезность – это его полезность для учета в тактике лечения и ведения пациента, в то время как личная полезность учитывает психосоциальные эффекты, планирование семьи, изменение образа жизни и ценность информации для пациента и его семьи [17].

Дополнительные этические проблемы могут возникнуть, если изменения ДНК, способные вызвать наследственное кардиологическое заболевание, выявлены в результате научного исследования. Многие исследователи хотят поступать правильно в отношении использования индивидуальных результатов генетических исследований, но не понимают, что именно является правильным. Рабочая группа Национального института сердца, легких и крови (NHLBI) подготовила рекомендации по этическим аспектам сообщения результатов генетического тестирования участникам исследований, ключевыми аспектами которых являются оценка серьезности находки определенного варианта последовательности ДНК для здоровья участника, имеющихся доказательств, связанных с этим риском, наличие терапевтических или профилактических вмешательств или других доступных действий, которые могут изменить клиническое течение болезни, информированное согласие участника исследования на получение результатов [18].

Семейная профилактика наследственных сердечно-сосудистых заболеваний

Семейный характер наследственных ССЗ позволяет проводить профилактику заболевания у родственников пробанда, используя каскадный скрининг или прогностическое тестирование бессимптомных родственников [19, 20]. Прогностическое генетическое тестирование важно с точки зрения общественного здравоохранения, поскольку оно позволяет идентифицировать носителей патогенных вариантов последовательности ДНК, за которыми нужно наблюдать, проводить периодические обследования и при необходимости своевременно лечить, и носителей, которые не нуждаются в наблюдении и обследовании и которых можно успокоить. Прогностическое генетическое тестирование как часть стратегии клинического скрининга считается рентабельным.

Австралийско-новозеландское общество кардиохирургов и торакальных хирургов (ANZSCTS) и Кардиологическое общество Австралии и Новой Зеландии (CSANZ) предложили двухэтапное генетическое тестирование при наследственных заболеваниях сердечно-сосудистой системы, неотъемлемой частью которого является генетическое консультирование [21]. Первым этапом проводится обследование пациента, включающее установление клинического диагноза, выбор генетического теста, медико-генетическое консультирование до и после генетического теста, интерпретацию полученных результатов

опытными специалистами. Вторым этапом проводится каскадное генетическое тестирование бессимптомных родственников из группы риска, которое также включает медико-генетическое консультирование до и после тестирования [21].

С 1994 по 2014 г. действовала общенациональная субсидируемая государством программа каскадного скрининга для выявления пациентов с семейной гиперхолестеринемией в Нидерландах [22]. За это время были идентифицированы и внесены в центральную национальную базу данных более 28 000 пациентов. Начиная с 2014 г., скрининг на семейную гиперхолестеринемию включен в базовое медицинское обслуживание населения Нидерландов. Генетическое тестирование на семейную гиперхолестеринемию включено в Австралийскую программу Medicare [23]. В 2018 г. в рамках централизованной программы скрининга в Западной Австралии определяли эффективность каскадного скрининга на семейную гиперхолестеринемию по количеству впервые выявленных родственников с семейной гиперхолестеринемией на один индексный случай и пропорциональному снижению уровня холестерина липопротеидов низкой плотности после лечения [24]. Отмечено, что генетический каскадный скрининг, проводимый централизованно, является весьма эффективной и приемлемой стратегией для выявления и профилактики заболевания в Австралии. В Нидерландах при семейном скрининге на гипертрофическую кардиомиопатию проводят повторные клинические обследования пациентов с 10–12 лет до пожилого возраста с применением эхокардиографии и электрокардиографии [25]. Генетическое тестирование до 2012 г. заключалось в прямом секвенировании генов *MYBPC3*, *MYH7*, *MYL2*, *MYL3*, *TNNT2*, *TNNI3*, *CSRP3*, *TCAP*, *TPM1*, *ACTC1* и *TNNC1*, а с 2012 г. проводится секвенирование следующего поколения 48 генов, связанных с кардиомиопатией [25]. Данный скрининг в Нидерландах финансируется за счет программ базового медицинского обслуживания.

Несмотря на успешные программы каскадного скрининга, примеры которых приведены выше, было показано, что генетическую консультацию посетило лишь ограниченное число родственников пациентов с наследственными ССЗ: 60% родственников посетили генетическую консультацию, большинство из них (68,6%) – в первый год после получения информации о риске [26]. Чаще обращались в консультацию родственники первой степени родства, женского пола, имеющие риск синдрома первичной аритмии, клинические проявления заболевания сердца, не имевшие детей, а также родственники первой степени родства младше 40 лет, умершие от ВСС. По мнению авторов, некоторые родственники не информированы или недостаточно информированы о риске и возможностях генетического тестирования, или существуют препятствия для генетического консультирования. Возможно, что родственники, не посетившие врача-генетика, приняли сознательное и информированное решение не проходить прогностическое тестирование. Некоторые из них могут воздерживаться от генетического обследования из-за финансовых препятствий, таких как расходы на генетическое консультирование и прогностическое тестирование или возможные проблемы со страхованием. Во многих системах здравоохранения родственники пациента, не имеющие проявлений болезни, должны сами оплачивать (полностью или частично) генетическое консультирование и прогностическое тестирование.

Поскольку было доказано, что прогностическое тестирование на наследственные заболевания сердечно-сосудистой системы является рентабельным, включение затрат на генетическое консультирование и прогностическое тестирование в существующие системы здравоохранения может помочь преодолеть финансовые препятствия для каскадного скрининга родственников пациентов [27]. Среди причин, по которым родственники пациентов откладывают прогностическое тестирование, указываются беспокойство, страх перед проблемами со страховкой, недоступностью образования или определенных видов профессиональной деятельности [28–30]. Однако даже при устранении этих причин часть родственников не посетили генетическую консультацию в течение десятилетия после получения информации.

Большая часть этических и юридических дискуссий о генетическом тестировании для семейной профилактики наследственных болезней сосредоточена на том, как наилучшим образом сбалансировать конфиденциальность человека, который проходит тестирование, с интересами его/ее родственников. Постоянный вопрос в практике генетического консультирования: должен ли врач-генетик поощрять и даже убеждать пациентов делиться своей личной медицинской и генетической информацией с родственниками и близкими? Если один человек в семье подвержен риску развития серьезной наследственной сердечно-сосудистой патологии, то генетическое тестирование и медицинское наблюдение могут быть полезными для снижения заболеваемости и/или смертности других членов семьи. Когда это объясняется пациенту, обычно он передает необходимую информацию родственникам [13].

Этические основания для раскрытия конфиденциальных личных данных пациента требуют учета вреда и преимуществ раскрытия, серьезности и предотвратимости заболевания. Особенно важно, чтобы здоровые, но имеющие риск родственники могли принять меры для предупреждения хотя бы некоторых из вероятных проблем со здоровьем. С этической точки зрения, ответственность за предупреждение родственников о риске заболевания возрастает по мере увеличения его серьезности и вероятности угрозы для жизни родственников, а также при условии, что конкретные медицинские и профилактические вмешательства могут значительно снизить или устранить опасность. Учитывая сложность и неопределенность таких оценок, нет явного императива для обязанности предупреждать родственников. Большинство семейных конфликтов вокруг этих проблем разрешаются путем многократного взаимодействия и консультирования пациентов [31]. Генетики обычно справляются со сложными семейными ситуациями на практике, поддерживая связи с пациентом и пытаясь убедить его раскрыть соответствующую информацию своим родственникам. В исключительных случаях может возникнуть необходимость раскрыть информацию о человеке вопреки его желанию. В зависимости от юрисдикции эта проблема решается по-разному. В Великобритании Генеральный медицинский совет выпустил руководство по этому поводу. В законодательстве Франции подчеркнут семейный долг пациента передать информацию о себе родственникам, имеющим повышенный риск заболевания [13]. К сожалению, в российском законодательстве механизм преодоления конфиденциальности пациента для пользы его родственников при наследственной патологии не предусмотрен.

Прогностический генетический тест может быть полезен в клиническом и медицинском смысле, поскольку он позволяет оптимально вести пациента с риском наследственного заболевания. Однако при отсутствии доступного вмешательства, которое можно было бы рекомендовать для лечения или профилактики, преимущества тестирования могут стать менее очевидными, так что рассмотрение вероятного личного воздействия результатов тестирования на человека и его родственников может быть ключевым фактором при принятии решения о прохождении теста. У пациента может возникнуть сильное противоречие между желанием узнать, что результат благоприятен, и страхом узнать неблагоприятный результат. Например, при гипертрофической кардиомиопатии родители могут организовать прогностическое генетическое тестирование своих детей, а затем сожалеть о своем решении [13].

Вторичные или случайные находки при генетическом тестировании и оппортунистический скрининг

Оппортунистический скрининг подразумевает проведение различных тестов (исследований) для выявления заболевания или факторов риска при обращении человека за любой медицинской помощью или советом специалиста. В Великобритании и Австралии большая часть населения проходит осмотр врачом общей практики не реже одного раза в три года с возможностью пройти обследование на семейную гиперхолестеринемию в рамках обычных клинических консультаций [32]. Подобные оппортунистические подходы позволяют идентифицировать пациентов с высоким риском заболевания.

Технологии секвенирования генома все чаще используются в клинике в диагностических целях, однако при проведении такого обследования возможно получение информации о пациенте, которая не имеет отношения к первоначальному поводу для тестирования, но позволяет идентифицировать варианты последовательности ДНК, которые могут привести к наследственному заболеванию (в том числе кардиологическому) в будущем и, таким образом, иметь клиническое значение. Это так называемые вторичные или случайные находки. В большинстве случаев при вторичной находке при клинической оценке у пациента не будет выявлено ожидаемого фенотипа ССЗ, связанного с вариантом, идентифицированным генетическим тестом, а нередко не будет и семейного анамнеза ССЗ. В таком случае перед врачом возникает вопрос: что делать с человеком, у которого был идентифицирован предположительно патогенный вариант без фенотипа и семейного анамнеза заболевания?

Вторичные (случайные) находки становятся особенно актуальными, потому что пациентам все чаще проводят секвенирование экзона или генома. За исключением случаев, когда генетическое тестирование ограничивается только известными генами, связанными с представляющим интерес заболеванием, патогенные или вероятно патогенные варианты в генах, не связанных с этим заболеванием (например, вариант, вызывающий гипертрофическую кардиомиопатию у пациента, тестируемого на наследственное злокачественное новообразование), могут быть обнаружены довольно часто, что позволяет выявить пациентов на доклинической стадии и осуществить терапевтическое и профилактическое вмешательство [20]. В 2013 г. Американская коллегия медицинской геномики

(ACMG) предложила рекомендации по предоставлению информации о случайных находках – клинически значимых изменениях последовательности ДНК, не связанных с первоначальной целью тестирования. ACMG рекомендовала при секвенировании генома/экзома помимо анализа генов, относящихся к цели тестирования, проводить поиск клинически значимых вариантов последовательности ДНК с высокой пенетрантностью в генах из утвержденного списка и сообщать о находках лечащему врачу, т. е. осуществлять оппортунистический скрининг. В список вошли гены, мутации в которых приводят к наследственным заболеваниям, для которых известны и доступны терапевтические и/или профилактические вмешательства. Он включает и наследственные кардиологические заболевания (в том числе гипертрофическую и дилатационную кардиомиопатию, наследственные нарушения ритма сердца), а также наследственные синдромы с поражением сердечно-сосудистой системы (например, синдромы Марфана, Элерса – Данло, семейные аневризмы грудной аорты) [33, 34]. Выявление вторичной находки и уведомление о нем пациента должно побудить лечащего врача к тщательной оценке семейного анамнеза рассматриваемого заболевания как минимум в трех поколениях. Если семейный анамнез положительный, пациент должен пройти комплексное обследование.

Однако во многих случаях у человека с вторичной/случайной находкой нет семейного анамнеза и признаков рассматриваемого заболевания. В этом случае специалист должен оценить, подвержен ли пациент риску развития заболевания в будущем, что может быть особенно сложно для детей. В некоторых случаях вероятность может быть очень низкой. В других случаях может потребоваться периодическое обследование, особенно детей или молодых людей при заболеваниях, начинающихся в позднем возрасте. Однако на сегодня остается неясным, следует ли рекомендовать каскадный скрининг членов семьи, если у первоначального пациента с вторичной находкой патогенного варианта нет признаков заболевания.

В любом случае, соответствующее решение о том, как и при других видах генетической диагностики пациент вправе отказаться от информации о случайных находках, может быть оформлено в процессе обсуждения проблемы с врачом при получении информированного согласия на тестирование.

Более осторожное отношение к оппортунистическому скринингу высказано в рекомендациях Европейского общества генетики человека, в которых подчеркнута необходимость пилотных исследований соразмерности пользы и рисков такого тестирования не только для отдельных людей, но и для системы здравоохранения с учетом особенностей ее финансирования в каждой конкретной стране [35]. Также указывается на необходимость рассмотрения альтернатив оппортунистическому скринингу, например, каскадного скрининга и соблюдения основных этических норм: защиты автономии, доступности генетического консультирования, информированного согласия и гарантий возможности его отозвать.

Обследование детей

Есть две крайние ситуации: первая, когда ребенок страдает генетическим заболеванием, и генетическое тестирование необходимо для постановки диагноза (диагностическое тестирование), и вторая, когда ребенок выглядит здоровым, но принадлежит к семье с генетиче-

ским заболеванием, которое проявляется, в основном, но не всегда, в зрелом возрасте (прогностическое тестирование). В последнем случае возникают этические дилеммы, и врач должен взвешивать права родителей на получение информации, которая поможет оптимизировать текущее медицинское наблюдение их детей, и прав детей с учетом защиты их наилучших интересов [1].

Вопрос о прогностическом тестировании несовершеннолетних не раз поднимался во многих публикациях [36, 37]. Этическим основанием такого тестирования, по мнению подавляющего большинства исследователей и экспертов, является непосредственная польза для обследуемого ребенка. Доклиническое обследование ребенка должно быть рекомендовано, только если есть эффективный способ лечения или профилактики (профилактическая операция или стратегия раннего терапевтического вмешательства), который может предотвратить, отсрочить или облегчить начало заболевания или его последствия, и его можно применить до совершеннолетия [38].

Дополнительные опасения относительно тестирования детей на генетические нарушения с поздним началом возникли в контексте полногеномного тестирования и случайных находок патогенных вариантов последовательности ДНК, которые в будущем могут привести к наследственным заболеваниям сердечно-сосудистой системы или злокачественному новообразованию. Если отсутствовал семейный анамнез такого заболевания, и семья до обследования не знала об этом риске, то такая информация при некоторых обстоятельствах может быть полезной, поскольку один из родителей, вероятно, является носителем того же патогенного варианта. В таком случае пользу от тестирования может извлечь, в первую очередь, этот родитель (и, вероятно, его родственники), хотя эксперты по этике подчеркивают, что здоровье родителей оказывает влияние на качество жизни всей семьи, включая ребенка [39]. Кроме того, особенности наследственных ССЗ позволяют обосновать клиническую полезность генетического тестирования детей на мутации, приводящие к этим заболеваниям. Это связано с тем, что ВСС может наступить у ребенка или молодого человека, и есть доступные меры, позволяющие снизить риск ВСС. Генетическое тестирование на предрасположенность к ВСС поднимает такие вопросы, как стигматизация, конфиденциальность, дискриминация при страховании и приеме на работу. В то время как генетическое тестирование на предрасположенность к более поздно манифестирующим заболеваниям (например, раку молочной железы) обычно откладывается до тех пор, пока пациенты не приобретут способность принимать собственные решения, доступность эффективного профилактического лечения синдромов наследственных аритмий может потребовать тестирования детей из группы риска. Когда родственник такого ребенка первой степени родства, тоже имеющий патогенный вариант, может поставить под угрозу общественную безопасность (например, если он пилот авиакомпании), у врача могут возникать этические проблемы, связанные с принципами благодетелья/непричинения вреда и обязанностью предупредить заинтересованные стороны. Эти возникающие проблемы сейчас изучаются, и их этический, правовой и социальный контексты сложны [40].

Эмпирическое исследование этических проблем генетического тестирования для предупреждения ВСС,

проведенное в Канаде, участниками которого были медицинские и лабораторные работники (генетические консультанты, медицинские генетики, взрослые и детские кардиологи, молекулярные генетики, лабораторные генетики), биоэтики, представители пациентского сообщества, показали, что при обсуждении необходимости тестирования несовершеннолетних часто возникает этический конфликт между обязанностью предупреждать родственников (или третьи стороны при угрозе общественной безопасности) о риске и необходимостью защиты детей. При этом медицинские работники, по-видимому, больше озабочены обязанностью предупреждать, а пациенты и семьи – проблемами защиты детей. Комментарии участников опроса показали отсутствие консенсуса по этим проблемам [41].

Другие эмпирические исследования доказывают необходимость создания системы психологической поддержки семей с детьми, имеющими риск ВСС. Потенциально смертельные аритмии усугубляют проблемы с психическим здоровьем в подростковом возрасте. Так, в обзоре 16 исследований с участием детей (<18 лет) с наследственными аритмиями показано, что пациенты и родители сообщили о более низком качестве жизни, особенно в отношении физических функций, социальных отношений, ограничения взаимодействий со сверстниками, психического и эмоционального здоровья. У 15–33% пациентов возникают проблемы с психическим здоровьем, причем более высокий риск таких нарушений был у пациентов, имеющих больных брата или сестру, пациентов с кардиомиопатией и у сообщивших о снижении качества жизни [42]. Аналогичные данные приводят и другие авторы [43]. Система поддержки таких семей могла бы помочь в управлении психосоциальным бременем, однако на сегодня отсутствуют клинические рекомендации по этой форме помощи, которая должна носить междисциплинарный характер [44]. Немаловажное значение имеет и адекватное информирование родителей о значении теста для здоровья ребенка. Так, в пилотном проекте восприятия родителями информации о выявленной при неонатальном скрининге на семейную гиперхолестеринемии патологии, результаты различались в зависимости от отношения к основной причине положительного результата скринингового теста. Когда родители считали тест обнаружением повышенного уровня холестерина, состояние воспринималось как знакомое, контролируемое и менее угрожающее. Когда тест рассматривался как выявление генетической проблемы, состояние воспринималось как неконтролируемое и, следовательно, более угрожающее. Эти данные поднимают вопросы о том, в какой степени оценка рисков заболеваний с помощью анализа ДНК может привести к чувству фатализма, отрицательно влияющему на мотивацию к изменению поведения и снижению рисков [45].

Психосоциальное воздействие генетического тестирования заслуживает внимания, поскольку результаты тестирования могут повлиять на жизнь семьи, психологическое бремя, самооценку, изменение отношения семьи к ребенку, восприятие уязвимости ребенка, привязанность родителей к ребенку, а также чувство вины у родителей.

Посмертное обследование

Отдельную проблему представляет собой генетическое тестирование умерших от ВСС. Оно может включать систематическое хранение посмертных образцов

людей с подозрением на ВСС и возможность доступа к результатам тестирования членов семьи из группы риска [46]. Посмертное генетическое тестирование может иметь решающее значение для диагностики и лечения выживших членов семьи [47]. Данная процедура влечет за собой некоторые трудности, связанные с психологическими аспектами объяснения скорбящим родственникам необходимости проведения молекулярно-генетических исследований. Если при посмертном молекулярно-генетическом исследовании будет выявлен патогенный вариант, то эти данные будут очень ценными для выживших членов семьи. Помимо выявления носителей патогенных вариантов, у которых еще не проявилось заболевание, результаты тестирования будут полезны для предимплантационной генетической диагностики или пренатального тестирования с целью предотвращения передачи болезни потомству [48]. В рекомендациях Европейской комиссии по генетическому тестированию признается право доступа к образцам и данным умершего человека, если они необходимы для тестирования членов семьи [49]. В России недавно принят Федеральный закон от 02.07.2021 № 315-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации»», который допускает после смерти гражданина «разглашение сведений, составляющих врачебную тайну близким родственникам, либо иным лицам по их запросу, если гражданин или его законный представитель не запретил разглашение сведений, составляющих врачебную тайну» [50]. Однако сообщение результатов генетического тестирования умерших людей живым родственникам не является стандартной практикой во многих странах, и необходимо дальнейшее обсуждение того, следует ли это делать, и если да, то как это можно сделать деликатным и способствующим укреплению доверия образом.

Заключение

Персонализированная медицинская помощь может потребовать новых этических и правовых норм, чтобы обеспечить более высокое качество медицинской помощи. Современная биоэтика с ее ориентацией на права человека не всегда адекватна для решения проблем кардиогенетики. Этика, которая учитывает не только индивидуальные права пациента, но и обязанности в отношении родственников и общества в целом, необходима для формирования правовых норм и клинической практики, если мы хотим полностью реализовать огромный потенциал кардиогенетики. В последние десятилетия правовые нормы информированного согласия в большей степени следовали индивидуальной информационной модели: это означает, что информация предоставляется только пациенту при условии, что он дееспособен, в то время как члены семьи могут быть проинформированы только в том случае, если пациент прямо на это согласен. Однако когда наследственное заболевание появляется в семье, ее члены должны более серьезно относиться к скрининговым обследованиям и профилактике, что вызывает необходимость учета наилучших интересов всех ее членов [51]. Право не знать генетический диагноз основано на автономном праве человека принимать решение о своем собственном жизненном пути. Процесс получения полностью осознанного согласия, точно отражающего преимущества и вред раскрытия информации, является центральным элементом этого этического принципа и

остаётся важной частью профессиональной практики в этой области. Однако опора на индивидуалистическую модель собственности генетической информации означает, что, когда интересы отдельных лиц расходятся, медицинские работники вынуждены отдавать предпочтение интересам одного человека, пренебрегая интересами других. Чтобы уменьшить этот вред, ряд экспертов предложили рассматривать генетическую информацию как

собственность расширенной семьи, тем самым снижая порог раскрытия информации [52]. Однако критики этой модели утверждают, что она не в состоянии в достаточной мере защитить права и интересы человека [53]. Это подчеркивает необходимость обсуждения новых подходов для информированного согласия на генетическое тестирование не только в кардиогенетике, но и при других наследственных заболеваниях [54].

Литература / References

- Girolamia F., Frisso G., Benellic M., Crottd L., Iaconee M., Mango R. et al. Contemporary genetic testing in inherited cardiac disease: Tools, ethical issues, and clinical applications. *J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown)*. 2018;19(1):1–11. DOI: 10.2459/JCM.0000000000000589.
- Румянцова В.А., Заклязьминская Е.В. Регулярное медико-генетическое консультирование и ДНК-диагностика наследственных заболеваний сердечно-сосудистой системы в практике федерального многопрофильного хирургического центра (анализ опыта 10-летней работы лаборатории медицинской генетики РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского). *Медицинская генетика*. 2020;19(5):28–30. DOI: 10.25557/2073-7998.2020.05.28-30.
- Rumyantseva V.A., Zaklyazminskaya E.V. Regular genetic counseling and DNA diagnostics of hereditary diseases of the cardiovascular system in the practice of the federal multidisciplinary surgical center (the analysis of the experience of last 10 years work experience of medical genetics laboratory of Petrovsky National Research Centre of Surgery). *Medical Genetics*. 2020;19(5):28–30 (In Russ.). DOI: 10.25557/2073-7998.2020.05.28-30.
- Cowan J., Morales A., Dagua J., Hershberger R.E. Genetic testing and genetic counseling in cardiovascular genetic medicine: Overview and preliminary recommendations. *CHF*. 2008;14(2):97–105. DOI: 10.1111/j.1751-7133.2008.08217.x.
- Ackerman M.J., Priori S.G., Willems S., Berul C., Brugada R., Calkins H. et al. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Heart Rhythm*. 2011;8(8):1308–1339. DOI: 10.1016/j.hrthm.2011.05.020.
- Resta R., Biesecker B.B., Bennett R.L., Blum S., Hahn S.E., Strecker M.N. et al. A new definition of genetic counseling: National Society of Genetic Counselors' Task Force report. *J. Genet. Couns.* 2006;15(2):77–83. DOI:10.1007/s10897-005-9014-3.
- Ingles J., Yeates L., Semsarian C. The emerging role of the cardiac genetic counselor. *Heart Rhythm*. 2011;8(12):1958–1962. DOI: 10.1016/j.hrthm.2011.07.017.
- Pinxten W., Howard H.C. Ethical issues raised by whole genome sequencing. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2014;28(2):269–279. DOI: 10.1016/j.bpg.2014.02.004.
- Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б., Коновалов Ф.А., Масленников А.Б., Степанов В.А. и др. Руководство по интерпретации данных параллельности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2). *Медицинская генетика*. 2019;18(2):3–23. DOI: 10.25557/2073-7998.2019.02.3-23.
- Ryzhkova O.P., Kardymon O.L., Prokhorchuk E.B., Konovalov F.A., Maslennikov A.B., Stepanov V.A. et al. Guidelines for the interpretation of massive parallel sequencing variants (update 2018, v. 2). *Medical Genetics*. 2019;18(2):3–23 (In Russ.). DOI: 10.25557/2073-7998.2019.02.3-23.
- Van Driest S.L., Wells Q.S., Stallings S., Bush W.S., Gordon A., Nickerson D.A. et al. Association of arrhythmia-related genetic variants with phenotypes documented in electronic medical records. *JAMA*. 2016;315(1):47–57. DOI: 10.1001/jama.2015.17701.
- Cassa C.A., Tong M.Y., Jordan D.M. Large numbers of genetic variants considered to be pathogenic are common in asymptomatic individuals. *Hum. Mutat.* 2013;34(9):1216–1220. DOI: 10.1002/humu.22375.
- Christensen K.D., Dukhovny D., Siebert U., Green R.C. Assessing the costs and cost-effectiveness of genomic sequencing. *J. Pers. Med.* 2015;5(4):470–486. DOI: 10.3390/jpm5040470.
- Butterfield R.M., Evans J.P., Rini C., Kuczynski K.J., Waltz M., Cadigan R.J. et al. Returning negative results to individuals in a genomic screening program: Lessons learned. *Genet. Med.* 2019;21(2):409–416. DOI: 10.1038/s41436-018-0061-1.
- Clarke A.J., Wallgren-Pettersson C. Ethics in genetic counselling. *J. Community Genet.* 2019;10(1):3–33. DOI: 10.1007/s12687-018-0371-7.
- Adorno R. The right not to know: An autonomy based approach. *J. Med. Ethics*. 2004;30(5):435–439. DOI: 10.1136/jme.2002.001578.
- Norrsgard K. Ethics of genetic testing: Medical insurance and genetic discrimination. *Nature Education*. 2008;1(1):90.
- Mills R.A., Haga S.B., Ginsburg G.S. Genetic testing: Clinical and personal utility. *Virtual Mentors*. 2012;14(8):604–609. DOI: 10.1001/virtualmentor.2012.14.8.ecas1-1208.
- Grosse S.D., Kalman L., Khoury M.J. Evaluation of the validity and utility of genetic testing for rare diseases. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2010;686:115–131. DOI: 10.1007/978-90-481-9485-8_8.
- Fabsitz R.R., McGuire A., Sharp R.R., Puggal M., Beskow L.M., Biesecker L.G. et al. Ethical and practical guidelines for reporting genetic research results to study participants: Updated guidelines from a national heart, lung, and blood institute working group. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2010;3(6):574–580. DOI: 10.1161/circgenetics.110.958827.
- Ingles J., Semsarian C. The value of cardiac genetic testing. *Trends Cardiovasc. Med.* 2014;24(6):217–224. DOI: 10.1016/j.tcm.2014.05.009.
- Musunuru K., Hershberger R.E., Day S.M., Klindinst N.J., Landstrom A.P., Parikh V.N. Genetic testing for inherited cardiovascular diseases: A scientific statement from the American Heart Association. *Circ. Genom. Precis. Med.* 2020;13(4):e000067.
- Ingles J., Macciocca I., Morales A., Thomson K. Genetic testing in inherited heart diseases. *Heart Lung Circ.* 2020;29(4):505–511. DOI: 10.1016/j.hlc.2019.10.014.
- Louter L., Defesche J., Roeters van Lennep J. Cascade screening for familial hypercholesterolemia: Practical consequences. *Atheroscler. Suppl.* 2017;30:77–85. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.05.019.
- Watts G.F., Sullivan D.R., Hare D.L., Kostner K.M., Horton A.E., Bell D.A. et al. Integrated guidance for enhancing the care of familial hypercholesterolaemia in Australia. *Heart Lung Circ.* 2021;30(3):324–349. DOI: 10.1016/j.hlc.2020.09.943.
- Bell D.A., Pang J., Burrows S., Bates T.R., van Bockxmeer F.M., Hooper A.J. et al. Effectiveness of genetic cascade screening for familial hypercholesterolaemia using a centrally coordinated clinical service: An Australian experience. *Atherosclerosis*. 2015;239(1):93–100. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.12.036.
- Van Velzen H.G., Schinkel A.F.L., Baart S.J., Oldenburg R.A., Frohn-Mulder I.M.E., van Slegtenhorst M.A. et al. Outcomes of contemporary family screening in hypertrophic cardiomyopathy. *Circ. Genom. Precis. Med.* 2018;11(4):e001896. DOI: 10.1161/circgen.117.001896.
- Van den Heuvel L.M., van Teijlingen M.O., van der Roest W., van Langen I.M., Smets E.M.A., van Tintelen J.P. et al. A long-term follow-up study on the uptake of genetic counseling and predictive DNA testing in inherited cardiac conditions. *Circ. Genom. Precis. Med.* 2020;13(5):524–530. DOI: 10.1161/circgen.119.002803.
- Menko F.H., Aalfs C.M., Henneman L., Stol Y., Wijdenes M., Otten E. et al. Dutch Society for Clinical Genetics. Informing family members of individuals with Lynch syndrome: A guideline for clinical geneticists. *Fam. Cancer*. 2013;12(2):319–324. DOI: 10.1007/s10689-013-9636-9.
- Leenen C.H., Heijer M.D., van der Meer C., Kuipers E.J., van Leerdam M.E., Wagner A. Genetic testing for Lynch syndrome: family communication and motivation. *Fam. Cancer*. 2016;15(1):63–73. DOI: 10.1007/s10689-015-9842-8.
- Ormondroyd E., Oates S., Parker M., Blair E., Watkins H. Pre-symptomatic genetic testing for inherited cardiac conditions: a qualitative exploration of psychosocial and ethical implications. *Eur. J. Hum. Genet.* 2014;22(1):88–93. DOI: 10.1038/ejhg.2013.81.
- Schuurman A.G., van der Kolk D.M., Verkerk M.A., Birnie E., Ranchor A.V., Plantinga M. et al. Maximising the efficiency of clinical screening programmes: Balancing predictive genetic testing with a right not to know. *Eur. J. Hum. Genet.* 2015;23(9):1124–1128. DOI: 10.1038/ejhg.2014.269.
- Offit K., Groeger E., Turner J.D., Wadsworth E.A., Weiser M.A. The "Duty to Warn" a patient's family about hereditary disease risks. *JAMA*. 2004;292(12):1469–1473. DOI: 10.1001/jama.292.12.1469.

32. Brett T., Qureshi N., Gidding S., Watts G.F. Screening for familial hypercholesterolaemia in primary care: Time for general practice to play its part. *Atherosclerosis*. 2018;277:399–406. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.08.019.
33. Green R.C., Berg J.S., Grody W.W., Kalia S.S., Korf B.R., Martin C.L. et al. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet. Med.* 2013;15(7):565–574. DOI: 10.1038/gim.2013.73.
34. Kalia S.S., Adelman K., Bale S.J., Chung W.K., Eng C., Evans J.P. et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet. Med.* 2017;19(2):249–255. DOI: 10.1038/gim.2016.190.
35. De Wert G., Dondorp W., Clarke A., Dequeker E.M.C., Cordier C., Deans Z. et al. Opportunistic genomic screening. Recommendations of the European Society of Human Genetics. *Eur. J. Hum. Genet.* 2021;29(3):365–377. DOI: 10.1038/s41431-020-00758-w.
36. Botkin J.R., Belmont J.W., Berg J.S., Berkman B.E., Bombard Y., Holm I.A. et al. Points to consider: Ethical, legal, and psychosocial implications of genetic testing in children and adolescents. *Am. J. Hum. Genet.* 2015;97(1):6–21. DOI: 10.1016/j.ajhg.2015.05.022.
37. Van Noy G.E., Genetti C.A., McGuire A.L., Green R.C., Beggs A.H., Holm I.A. et al. Challenging the current recommendations for carrier testing in children. *Pediatrics*. 2019;143(1):S27–S32. DOI: 10.1542/peds.2018-1099F.
38. Boone P.M. Adolescents, family history, and inherited disease risk: An opportunity. *Pediatrics*. 2016;138(2):e20160579. DOI: 10.1542/peds.2016-0579.
39. Ross L.F., Clayton E.W. Ethical issues in newborn sequencing research: The Case study of BabySeq. *Pediatrics*. 2019;144(6):e20191031. DOI: 10.1542/peds.2019-1031.
40. Gollob M.H., Blier L., Brugada R., Champagne J., Chauhan V., Connors S. et al. Recommendations for the Use of Genetic Testing in the Clinical Evaluation of Inherited Cardiac Arrhythmias Associated with Sudden Cardiac Death: Canadian Cardiovascular Society/Canadian Heart Rhythm Society Joint Position Paper. *Can. J. Cardiol.* 2011;27(2): 232–245. DOI: 10.1016/j.cjca.2010.12.078.
41. Mullen M.A., Gow R.M. Emerging ethical issues in genetic testing for sudden cardiac death. *Cardiac Rhythm News*. 2016. URL: <https://cardiacrhythmnews.com/43>.
42. Longmuir P., Sampson M., Ham J., Weekes M., Patel B., Gow R. The mental health of adolescents and pre-adolescents living with inherited arrhythmia syndromes: A systematic review of the literature. *Cardiol. Young.* 2018;28(5):621–631. DOI: 10.1017/S104795111700289X.
43. Czosek R.J., Kaltman J.R., Cassidy A.E., Shah M.J., Vetter V.L., Tanel R.E. et al. Quality of life of pediatric patients with long QT syndrome. *Am. J. Cardiol.* 2016;117(4):605–610. DOI: 10.1016/j.amjcard.2015.11.051.
44. Grubic N., Puskas J., Phelan D., Fournier A., Martin L.J., Johri A.M. Shock to the heart: Psychosocial implications and applications of sudden cardiac death in the young. *Curr. Cardiol. Rep.* 2020;22(12):168. DOI: 10.1007/s11886-020-01419-6.
45. Senior V., Marteau T.M., Peters T.J. Will genetic testing for predisposition for disease result in fatalism? A qualitative study of parents responses to neonatal screening for familial hypercholesterolaemia. *Soc. Sci. Med.* 1999;48(12):1857–1860. DOI: 10.1016/s0277-9536(99)00099-4.
46. Hall A.E., Burton H. Legal and ethical implications of inherited cardiac disease in clinical practice within the UK. *J. Med. Ethics*. 2010;36(12):762–766. DOI: 10.1136/jme.2009.034108.
47. Semsarian C., Ingles J., Wilde A.A. Sudden cardiac death in the young: The molecular autopsy and a practical approach to surviving relatives. *Eur. Heart J.* 2015;36(21):1290–1296. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv063.
48. Ahmad F., McNally E.M., Ackerman M.J., Baty L.C., Day S.M., Kullo I.J. et al. Establishment of specialized clinical cardiovascular genetics programs: Recognizing the need and meeting standards: A scientific statement from the American Heart Association. *Circ. Genom. Precis. Med.* 2019;12(6):e000054. DOI: 10.1161/hcg.0000000000000054.
49. McNally E., Cambon-Thomsen A., Brazell A., Cassiman J.J., Kent A., Lindpaintner K. et al. 25 recommendations on the ethical, legal and social implications of genetic testing. Brussels: RTD info; 2004:25–26. URL: <https://docs.cntd.ru/document/607142391?marker>
50. Lerman C., Peshkin B.N., Hughes C., Isaacs C. Family disclosure in genetic testing for cancer susceptibility: Determinants and consequences. *Health Care L. Poly.* 1998;1(2):353–372.
51. Parker M., Lucassen A.M. Genetic information: A joint account? *BMJ*. 2004;329(7458):165–167. DOI: 10.1136/bmj.329.7458.165.
52. Gaff C.L., Clarke A.J., Atkinson P., Sivell S., Elwyn G., Iredale R. et al. Process and outcome in communication of genetic information within families: A systematic review. *Eur. J. Hum. Genet.* 2010;15(10):999–1011. DOI: 10.1038/sj.ejhg.5201883.
53. Sándor J. Genetic testing between private and public interests: Some legal and ethical reflections. *Front. Public Health*. 2018;31(1):6–8. DOI: 10.3389/fpubh.2018.00008.

Информация о вкладе авторов

Бостанова Ф.М. провела сбор литературных источников, их перевод, анализ данных, внесла существенный вклад в подготовку статьи к печати.

Ижевская В.Л. внесла существенный вклад в концепцию публикации, анализ и интерпретацию данных, написание и доработку первоначального текста статьи.

Все авторы дали окончательное согласие на подачу рукописи и согласились нести ответственность за все аспекты работы, ручаясь за их точность и безупречность.

Сведения об авторах

Бостанова Фатима Мунияминовна, клинический ординатор, Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова. ORCID 0000-0002-5337-1775.

E-mail: fatima1893@mail.ru.

Ижевская Вера Леонидовна, д-р мед. наук, заместитель директора по научной работе, Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, председатель Российского общества медицинских генетиков. ORCID 0000-0002-7246-5144.

E-mail: izhevskaya@med-gen.ru.

 **Ижевская Вера Леонидовна**, e-mail: izhevskaya@med-gen.ru.

Information on author contributions

Bostanova F.M. performed literature search, translation to Russian language, data analysis, and made a substantial contribution to preparing the manuscript for publication.

Izhevskaya V.L. made a substantial contribution to the concept of article, data analysis, data interpretation, writing, and finalizing the original text of the manuscript.

All authors gave their final consent to the submission of the manuscript and agreed to be responsible for all aspects of the work vouching for their accuracy and impeccability.

Information about the authors

Fatima M. Bostanova, Medical Resident, Research Centre for Medical Genetics. ORCID 0000-0002-5337-1775.

E-mail: fatima1893@mail.ru.

Vera L. Izhevskaya, Dr. Sci. (Med.), Deputy Director for Science, Research Centre for Medical Genetics; President of the Russian Society of Medical Genetics. ORCID 0000-0002-7246-5144.

E-mail: izhevskaya@med-gen.ru.

 **Vera L. Izhevskaya**, e-mail: izhevskaya@med-gen.ru.

Received June 01, 2021

Поступила 01.06.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-37-44>

УДК 616-056.7-02:616.89-008.45/.48

Современные исследования генетики многофакторных заболеваний, связанных с нарушением когнитивных функций человека

А.В. Бочарова, В.А. Степанов

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634050, Российская Федерация, Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10

Аннотация

В представленной работе обобщены данные современных исследований, связанных с поиском генетической компоненты широко распространенных социально значимых заболеваний, которые приводят к нарушениям когнитивных функций человека. Основное внимание уделено таким патологиям многофакторной природы, как шизофрения (ШЗ) и болезнь Альцгеймера (БА). В статье приводится подробный анализ широкого спектра методов современной генетики: от близнецовых до эпигенетических исследований.

Ключевые слова:	шизофрения, болезнь Альцгеймера, генетические исследования, когнитивные функции.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	исследование выполнено за счет средств федерального бюджета Научно-исследовательского института медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук.
Для цитирования:	Бочарова А.В., Степанов В.А. Современные исследования генетики многофакторных заболеваний, связанных с нарушением когнитивных функций человека. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2021;36(4):37–44. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-37-44 .

Recent studies of the genetics of complex diseases associated with impaired cognitive functions

Anna V. Bocharova, Vadim A. Stepanov

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 10, Ushaika River Embankment str., Tomsk, 634050, Russian Federation

Abstract

The present work summarizes data of recent studies related to the search for the genetic component of complex diseases leading to impaired cognitive functions. The main attention is paid to such pathologies as schizophrenia and Alzheimer's disease. The article provides a detailed analysis of a wide range of modern genetics methods: from twin studies to epigenetic research.

Keywords:	schizophrenia, Alzheimer's disease, genetic research, cognitive function.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	the study was conducted at the cost of the federal budget of Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences.
For citation:	Bocharova A.V., Stepanov V.A. Recent studies of the genetics of complex diseases associated with impaired cognitive functions. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2021;36(4):37–44. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-37-44 .

Бочарова Анна Владимировна, e-mail: anna.bocharova@medgenetics.ru.

Актуальность

Поиск наследственной компоненты широко распространенных заболеваний остается актуальным направлением современной медицинской генетики. Интерес определяется, прежде всего, тем, что многофакторные заболевания (МФЗ) являются социально значимыми патологиями и представляют серьезную проблему для мирового здравоохранения.

В настоящее время генетические исследования комплексных фенотипов, характерных для МФЗ, направлены на группы заболеваний, сходных по этиологии и патогенезу. Особый интерес вызывают МФЗ с фенотипами, связанными с нарушениями когнитивных функций (КФ), такие как шизофрения (ШЗ), болезнь Альцгеймера (БА), биполярное расстройство, болезнь Паркинсона, аутизм, большое депрессивное расстройство. Наиболее распространенными в мире и значимыми в медико-социальной сфере представителями этой группы МФЗ являются ШЗ и БА. Оба эти заболевания представляют собой широко распространенные патологии многофакторной природы, в развитии которых принимают участие генетические и средовые факторы.

Современное изучение генетической архитектуры сложных МФЗ основано на комплексном применении различных методов медицинской генетики: семейного и близнецового, популяционного и молекулярно-генетического, и с помощью моделирования, в том числе с использованием открытых биоинформатических баз данных.

Близнецовые исследования

Близнецовые исследования предоставили важную информацию о высоком генетическом риске многих МФЗ, в том числе и заболеваний, связанных с нарушениями КФ. Так, благодаря близнецовым и семейным исследованиям было установлено, что ШЗ имеет сильный генетический компонент с оценками наследуемости около 80–85% [1]. Научный интерес к подобным исследованиям не угас и в настоящее время. Практически в каждой стране ведется регистр близнецов, где срок наблюдений за такими парами достигает несколько десятилетий [2, 3]. В современных публикациях таких работ в отношении ШЗ, биполярного расстройства, депрессии, деменции наблюдаются методологические усовершенствования, связанные с применением, например метаанализов. Поскольку исследования сложных гетерогенных по клиническим признакам заболеваний обладают ограниченной статистической силой из-за размеров выборки или эффекта, то только тогда, когда результаты нескольких исследований анализируются совместно в метаанализе, малые эффекты могут быть оценены с достаточной степенью достоверности [4, 5].

Популяционные исследования

Генетические факторы риска развития того или иного МФЗ могут быть по-разному представлены в разных популяциях. Это происходит из-за существенных популяционных различий в частотах аллелей генетических маркеров и паттернов неравновесного сцепления и паттернов гаплотипов, что может привести к трудностям при воспроизведении результатов в других популяциях, особенно когда используются ассоциации аллелей с малым эффектом, а не аллели, которые широко представлены в популяциях [6, 7].

На сегодняшний день большинство широкомасштабных исследований в области психиатрической генетики основано на выборках европеоидов. Работы по другим этническим группам не многочисленны, но по их данным, например, риск развития БА у негроидов в 2 раза выше, чем у европеоидов [8], а у американцев латиноамериканского происхождения риск развития БА и других деменций в 1,5 раза выше, чем у европеоидного населения США [9]. В другой работе были проанализированы группы больных ШЗ и контроля с латиноамериканским и африканским происхождением [10]. Была выявлена связь генетического маркера гена *GALNT13* (2q23.3) с риском развития ШЗ в группе латиноамериканских больных. Этот локус кодирует полипептид N-ацетил-галактозаминил-трансферазу 13, которая, как было показано, специфически экспрессируется в нейронах и может отвечать за синтез антигена Tn, 3'-область UTR содержит две последовательности-мишени для микроРНК. Ассоциированный аллель однонуклеотидной замены (SNP) rs776877 в этом локусе имеет значение показателя отношения шансов (OR) около 1,4 (OR = 1,42; 95% CI: 1,272–1,585; $p = 9,62 \cdot 10^{-9}$). В когорте лиц американцев африканского происхождения в этой работе не были найдены статистически значимые ассоциации.

Еще одна работа, связанная с изучением популяционных различий в генетической архитектуре ШЗ, была проведена в 2019 г. с использованием 22 778 случаев ШЗ и 35 362 контроля у лиц азиатского происхождения [11]. Это исследование показало, что сигналы естественного отбора, в том числе положительные, совпадают в локусах, связанных с ШЗ, в популяциях европеоидного и азиатского происхождения, то есть аллели риска ШЗ действуют стабильно в этих популяциях. Примечательно, что авторами этой работы высказано предположение, что основные средовые факторы риска развития ШЗ, такие как миграция, урбанизация и злоупотребление психоактивными веществами, различающиеся в популяциях, вносят небольшой вклад в общую генетическую предрасположенность к этому заболеванию.

Молекулярно-генетические исследования

Широкогеномные ассоциативные исследования (GWAS)

Широкогеномные ассоциативные исследования (GWAS) были направлены на выявление ассоциаций между SNP и распространенными заболеваниями, такими как болезни сердца, диабет, аутоиммунные заболевания и психические расстройства. Исследования показывают, что частые аллели, полученные с помощью GWAS, объясняют от одной трети до половины генетической предрасположенности к ШЗ. В опубликованном GWAS по ШЗ были установлены независимые ассоциации между генетическими маркерами и заболеванием в 128 генах, которые удалось ограничить 108 локусами, называемыми «локусами риска шизофрении», причем о 83 из них ранее не сообщалось [12]. В 2018 г. международная группа ученых сообщила о новом GWAS ШЗ с 11 260 случаев и 24 542 контроля и метаанализе, с помощью которого идентифицировали еще 50 новых ассоциированных локусов и 145 локусов в общей сложности [13].

Для БА были проведены крупные GWAS с участием 74 046 индивидов [5]. Были идентифицированы 11 новых локусов, связанных с БА, в то время как еще 9 ранее из-

вестных локусов показали статистически значимую взаимосвязь с заболеванием, в том числе *APOE*, *BIN1*, *CLU*, *CR1*, *PICALM*. Из 11 новых генов, обнаруженных как ассоциированные с БА, *SORL1* и *CASS4* могут быть вовлечены в путь белка предшественника бета-амилоида (*APP*); *CASS4* и *FERMT2* путь тау; *HLA-DRB5-DRB1*, *INPP5D* и *MEF2C* играют роль в иммунной функции и воспалении, а *SORL1* может участвовать в транспорте липидов и эндцитозе [5]. Эта работа подтверждает сложную природу БА, определяя 20 генетических локусов, которые влияют на риск, возраст начала и тяжесть заболевания.

Надежная демонстрация даже небольших размеров генетического эффекта выявляет белки, вовлеченные в болезнь, и, таким образом, вносит большой вклад в понимание патофизиологии заболевания [14]. Однако важно отметить, что большая часть генетических маркеров риска развития заболеваний, выявленных до настоящего времени в GWAS, находятся в некодирующих или межгенных областях, в связи с чем не сразу понятна функция маркера, а также по этой же причине не всегда большинство вариантов риска могут быть четко отнесены к генам-мишеням.

Секвенирование следующего поколения (NGS): полногеномное (WGS) и полноэкзомное (WES) секвенирование

Хотя GWAS успешно обнаружили многочисленные гены, предрасполагающие к развитию ШЗ и БА, отношения шансов, связанные с аллелями риска, как правило, низкие и составляют лишь небольшую долю оценочной наследуемости. В том числе до 50% наследуемости БА с поздним началом остаются необъясненными всеми известными генами риска развития этого заболевания, включая *APOE*. Эти результаты указывают на то, что в патогенезе этих заболеваний существуют редкие (присутствующие у менее 5% населения), но функционально значимые варианты, которые обычно имеют большой размер эффекта и не могут быть выявлены в GWAS. Наука в настоящее время располагает новыми мощными инструментами для исследований, которые способны помочь в этом.

Революционные достижения секвенирования следующего поколения (NGS) открыли эру секвенирования целого экзона (WES), секвенирования целого генома (WGS) и анализа транскриптома. Технологии NGS сделали возможным и осуществимым крупномасштабное секвенирование. Эти платформы произвели переворот в генетических исследованиях. Благодаря новым методам и технологиям было получено огромное количество данных о последовательности ДНК. Действительно, объем данных увеличился в геометрической прогрессии вследствие применения новых технических подходов к секвенированию, которые включают массовое параллельное секвенирование.

С уменьшением стоимости технологий NGS полногеномное (WGS) и полноэкзомное секвенирование (WES) дали возможность быстро идентифицировать редкие варианты с большим размером эффекта, а также небольшие инсерции и делеции, что позволило достичь заметного прогресса в понимании основ многих патологических состояний, а также сложных заболеваний.

В 2017 г. была опубликована работа по WGS 817 образцов ДНК больных БА европейского происхождения [15]. Основной анализ был направлен на регион гена

APOE на хромосоме 19, так как аллель *APOE ε4* является наиболее значимым генетическим фактором риска БА с поздним началом. Всего в области локуса *APOE* было обнаружено 3040 редких SNPs (частота редкого аллеля < 0,05) и 294 коротких инделов. Среди этих SNPs были обнаружены 72 редкие несинонимичные замены. Результаты работы показали, что редкие варианты четырех генов в локусе *APOE* (*CBLC*, *BCAM*, *APOE* и *RELB*) статистически значимо ассоциированы с концентрациями белка Aβ 1–42, который является ликворологическим биомаркером БА.

Что касается ШЗ, WES может помочь решить два важных вопроса. Во-первых, как объяснить очевидную «недостающую наследуемость», которая присутствует, несмотря на различные молекулярно-генетические исследования ШЗ многими научными группами. Во-вторых, как ШЗ сохраняется в популяции, учитывая, что репродуктивная способность у больных индивидов снижается. Предоставляя большое количество данных о последовательностях от конкретных людей с ШЗ, WES поможет решить оба этих важных вопроса.

Спорадические случаи ШЗ, вероятно, будут иметь накопление редких мутаций *de novo*, что является отражением повышенной частоты мутаций. Это мнение согласуется с эпидемиологическими исследованиями, которые показывают, что пожилой отцовский возраст повышает риск развития ШЗ, поскольку частота мутаций увеличивается при гаметогенезе у более старших отцов [16]. Это одно из объяснений, почему ШЗ сохраняется в значительной степени в популяциях, несмотря на сниженную репродуктивную способность.

В 2011 г. была опубликована работа, где сообщалось о 15 мутациях *de novo*, включая четыре нонсенс-мутации в генах *LRP1*, *KPNA1*, *ZNF480*, *ALS2CL*, у восьми пробандов с ШЗ [17]. Авторы предположили, что эти мутации влияют на функцию генов, а в свою очередь, эти гены, вероятно, связаны с фенотипом ШЗ. Интересно, что один из генов, идентифицированных с новым стоп-кодоном, *KPNA1*, влияет на рекомбинацию гена иммуноглобулина. Этот ген представляет интерес, поскольку предполагается, что иммунные факторы играют важную роль в патогенезе ШЗ.

В другом исследовании найдено 40 мутаций *de novo* в 27 случаях с предсказанными функциональными эффектами в 40 генах [18]. Мутации у пробандов с ШЗ принадлежали в основном к несинонимичным заменам, что может свидетельствовать о том, что мутации *de novo* могут играть большую роль в риске развития ШЗ.

S.M. Purcell и соавт. в 2014 г. опубликовали результаты своей работы, доказывающие полигенную природу ШЗ. Как описывается в их статье, генетическая составляющая этого заболевания в основном состоит из большого числа крайне редких нонсенс-мутаций, распределенных по множеству генов. Тем не менее они смогли обнаружить несколько небольших и высокообогащенных сетей генов, связанных с кальциевыми каналами и постсинаптическим комплексом ARC, где были сконцентрированы эти редкие варианты генов [19].

Становится также очевидным, что вариации числа копий участков ДНК (CNVs) являются вероятной причиной ШЗ [20]. Делеции или дупликации в последовательности генома могут иметь разное происхождение в популяции: они могут возникать *de novo* при образовании гамет или могут возникать соматически в развивающемся орга-

низме и даже могут объяснять диссонанс между монозиготными близнецами. Более того, в настоящее время опубликованы убедительные молекулярно-генетические доказательства вклада CNVs в риск развития ШЗ. В работе по широкогеномному поиску CNVs в выборке из 2160 трио (состоящих из родителей и больного ШЗ) и 5558 родительских пар без заболевания были идентифицированы 66 CNVs, которые возникают *de novo*. Три делеции из них показали статистически значимую взаимосвязь с ШЗ: 1q21.1, 15q11.2 и 15q13.3 [21]. Так, в регионе делеции 15q13.3 находится ген *CHRNA7* (кодирующий субъединицу 7 α никотинового холинэргического рецептора), который является кандидатным для ШЗ [22]. Уже идентифицированные CNVs, ассоциированные с ШЗ, могут указывать на основные патогенные пути заболевания. Примечательно, что в регионе 15q13.3, который затрагивает ген *CHRNA7*, была найдена дупликация в образцах больных БА [23], что может указывать на некоторую генетическую общность ШЗ и БА.

Что касается БА, работы по редким CNVs встречаются не так часто, как по ШЗ, биполярному расстройству, аутизму и другим психозам. Но есть исследования, которые показали, что ШЗ и психоз при БА с поздним началом имеют некоторый общий генетический риск [33]. Авторы искали CNVs, ассоциированные с психозом при БА, в 7 регионах, которые были ранее идентифицированы при аутизме и ШЗ [24]. Была выявлена дупликация хромосомы 16p11.2, частота которой при БА (0,46%) была аналогична той, о которой сообщалось ранее при ШЗ (0,46%) [25]. Эта дупликация 16p11.2 была связана с задержкой развития, умственной отсталостью, поведенческими проблемами, аутизмом, ШЗ и биполярным расстройством.

Эпигенетические исследования

Существует три основных категории эпигенетических факторов: метилирование ДНК, посттрансляционные модификации гистонов и некодирующие РНК (нкРНК), которые включают микроРНК (miRNA), небольшие некодирующие РНК (snRNA) и длинные некодирующие РНК (lncRNA).

Метилирование ДНК является формой эпигенетической регуляции, которая изменяется у пациентов с БА. Эпигеномные исследования выявили общие сайты метилирования, которые характерны при БА, в том числе в локусах *ABCA7* и *BIN1*, которые были идентифицированы в геномных исследованиях, и ассоциации были подтверждены путем измерения экспрессии РНК близлежащих генов, в том числе *ANK1*, *CDH23*, *DP2A*, *RPL13*, *SERPINF1* и *SERPINF2* [26]. Ген *ANK1* был идентифицирован в исследовании эпигеномных ассоциаций как ген, метилирование которого связано с дисрегуляцией коры при БА.

Большая часть работ по характеристике эпигенома ШЗ была основана на измерении прямого метилирования ДНК с помощью бисульфитного секвенирования и аналогичных методов. На сегодняшний день исследования по метилированию ДНК у больных ШЗ сопоставлены с основными путями нейротрансмиттеров. В частности, промоторы генов рилина (*RELN*) и декарбоксилаза глутаминовой кислоты (*GAD1*), составляющих γ -аминомасляной ацидогенный путь, были гиперметилированы при ШЗ, в то время как промотор гена катехол-О-метилтрансферазы (*COMT*), который является компонентом дофаминергического пути, был гипометилирован в тканях мозга в образцах больных ШЗ, исследованных посмертно [27, 28].

А. Carrard и соавт. в своей работе продемонстрировали гиперметилирование промотора гена серотонинового рецептора типа 1 (*HTR1A*) в образцах крови пациентов с ШЗ по сравнению с контрольной группой, что еще раз указало на вовлечение серотонинергического пути в развитие ШЗ [29]. При исследовании гаплотип-специфических уровней метилирования отдельных цитозинов в пределах геномной области, включающей гены *BAG5*, *APOPT1* и *KLC1*, в периферической крови больных ШЗ и контрольной группы был определен профиль метилирования, связанный с гаплотипом риска ШЗ в интроне 4 гена *KLC1* [30].

Ацетилирование гистонов дестабилизирует электростатическое сродство между гистонами и ДНК, облегчая доступ к хроматину, этим способствуя транскрипции. Этот эпигенетический процесс экспрессии генов имеет решающее значение для обучения и памяти. Фосфорилирование гистонов непосредственно наблюдалось в ткани головного мозга у пациентов с БА [31], а на животных моделях БА регистрировалось снижение ацетилирования гистонов из-за увеличения гистондеацетилазы 2 (*HDAC2*) [32].

Посттрансляционные модификации гистоновых белков также оказывают существенное влияние на эпигенетическую регуляцию психических расстройств и ШЗ. В частности, в одном из таких исследований было отмечено увеличение активности гистондеацетилазы 1 (*HDAC1*) у пациентов с ШЗ, в том числе в префронтальной коре, гиппокампе и медиальной височной доле [33]. В соответствии с этим наблюдением в другой работе сделали предположение, что избыточная экспрессия гена *HDAC1* у мышей связана с поведенческими отклонениями и дефицитом рабочей памяти [34]. Гистондеацетилаза 2 (*HDAC2*) также ассоциируется с риском развития ШЗ, ее влияние обусловлено регуляцией метаболитного рецептора глутамата (*GRM2*) [35]. В исследовании образцов префронтальной коры головного мозга были обнаружены доказательства участия фактора транскрипции *MEF2C* (фактор, усиливающий миоциты 2C) в риске развития ШЗ [36].

МикроРНК (miRNAs) – это короткие некодирующие молекулы РНК длиной 19–23 нуклеотида, которые могут снижать трансляцию белка путем связывания с комплементарной последовательностью мРНК, то есть осуществляющие посттранскрипционную регуляцию экспрессии генов. В частности, в головном мозге в нейронах наблюдается повышенная экспрессия miRNAs, где они играют ключевую роль во время дифференцировки нейронов, синаптогенезе и пластичности. Соответственно, становится все более очевидным, что miRNAs оказывают глубокое влияние на КФ, а при нарушении функционирования эти некодирующие молекулы вовлекаются в этиологию ряда неврологических заболеваний и расстройств, включая БА, болезнь Паркинсона, амиотрофический латеральный склероз (ALS) и хорею Гентингтона [37].

Первое профилирование miRNAs в головном мозге больных БА было выполнено в 2010 г. Работа показала, что уровни miRNA в теменной доле коры головного мозга у пациентов с БА могут положительно или отрицательно коррелировать с их целевыми уровнями мРНК, подчеркивая этим сложность пути от гена к белковому продукту [38]. В работах *in vitro* были обнаружены miRNAs (miR-20a, miR-19, miR-106a, miR-520c, miR-101), непосредственно регулирующие мРНК APP в клетках человека [39, 40]; miRNAs также участвуют в регуляции альтернативного сплайсинга APP. Кроме того, было обнаружено, что

аномальный сплайсинг APP связан с увеличением продукции A β [41].

Аномальная экспрессия и дисфункция miRNAs вовлечены в патофизиологию многих психических заболеваний, включая ШЗ. Так, А. Guo и соавт. в 2010 г. подтвердили, что miR-195 участвует в сложной регуляторной сети, где затрагиваются сигнальные пути, связанные с риском развития ШЗ [42]. В другой работе было показано, что ген, кодирующий miR-346, был локализован на глутамат-ионотропном рецепторе дельта-типа субъединицы 1 (*GRID1*), а ген *GRID1* является кандидатным геном для ШЗ [43]. MiR-30a-5p и miR-195 могут регулировать экспрессию генов нейротрофического фактора мозга (*BDNF*), поэтому предполагается, что miR-195 может участвовать в патогенезе ШЗ путем регуляции *BDNF* [44]. В одном из исследований были показаны особенности метилирования ДНК в гене *MIR137HG* в группе больных ШЗ, было высказано предположение о важной роли этого гена в модификации риска ШЗ и когнитивных функций [45].

Многие микроРНК специфически экспрессируются в тех или иных клетках и тканях, и уровни их экспрессии также связаны с патологическими или физиологическими процессами соответствующих клеток или тканей. Аномальная экспрессия miRNAs отражает патологическое состояние организма. Исследования показали, что профили экспрессии некоторых микроРНК значительно различались между болезнью и нормой. Дифференциально экспрессируемые микроРНК в перспективе могут стать новыми точными биомаркерами для диагностики заболеваний.

Эпигенетические механизмы играют значительную роль в заболеваниях человека, но исследование их участия в патологиях со стороны центральной нервной системы было затруднено из-за сложности строения мозга вместе с его уникальной клеточной архитектурой и разнообразием. До недавнего времени ткани и клетки мозга были доступны только в качестве посмертных материалов после многих лет развития болезни. Современные системы *in vitro* индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), генерируемых путем перепрограммирования соматических клеток от пациентов, обеспечивают ценные модели болезней, повторяющие ключевые патологические молекулярные события. При нейродегенеративных и психических заболеваниях, когда модели на животных не способны полностью воспроизвести ключевые патологические аспекты заболевания, перепрограммирование человеческих фибробластов в ИПСК стало широко используемым методом, позволяющим генерировать специфичные для пациента клетки в практически неограниченных количествах, впоследствии с выяснением механизмов заболевания [46, 47].

Исследования эндофенотипов

Концепция эндофенотипов (ЭФ) была предложена I.I. Gottesman и T.D. Gould для психиатрических заболеваний, в частности, для ШЗ [48], став следствием размышлений авторов над полигенной теорией развития ШЗ. Идея концепции заключается в том, что если фенотипы, связанные с расстройством, являются очень специализированными и представляют относительно простые и более элементарные явления (в отличие от поведенческих синдромов), число генов, необходимых для развития вариаций этих признаков, может быть меньше, чем число генов, которые участвуют в развитии психиатрического расстройства.

Были предложены критерии для идентификации маркеров в психиатрической генетике для применения к ЭФ [48]:

1. ЭФ связан с болезнью в популяции.
2. ЭФ наследуемый.
3. ЭФ не зависит от состояния (проявляется у человека независимо от того, находится ли больной в активной или доклинической фазе заболевания).
4. Внутри семей больных и их родственников идет накопление ЭФ.
5. ЭФ, обнаруженный у больного члена семьи, встречается у здоровых членов семьи чаще, чем в общей популяции.

Концепция ЭФ в настоящее время применяется не только в отношении психических расстройств (ШЗ, биполярное расстройство, большое депрессивное расстройство и др.) в связи с их сложным гетерогенным характером клинических проявлений, но и для нейродегенеративных расстройств (БА, болезнь Паркинсона и др.). Интерес к ЭФ со стороны ученых связан с осмыслением механизмов влияния генов, роль которых в развитии заболевания доказана, а также для поиска новых рисков генов-кандидатов.

ЭФ могут быть различны по своей природе: нейрофизиологические, нейроанатомические, когнитивные, нейропсихологические, метаболические и другие. В настоящее время примерами когнитивных ЭФ ШЗ являются ухудшение рабочей памяти, снижение внимания и исполнительской функции, нарушение эмоционального восприятия и познавательной способности, расстройство мышления, ангедония, ментализация и другие [49–53]. К когнитивным ЭФ БА относятся повышенная тревожность, а также снижение рабочей памяти, которые наблюдаются у молодых лиц с генетической подверженностью к БА уже на преклинической стадии заболевания. Так, было показано у молодых испытуемых влияние гена кластерина (*CLU*) на функцию рабочей памяти и объем серого вещества в областях коры головного мозга, поддерживающих рабочую память [54]. Было обнаружено, что изменение объема серого вещества в теменной области связано с влиянием *CLU* на производительность рабочей памяти. Другим показателем являлась повышенная тревожность, которая наблюдалась у женщин среднего возраста и была связана с риском развития БА, а деструктивный стресс, испытанный в среднем возрасте, идентифицирован как промежуточное звено, приводящее к развитию БА в старческом возрасте [55].

Примером электрофизиологического ЭФ служит сенсорный дефицит, который характеризуется специфическими особенностями энцефалограммы у больных ШЗ [56] и больных БА [57]. Кроме того, снижение модуляции блуждающего нерва, приводящее к увеличению смертных случаев среди больных ШЗ, в настоящее время рассматривается как ЭФ данного заболевания [58]. Примером нейрофизиологического ЭФ является нарушение у больных ШЗ способности к плавному слежению глазами за движущимися предметами [59]. Нарушения преимпульсного торможения описаны в исследованиях, посвященных ШЗ, расстройствам аутистического спектра, болезни Паркинсона, болезни Хантингтона, БА [60, 61].

Метаболические ЭФ стали использоваться для ранней диагностики БА и разработки методов профилактики и лечения этого заболевания. В частности, уровни концентрации β -амилоидного белка (A β 42) и гиперфосфо-

рированного тау-белка (p τ au181) в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) являются хорошо установленными ЭФ для БА. Так, уменьшение концентрации A β 42, вероятно, происходит в результате его отложения в мозге с образованием сенильных бляшек, в то время как повышение содержания p τ au181 положительно коррелирует с числом нейрофибриллярных клубков. Этот ЭФ помог выявлению таких генетических факторов риска, как полиморфный маркер rs1868402 в гене *PPP3R1*, который кодирует регулярный участок фосфатазы V, и полиморфный маркер rs3785883 в гене *MAPT*, который кодирует связанный с микротрубочками белок [62]. Увеличение содержания p τ au181 в ЦСЖ является прогностическим фактором снижения КФ и показателем прогрессирования от легкого ухудшения КФ до БА. Метаболические ЭФ используют для изучения основных патогенетических механизмов БА, связанных с амилоидным каскадом.

В целом использование различных ЭФ в генетических исследованиях представляется перспективным направлением, способствующим выяснению генетической основы заболевания. Кроме того, ЭФ наряду с генетическими маркерами, могут быть полезны для диагностики предрасположенности к развитию заболеваний с нарушениями когнитивных функций. Это может способствовать повышению ранней оценки риска развития заболевания

и возможности применения профилактических подходов в его лечении.

Заключение

Обобщая вышесказанное, необходимо отметить, что к настоящему моменту пришло понимание, что более весомых данных в области МФЗ можно ожидать в результате сотрудничества научных групп, объединенных одной целью. В результате появилось множество консорциумов, которые накапливают материал по той или иной группе заболеваний, чтобы в дальнейшем анализировать большие массивы данных. Благодаря таким совместным усилиям многих специалистов в разных областях биологических и медицинских наук были сделаны значительные находки, которые вносят вклад в общее понимание этиологии и патогенеза различных заболеваний, связанных с нарушением КФ. Кроме того, стал использоваться системный подход в исследованиях наследственных основ заболеваний, нарушающих КФ человека. Таким образом, независимо от того, какие из существующих ныне и вновь возникших направлений окажутся решающими на пути познания природы МФЗ, в том числе и заболеваний с нарушениями КФ, очевидно, что общая концепция возникает при сочетании мультидисциплинарных подходов к рассматриваемой проблеме.

Литература / References

- Cardno A.G., Gottesman I.I. Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics. *Am. J. Med. Genet.* 2000;97(1):12–17.
- Hilker R., Helenius D., Fagerlund B., Skytthe A., Christensen K., Werge T.M. et al. Heritability of schizophrenia and schizophrenia spectrum based on the Nationwide Danish Twin Register. *Biol. Psychiatry.* 2018;83(6):492–498. DOI: 10.1016/j.biopsych.2017.08.017.
- Besteher B., Brambilla P., Nenadić I. Twin studies of brain structure and cognition in schizophrenia. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2020;109:103–113. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2019.12.021.
- Sullivan P.F., Kendler K.S., Neale M.C. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch. Gen. Psychiatry.* 2003;6(12):1187–1192. DOI: 10.1001/archpsyc.60.12.1187.
- Lambert J.C., Ibrahim-Verbaas C.A., Harold D., Naj A.C., Sims R., Bellenguez C. et al. Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nat. Genet.* 2013;45(12):1452–1458. DOI: 10.1038/ng.2802.
- Степанов В.А., Бочарова А.В., Марусин А.В., Жукова Н.Г., Алифирова В.М., Жукова И.А. Репликативный анализ ассоциаций генетических маркеров когнитивных признаков с болезнью Альцгеймера в российской популяции. *Молекулярная биология.* 2014;48(6):952–962. DOI: 10.7868/S0026898414060160.
- Stepanov V.A., Bocharova A.V., Marusin A.V., Zhukova N.G., Alifirova V.M., Zhukova I.A. Replicative association analysis of genetic markers of cognitive traits with Alzheimer's disease in the Russian population. *Molecular Biology.* 2014;48(6):952–962 (In Russ.). DOI: 10.1134/S0026893314060168.
- Бочарова А.В., Степанов В.А., Марусин А.В., Харьков В.Н., Вагайцева К.В., Федоренко О.Ю. и др. Анализ ассоциаций генетических маркеров шизофрении и ее когнитивных эндотипов. *Генетика.* 2017;53(1):100–108. DOI: 10.7868/S0016675817010039.
- Bocharova A.V., Stepanov V.A., Marusin A.V., Kharkov V.N., Vagaitseva K.V., Fedorenko O.Yu. et al. Association study of genetic markers of schizophrenia and its cognitive endophenotypes. *Russian Journal of Genetics.* 2017;53(1):139–146 (In Russ.). DOI: 10.1134/S1022795417010033.
- Rajan K.B., Weuve J., Barnes L.L., Wilson R.S., Evans D.A. Prevalence and incidence of clinically diagnosed Alzheimer's disease dementia from 1994 to 2012 in a population study. *Alzheimers Dement.* 2019;15(1):1–7. DOI: 10.1016/j.jalz.2018.07.216.
- Samper-Ternent R., Kuo Y.F., Ray L.A., Ottenbacher K.J., Markides K.S., Al Snih S. Prevalence of health conditions and predictors of mortality in oldest old Mexican Americans and non-Hispanic whites. *J. Am. Med. Dir. Assoc.* 2012;13(3):254–259. DOI: 10.1016/j.jamda.2010.07.010.
- Bigdeli T.B., Genovese G., Georgakopoulos P., Meyers J.L., Peterson R.E., Iyegbe C.O. et al. Contributions of common genetic variants to risk of schizophrenia among individuals of African and Latino ancestry. *Mol. Psychiatry.* 2019(10):2455–2467. DOI: 10.1038/s41380-019-0517-y.
- Lam M., Chen C.Y., Li Z., Martin A.R., Bryois J., Ma X. et al. Comparative genetic architectures of schizophrenia in East Asian and European populations. *Nat. Genet.* 2019;51(12):1670–1678. DOI: 10.1038/s41588-019-0512-x.
- Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature.* 2014;511(7510):421–427. DOI: 10.1038/nature13595.
- Pardiñas A.F., Holmans P., Pocklington A.J., Escott-Price V., Ripke S., Carrera N. et al. Common schizophrenia alleles are enriched in mutation-intolerant genes and in regions under strong background selection. *Nat. Genet.* 2018;50(3):381–389. DOI: 10.1038/s41588-018-0059-2.
- Федоренко О.Ю., Иванова С.А. Новый взгляд на генетику нейрокогнитивного дефицита при шизофрении. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2020;120(8):183–192. DOI: 10.17116/jnevro2020120081183.
- Fedorenko O.Y., Ivanova S.A. A new look at the genetics of neurocognitive deficits in schizophrenia. *Zh. Nevrol. Psikiatr. Im. S.S. Korsakova.* 2020;120(8):183–192 (In Russ.). DOI: 10.17116/jnevro2020120081183.
- Nho K., Kim S., Horgusluoglu E., Risacher S.L., Shen L., Kim D. et al. Association analysis of rare variants near the APOE region with CSF and neuroimaging biomarkers of Alzheimer's disease. *BMC Medical Genomics.* 2017;10(1):29. DOI: 10.1186/s12920-017-0267-0.
- Kong A., Frigge M.L., Masson G., Besenbacher S., Sulem P., Magnusson G. et al. Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. *Nature.* 2012; 488(7412):471–475. DOI: 10.1038/nature11396.
- Girard S.L., Gauthier J., Noreau A., Xiong L., Zhou S., Jouan L. et al. Increased exonic de novo mutation rate in individuals with schizophrenia. *Nat. Genet.* 2011;43(9):860–863. DOI: 10.1038/ng.886.
- Xu B., Roos J.L., Dexheimer P., Boone B., Plummer B., Levy S. et al. Exome sequencing supports a de novo mutational paradigm for schizophrenia. *Nat. Genet.* 2011;43(9):864–868. DOI: 10.1038/ng.902.
- Purcell S.M., Moran J.L., Fromer M., Ruderfer D., Solovieff N., Roussos P. et al. A polygenic burden of rare disruptive mutations in schizophrenia. *Nature.* 2014;506(7487):185–190. DOI: 10.1038/nature12975.
- Vega-Sevey J.G., Martínez-Magaña J.J., Genis-Mendoza A.D., Escamilla M., Lanzagorta N., Tovilla-Zarate C.A. et al. Copy number variants in siblings of Mexican origin concordant for schizophrenia or

- bipolar disorder. *Psychiatry Res.* 2020;291:113018. DOI: 10.1016/j.psychres.2020.113018.
21. Stefansson H., Rujescu D., Cichon S., Pietiläinen O.P., Ingason A., Steinberg S. et al. Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature.* 2008;455(7210):232–236. DOI: 10.1038/nature07229.
 22. International Schizophrenia Consortium. Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia. *Nature.* 2008;455(7210):237–241. DOI: 10.1038/nature07239.
 23. Heinzen E.L., Need A.C., Hayden K.M., Chiba-Falek O., Roses A.D., Strittmatter W.J. et al. Genome-wide scan of copy number variation in late-onset Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 2010;19(1):69–77. DOI: 10.3233/JAD-2010-1212.
 24. Zheng X., Demirci F.Y., Barmada M.M., Richardson G.A., Lopez O.L., Sweet R.A. et al. A rare duplication on chromosome 16p11.2 is identified in patients with psychosis in Alzheimer's disease. *PLoS One.* 2014;9(11):e111462. DOI: 10.1371/journal.pone.0111462.
 25. Hollingworth P., Sweet R., Sims R., Harold D., Russo G., Abraham R. et al. Genomewide association study of Alzheimer's disease with psychotic symptoms. *Mol. Psychiatry.* 2012;17(12):1316–1327. DOI: 10.1038/mp.2011.125.
 26. De Jager P.L., Srivastava G., Lunnon K., Burgess J., Schalkwyk L.C., Yu L. et al. Alzheimer's disease: Early alterations in brain DNA methylation at ANK1, BIN1, RHBDF2 and other loci. *Nat. Neurosci.* 2014;17(9):1156–1163. DOI: 10.1038/nn.3786.
 27. Abdolmaleky H.M., Cheng K.H., Russo A., Smith C.L., Faraone S.V., Wilcox M. et al. Hypermethylation of the reelin (RELN) promoter in the brain of schizophrenic patients: A preliminary report. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 2005; 134B(1):60–66. DOI: 10.1002/ajmg.b.30140.
 28. Huang H.S., Akbarian S. GAD1 mRNA expression and DNA methylation in prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *PLoS One.* 2007;2(8):e809. DOI: 10.1371/journal.pone.0000809.
 29. Carrard A., Salzmann A., Malafosse A., Karege F. Increased DNA methylation status of the serotonin receptor 5HT1A gene promoter in schizophrenia and bipolar disorder. *J. Affect. Disord.* 2011;132(3):450–453. DOI: 10.1016/j.jad.2011.03.018.
 30. Alfimova M., Kondratyev N., Golov A., Golimbet V. Profiling haplotype specific CpG and CpH methylation within a schizophrenia GWAS locus on chromosome 14 in schizophrenia and healthy subjects. *Sci. Rep.* 2020;10(1):4704. DOI: 10.1038/s41598-020-61671-2.
 31. Rao J.S., Keleshian V.L., Klein S., Rapoport S.I. Epigenetic modifications in frontal cortex from Alzheimer's disease and bipolar disorder patients. *Transl. Psychiatry.* 2012;2(7):e132. DOI: 10.1038/tp.2012.55.
 32. Gräff J., Rei D., Guan J.S., Wang W.Y., Seo J., Hennig K.M. et al. An epigenetic blockade of cognitive functions in the neurodegenerating brain. *Nature.* 2012;483(7388): 222–226. DOI: 10.1038/nature10849.
 33. Benes F.M., Lim B., Matzilevich D., Walsh J.P., Subburaju S., Minns M. Regulation of the GABA cell phenotype in hippocampus of schizophrenics and bipolars. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007;104(24):10164–10169. DOI: 10.1073/pnas.0703806104.
 34. Jakovcevski M., Bharadwaj R., Straubhaar J., Gao G., Gavin D.P., Jakovcevski I. et al. Prefrontal cortical dysfunction after overexpression of histone deacetylase 1. *Biol. Psychiatry.* 2013;74(9):696–705. DOI: 10.1016/j.biopsych.2013.03.020.
 35. Kurita M., Holloway T., Garcia-Bea A., Kozlenkov A., Friedman A.K., Moreno J.L. et al. HDAC2 regulates atypical antipsychotic responses through the modulation of mGlu2 promoter activity. *Nat. Neurosci.* 2012;15(9):1245–1254. DOI: 10.1038/nn.3181.
 36. Mitchell A.C., Javidfar B., Pothula V., Ibi D., Shen E.Y., Peter C.J. et al. MEF2C transcription factor is associated with the genetic and epigenetic risk architecture of schizophrenia and improves cognition in mice. *Mol. Psychiatry.* 2018;23(1):123–132. DOI: 10.1038/mp.2016.254.
 37. Fiore R., Khudayberdiev S., Saba R., Schratz G. MicroRNA function in the nervous system. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2011;102:47–100. DOI: 10.1016/B978-0-12-415795-8.00004-0.
 38. Nunez-Iglesias J., Liu C.C., Morgan T.E., Finch C.E., Zhou X.J. Joint genome-wide profiling of miRNA and mRNA expression in Alzheimer's disease cortex reveals altered miRNA regulation. *PLoS One.* 2010;5(2):e8898. DOI: 10.1371/journal.pone.0008898.
 39. Fan X., Liu Y., Jiang J., Ma Z., Wu H., Liu T. et al. miR-20a promotes proliferation and invasion by targeting APP in human ovarian cancer cells. *Acta Biochim. Biophys. Sin.* 2010;42(5):318–324. DOI: 10.1093/abbs/gmq026.
 40. Vilardo E., Barbato C., Ciotti M., Cogoni C., Ruberti F. MicroRNA-101 regulates amyloid precursor protein expression in hippocampal neurons. *J. Biol. Chem.* 2010;285(24):18344–18351. DOI: 10.1074/jbc.M110.112664.
 41. Smith P., Al Hashimi A., Girard J., Delay C., Hébert S.S. *In vivo* regulation of amyloid precursor protein neuronal splicing by microRNAs. *J. Neurochem.* 2011;116(2):240–247. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2010.07097.x.
 42. Guo A., Sun J., Jia P., Zhao Z. A novel microRNA and transcription factor mediated regulatory network in schizophrenia. *BMC Syst. Biol.* 2010;4:10. DOI: 10.1186/1752-0509-4-10.
 43. Zhu Y., Kalbfleisch T., Brennan M.D., Li Y. A microRNA gene is hosted in an intron of a schizophrenia-susceptibility gene. *Schizophr. Res.* 2009;109(1–3):86–89. DOI: 10.1016/j.schres.2009.01.022.
 44. Mellios N., Huang H.S., Baker S.P., Galdzicka M., Ginns E., Akbarian S. Molecular determinants of dysregulated GABAergic gene expression in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Biol. Psychiatry.* 2009;65(12):1006–1014. DOI: 10.1016/j.biopsych.2008.11.019.
 45. Алфимова М.В., Кондратьев Н.В., Голов А.К., Голимбет В.Е. Метилирование ДНК в локусе MIR137HG, ассоциированном с шизофренией и интеллектом, может быть связано с заболеванием и когнитивными функциями. *Генетика.* 2019;55(2):207–213. DOI: 10.1134/S0016675819020036.
 46. Alfimova M.V., Kondratyev N.V., Golov A.K., Golimbet V.E. DNA methylation at the schizophrenia and intelligence GWAS-implicated MIR137HG locus may be associated with disease and cognitive functions. *Russian Journal of Genetics.* 2019;55(2):232–237 (In Russ.). DOI: 10.1134/S0026898418050026.
 47. Hoffmann A., Ziller M., Spengler D. Childhood-onset schizophrenia: Insights from induced pluripotent stem cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(12):3829. DOI: 10.3390/ijms19123829.
 48. Lee K.M., Hawi Z.H., Parkington H.C., Parish C.L., Kumar P.V., Polo J.M. et al. The application of human pluripotent stem cells to model the neuronal and glial components of neurodevelopmental disorders. *Mol. Psychiatry.* 2020;25(2):368–378. DOI: 10.1038/s41380-019-0495-0.
 49. Gottesman I.I., Gould T.D. The endophenotype concept in psychiatry: etymology & strategic intentions. *Am. J. Psychiatry.* 2003;160:636–645. DOI: 10.1176/appi.ajp.160.4.636.
 50. Greenwood T.A., Swerdlow N.R., Gur R.E., Cadenhead K.S., Calkins M.E., Dobie D.J. et al. Genome-wide linkage analyses of 12 endophenotypes for schizophrenia from the Consortium on the Genetics of Schizophrenia. *Am. J. Psychiatry.* 2013;170(5):521–532. DOI: 10.1176/appi.ajp.2012.12020186.
 51. Manoach D.S., Agam Y. Neural markers of errors as endophenotypes in neuropsychiatric disorders. *Front. Hum. Neurosci.* 2013;7:350. DOI: 10.3389/fnhum.2013.00350.
 52. Knowles E.E., Carless M.A., de Almeida M.A., Curran J.E., McKay D.R., Sprooten E. et al. Genome-wide significant localization for working and spatial memory: Identifying genes for psychosis using models of cognition. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 2014;165B(1):84–95. DOI: 10.1002/ajmg.b.32211.
 53. Zhang P., Zhang N., Fang S., He J., Fan L., Luo X. et al. Factor structure and measurement invariance of the Chinese version of the Snaith-Hamilton Pleasure Scale (SHAPS) in non-clinical and clinical populations. *J. Affect. Disord.* 2021;281:759–766. DOI: 10.1016/j.jad.2020.11.068.
 54. Bradley E.R., Tai M., Hankin M., Woolley J.D. Preliminary evidence that oxytocin does not improve mentalizing in women with schizophrenia. *Horm. Behav.* 2021;128:104915. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2020.104915.
 55. Stevens B.W., DiBattista A.M., William Rebeck G., Green A.E. A gene-brain-cognition pathway for the effect of an Alzheimer's risk gene on working memory in young adults. *Neuropsychologia.* 2014;61:143–149. DOI: 10.1016/j.neuropsychologia.2014.06.021.
 56. Johansson L. Can stress increase Alzheimer's disease risk in women? *Expert. Rev. Neurother.* 2014;4(2):123–125. DOI: 10.1586/14737175.2014.878651.
 57. Киренская А.В., Сторожева З.И., Ткаченко А.А. Нейрофизиологические эндофенотипы шизофрении как инструмент для изучения внимания и контроля поведения: перспективы исследований и диагностики. СПб.: Нестор-История; 2015:336.
 58. Kirenskaya A.V., Storozheva Z.I., Tkachenko A.A. Neurophysiological endophenotypes of schizophrenia as a tool for studying attention and behavior control: research and diagnostic perspectives. St. Petersburg: Nestor-History; 2015:336 (In Russ.).
 59. Macedo A., Gómez C., Rebelo M.Á., Poza J., Gomes I., Martins S. et al. Risk variants in three Alzheimer's disease genes show association with EEG endophenotypes. *J. Alzheimers Dis.* 2021;80(1):209–223. DOI: 10.3233/JAD-200963.
 60. Refisch A., Chung H.Y., Komatsuzaki S., Schumann A., Mühleisen T.W., Nöthen M.M. et al. A common variation in HCN1 is associated with heart rate variability in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 2021;229:73–79. DOI: 10.1016/j.schres.2020.11.017.

59. Kohl S., Heekeren K., Klosterkötter J., Kuhn J. Prepulse inhibition in psychiatric disorders—apart from schizophrenia. *J. Psychiatr. Res.* 2013;47(4):445–452. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2012.11.018.
60. Kim Y., Noh Y.W., Kim K., Kim E. Hyperactive ACC-MDT pathway suppresses prepulse inhibition in mice. *Schizophr. Bull.* 2021;47(1):31–43. DOI: 10.1093/schbul/sbaa090.
61. Fagan A.M., Mintun M.A., Mach R.H., Lee S.Y., Dence C.S., Shah A.R. et al. Inverse relation between in vivo amyloid imaging load and cerebrospinal fluid Abeta42 in humans. *Ann. Neurol.* 2006;59(3):512–519. DOI: 10.1002/ana.20730.
62. Cruchaga C., Kauwe J.S., Mayo K., Spiegel N., Bertelsen S., Nowotny P. et al. SNPs associated with cerebrospinal fluid phospho-tau levels influence rate of decline in Alzheimer's disease. *PLoS Genet.* 2010;6(9):e1001101. DOI: 10.1371/journal.pgen.1001101.

Информация о вкладе авторов

Бочарова А.В. – подбор и интерпретация источников литературы, написание и корректировка статьи, полная ответственность за содержание.
Степанов В.А. – контроль интеллектуального содержания статьи.

Information on author contributions

Bocharova A.V. – selection and interpretation of literature sources, writing and revising the article, and full responsibility for the content.
Stepanov V.A. – control over the intellectual content of the article.

Сведения об авторах

Бочарова Анна Владимировна, младший научный сотрудник, лаборатория эволюционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0003-2690-8802.
E-mail: anna.bocharova@medgenetics.ru.

Степанов Вадим Анатольевич, д-р биол. наук, профессор, чл.-корр. РАН, директор Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук; профессор кафедры генетики и клеточной биологии, Институт биологии, экологии, почвоведения, сельского и лесного хозяйства, Национальный исследовательский Томский государственный университет. ORCID 0000-0002-5166-331X.
E-mail: vadim.stepanov@medgenetics.ru.

 **Бочарова Анна Владимировна**, e-mail: anna.bocharova@medgenetics.ru.

Information about the authors

Anna V. Bocharova, Junior Research Scientist, Laboratory of Evolutionary Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0003-2690-8802.
E-mail: anna.bocharova@medgenetics.ru.

Vadim A. Stepanov, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Genetics and Cell Biology, Institute of Biology, Ecology, Soil Science, Agriculture, and Forestry, National Research Tomsk State University. ORCID 0000-0002-5166-331X.
E-mail: vadim.stepanov@medgenetics.ru.

 **Anna V. Bocharova**, e-mail: anna.bocharova@medgenetics.ru.

Received April 30, 2021

Поступила 30.04.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-45-51>

УДК 616.124.2-008.46:001.8

Кардиогенный шок – что нового?

О.О. Пантелеев, В.В. Рябов

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634012, Российская Федерация, Томск, ул. Киевская, 111а

Аннотация

Отсутствие снижения летальности при кардиогенном шоке (КШ) в течение последнего десятилетия, несмотря на большое количество исследований проблемы и достигнутые успехи в лечении инфаркта миокарда (ИМ), определяет необходимость поиска новых подходов к исследованию проблемы с целью выявления новых возможностей для изменения сложившейся ситуации. В статье анализируется опыт завершившихся клинических изысканий, характеризуются перспективные исследования, посвященные лечению КШ.

Ключевые слова:	кардиогенный шок, механическая поддержка кровообращения, летальность.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.
Для цитирования:	Пантелеев О.О., Рябов В.В. Кардиогенный шок – что нового? <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2021;36(4):45–51. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-45-51 .

Cardiogenic shock: What's new?

Oleg O. Panteleev, Vyacheslav V. Ryabov

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russian Federation

Abstract

Cardiogenic shock mortality did not decrease over the past decade despite the large number of studies focusing on the problem and the achieved success in the treatment of myocardial infarction. This provides rationale for search for new approaches to studying the problem in order to identify new opportunities to change the current situation. The article analyzes the experience of completed clinical trials and characterizes prospective studies on the treatment of cardiogenic shock.

Keywords:	cardiogenic shock, mechanical circulatory support, lethality.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	no author has a financial or property interest in any material or method mentioned.
For citation:	Panteleev O.O., Ryabov V.V. Cardiogenic shock: What's new? <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2021;36(4):45–51. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-45-51 .

✉ Пантелеев Олег Олегович, e-mail: panteleev.o.o@yandex.ru.

Введение

Инфаркт миокарда (ИМ), являясь одной из форм обострения ишемической болезни сердца, занимает лидирующее место в структуре смертности [1]. Несмотря на то, что в лечении ИМ и улучшении долгосрочных прогнозов после ИМ достигнуты определенные успехи [2, 3], летальность от наиболее тяжелого осложнения ИМ – кардиогенного шока (КШ) – по-прежнему остается на достаточно высоком уровне. Актуальность данной проблемы подтверждается количеством исследований, посвященных поиску методов лечения и профилактики КШ. Однако, несмотря на исследовательскую активность, внедрение в практику лечения ИМ новых препаратов, появление новых и совершенствование уже имеющихся устройств механической поддержки кровообращения (МПК), в последние десятилетия отмечается отсутствие снижения летальности при КШ. Сложившаяся ситуация требует переосмысления имеющегося подхода к исследованию КШ, поиску новых путей для дальнейшего исследования КШ и изменения клинической практики с целью снижения летальности от этого осложнения.

История исследования проблемы

КШ представляет собой остро возникшую критическую гипоперфузию тканей в сочетании с несоответствием доставки и потребления кислорода вследствие снижения сократительной способности миокарда. КШ чаще всего ассоциирован с острым коронарным синдромом (ОКС) и является наиболее тяжелым осложнением острого ИМ (ОИМ) [4]. КШ остается наиболее частой причиной смерти у больных ОИМ. Летальность, составляющая при этом осложнении 40–50%, существенно не изменилась за последние два десятилетия.

Первые успехи в лечении КШ достигнуты в начале 60-х гг. прошлого века. Организация лечения ИМ в условиях коронарных блоков позволила раньше выявлять и купировать аритмические осложнения ИМ, что способствовало снижению летальности при КШ с 99 до 85%.

Дальнейшим существенным достижением в лечении ИМ, осложненного КШ, стало широкое внедрение в клиническую практику методов реперфузионной терапии. На момент 1975 г. летальность при КШ удалось снизить до 58% благодаря применению тромболитика [5, 6]. Тактика ранней оперативной реваскуляризации позволила снизить 30-дневную летальность у больных ИМ, осложненным КШ, до 46,7% и значимо (до 50,3%) уменьшить 6-месячную летальность в сравнении с больными ИМ, осложненным КШ, у которых реваскуляризация проводилась после стабилизации состояния (63,1%) [7].

Следующие два десятилетия ознаменовались появлением новых препаратов для лечения ИМ, а также активным внедрением в лечение КШ внутриаортальной баллонной контрпульсации (ВАБК) и других новых устройств МПК. Однако значимого уменьшения летальности при КШ за последние 20 лет добиться не удалось: летальность при КШ остается на уровне 40–50% [8].

Отсутствие, несмотря на количество проведенных и запланированных рандомизированных клинических исследований (РКИ) [9], снижение летальности при ИМ, осложненном КШ, обосновано рядом фундаментальных причин. До 2019 г. универсальное общепринятое определение КШ отсутствовало.

В РКИ SHOCK [10] включались больные с систолическим артериальным давлением (САД) < 90 мм рт. ст. или необходимостью инотропной поддержки для поддержания САД \geq 90 мм рт. ст., с признаками гипоперфузии (диурез < 30 мл/ч, холодными конечностями и частотой сердечных сокращений (ЧСС) > 60 в минуту), а также пациенты, удовлетворяющие гемодинамическим критериям: сердечный индекс (СИ) \leq 2,2 л/мин/м², давление заклинивания легочных капилляров (ДЗЛК) \geq 15 мм рт. ст.

В РКИ TRIUMPH вошли больные со спонтанной реперфузией инфаркт-связанной коронарной артерии (ИСКА) или реперфузией после чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ), с рефрактерным КШ в течение 60 мин после ЧКВ с САД < 100 мм рт. ст., потребностью в вазопрессорах (допмин \geq 7 мкг/кг/мин или норадреналин \geq 0,15 мкг/кг/мин), клиническими признаками гипоперфузии, повышенным давлением наполнения левого предсердия и фракцией выброса левого желудочка (ФВЛЖ) < 40%.

В РКИ IABP-SHOCK II включались больные с САД < 90 мм рт. ст. \geq 30 мин или необходимостью инотропной поддержки для поддержания САД \geq 90 мм рт. ст., с клиникой застоя в малом круге кровообращения (МКК) и признаками гипоперфузии (измененное сознание, холодные/липкие кожа и конечности, диурез < 30 мл/ч, лактат > 2,0 ммоль/л).

В РКИ CURLPIT-SHOCK вошли больные, которым планировалось раннее проведение ЧКВ, с многососудистым поражением со стенозами > 70% в двух основных сосудах при невозможности определить целевой сосуд, САД < 90 мм рт. ст. \geq 30 мин или необходимостью инотропной поддержки для поддержания САД \geq 90 мм рт. ст., с застоем в МКК и признаками гипоперфузии (измененное сознание, холодные/липкие кожа и конечности, диурез < 30 мл/ч, лактат > 2,0 ммоль/л).

Европейские рекомендации по лечению острой и хронической сердечной недостаточности [11] определяли КШ как снижение артериального давления (АД) < 90 мм рт. ст. при адекватном волевом статусе в сочетании с клиническими и лабораторными проявлениями гипоперфузии тканей организма.

Сложность критериев включения не могла не сказаться на результатах РКИ. Из шести наиболее крупных РКИ три (FRENCH Trial (2006), IMPRESS in STEMI (2007) и RECOVER II FDA (2009)) отменены в связи с медленным набором пациентов. Оставшиеся три РКИ (ISAR-SHOCK, IABP-SHOCK II и IMPRESS in Severe Shock) имели серьезные дефекты в дизайне. Кроме этого, исследование ISAR-SHOCK не выявило разницы в исходах. В РКИ IABP-SHOCK II и ISAR-SHOCK устройство МПК устанавливалось в 100 и 86% соответственно после ЧКВ. При этом в обоих исследованиях не проводилась оценка давления начала КШ.

Качество полученных в ходе РКИ данных отразилось в виде низкого уровня рекомендаций применения МПК при КШ [12, 13]. Рутинное применение ВАБК на данный момент не рекомендовано как при ИМ с подъемом сегмента ST (STEMI), так и при ИМ без подъема сегмента ST (NSTEMI).

В 2019 г. экспертами Общества сердечно-сосудистой ангиографии и интервенций была предложена простая, надежная и удобная в применении на всех этапах медицинской помощи классификация КШ в зависимости от его стадии [14]. Новая классификация подразумевает разделение

КШ как процесса на 5 стадий: А, В, С, D и E, с прогрессивной, от А к E, возрастающей тяжестью состояния больного.

Стадия А (At risk) устанавливается у больных без признаков КШ, имеющих высокий риск развития КШ; стадия В (Beginning) – при наличии клиники относительной гипотонии или относительной тахикардии без признаков гипоперфузии; стадия С (Classic) – при наличии признаков гипоперфузии, требующих инвазивной коррекции (инотропы, вазопрессоры, МПК, экстракорпоральная мембранная оксигенация – ЭКМО) после нормализации волемического статуса. Артериальная гипотензия типична для данной стадии КШ. Стадия D (Deteriorating or Doom) устанавливается в случае клинического ухудшения у больных в стадии С и неэффективности началь-

ной терапии КШ. Стадия E (Extremis) устанавливается у больных с циркуляторным коллапсом, часто на фоне сердечно-легочной реанимации (СЛР) или на фоне множественной инвазивной поддержки гемодинамики, в том числе при СЛР на фоне ЭКМО.

Несмотря на то, что стадии А и В не являются КШ, имеет место сильная корреляционная связь стадий шока с уровнем госпитальной летальности и летальности в палате интенсивной терапии [15].

Актуальное состояние проблемы

Большая часть актуальных РКИ, посвященных исследованию КШ, касается аспектов применения устройств МПК. Основные характеристики РКИ представлены в таблице 1.

Таблица 1. Основные характеристики новых исследований кардиогенного шока

Table 1. Key features of new clinical trials on cardiogenic shock

Название исследования Clinical trial title	Дизайн Design	Первичные конечные точки Primary endpoints	Количество пациентов Number of patients	Планируемая дата завершения Completion date
PRAGUE-OCHA	LUCAS, Rhinochill, ECMO-CPR vs стандартная терапия LUCAS, Rhinochill, ECMO-CPR vs standard therapy	Композитная (выживаемость через 6 мес., CPC 12 балла) Composite (6-month survival, CPC 1-2 points)	170	05.2018
IABP pre revasc.	ВАБК до реваскуляризации vs стандартная терапия IABP before revascularization vs standard therapy	30-дневная летальность 30-day mortality	92	04.12.2019
ECMO-CS	Раннее VA-ECMO vs стандартная терапия Early VA-ECMO vs standard therapy	Композитная (смерть, остановка кровообращения, имплантация другого МПК через 30 дней) Composite (death, cardiac arrest, MSC implantation in 30 day)	120	12.2020
REVERSE	Impella CP + VA-ECMO vs VA-ECMO Impella CP + VA-ECMO vs VA-ECMO	Восстановление миокарда (нет потребности в инотропных препаратах, МПК, трансплантации сердца) Myocardial recovery (lack of need in inotropes, MSC or heart transplant)	96	01.01.2022
DanGer	Impella CR до ЧКВ vs стандартная терапия Impella CP before PCI vs standard therapy	Смерть от всех причин через 6 мес. All-cause death in 6 month	360	01.2023
ECLS-ECMO	VA-ECMO до ЧКВ vs стандартная терапия VA-ECMO before PCI vs standard therapy	30-дневная смертность 30-day mortality	428	08.2023

Из шести наиболее крупных исследований три посвящены исследованию использования ЭКМО при КШ, два – применению Impella в сравнении с ЭКМО и стандартной терапией КШ, одно – раннему (до ЧКВ) применению ВАБК. Актуальные подходы к исследованию и лечению КШ неразрывно связаны с широким внедрением в рутинную практику различных устройств МПК и их комбинаций. Доступные на данный момент к применению устройства можно разделить на следующие группы в соответствии с их функциональным предназначением: обеспечивающие поддержку правого желудочка, обеспечивающие поддержку левого желудочка, обеспечивающие бивентрикулярную поддержку.

К устройствам МПК, обеспечивающим поддержку правого желудочка, относятся Impella PR и TandemHeart RA-PA. Impella PR представляет собой аксиальный насос с максимальной производительностью 4 л/мин, перекачивающий кровь из правого предсердия в легочный ствол в обход правого желудочка, обеспечивая умеренное снижение преднагрузки на правый желудочек. Простота ис-

пользования определяется удобным сайтом канюляции – бедренная вена, и сравнительно небольшим диаметром канюли (22 Fr).

Устройство МПК TandemHeart RA-PA состоит из центробежного насоса и системы магистралей и, как и Impella PR, обеспечивает перемещение крови из правого предсердия в легочный ствол в обход правого желудочка для снижения преднагрузки на правый желудочек. Максимальная производительность устройства аналогична Impella PR и составляет 4 л/мин. Сложности в инициации, ассоциированные с большим диаметром канюли (29 Fr) компенсируются удобством сайта канюляции – внутренней яремной веной.

К устройствам МПК, обеспечивающим поддержку левого желудочка, относятся Impella, TandemHeart, ВАБК и iVAC 2L. Устройство МПК Impella для поддержки левого желудочка представляет собой аксиальный насос. Производительность варьируется от 2,5 до 5 л/мин. Устройство обеспечивает снижение преднагрузки на левый желудо-

чек от умеренного до выраженного за счет непрерывного перекачивания крови из полости левого желудочка в аорту. Устройство обеспечивает 58%-й ($p < 0,001$) прирост энергии сердечного выброса (cardiac power output) – одного из новых объективных гемодинамических параметров, напрямую коррелирующего с госпитальной летальностью [16]. Простота использования определяется удобством сайта канюляции – бедренной артерией и сравнительно небольшим диаметром канюли (12–14 Fr), что позволяет выполнять закрытие дефекта бедренной артерии эндоваскулярными ушивающими устройствами. К факторам, ограничивающим применение Impella, относятся облитерирующий атеросклероз сосудов нижних конечностей и выраженное стенозирование отверстия аортального клапана.

TandemHeart для поддержки левого желудочка состоит из центробежного насоса и системы магистралей для перекачки крови из полости левого предсердия в аорту. Максимальная производительность насоса составляет 4 л/мин и обеспечивает выраженное снижение преднагрузки на левый желудочек. Приточная канюля устанавливается в полость левого предсердия через бедренную вену посредством пункции межпредсердной перегородки. Отточная канюля устанавливается в аорту через бедренную артерию. Возможность обойти потенциальную проблему выраженного стенозирования отверстия аортального клапана компенсируется необходимостью канюляции двух магистральных сосудов канюлями достаточно крупного диаметра (12–19 Fr для артерии и 21 Fr для вены), а также необходимостью проведения чреспищеводной эхокардиографии (ЧП ЭхоКГ) для пункции межпредсердной перегородки.

Наиболее широко распространенным и изученным устройством МПК, обеспечивающим поддержку левого желудочка, является ВАБК. Устройство состоит из блока управления, обеспечивающего мониторинг электрокардиограммы (ЭКГ) и центральной гемодинамики, а также синфазную подачу гелия в имплантируемую часть устройства. Имплантируемая часть устройства представляет собой расположенный на катетере баллон эллипсоидной формы объемом от 20 до 50 см³. Баллон устанавливается в просвет аорты в промежутке между левой подключичной артерией и почечными артериями. Принцип работы устройства заключается в фазированных эпизодах инфляции/дефляции внутриаортального баллона, благодаря чему достигается снижение постнагрузки на левый желудочек и улучшение коронарного кровотока за счет роста конечно-диастолического давления в аорте. Ограничивающими факторами применения являются облитерирующий атеросклероз периферических артерий, тяжелая аортальная недостаточность, выраженная диастолическая дисфункция левого желудочка, гиповолемия, тахикардия. К преимуществам методики можно отнести широкую доступность и простоту инициации процедуры МПК на любом этапе медицинской помощи. Особенностью метода является улучшение системной гемодинамики за счет косвенных причин (улучшение коронарного кровотока). Сама по себе ВАБК не обеспечивает дополнительного тока крови в аорте сверх того, что туда выбрасывает в систолу левый желудочек, в связи с чем уровень рекомендаций ESC по ВАБК на данный момент не высок и ограничивается временной поддержкой кровообращения при механических осложнениях ИМ. Рутинное использование ВАБК при КШ на данный момент не рекомендовано [17, 18].

Следующим витком развития устройств МПК, обеспечивающих поддержку левого желудочка в фазированном режиме, стало устройство iVAC 2, состоящее из идентичного ВАБК блока управления и имплантируемой части. Имплантируемая часть состоит из «кровенной» магистрали, «газовой» магистрали и экстракорпорального резервуара. «Кровяная» магистраль с клапанами, обеспечивающими однонаправленный ток крови, устанавливается через бедренную артерию (интродьюсер 17 Fr) дистальным концом в полость левого желудочка. Кровь из полости левого желудочка по приточной магистрали оттекает в экстракорпоральный резервуар и уже из него поступает по отточной магистрали в полость аорты под воздействием фазированной подачи и откачки гелия в «газовом» отсеке экстракорпорального резервуара. За один цикл работы iVAC 2L способен перемещать из полости левого желудочка в аорту до 40 мл крови. Максимальный минутный объем создаваемого пульсирующего потока составляет 2,8 л/мин. Факторы, ограничивающие применение iVAC 2L, аналогичны Impella. Относительная простота инициации процедуры, возможность эндоваскулярного ушивания дефекта бедренной артерии и умеренное снижение преднагрузки на левый желудочек за счет активного перемещения крови делают данную методику достаточно перспективной, однако исследования применения данного устройства пока малочисленны [19].

Особняком стоит методика веноартериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации (ВА-ЭКМО). Устройство состоит из системы магистралей, центробежного насоса, оксигенатора низкого сопротивления и теплообменника и помимо осуществления бивентрикулярной гемодинамической поддержки за счет выраженного снижения преднагрузки на правый желудочек позволяет осуществлять поддержку газового и температурного гомеостаза организма. Максимально обеспечиваемый поток крови составляет 7 л/мин. Сайты канюляции – бедренная вена (17–21 Fr) и бедренная артерия (14–19 Fr). Методика, имея наибольшую среди прочих методов МПК эффективность, является наиболее сложной технически, дорогостоящей и, как следствие, наименее распространенной [20].

Несмотря на бурное развитие технологий МПК и их широкое распространение, эффективность применения этих технологий при ИМ, осложненном КШ, в реальной клинической практике на данный момент остается спорной.

По данным португальского регистра ИМ 2016 г., включившего 33 300 пациентов с ОКС, 4,2% больных поступали с клиникой КШ в первые 24 ч от начала развития заболевания. 646 больных (43,6%) подверглись экстренному ЧКВ. 19,8% этих больных МПК осуществлялась ВАБК. Летальность среди всех больных с КШ составила 40,2%. Статистически значимой разницы между больными с КШ, получавшими ВАБК и лечившимися без ВАБК, не было (46,1 против 38,8%, $p = 0,132$). Применение ВАБК улучшало исходы у больных с механическими осложнениями ИМ и ухудшало исходы при наличии ИМ в анамнезе, что, вероятнее всего, говорит о выраженном снижении эффективности ВАБК при наличии нарушений ауторегуляции коронарного кровотока [21].

Результаты итальянского регистра IMP – IT, основанные на данных из 17 медицинских центров в период с 2004 по 2018 г., показали рост частоты применения Impella как при ИМ, осложненном КШ, так и при высоко

рисковых ЧКВ. Госпитальная летальность при использовании Impella при КШ составила 46,9% [21].

Сравнение клинической эффективности Impella и ВАБК при осложненном КШ ИМ в рамках небольшого американского РКИ 2017 г. показало отсутствие статистически значимой разницы в летальности у этих больных на 30-е сут (46 и 50% соответственно, $p = 0,92$). Летальность через 6 мес. была идентичной – 50% ($p = 0,923$) [22].

Применение МПК для лечения КШ, осложнившего ИМ, в условиях БИТ КО № 1 НИИ кардиологии ограничено единственной методикой – ВАБК. С целью сравнения результатов лечения КШ с использованием МПК с данными зарубежных исследований нами была проанализирована медицинская документация 1252 больных с ОКС, поступивших в отделение неотложной кардиологии за 2020 г. Статистическую обработку данных производили с помощью программного пакета для статистического анализа StatSoft STATISTICA 10.0. Данные представлены в виде относительных частот и средних значений. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Из 1252 пациентов с ОКС, поступивших в отделение в 2020 г., 11,2% были осложнены КШ, 46% были мужчинами. Средний возраст составил $75,3 \pm 10,7$ лет. Время от начала симптомов до поступления составило 231 мин. Госпитальная летальность составила 56%. Первичное ЧКВ выполнено у 77,4% больных с КШ. ВАБК применялась у 20,5% КШ. ВАБК начата до ЧКВ у 44%. Летальность у больных, получивших ВАБК по поводу КШ, составила 66%. Среди выживших больных, получивших ВАБК, STEMI встречался на 37,5% реже ($p = 0,92$), ангиографический результат соответствовал TIMI 3 на 33,3% чаще ($p = 0,11$). Сепсис у выживших больных, получивших ВАБК по поводу КШ, развивался в 2,5 раза реже ($p = 0,31$). У выживших больных с ВАБК инициация МПК до ЧКВ была в 2 раза чаще ($p = 0,09$). Отсутствие статистически значимых различий обусловлено размерами выборки ($n = 29$). Вероятно, установка ВАБК на более ранних (В и С) стадиях КШ, а также до ЧКВ позволит повысить эффективность данного вида МПК. Для подтверждения этой гипотезы требуется проведение дополнительных исследований с большими размерами выборки.

Вероятными причинами отличий в клинических исходах могли являться: особенности локальной маршрутизации больных с ОКС (среди всех поступивших за 2020 г. с ОКС STEMI был у 58%, среди больных с КШ – у 78,5%), высокий средний возраст у больных КШ.

Перспективные направления

Отсутствие значимого изменения клинических исходов у больных ИМ, осложненным КШ, несмотря на внедрение все более эффективных устройств МПК, а также дефекты в дизайне ранее проведенных исследований, позволяет сформулировать основные проблемы РКИ КШ. Этические ограничения и отсутствие (до 2019 г.) единого определения КШ обуславливали сложность формирования однородных групп больных, что, в свою очередь, приводило к медленному накоплению данных. С этим связана практика постепенного отказа в исследовании КШ от РКИ и постепенный переход к регистровым исследованиям.

Сложность проведения рандомизированных исследований гемодинамической поддержки при КШ, рост интереса к использованию реестров, отражающих реальный клинический опыт применения и оценку результатов, отсутствие в существующих больших базах данных инфор-

мации о специфическом воздействии МПК на результаты лечения КШ привели к созданию регистров применения МПК при КШ.

Регистр cVAD представляет собой международную базу данных, документирующую результаты временной гемодинамической поддержки устройством МПК Impella у больных ИМ, осложненным КШ. Регистр ведется с 2009 г., и на 2016 г. он охватывал данные 3339 случаев временной МПК Impella.

При анализе данных регистра, включавшего 287 последовательных неотобранных больных [23], у которых использовались устройства Impella 2.5 и Impella CP, выявлены следующие закономерности: средний возраст пациентов был равен $66 \pm 12,5$ лет, среди обследованных было 76% мужчин, средняя ФВЛЖ составляла $25 \pm 12\%$. Перед получением МПК 80% пациентов нуждались в инотропах или вазопрессорах, 40% получали ВАБК, 9% пациентов находились в процессе СЛР на момент имплантации МПК. Госпитальная летальность составила 56%. При многофакторном анализе выявлено, что ранняя имплантация устройства МПК перед ЧКВ ($p = 0,04$) и до того, как потребуются инотропы и вазопрессоры ($p = 0,05$), была ассоциирована с увеличением выживаемости. Госпитальная летальность составила 34%, когда МПК была иницирована $< 1,25$ ч от начала шока, 37% когда МПК была начата в пределах $1,25$ – $4,25$ ч, 26% – когда МПК была начата через $4,25$ ч ($p = 0,017$). Выживаемость составила 68, 46, 35, 35 и 26% для пациентов, которым потребовалось 0, 1, 2, 3 и ≥ 4 инотропов соответственно до инициации МПК ($p < 0,001$).

В январе 2009 г. Abiomed Inc. (производитель устройства МПК Impella) начали регистр повышения качества исходов американских пациентов с ИМ, осложненным КШ, получивших Impella. На декабрь 2016 г. в регистр были внесены 46 949 больных из 1010 больниц США. Из них 15 259 человек имели ИМ, осложненный КШ. 51% пациентов с КШ выжили после эксплантации устройства МПК. Наблюдалась значительная разница между выживаемостью после эксплантации с квинтильным объемом расхода устройств МПК в больницах – 30%-я выживаемость в самом низком квинтиле по сравнению с 76% в верхнем квинтиле ($p < 0,0001$). Использование устройства Impella в качестве первой линии лечения с имплантацией устройства перед ЧКВ было связано с госпитальной летальностью 41% по сравнению с 48% при использовании в качестве стратегии спасения ($p < 0,001$). В среднем госпитальная летальность к декабрю 2016 г. составила 42%, относительно улучшение наступило в 14% случаев.

В данных обоих регистров (IQ и cVAD) отмечается снижение госпитальной летальности при использовании Impella до ЧКВ в сравнении с сочетанием ВАБК и инотропов до ЧКВ на 11,8 ($p < 0,001$) и 7,5% ($p < 0,001$). Также при анализе данных регистров IQ и cVAD выявлено позитивное влияние на госпитальную летальность инвазивного мониторинга центральной гемодинамики. Снижение летальности составило 20,2 ($p < 0,001$) и 10,5% ($p = 0,002$) соответственно. Данные регистра IQ позволяют говорить о влиянии опыта персонала, осуществляющего инициацию МПК: летальность в стационарах, в которых имплантация Impella проводилась 4 и более раз в год, была ниже на 7,5% ($p < 0,001$).

С июля 2016 г. по февраль 2019 г. в США проводилось проспективное многоцентровое исследование «Национальная инициатива по кардиогенному шоку» (NCSI),

целью которого являлась оценка результатов лечения КШ с помощью ранней (на основании гипотонии, ФВ и СИ), до ЧКВ, инициации МПК. Также предлагалось проводить инвазивный мониторинг гемодинамики для подбора МПК, максимально рано и полно отлучать от инотропов и вазопрессоров, в случае тяжелой бивентрикулярной недостаточности и персистирующей гипоксемии – инициировать ЭКМО. В сравнении с существующим подходом к лечению КШ (инотропы и вазопрессоры как препараты первой линии для поддержки гемодинамики, инвазивный мониторинг гемодинамики только в исключительных случаях и МПК как спасительная мера при рефрактерном КШ) подход NCSI носил гораздо более агрессивный характер в смысле применения инвазивных технологий при КШ.

В исследование был включен 171 пациент. Средний возраст пациентов составлял 63 года, 77% были мужчи-

ны, 68% были госпитализированы с ИМ, осложненным КШ. 83% пациентов принимали вазопрессоры или инотропы, у 20% наблюдалась остановка сердца вне больницы, у 29% была остановка сердца в стационаре, 10% находились на активной СЛР во время имплантации MCS. В соответствии с протоколом 74% пациентов до ЧКВ имплантировали MCS. Катетеризация правых отделов сердца выполнялась у 92% пациентов. Около 78% пациентов поступили со STEMI со средним временем от двери до инициации МПК 85 ± 63 мин и от двери до баллона 87 ± 58 мин. Госпитальная летальность составила 28%. Креатинин ≥ 176 мкмоль/л, лактат > 4 ммоль/л, СРО $< 0,6$ Вт и возраст ≥ 70 лет были предикторами смертности.

На фоне проведенных ранее исследований результаты подходов NCSI к лечению КШ при ИМ выглядят наиболее успешными (табл. 2).

Таблица 2. Сравнительная характеристика исследований при кардиогенном шоке

Table 2. Comparative characteristics of clinical trials on cardiogenic shock

Название исследования Clinical trial title	N	Возраст Age	Инотропы, %/ Inotropes, %	ОК, %/ CA, %	ЧСС HR	АД BP	Лактат, ммоль/л Lactate, mmol/L	Лактат ≥ 2 ммоль/л Lactate > 2 mmol/L	Выживаемость через 30 дней, % 30-day survival, %
SHOCK	302	66	99	28	102	98/54	Н. д. No data	Н. д. No data	53
IABP-SHOCK	600	70	90	45	92	90/55	4,1	74	60
CURLPIT-SHOCK	686	70	90	54	91	100/60	5,1	66	49
DanGer	100	68	94	0	Н. д. No data	76/50	5,5	100	Н. д. No data
NCSI	406	64	85	46	95	77/50	4,8	77	68

Примечание: ОК – остановка кровообращения.

Note: CA – cardiac arrest.

Заключение

За последнее десятилетие наблюдается бурный рост частоты использования устройств МПК. В период с 2007 по 2011 гг. количество процедур МПК увеличилось более чем в 15 раз [24]. Но несмотря на все более широкое применение МПК при КШ, в современных рекомендациях сформировался пробел относительно использования МПК при КШ, что привело к высокой вариативности в назначении МПК и отразилось на низкой клинической эффективности МПК в целом.

Новые регистровые исследования МПК при КШ показывают высокую эффективность этих методик при максимально раннем назначении МПК, что подтверждается не только изменением физиологических

показателей (СРО), но и улучшением клинических исходов.

В связи с тем, что частота применения МПК при КШ, вероятнее всего, в перспективе будет увеличиваться, будут возникать проблемы, связанные с осложнениями этих процедур и прогнозированием результатов лечения у этой группы пациентов.

Поскольку за последние два десятилетия госпитальная летальность при КШ сохраняется на уровне 45–50%, создание специализированных подразделений, способных осуществлять помощь больным ИМ, осложненным КШ, с использованием устройств МПК, является логическим шагом в сторону улучшения клинических исходов у этой группы больных.

Литература / References

- Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2015;385(9963):117–171. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61682-2.
- Pole D.J., Thompson P.L., Woodings T.L., McCall M.G., Reader R. Acute myocardial infarction: One year follow-up of 1138 cases from the Perth Community Coronary Register. *Aust. N. Z. J. Med.* 1976;6(5):437–440. DOI: 10.1111/j.1445-5994.1976.tb03031.x.
- Johansson S., Rosengren A., Young K., Jennings E. Mortality and morbidity trends after the first year in survivors of acute myocardial infarction: A systematic review. *BMC Cardiovasc. Disord.* 2017;17(1):53. DOI: 10.1186/s12872-017-0482-9.
- Григорьев Е.В., Баутин А.Е., Киров М.Ю., Шукевич Д.Л., Корнелиук Р.А. Кардиогенный шок при остром коронарном синдроме: современное состояние проблемы диагностики и интенсивной терапии. *Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова*. 2020;2:73–85. DOI: 10.21320/1818-474X-2020-2-73-85.
- Grigoryev E.V., Bautin A.E., Kirov M.Yu., Shukevich D.L., Kornelyuk R.A. Cardiogenic shock associated with acute coronary syndrome: The current state of the problem of diagnostics and intensive care. *Article. Annals of Critical Care*. 2020;2:73–85 (In Russ.). DOI: 10.21320/1818-474X-2020-2-73-85.
- Holmes D.R. Jr., Bates E.R., Kleiman N.S., Sadowski Z., Horgan J.H., Morris D.C. et al. Contemporary reperfusion therapy for cardiogenic shock: The GUSTO-I trial experience. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995;26(3):668–674. DOI: 10.1016/0735-1097(95)00215-p.
- Karnash S.L., Granger C.B., White H.D., Woodliff L.H., Topol E.J., Califf R.M. Treating menstruating women with thrombolytic therapy: Insights from the global utilization of streptokinase and tissue plasminogen activator for occluded coronary arteries (GUSTO-I) trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995;26(7):1651–1656. DOI: 10.1016/0735-1097(95)00386-x.
- Hochman J.S., Sleeper L.A., Webb J.G., Sanborn T.A., White H.D., Talley J.D. et al. Early revascularization in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. SHOCK Investigators. Should we emergently revascularize occluded coronaries for cardiogenic shock. *N. Engl. J. Med.* 1999;341(9):625–634. DOI: 10.1056/NEJM199908263410901.

8. Vetrovec G.W., Anderson M., Schreiber T., Popma J., Lombardi W., Maini B. et al. The cVAD registry for percutaneous temporary hemodynamic support: A prospective registry of Impella mechanical circulatory support use in high-risk PCI, cardiogenic shock, and decompensated heart failure. *Am. Heart J.* 2018;199:115–121. DOI: 10.1016/j.ahj.2017.09.007.
9. Shah A.H., Puri R., Kalra A. Management of cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction: A review. *Clin. Cardiol.* 2019;42(4):484–493. DOI: 10.1002/clc.23168.
10. Menon V., Fincke R. Cardiogenic shock: A summary of the randomized SHOCK trial. *Congest. Heart Fail.* 2003;9(1):35–39. DOI: 10.1111/j.1751-7133.2003.tb00020.x.
11. Oeing C.U., Tschöpe C., Pieske B. [The new ESC Guidelines for acute and chronic heart failure 2016]. *Herz.* 2016;41(8):655–663 (In Germ.). DOI: 10.1007/s00059-016-4496-3.
12. Ibanez B., James S., Agewall S., Antunes M.J., Bucchiarelli-Ducci C., Bueno H. et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur. Heart J.* 2018;39(2):119–177. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx393.
13. Collet J.P., Thiele H., Barbato E., Barthélémy O., Bauersachs J., Bhatt D.L. et al. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur. Heart J.* 2021;42(14):1289–1367. DOI: 10.1093/eurheartj/ehaa575.
14. Baran D.A., Grines C.L., Bailey S., Burkhoff D., Hall S.A., Henry T.D. et al. SCAI clinical expert consensus statement on the classification of cardiogenic shock: This document was endorsed by the American College of Cardiology (ACC), the American Heart Association (AHA), the Society of Critical Care Medicine (SCCM), and the Society of Thoracic Surgeons (STS) in April 2019. *Catheter Cardiovasc. Interv.* 2019;94(1):29–37. DOI: 10.1002/ccd.28329.
15. Jentzer J.C., van Diepen S., Barsness G.W., Henry T.D., Menon V., Rihal C.S. et al. Cardiogenic shock classification to predict mortality in the cardiac intensive care unit. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2019;74(17):2117–2128. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.07.077.
16. Fincke R., Hochman J.S., Lowe A.M., Menon V., Slater J.N., Webb J.G. et al. Cardiac power is the strongest hemodynamic correlate of mortality in cardiogenic shock: A report from the SHOCK trial registry. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2004;44(2):340–8. DOI: 10.1016/j.jacc.2004.03.060.
17. Parissis H., Graham V., Lampridis S., Lau M., Hooks G., Mhandu P.C. IABP: History-evolution-pathophysiology-indications: What we need to know. *J. Cardiothorac. Surg.* 2016;11(1):122. DOI: 10.1186/s13019-016-0513-0.
18. Wong A.S.K., Sin S.W.C. Short-term mechanical circulatory support (intra-aortic balloon pump, Impella, extracorporeal membrane oxygenation, TandemHeart): a review. *Ann. Transl. Med.* 2020 Jul;8(13):829. DOI: 10.21037/atm-20-2171.
19. Den Uil C.A., Daemen J., Lenzen M.J., Maugenes A.M., Joziassé L., van Geuns R.J. et al. Pulsatile iVAC 2L circulatory support in high-risk percutaneous coronary intervention. *EuroIntervention.* 2017;12(14):1689–1696. DOI: 10.4244/EIJ-D-16-00371.
20. Napp L.C., Kühn C., Bauersachs J. ECMO in cardiac arrest and cardiogenic shock. *Herz.* 2017;42(1):27–44. DOI: 10.1007/s00059-016-4523-4.
21. Timóteo A.T., Nogueira M.A., Rosa S.A., Belo A., Ferreira R.C.; ProACS Investigators. Role of intra-aortic balloon pump counterpulsation in the treatment of acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock: Evidence from the Portuguese nationwide registry. *Eur. Heart J. Acute Cardiovasc. Care.* 2016;5(7):23–31. DOI: 10.1177/2048872615606600.
22. Ouweneel D.M., Eriksen E., Sjaauw K.D., van Dongen I.M., Hirsch A., Packer E.J. et al. Percutaneous mechanical circulatory support versus intra-aortic balloon pump in cardiogenic shock after acute myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2017;69(3):278–287. DOI: 10.1016/j.jacc.2016.10.022.
23. Basir M.B., Schreiber T.L., Grines C.L., Dixon S.R., Moses J.W., Maini B.S. et al. Effect of early initiation of mechanical circulatory support on survival in cardiogenic shock. *Am. J. Cardiol.* 2017;119(6):845–851. DOI: 10.1016/j.amjcard.2016.11.037.
24. Stretch R., Sauer C.M., Yuh D.D., Bonde P. National trends in the utilization of short-term mechanical circulatory support: incidence, outcomes, and cost analysis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014;64(14):1407–1415. DOI: 10.1016/j.jacc.2014.07.958.

Информация о вкладе авторов

Пантелеев О.О. – значительное участие в разработке концепции и дизайна, сборе, анализе и интерпретации полученных данных, подготовка статьи и ее доработка, ответственность за целостность всех частей статьи.

Рябов В.В. – значительное участие в разработке концепции и дизайна, сборе, анализе и интерпретации полученных данных, подготовка статьи и ее доработка, ответственность за целостность всех частей статьи, утверждение окончательного варианта статьи.

Сведения об авторах

Пантелеев Олег Олегович, младший научный сотрудник, отделение неотложной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; ассистент кафедры кардиологии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0001-5152-2106.
E-mail: panteleev.o.o@yandex.ru.

Рябов Вячеслав Валерьевич, д-р мед. наук, заведующий отделением неотложной кардиологии, заместитель директора по научной и лечебной работе, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; доцент, заведующий кафедрой кардиологии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации; ведущий научный сотрудник, лаборатория трансляционной и клеточной биомедицины, Национальный исследовательский Томский государственный университет. ORCID 0000-0002-4358-7329.
E-mail: rvvt@cardio-tomsk.ru.

 **Пантелеев Олег Олегович**, e-mail: panteleev.o.o@yandex.ru.

Information on author contributions

Panteleev O.O. – significant contribution to the development of study concept and design, data collection, analysis, and interpretation, writing the manuscript, manuscript revision, and responsibility for the integrity of all aspects of the article.

Ryabov V.V. – significant contribution to the development of study concept and design, data collection, analysis, and interpretation, writing the manuscript, manuscript revision, responsibility for the integrity of all aspects of the article, and approval of the final version of the manuscript for publication.

Information about the authors

Oleg O. Panteleev, Junior Research Scientist, Department of Emergency Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Assistant Professor, Department of Cardiology, Continuous Medical Education Faculty, Siberian State Medical University. ORCID 0000-0001-5152-2106.
E-mail: panteleev.o.o@yandex.ru.

Vyacheslav V. Ryabov, Dr. Sci. (Med.), Head of Department of Emergency Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Associate Professor, Department of Cardiology, Continuous Medical Education Faculty, Siberian State Medical University; Leading Research Scientist, Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, National Research Tomsk State University. ORCID 0000-0002-4358-7329.
E-mail: rvvt@cardio-tomsk.ru.

 **Oleg O. Panteleev**, e-mail: panteleev.o.o@yandex.ru.

Received October 08, 2021

Поступила 08.10.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-52-61>

УДК 575.224.234:616.248:616.1

Бронхиальная астма в структуре генетических связей синтропии сердечно-сосудистого континуума

Е.Ю. Брагина¹, И.А. Гончарова¹, И.Ж. Жалсанова¹, Е.В. Немеров²,
М.С. Назаренко^{1, 2}, М.Б. Фрейдин¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634050, Российская Федерация, Томск, наб. реки Ушайки, 10

² Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050, Российская Федерация, Томск, Московский тракт, 2

Аннотация

Артериальная гипертензия (АГ), ишемическая болезнь сердца (ИБС), инфаркт миокарда, ожирение, сахарный диабет 2-го типа являются достаточно распространенными сопутствующими заболеваниями у пациентов с бронхиальной астмой (БА). Причины их развития многофакторны, в том числе обусловлены участием наследственности. Однако немного известно относительно генов, участвующих в развитии коморбидности БА и болезней, составляющих сердечно-сосудистый континуум.

Цель исследования: изучить ассоциации полиморфных генетических вариантов, потенциально вовлеченных в развитие БА в сочетании с АГ, ИБС, сахарным диабетом 2-го типа и ожирением.

Материал и методы. Генотипирование 92 однонуклеотидных вариантов (SNPs) выполнено с помощью масс-спектрометрии MALDI-TOF у пациентов с БА в сочетании с сердечно-сосудистыми/метаболическими нарушениями (МН) ($n = 162$) в сравнении с контрольной группой практически здоровых индивидов ($n = 153$).

Результаты. Развитие фенотипов БА в сочетании с сердечно-сосудистыми нарушениями/МН ассоциировано с отдельными генетическими вариантами, влияющими на экспрессию генов, в том числе *CAT*, *TLR4*, *ELF5*, *ABTB2*, *UTP25*, *TRAF3IP3*, *NFKB1*, *LOC105377347*, *C1orf74*, *IRF6* и других, в органах-мишенях исследуемого профиля заболеваний. Из всех исследуемых вариантов только один SNP (*rs11590807*), являющийся регуляторным для генов *UTP25*; *IRF6*; *TRAF3IP3*; *RP1-28O10.1*, ассоциирован со всеми изученными коморбидными фенотипами БА с заболеваниями сердечно-сосудистого континуума.

Заключение. Полученные результаты демонстрируют, что выявленные однонуклеотидные полиморфные варианты, регулирующие экспрессию многих генов, могут быть потенциальными биологическими маркерами сложных причинно-следственных связей между БА и кардиометаболическими нарушениями.

Ключевые слова:	многофакторные болезни, бронхиальная астма, сердечно-сосудистый континуум, коморбидность, ассоциация, ген, SNP.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	работа выполнена в рамках Государственного задания Министерства науки и высшего образования № 075-00603-19-00.
Для цитирования:	Брагина Е.Ю., Гончарова И.А., Жалсанова И.Ж., Немеров Е.В., Назаренко М.С., Фрейдин М.Б. Бронхиальная астма в структуре генетических связей синтропии сердечно-сосудистого континуума. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2021;36(4):52–61. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-52-61 .

Брагина Елена Юрьевна, e-mail: elena.bragina72@gmail.com.

Bronchial asthma in the genetic framework of cardiovascular continuum syntropy

Elena Yu. Bragina¹, Irina A. Goncharova¹, Irina Zh. Zhalsanova¹,
Evgeny V. Nemerov², Maria S. Nazarenko^{1, 2}, Maxim B. Freidin¹

¹ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 10, Nab. Ushaiki, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Siberian State Medical University, 2, Moskovsky tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

Abstract

Hypertension, coronary heart disease, myocardial infarction, obesity, and type 2 diabetes mellitus are common comorbidities in patients with bronchial asthma. The causes for developing these diseases are multifactorial and involve inherited genetic factors. However, little is known about the genes contributing to the development of comorbidities in bronchial asthma and cardiovascular disease continuum.

Objective. To examine the associations of genetic polymorphic variants potentially involved in the development of bronchial asthma comorbid with hypertension, coronary heart disease, type 2 diabetes mellitus, and obesity.

Material and Methods. Genotyping of 92 single nucleotide polymorphisms (SNPs) was performed using MALDI-TOF mass spectrometry in patients with bronchial asthma associated with cardiovascular/metabolic disorders ($n = 162$) compared with a control group of apparently healthy individuals ($n = 153$).

Results. The development of bronchial asthma phenotypes comorbid with cardiovascular/metabolic disorders was associated with the particular genetic variants affecting the expression of genes including *CAT*, *TLR4*, *ELF5*, *ABTB2*, *UTP25*, *TRAF3IP3*, *NFKB1*, *LOC105377347*, *C1orf74*, *IRF6*, and others in the target organs of study disease profile. Only one SNP (rs11590807), which is regulatory for the *UTP25*, *IRF6*, *TRAF3IP3*, and *RP1-28O10.1* genes, was associated with all studied comorbid phenotypes of bronchial asthma and diseases of cardiovascular continuum.

Conclusion. The obtained results demonstrated that the identified SNPs affecting the expression of many genes may serve as potential biological markers of complex causal relationships between bronchial asthma and cardiometabolic disorders.

Keywords:	complex diseases, bronchial asthma, cardiovascular diseases, type 2 diabetes mellitus, obesity, comorbidity, association, gene, SNP.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	the work was carried out according to the State Assignment by the Ministry of Science and Higher Education No. 075-00603-19-00.
For citation:	Bragina E.Yu., Goncharova I.A., Zhalsanova I.Zh., Nemerov E.V., Nazarenko M.S., Freidin M.B. Bronchial asthma in the genetic framework of cardiovascular continuum syntropy. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2021;36(4):52–61. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-52-61 .

Введение

Многофакторные сложно наследуемые заболевания человека составляют медико-социальную проблему во всем мире. К таковым относятся нарушения функции бронхолегочной системы, которые по распространенности сопоставимы с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Бронхиальной астмой (БА) в мире страдают 300 млн индивидов [1]. Более половины взрослых пациентов с БА (62,6%) имеют как минимум одно сопутствующее заболевание [2]. Среди пациентов с БА высока выявляемость сопутствующих заболеваний сердечно-сосудистой системы, метаболического профиля и других нарушений [3].

Коморбидность БА не является уникальной особенностью, однако она характеризуется определенной структурой, включающей заболевания аллергической и неал-

лергической природы [4]. Наиболее распространенными и изученными являются аллергические нарушения, такие как аллергический ринит, дерматит и пищевая аллергия. В основе их коморбидности лежат системные механизмы формирования хронического аллергического воспаления и нарушения эпидермальной барьерной функции. Как правило, коморбидность аллергических заболеваний более выражена в детском возрасте. В то же время у взрослых пациентов с БА наблюдается высокий риск развития заболеваний неаллергической природы, включая артериальную гипертензию (АГ), ишемическую болезнь сердца (ИБС), инфаркт миокарда, инсульт, ожирение, сахарный диабет 2-го типа и другие метаболические (МН) и эндокринные нарушения [5].

Коморбидность БА с различными патологиями аллергической и неаллергической природы является результа-

том взаимодействия многих, в том числе генетических, патофизиологических и различных средовых факторов. В основе так называемого «атопического марша» или последовательного развития аллергических заболеваний, включая аллергический ринит, экзему и БА, лежат общие гены, которые участвуют в патогенезе разных аллергических заболеваний [6].

Находит свое подтверждение гипотеза о том, что генетические варианты могут повлиять на риск развития коморбидности БА и с неаллергическими болезнями, однако такие исследования малочисленны. Так, установлено, что однонуклеотидные варианты (SNPs) генов *TLR4/AL160272.2* (rs7038716, rs7025144), *ANG/RNASE4* (rs1010461) и *ABTB2/CAT* (rs2022318), *LOC105376244* (rs7026297) являются аддитивными компонентами коморбидности БА и АГ [7, 8]. Важной основой поиска генетических маркеров, связанных с формированием коморбидного фенотипа, является концепция болезней-синтропий, ориентирующая на выявление общих (синтропных) генов патогенетически связанных и сопутствующих друг другу болезней [9].

Цель исследования: поиск генетических маркеров развития сердечно-сосудистых нарушений и МН у пациентов с БА.

Материал и методы

Для выявления генетических маркеров развития сердечно-сосудистых (ИБС) нарушений и МН (ожирение/сахарный диабет 2-го типа) у пациентов с БА исследованы 92 регуляторных SNPs, идентифицированных ранее как потенциально важные для развития коморбидности БА и АГ, с использованием дизайна по типу «случай – контроль» [10, 11].

Пациенты были обследованы при госпитализации в терапевтические и пульмонологические отделения медицинских учреждений г. Томска. Основные критерии включения в группу исследования: наличие БА и сопутствующих сердечно-сосудистых и метаболических заболеваний в анамнезе; этническая принадлежность к восточным европейцам.

Для исследования использовали следующие группы сравнения: БА в сочетании с АГ ($n = 88$, 62 женщины, 26 мужчин, средний возраст – $53,1 \pm 9,3$ лет); БА в сочетании с АГ и ИБС (БА + АГ + ИБС, $n = 38$, 28 женщин, 10 мужчин, средний возраст – $64,7 \pm 6,7$ лет); БА в сочетании с АГ, ожирением и сахарным диабетом 2-го типа (БА + АГ + МН, $n = 36$, 27 женщин, 9 мужчин, средний возраст – $59,4 \pm 9,4$ лет), практически здоровые индивиды (контрольная группа). Индивиды из контрольной группы характеризовались отсутствием клинических проявлений БА, сердечно-сосудистых заболеваний, ожирения и диабета 2-го типа ($n = 153$, средний возраст $47,7 \pm 9,9$ лет; $n = 112$ (73,2%) женщин, $n = 41$ (26,8%) мужчин).

У всех индивидов были собраны образцы периферической крови. Выделение ДНК из лейкоцитов крови проводилось с помощью стандартной фенол-хлороформной экстракции.

Панели, состоящие из 92 регуляторных SNPs, созданы с помощью программного обеспечения Genotyping Assay Design, проверяющего возможность мультиплексирования выбранных маркеров и автоматически генерирующего последовательности праймеров и зондов для генотипирования с помощью масс-спектрометрии на приборе Sequenom MassARRAY® (США). Пробоподготовка

образцов ДНК выполнена согласно протоколам производителя.

Оценку соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому при равновесии Харди – Вайнберга, а также сравнение групп пациентов и здоровых индивидов по частотам генотипов и аллелей проводили с использованием χ^2 критерия. О рисковых аллелях, предрасполагающих к развитию заболевания, судили по величине отношения шансов (OR) и доверительному интервалу (95% CI). Для расчетов использовали онлайн программу MultiSNPR v1.0.a-01 (<http://ubunt.medgenetics.ru/rimg-toolbox/anton-apps/multisnpr/>), реализованную на языке R (R version 4.0.2 (2020-06-22)).

Для сравнения групп часто сочетающихся болезней (астма, АГ, ИБС, ожирение, сахарный диабет 2-го типа) применяли несколько наборов генов, сформированных по следующим англоязычным запросам: “asthma”, “hypertension”, “coronary artery disease”, “obesity”, “diabetes mellitus, type 2”, экстрагированных из базы данных по геномной эпидемиологии [12]. Диаграмма Венна для визуализации полученных списков пересекающихся и специфических для заболеваний генов построена с помощью онлайн инструмента J.C. Oliveros (2007–2015) Venny. An interactive tool for comparing lists with Venn’s diagrams. (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>).

Для функциональной аннотации ассоциированных с заболеваниями вариантов использовали агрегаторы молекулярно-биологических, регулярно обновляемых ресурсов, включая The Genome Aggregation Database (<https://gnomad.broadinstitute.org/>), SNPnexus (<https://www.snp-nexus.org/v4/>), eQTLGen (<https://www.eqtlgen.org/>), GTEx (<https://gtexportal.org/>), FIVEx (<https://fivex.sph.umich.edu/>), KEGG (<https://www.genome.jp/kegg/>). Дата обращения к интернет-агрегаторам: сентябрь–октябрь 2021 г.

Исследование проведено на базе центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ. Протокол исследования одобрен этическим комитетом НИИ медицинской генетики (протокол № 2 от 30.05.2016 г.). Все участники исследования дали информированное согласие.

Результаты и обсуждение

Анализ ассоциации генетических полиморфизмов с коморбидными фенотипами БА

При сравнении пациентов с различными вариантами сочетаний болезней (БА + АГ; БА + АГ + ИБС; БА + АГ + МН) со здоровыми индивидами выявлены существенные различия в частотах генотипов и аллелей по нескольким SNPs (табл. 1). Ассоциации, выявленные с развитием коморбидного фенотипа БА, преимущественно связаны с регуляцией генов *CAT* и *TLR4*, что свидетельствует о важности воспаления и окислительного стресса в развитии сопутствующих патологий. Большинство ассоциированных SNPs были идентифицированы нами ранее при сравнении пациентов с сочетанием БА и АГ без учета других коморбидных состояний [9, 10], за исключением трех вариантов rs769214, rs11032700, rs11032699 (см. табл. 1), находящихся в неравновесии по сцеплению у европейцев (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>).

Таблица 1. Однонуклеотидные варианты, ассоциированные с болезнями, коморбидными с бронхиальной астмой

Table 1. Single nucleotide variants associated with comorbidities in bronchial asthma

Группы сравнения Study groups	SNP ID (локализация в геноме, сборка генома GRCh38 (hg38)); ген (локализация в гене) SNP ID (chromosome localization, GRCh38 (hg38)); gene (gene localization)	Регулируемый ген (ткань органа-мишени) [#] Regulated gene (target organ tissue) [#]	Критерий χ^2 ; p-value* χ^2 criterion; p-value*		Частота рискового аллеля: у больных/здоровых/в европейской популяции (%) Risk allele frequencies in patients/healthy individuals/in the European population (%)	OR (95% CI); p**
			При сравнении частот генотипов Genotype frequencies	При сравнении частот аллелей Allele frequencies		
БА + АГ BA + HTN	rs7038716 T > A (9:117760334); AL160272.1 (интрон; intron)	TLR4 (цельная кровь; whole blood); AL160272.1 (легкие; lungs)	9,4; 0,009	6,1; 0,013	T: 31,0/20,4/25,1	1,8 (1,1–2,7); 0,010
	rs7026297 T > A (9:117757872); AL160272.1 (интрон; intron)	TLR4 (цельная кровь; whole blood); AL160272.1 (легкие; lungs)	8,2; 0,016	5,3; 0,022	T: 31,4/21,3/25,1	1,7 (1,1–2,6); 0,001
	rs7025144 T > A (9:117734109); AL160272.1 (интрон; intron)	TLR4, AL160272.1 (цельная кровь; whole blood)	6,9; 0,030	3,7; 0,050	T: 30,1/21,7/23,2	1,6 (1,0–2,4); 0,043
	rs1010461 A > C (14:20685629); ANG/RNASE4 /AL163636.2 (интрон; intron)	ANG (цельная кровь, поджелудочная железа; whole blood, pancreas); RNASE4 (цельная кровь; whole blood)	8,3; 0,016	9,2; 0,002	A: 64,8/50,0/56,4	1,8 (1,3–2,7); 0,002
	rs2022318 C > G (11:34408097); ABTB2/CAT (межгенный регион; intergenic region)	CAT (цельная кровь, щитовидная железа; whole blood, thyroid); ABTB2 (цельная кровь; whole blood)	6,4; 0,040	4,8; 0,028	C: 47,3/39,2/39,1	1,4 (0,9–2,0); 0,079
	rs11032699 T > G (11:34440021), CAT (интрон; intron)	CAT (цельная кровь, аорта, висцеральная жировая ткань; whole blood, aorta, visceral adipose tissue); ABTB2 (цельная кровь; whole blood)	6,2; 0,046	4,2; 0,041	T: 43,8/33,9/35,2	1,5 (1,0–2,2); 0,032
	rs11032700 C > A (11:34440156), CAT (интрон; intron)	CAT (цельная кровь, аорта, висцеральная жировая ткань; whole blood, aorta, visceral adipose tissue); ABTB2 (цельная кровь; whole blood)	6,0; 0,049	4,7; 0,030	C: 43,2/32,8/35,2	1,60 (1,1–2,3); 0,024
rs769214 G > A (11:34438170), CAT (вблизи 5' региона; near 5' region)	ELF5 (поджелудочная железа; pancreas); CAT (цельная кровь, щитовидная железа; висцеральная жировая ткань; whole blood, thyroid, visceral adipose tissue); C4orf32, GUF1, ALPK1, ERAP2, ABTB2, IQCG, PCCB, LMLN, FAM157A, EXOSC6, GNPDA2, AC073135.6, CLEC18C, WDR48, CTD-2260A17.1, TIFA, NCK1, IL20RB (цельная кровь; whole blood)	6,0; 0,049	4,1; 0,043	G: 43,2/33,3/34,2	1,52 (1,0–2,2); 0,032	
БА + АГ + ИБС BA + HTN + CHD	rs7949972:C > T (11:34480495); ELF5 (интрон; intron)	CAT (цельная кровь, щитовидная железа, сердце, большеберцовая артерия; whole blood, thyroid, heart, and tibial artery); ELF5 (легкие; lungs); ABTB2 (цельная кровь; whole blood); TYW1 (цельная кровь; whole blood)	7,9; 0,019	6,9; 0,009	C: 81,1/64,3/63,1	2,4 (1,3–4,5); 0,007
	rs11590807:C > T (1:209780361); TRAF3IP3 (интрон) и C1orf74 (3'UTR)	UTP25 (цельная кровь, селезенка; whole blood, spleen); IRF6 (цельная кровь, аорта, висцеральная жировая ткань; whole blood, aorta, visceral adipose tissue); TRAF3IP3 (цельная кровь; whole blood); RP1-28010.1 (цельная кровь; whole blood)	7,2; 0,027	4,1; 0,043	T: 29,7/18,2/20,6	1,9 (1,1–3,4); 0,030

Окончание табл. 1
End of table 1

Группы сравнения Study groups	SNP ID (локализация в геноме, сборка генома GRCh38 (hg38)); ген (локализация в гене) SNP ID (chromosome localization, GRCh38 (hg38)); gene (gene localization)	Регулируемый ген (ткань органа-мишени)* Regulated gene (target organ tissue) #	Критерий χ^2 ; p-value* χ^2 criterion; p-value*		Частота рискового аллеля: у больных/здоровых/в европейской популяции (%) Risk allele frequencies in patients/healthy individuals/in the European population (%)	OR (95% CI); p**
			При сравнении частот генотипов Genotype frequencies	При сравнении частот аллелей Allele frequencies		
БА + АГ + МН BA + HTN + MD	rs480575 (11:34446099); <i>CAT</i> (интрон; intron)	<i>ABTB2</i> , <i>DPY19L3</i> , <i>PDCD5</i> , <i>C19orf40</i> , <i>AC007773.2</i> (цельная кровь; whole blood); <i>CAT</i> (цельная кровь, щитовидная железа, легкие, селезенка, коронарная артерия; whole blood, thyroid, lungs, spleen, coronary artery)	7,2; 0,027	5,2; 0,023	G: 42,4/35,7/29,4	1,9 (1,1–3,4); 0,016
	rs3774968 (4:102609955); <i>NFKB1</i> (интрон), <i>LOC105377347</i> (интрон; intron)	<i>NFKB1</i> , <i>SLC9B2</i> , <i>BANK1</i> , <i>RP11-10L12.4</i> , <i>RP11-10L12.2</i> , <i>LRRC37A15P</i> , <i>KRT8P46</i> , <i>BDH2</i> , <i>CISD2</i> , <i>MANBA</i> (цельная кровь; whole blood)	7,8; 0,020	4,7; 0,029	A: 54,5/38,8/43,9	1,9 (1,1–3,3); 0,022
	rs11590807 (1:209780361); <i>TRAF3IP3</i> (интрон; intron) и <i>C1orf74</i> (3'UTR)	<i>UTP25</i> (цельная кровь, селезенка; whole blood; spleen); <i>IRF6</i> (цельная кровь, аорта, висцеральная жировая ткань; whole blood, aorta, visceral adipose tissue); <i>TRAF3IP3</i> , <i>RP1-280T0.1</i> (цельная кровь; whole blood)	8,57; 0,014	5,8; 0,016	T: 30,0/18,2/20,6	1,9 (1,1–3,5); 0,030

Примечание: ID SNP – идентификационный номер однонуклеотидной замены по базе данных dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>). # – данные по eQTL (локусы количественных изменений экспрессии (Expression Quantitative Trait Loci) консорциума eQTLGen, а также портала GTEx. * – значения критерия χ^2 и достигнутый уровень значимости различий (p-value) получены при сравнении частот генотипов и аллелей между подгруппами пациентов и контрольной группой. Частоты рискового аллеля в европейской популяции приведены из базы данных The Genome Aggregation Database. ** – отношение шансов (OR), 95% доверительный интервал (95% CI), уровень значимости достигнутых различий (p) – указаны для рискового аллеля.

Note: SNP ID – identification number of single nucleotide substitution according to the dbSNP database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>). BA – bronchial asthma, CHD – coronary heart disease, HTN – hypertension, MD – metabolic disorder. # – data on eQTL (Expression Quantitative Trait Loci) from the eQTLGen Consortium and GTEx portal. * – χ^2 criterion and p-values were obtained by comparing the frequencies of genotypes and alleles between patient subgroups and control group. Risk allele frequencies in the European population are given from the Genome Aggregation Database. ** – odds ratio (OR), 95% confidence interval (95% CI), and p-values are given for risk allele.

Фенотипы БА, коморбидной с АГ, а также с ИБС и/или ожирением и сахарным диабетом 2-го типа, ассоциированы с вариантами, затрагивающими помимо регуляции гена *CAT*, другие гены, участвующие в патогенезе хронического воспаления. Ассоциация полиморфного варианта rs7949972 в 6 интроне гена *ELF5* (транскрипционный регулятор E74-подобный фактор 5-го типа), относящегося к семейству транскрипционных факторов ETS, установлена при сравнении пациентов с БА, коморбидной с сердечно-сосудистыми заболеваниями (АГ, ИБС), и здоровых индивидов. Аллель С (rs7949972) преобладает в выборке пациентов с БА, имеющих сопутствующую кардиологическую патологию по сравнению со здоровыми индивидами (81,1 против 64,3% соответственно, OR = 2,4; 95% CI = 1,3–4,5; p = 0,007). Между тем при сравнении группы пациентов БА в сочетании с ожирением/сахарным диабетом 2-го типа и АГ не выявлено значимых различий в частотах генотипов и аллелей. Вероятно, полиморфный вариант rs7949972 вовлечен в развитие рассматриваемой коморбидности БА с сердечно-сосудистой патологией, но этот эффект сглаживает присутствие МН (ожирение и сахарный диабет 2-го типа). В литературе описаны примеры неоднозначности влияния генетических вариантов на развитие одного заболевания в зави-

симости от наличия другого. Например, установлено, что коморбидность может нивелировать эффект полиморфизма на развитие заболевания, как было показано в случае ассоциации rs12621643 с развитием аллергического ринита, для фенотипического выражения которой важна коморбидность с БА [13].

Потенциальный механизм полученной ассоциации варианта rs7949972 с коморбидным состоянием БА + АГ + ИБС может быть обусловлен его регуляторным эффектом на экспрессию генов, потенциально задействованных в патогенезе сердечно-сосудистой патологии. Полиморфный вариант rs7949972 является значимым регулятором экспрессии (см. табл. 1); так, генотип СС, ассоциированный с коморбидным фенотипом (БА + АГ + ИБС), в нашей работе связан с увеличением экспрессии гена *ELF5* в легких, а также широко экспрессирующегося гена *CAT*.

Белок ELF5 связан со степенью тяжести дисфункции легких при муковисцидозе за счет его участия в контроле многих ключевых процессов в эпителиальных клетках дыхательных путей [14]. В результате полногеномного анализа сцепления показано, что ген *ELF5*, локализованный на хромосоме 11p12-15, является геном-кандидатом развития БА [15]. Для гена *CAT*, кодирующего каталазу, установлены многочисленные ас-

социации полиморфных вариантов с развитием изолированных заболеваний, включая АГ, сахарный диабет и его осложнения, приводящие к нарушению метаболизма глюкозы [16], однако данные относительно вовлеченности в развитие коморбидных патологий по этому гену отсутствуют.

Ассоциация с одним и тем же вариантом (rs11590807) характерна для пациентов, нагруженных заболеваниями, составляющими сердечно-сосудистый континуум, вклю-

чая ИБС, сахарный диабет 2-го типа и ожирение. Аллель Т (rs11590807) чаще обнаруживается во всех изученных группах пациентов с БА (29,7-30,0%) по сравнению со здоровыми индивидами (18,2%), как в случае коморбидности с сердечно-сосудистыми заболеваниями (АГ + ИБС), так и при МН (ожирение/сахарный диабет 2-го типа; см. табл. 1). Полиморфный вариант rs11590807 расположен в 14 интроне гена *TRAF3IP3* и 3'UTR регионе гена *C1orf74* (рис. 1).

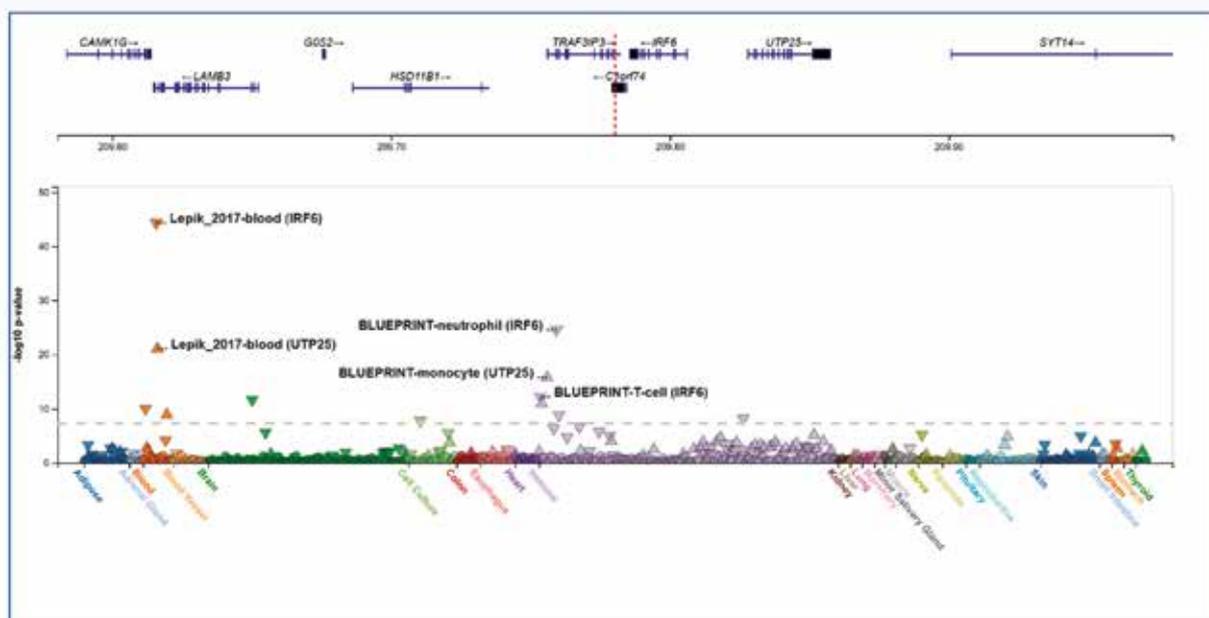


Рис. 1. Геномная локализация полиморфного варианта rs11590807 и классификация относительно влияния на регуляцию экспрессии генов в разных тканях (по данным FIVEx)

Fig. 1. Genomic localization and classification of rs11590807 variant in regard to the effects on gene expression regulation in different tissues (according to FIVEx data)

Как видно из рисунка 1, вариант rs11590807 преимущественно влияет на экспрессию генов *IRF6* и *UTP25* в клетках иммунной системы, а также клетках сосудов и крови (см. рис. 1). Генотип ТТ, ассоциированный с развитием кардиометаболических заболеваний, сопутствующих БА, связан со снижением экспрессии гена *IRF6* в клетках цельной крови, аорте и висцеральной жировой ткани (см. табл. 1). Установлено, что *IRF6* лежит в основе патогенеза хронического воспаления жировой ткани при ожирении за счет выраженного дисбаланса макрофагов M1/M2 [17]. Таким образом, ассоциация варианта rs11590807 предполагает нарушение регуляции генов, вовлеченных в хроническое системное воспаление, для развития сопутствующих заболеваний сердечно-сосудистого континуума при БА.

Два полиморфных варианта rs480575 и rs3774968 ассоциированы с развитием коморбидного фенотипа БА + АГ + МН. Один из вариантов (rs480575) влияет на экспрессию гена каталазы (*CAT*) в таких тканях как щитовидная железа и сердце, наиболее уязвимых при изученных заболеваниях (см. табл. 1). Стоит отметить, что ранее установлена связь определенных генотипов и гаплотипов этого гена с коморбидным состоянием БА и АГ [7, 8].

Полиморфный вариант rs3774968 (*NFKB1/LOC105377347*) изменяет экспрессию большого числа генов в образцах цельной крови, в том числе гена *NFKB1* (см. табл. 1). Установлено, что гипометилирование промотора гена *NFKB1* связано с хронизацией воспаления при сахарном диабете 2-го типа [18], способствуя коморбидности с другими заболеваниями. Вероятно, эпигенетические механизмы регуляции транскрипции генов существенно влияют на развитие сопутствующих заболеваний. Например, установлено, что транскрипция 27% генов, связанных с развитием коморбидности атопических заболеваний, регулируется за счет эпигенетических механизмов [19].

Особенности функциональной вовлеченности ассоциированных вариантов генов

Рассматриваемые в составе коморбидности в настоящем исследовании сердечно-сосудистые и метаболические заболевания влияют на клинические проявления БА. Известно, что ожирение является распространенным фактором риска развития БА и АГ, а снижение индекса массы тела полезно для лечения обоих заболеваний [20]. Считается, что при неблагоприятном течении БА в сочетании с ожирением ключевую роль играют

составляющие системного воспаления, в том числе связанные с нейрогуморальной активностью висцеральной жировой ткани [20]. Не только ожирение, но и другие аспекты метаболической дисрегуляции могут быть независимо связаны с БА, включая дислипидемию и инсулинорезистентность [21].

С целью уточнения биологических процессов, которые могут лежать в основе молекулярных механизмов взаимодействия между БА, сердечно-сосудистыми на-

рушениями и МН, далее был выполнен анализ функциональных аннотаций ассоциированных с развитием коморбидности вариантов. Согласно полученным данным, в основе фенотипических связей между заболеваниями лежат генетические варианты, которые активно участвуют в регуляции иммунных функций, среди них SNPs в генах *NFKB1* и *CAT* (табл. 2). Вероятно, функциональные нарушения иммунной системы существенным образом сказываются на развитии коморбидности БА.

Таблица 2. Десять наиболее значимых биологических процессов с участием вариантов генов, ассоциированных с коморбидными фенотипами
Table 2. Ten most significant biological processes involving the gene variants associated with comorbid phenotypes

SNP	Описание процесса Process description	<i>p</i>	ID*
rs3774968	CLEC7A/инфламмосома CLEC7A/inflammasome pathway	0,0011	R-HSA-5660668
	DEx/H- box -хеликазы активируют выработку интерферона I типа и воспалительных цитокинов DEx/H-box helicases activate production of type I interferon and inflammatory cytokines	0,0013	R-HSA-3134963
	IκBα связан с эктодермальной дисплазией с иммунодефицитом IκBα associated with ectodermal dysplasia and immune deficiency	0,0013	R-HSA-5603029
	Процессирование интерлейкина-1 Interleukin-1 processing	0,0015	R-HSA-448706
rs3774968, rs480575	Дегрануляция нейтрофилов Neutrophil degranulation	0,0019	R-HSA-6798695
rs3774968	Регулируемый протеолиз p75NTR Regulated proteolysis of p75NTR	0,0020	R-HSA-193692
	NF-κB активация и сигнализация NF-κB activation and signaling	0,0024	R-HSA-209560
	NLRP3 инфламмосома NLRP3 inflammasome	0,0028	R-HSA-844456
	p75NTR сигналинг через NF-κB p75NTR signaling via NF-κB	0,0029	R-HSA-193639
	MAP3K8 (TPL2)-зависимая MAPK1/3 активация MAP3K8 (TPL2)-dependent MAPK1/3 activation	0,0029	R-HSA-5684264

Примечание. ID* – идентификационный номер процесса по базе данных Reactome (<https://reactome.org/>). Аннотация ассоциированных вариантов выполнена с использованием ресурса SNPnexus (<https://www.snp-nexus.org/v4/>). *p* – уровень значимости пути, рассчитанный с использованием точного теста Фишера для всех SNPs, участвующих в исходном наборе (в качестве исходного набора использовали ассоциированные в этом исследовании SNPs с развитием коморбидности бронхиальной астмы с заболеваниями сердечно-сосудистого континуума).

Note. ID * is identification number of a process in the Reactome database (<https://reactome.org/>). The associated variants are annotated using the SNPnexus resource (<https://www.snp-nexus.org/v4/>). *p*-value for significance of pathway was calculated by the Fisher's exact test for all SNPs involved in the initial set (SNPs, associated with bronchial asthma comorbid with diseases of cardiovascular continuum, were used as the initial set).

Изученность генов коморбидности с развитием изолированных заболеваний

На следующем этапе выполнена оценка изученности генов, ассоциированных с коморбидностью БА с сердечно-сосудистыми нарушениями и МН в нашем исследовании, в отношении отдельных заболеваний. Для этого сравнили наборы генов, ассоциированных с БА, АГ, ИБС, ожирением, сахарным диабетом 2-го типа, экстрагированных путем запроса англоязычных названий заболеваний в базе данных по геномной эпидемиологии [14].

Согласно полученным данным, достаточно большое число генов вовлечено в развитие каждого из интересующих нас в рамках настоящего исследования заболеваний. Так, 929 генов ассоциировано с развитием БА, 834 гена – с ИБС, 1083 гена с АГ, 1236 генов – с ожирением, 3180 генов – с сахарным диабетом 2-го типа.

Помимо этого, регистрируется значительное число общих генетических факторов, участвующих в развитии этих заболеваний (рис. 2).

Как показывает диаграмма Венна, общая генетическая компонента между БА, сердечно-сосудистыми (АГ, ИБС) и метаболическими (ожирение, сахарный диабет 2-го типа) заболеваниями составляет 6,3% (*n* = 281) от общего числа ассоциированных с ними генов. Для функциональной характеристики 281 гена использовали данные сигнальных и патогенетических путей, каталогизированные в базе данных KEGG. В результате этой оценки установлено, что десять наиболее значимых путей имеют отношение к канцерогенезу, развитию аутоиммунных и инфекционных болезней (табл. 3), что свидетельствует о широкой сфере компетенции выявленных общих генов, которые, вероятно, могут быть причиной коморбидности многих заболеваний.

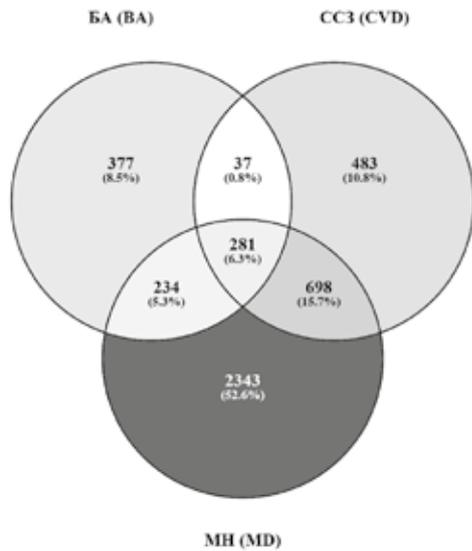


Рис. 2. Диаграмма Венна пересекающихся и специфических генов для бронхиальной астмы и сердечно-сосудистых заболеваний (артериальная гипертензия; ишемическая болезнь сердца), а также метаболических нарушений (ожирение; сахарный диабет 2-го типа)

Fig. 2. Venn diagram of overlapping and specific genes for bronchial asthma (BA) and cardiovascular diseases (CVD) (hypertension; coronary heart disease) and metabolic disorders (obesity; type 2 diabetes mellitus)

Таблица 3. Десять наиболее значимых KEGG путей с участием общих генов для бронхиальной астмы, сердечно-сосудистых и метаболических заболеваний

Table 3. Ten most significant KEGG pathways involving shared genes for bronchial asthma, cardiovascular diseases, and metabolic disorders

ID*	Описание Description	N**
hsa05200	Канцерогенез Cancerogenesis	60
hsa04060	Взаимодействие цитокинов с рецепторами Cytokine-cytokine receptor interaction	57
hsa05152	Туберкулез Tuberculosis	35
hsa05145	Токсоплазмоз Toxoplasmosis	29
hsa05142	Болезнь Чагаса (Американский трипаносомоз) Chagas disease (American trypanosomiasis)	29
hsa05323	Ревматоидный артрит Rheumatoid arthritis	26
hsa05140	Лейшманиоз Leishmaniasis	28
hsa05321	Воспалительные заболевания кишечника Inflammatory bowel diseases	26

Окончание табл. 3
End of table 3

ID*	Описание Description	N**
hsa05144	Малярия Malaria	22
hsa05330	Отторжение аллотрансплантата Allograft rejection	18

Примечание. ID* – идентификационный номер пути по базе данных KEGG (<https://www.genome.jp/kegg/>). Количество генов** количество вовлеченных в патогенетический процесс генов из списка общих генов для бронхиальной астмы, артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, ожирения и сахарного диабета 2-го типа ($n = 281$).

Note. ID* is identification number of a pathway from the KEGG database (<https://www.genome.jp/kegg/>). N** – number of genes involved in the pathogenetic process from the list of overlapping genes for bronchial asthma, hypertension, coronary heart disease, obesity, and type 2 diabetes mellitus.

Среди генов, представляющих собой общую генетическую компоненту для БА, АГ, ИБС, ожирения и сахарного диабета 2-го типа, с каждым из заболеваний ассоциирован только ген *CAT*, который также показал ассоциацию с развитием коморбидности в результате нашего экспериментального исследования. Остальные гены нашего эксперимента, варианты в которых ассоциированы с развитием изученных сопутствующих заболеваний, а также гены, регуляция которых затронута ассоциированными вариантами (*ELF5*, *ABTB2*, *UTP25*, *TRAF3IP3*, *NFKB1*, *LOC105377347*, *C1orf74*, *IRF6* и другие), представляют дальнейший интерес для исследования механизмов развития коморбидности БА с сердечно-сосудистыми и метаболическими заболеваниями.

Заключение

Несмотря на ряд ограничений настоящего исследования, в первую очередь, небольшой размер выборки, множественное сравнение, охват ограниченного спектра всех возможных коморбидных состояний, полученные результаты позволяют предположить, что ассоциированные варианты могут быть потенциальными биологическими маркерами причинно-следственных связей между БА и кардиометаболическими нарушениями. На основании того, что выявленные варианты влияют на работу многих генов, участвующих в регуляции воспаления, иммунного ответа и других функций, необходимо отметить, что коморбидность БА с АГ, ИБС, ожирением и сахарным диабетом 2-го типа характеризуется выраженной полигенностью. Выявление клинической значимости этих генов (*ELF5*, *ABTB2*, *UTP25*, *TRAF3IP3*, *NFKB1*, *LOC105377347*, *C1orf74*, *IRF6* и другие) с точки зрения риска сопутствующих заболеваний представляет собой дальнейшее важное направление исследований.

Литература

- Stern J., Pier J., Litonjua A.A. Asthma epidemiology and risk factors. *Semin. Immunopathol.* 2020;42(1):5–15. DOI: 10.1007/s00281-020-00785-1.
- Weatherburn C.J., Guthrie B., Mercer S.W., Morales D.R. Comorbidities in adults with asthma: Population-based cross-sectional analysis of 1.4 million adults in Scotland. *Clin. Exp. Allergy.* 2017;47(10):1246–1252. DOI: 10.1111/cea.12971.
- Park S., Choi N.K., Kim S., Lee C.H. The relationship between metabolic syndrome and asthma in the elderly. *Sci. Rep.* 2018;8(1):9378. DOI: 10.1038/s41598-018-26621-z.
- Kankaanranta H., Kauppi P., Tuomisto L.E., Ilmarinen P. Emerging comorbidities in adult asthma: Risks, clinical associations, and mechanisms. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:3690628. DOI: 10.1155/2016/3690628.
- Su X., Ren Y., Li M., Zhao X., Kong L., Kang J. Prevalence of comorbidities in asthma and nonasthma patients: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(22):e3459. DOI: 10.1097/MD.0000000000003459.
- Johansson A., Rask-Andersen M., Karlsson T., Ek W.E. Genome-wide association analysis of 350 000 Caucasians from the UK Biobank identifies novel loci for asthma, hay fever and eczema. *Hum. Mol. Genet.* 2019;28(23):4022–4041. DOI: 10.1093/hmg/ddz175.
- Bragina E.Y., Goncharova I.A., Garaeva A.F., Nemerov E.V., Babovskaya A.A., Karpov A.B. et al. Molecular relationships between bronchial

- asthma and hypertension as comorbid diseases. *J. Integr. Bioinform.* 2018;15(4):20180052. DOI: 10.1515/jib-2018-0052.
8. Брагина Е.Ю., Гончарова И.А., Фрейдин М.Б., Жалсанова И.Ж., Гомбоева Д.Е., Немееров Е.В. и др. Гаплотипический анализ генов *CAT*, *TLR4* и *IL10* у больных бронхиальной астмой с сопутствующей артериальной гипертензией. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2019;39(6):55–64. DOI: 10.15372/SSMJ20190607.
9. Пузырев В.П. Генетические основы коморбидности у человека. *Генетика.* 2015;51(4):491–502.
10. Zolotareva O., Saik O.V., Königs C., Bragina E.Y., Goncharova I.A., Freidin M.B. et al. Comorbidity of asthma and hypertension may be mediated by shared genetic dysregulation and drug side effects. *Sci. Rep.* 2019;9(1):16302. DOI: 10.1038/s41598-019-52762-w.
11. Saik O.V., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Bragina E.Y., Freidin M.B., Dosenko V.E. et al. Search for new candidate genes involved in the comorbidity of asthma and hypertension based on automatic analysis of scientific literature. *J. Integr. Bioinform.* 2018;15(4):20180054. DOI: 10.1515/jib-2018-0054.
12. Yu W., Gwinn M., Clyne M., Yesupriya A., Khoury M.J. A navigator for human genome epidemiology. *Nat. Genet.* 2008;40(2):124–125. DOI: 10.1038/ng0208-124.
13. Фрейдин М.Б., Брагина Е.Ю., Салтыкова И.В., Деева Е.В., Огородова Л.М., Пузырев В.П. Влияние дополнительной болезни (коморбидности) на ассоциацию аллергического ринита с вариантом rs12621643 гена *KCNE4*. *Генетика.* 2013;49(4):541–544. DOI: 10.7868/S001667581304005X.
14. Swahn H., Sabith Ebron J., Lamar K.M., Yin S., Kerschner J.L., Nandy-Mazumdar M. et al. Coordinate regulation of ELF5 and EHF at the chr11p13 CF modifier region. *J. Cell Mol. Med.* 2019;23(11):7726–7740. DOI: 10.1111/jcmm.14646.
15. Zamel N., McClean P.A., Sandell P.R., Siminovich K.A., Slutsky A.S. Asthma on Tristan da Cunha: Looking for the genetic link. The University of Toronto Genetics of Asthma Research Group. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996;153(6):1902–1906. DOI: 10.1164/ajrccm.153.6.8665053.
16. Hebert-Schuster M., Fabre E.E., Nivet-Antoine V. Catalase polymorphisms and metabolic diseases. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2012;15(4):397–402. DOI: 10.1097/MCO.0b013e328354a326.
17. Li C., Ying W., Huang Z., Brehm T., Morin A., Vella A.T. et al. IRF6 regulates alternative activation by suppressing PPAR γ in male murine macrophages. *Endocrinology.* 2017;158(9):2837–2847. DOI: 10.1210/en.2017-00053.
18. Margaryan S., Kriegova E., Fillerova R., Smotkova Kraiczova V., Manukyan G. Hypomethylation of *IL1RN* and *NFKB1* genes is linked to the dysbalance in IL1 β /IL-1Ra axis in female patients with type 2 diabetes mellitus. *PLoS One.* 2020;15(5):e0233737. DOI: 10.1371/journal.pone.0233737.
19. Ferreira M.A., Vonk J.M., Baurecht H., Marenholz I., Tian C., Hoffman J.D. et al. Shared genetic origin of asthma, hay fever and eczema elucidates allergic disease biology. *Nat. Genet.* 2017;49(12):1752–1757. DOI: 10.1038/ng.3985.
20. Bantulà M., Roca-Ferrer J., Arismendi E., Picado C. Asthma and obesity: Two diseases on the rise and bridged by inflammation. *J. Clin. Med.* 2021;10(2):169. DOI: 10.3390/jcm10020169.
21. Pite H., Aguiar L., Morello J., Monteiro E.C., Alves A.C., Bourbon M. et al. Metabolic dysfunction and asthma: Current perspectives. *J. Asthma Allergy.* 2020;13:237–247. DOI: 10.2147/JAA.S208823.
- of scientific literature. *J. Integr. Bioinform.* 2018;15(4):20180054. DOI: 10.1515/jib-2018-0054.
12. Yu W., Gwinn M., Clyne M., Yesupriya A., Khoury M.J. A navigator for human genome epidemiology. *Nat. Genet.* 2008;40(2):124–125. DOI: 10.1038/ng0208-124.
13. Freidin M.B., Bragina E.Y., Saltykova I.V., Dеева E.V., Ogorodova L.M., Puzyrev V.P. et al. Effect of additional disease (comorbidity) on association of allergic rhinitis with *KCNE4* gene rs12621643 variant. *Russian Journal of Genetics.* 2013;49(4):541–544 (In Russ.). DOI: 10.7868/S001667581304005X.
14. Swahn H., Sabith Ebron J., Lamar K.M., Yin S., Kerschner J.L., Nandy-Mazumdar M. et al. Coordinate regulation of ELF5 and EHF at the chr11p13 CF modifier region. *J. Cell Mol. Med.* 2019;23(11):7726–7740. DOI: 10.1111/jcmm.14646.
15. Zamel N., McClean P.A., Sandell P.R., Siminovich K.A., Slutsky A.S. Asthma on Tristan da Cunha: Looking for the genetic link. The University of Toronto Genetics of Asthma Research Group. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996;153(6):1902–1906. DOI: 10.1164/ajrccm.153.6.8665053.
16. Hebert-Schuster M., Fabre E.E., Nivet-Antoine V. Catalase polymorphisms and metabolic diseases. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2012;15(4):397–402. DOI: 10.1097/MCO.0b013e328354a326.
17. Li C., Ying W., Huang Z., Brehm T., Morin A., Vella A.T. et al. IRF6 regulates alternative activation by suppressing PPAR γ in male murine macrophages. *Endocrinology.* 2017;158(9):2837–2847. DOI: 10.1210/en.2017-00053.
18. Margaryan S., Kriegova E., Fillerova R., Smotkova Kraiczova V., Manukyan G. Hypomethylation of *IL1RN* and *NFKB1* genes is linked to the dysbalance in IL1 β /IL-1Ra axis in female patients with type 2 diabetes mellitus. *PLoS One.* 2020;15(5):e0233737. DOI: 10.1371/journal.pone.0233737.
19. Ferreira M.A., Vonk J.M., Baurecht H., Marenholz I., Tian C., Hoffman J.D. et al. Shared genetic origin of asthma, hay fever and eczema elucidates allergic disease biology. *Nat. Genet.* 2017;49(12):1752–1757. DOI: 10.1038/ng.3985.
20. Bantulà M., Roca-Ferrer J., Arismendi E., Picado C. Asthma and obesity: Two diseases on the rise and bridged by inflammation. *J. Clin. Med.* 2021;10(2):169. DOI: 10.3390/jcm10020169.
21. Pite H., Aguiar L., Morello J., Monteiro E.C., Alves A.C., Bourbon M. et al. Metabolic dysfunction and asthma: Current perspectives. *J. Asthma Allergy.* 2020;13:237–247. DOI: 10.2147/JAA.S208823.

References

1. Stern J., Pier J., Litonjua A.A. Asthma epidemiology and risk factors. *Semin. Immunopathol.* 2020;42(1):5–15. DOI: 10.1007/s00281-020-00785-1.
2. Weatherburn C.J., Guthrie B., Mercer S.W., Morales D.R. Comorbidities in adults with asthma: Population-based cross-sectional analysis of 1.4 million adults in Scotland. *Clin. Exp. Allergy.* 2017;47(10):1246–1252. DOI: 10.1111/cea.12971.
3. Park S., Choi N.K., Kim S., Lee C.H. The relationship between metabolic syndrome and asthma in the elderly. *Sci. Rep.* 2018;8(1):9378. DOI: 10.1038/s41598-018-26621-z.
4. Kankaanranta H., Kauppi P., Tuomisto L.E., Ilmarinen P. Emerging comorbidities in adult asthma: Risks, clinical associations, and mechanisms. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:3690628. DOI: 10.1155/2016/3690628.
5. Su X., Ren Y., Li M., Zhao X., Kong L., Kang J. Prevalence of comorbidities in asthma and nonasthma patients: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(22):e3459. DOI: 10.1097/MD.0000000000003459.
6. Johansson Å., Rask-Andersen M., Karlsson T., Ek W.E. Genome-wide association analysis of 350 000 Caucasians from the UK Biobank identifies novel loci for asthma, hay fever and eczema. *Hum. Mol. Genet.* 2019;28(23):4022–4041. DOI: 10.1093/hmg/ddz175.
7. Bragina E.Y., Goncharova I.A., Garaeva A.F., Nemerov E.V., Babovskaya A.A., Karpov A.B. et al. Molecular relationships between bronchial asthma and hypertension as comorbid diseases. *J. Integr. Bioinform.* 2018;15(4):20180052. DOI: 10.1515/jib-2018-0052.
8. Bragina E.Y., Goncharova I.A., Freidin M.B., Zhalsanova I.Zh., Gombоева D.E., Nemerov E.V. et al. Analysis of haplotypes of *CAT*, *TLR4*, and *IL10* genes in bronchial asthma patients comorbid with arterial hypertension. *Siberian Scientific Medical Journal.* 2019;39(6):55–64 (In Russ.). DOI: 10.15372/SSMJ20190607.
9. Puzyrev V.P. Genetic bases of human comorbidity. *Russian Journal of Genetics.* 2015;51(4):491–502 (In Russ.).
10. Zolotareva O., Saik O.V., Königs C., Bragina E.Y., Goncharova I.A., Freidin M.B. et al. Comorbidity of asthma and hypertension may be mediated by shared genetic dysregulation and drug side effects. *Sci. Rep.* 2019;9(1):16302. DOI: 10.1038/s41598-019-52762-w.
11. Saik O.V., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Bragina E.Y., Freidin M.B., Dosenko V.E. et al. Search for new candidate genes involved in the comorbidity of asthma and hypertension based on automatic analysis

Информация о вкладе авторов

Брагина Е.Ю. – организация протокола исследования, статистический анализ, анализ результатов и обсуждение текста статьи.

Гончарова И.А., Жалсанова И.Ж. – подготовка образцов для молекулярно-генетического анализа, молекулярно-генетический анализ, анализ результатов и обсуждение текста статьи.

Немеров Е. В. – обследование пациентов, сбор образцов и клинические данные, анализ результатов и обсуждение текста статьи.

Назаренко М.С. – анализ результатов и обсуждение текста статьи.

Фрейдin М.Б. – определение направления исследования, анализ результатов и обсуждение текста статьи.

Information on author contributions

Bragina E.Yu. – study protocol, statistical analysis, analysis of results, and discussion of text of the manuscript.

Goncharova I.A. and Zhalsanova I.Zh. – sample preparation for molecular genetic analysis, molecular genetic analysis, analysis of results, and discussion of text of the manuscript.

Nemerov E.V. – clinical examination of patients, collection of blood samples and clinical data, analysis of results, and discussion of text of the manuscript.

Nazarenko M.S. – analysis of results and discussion of text of the manuscript.

Freidin M.B. – study protocol, analysis of results, and discussion of text of the manuscript.

Сведения об авторах

Брагина Елена Юрьевна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник, лаборатория популяционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-1103-3073.

E-mail: elena.bragina72@gmail.com.

Гончарова Ирина Александровна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник, лаборатория популяционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-9527-7015.

E-mail: irina-goncharova@medgenetics.ru.

Жалсанова Ирина Жаргаловна, младший научный сотрудник, лаборатория геномики орфанных болезней, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0001-6848-7749.

E-mail: irina.zhalsanova@medgenetics.ru.

Немеров Евгений Владимирович, канд. мед. наук, доцент кафедры общей врачебной практики и поликлинической терапии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0001-9858-366X.

E-mail: nemerevg@mail.ru.

Назаренко Мария Сергеевна, д-р мед. наук, руководитель лаборатории популяционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; профессор кафедры медицинской генетики, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0002-0673-4094.

E-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru.

Фрейдin Максим Борисович, д-р биол. наук, старший научный сотрудник, лаборатория популяционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-1439-6259.

E-mail: mfreidin@medgenetics.ru.

 **Брагина Елена Юрьевна**, e-mail: elena.bragina72@gmail.com.

Information about the authors

Elena Yu. Bragina, Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Scientist, Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-1103-3073.

E-mail: elena.bragina72@gmail.com.

Irina A. Goncharova, Cand. Sci. (Biol.), Research Scientist, Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-9527-7015.

E-mail: irina-goncharova@medgenetics.ru.

Irina Zh. Zhalsanova, Junior Research Scientist, Laboratory of Genomics of Orphan Diseases, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0001-6848-7749.

E-mail: irina.zhalsanova@medgenetics.ru.

Evgeny V. Nemerov, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of General Medical Practice and Polyclinic Therapy, Siberian State Medical University. ORCID 0000-0001-9858-366X.

E-mail: nemerevg@mail.ru.

Maria S. Nazarenko, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Medical Genetics, Siberian State Medical University. ORCID 0000-0002-0673-4094.

E-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru.

Maxim B. Freidin, Dr. Sci. (Biol.), Senior Research Scientist, Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-1439-6259.

E-mail: mfreidin@medgenetics.ru.

 **Elena Yu. Bragina**, e-mail: elena.bragina72@gmail.com.

Received September 26, 2021

Поступила 26.09.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-62-69>
УДК 577.217:612.11:618.2

Пилотное исследование изменения уровня рiРНК в плазме и сыворотке крови у женщин на разных сроках физиологической беременности

А.С. Глотов^{1, 2}, П.Ю. Козюлина^{1, 3}, Е.С. Вашукова¹, Р.А. Илларионов^{1, 2, 4},
Н.О. Юркина¹, О.В. Пачулия¹, М.Г. Бутенко¹, Т.Б. Постникова^{1, 5},
О.Н. Беспалова¹

¹ Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, 199034, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3

² Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7

³ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии, 196608, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Пушкин-8, шоссе Подбельского, 3

⁴ Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), 190013, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Московский пр., 26

⁵ Родильный дом № 10, 198259, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Тамбасова, 21

Аннотация

Цель: провести исследование изменения уровня рiРНК в плазме и сыворотке крови беременных женщин на разных сроках гестации.

Материал и методы. Проведено исследование 42 образцов плазмы и сыворотки крови, полученных от 7 женщин с физиологической одноплодной беременностью без акушерско-гинекологической патологии в трех временных точках (первая – 8–13, вторая – 18–25 и третья – 30–35 нед. беременности). Для оценки спектра и уровня рiРНК методом NGS проведено полногеномное секвенирование малых РНК. Анализ данных секвенирования осуществлен с использованием веб-программы GeneGlobe Data Analysis Center. Дифференциальная экспрессия оценена с помощью пакета DESeq2 R package.

Результаты и обсуждение. Содержание рiРНК среди всех малых РНК составило 2,29; 2,61 и 4,16% для плазмы и 7,29; 7,02 и 10,82% – для сыворотки в первом, втором и третьем триместре соответственно. От первого триместра к третьему в плазме крови увеличивается содержание следующих рiРНК: piR 000765, piR 020326, piR 019825, piR 020497, piR 015026, piR 001312, piR 017716. Показано, что в сыворотке по сравнению с плазмой значительно больше piR 000765, piR 020326, piR 019825, piR 015026, piR 020497, piR 001312, piR 017716, piR 004153, тогда как в плазме – только одной молекулы – piR 018849.

Заключение. Данная пилотная работа создает определенный базис для понимания процессов экспрессии рiРНК в плазме и сыворотке беременных женщин и может стать основой для поиска биомаркеров различных осложнений беременности.

Ключевые слова:	рiРНК, беременность, плазма, сыворотка, массовое параллельное секвенирование.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	исследование проведено при поддержке гранта РФФИ № 19-75-20033.
Соответствие принципам этики:	информированное согласие получено от каждого пациента. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ АГиР имени Д.О. Отта (протокол № 97 от 27.06.2019 г.).
Для цитирования:	Глотов А.С., Козюлина П.Ю., Вашукова Е.С., Илларионов Р.А., Юркина Н.О., Пачулия О.В., Бутенко М.Г., Постникова Т.Б., Беспалова О.Н. Пилотное исследование изменения уровня рiРНК в плазме и сыворотке крови у женщин на разных сроках физиологической беременности. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2021;36(4):62–69. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-62-69 .

Глотов Андрей Сергеевич, e-mail: anglotov@mail.ru.

Pilot study of changes in the level of piRNA in plasma and serum in women at different stages of physiological pregnancy

Andrey S. Glotov^{1,2}, Polina Yu. Kozyulina^{1,3}, Elena S. Vashukova¹,
Roman A. Illarionov^{1,2,4}, Natalia O. Yurkina¹, Olga V. Pachulia¹,
Maria G. Butenko¹, Tatyana B. Postnikova^{1,5}, Olesya N. Bespalova¹

¹ D. O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynecology, and Reproduction, 3, Mendeleevskaya liniya, Saint Petersburg, 199034, Russian Federation

² St. Petersburg State University, 7, Universitetskaya emb., Saint-Petersburg, 199034, Russian Federation

³ All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, 3, Podbelsky chausse, Saint-Petersburg, 196608, Russian Federation

⁴ St. Petersburg State Institute of Technology (Technical University), 26, Moskovsky ave., Saint-Petersburg, 190013, Russian Federation

⁵ Maternity Hospital No. 10, 21, Tambasova str., Saint-Petersburg, 198259, Russian Federation

Abstract

Aim. To study changes in the level of piRNA in plasma and serum of pregnant women at different stages of gestation.

Material and Methods. A total of 42 samples of plasma and blood serum were obtained from seven women with physiological singleton pregnancy without obstetric and gynecological pathology. The study was carried out at three time points corresponding to 8–13, 18–25, and 30–35 weeks of pregnancy, respectively. To assess the spectrum and levels of piRNA by the NGS method, whole genome sequencing of small RNAs was carried out. Sequencing data analysis was performed using the GeneGlobe Data Analysis Center web application. Differential expression was assessed using the DESeq2 R package.

Results and Discussion. The piRNA contents among all small RNAs were 2.29%, 2.61%, and 4.16% in plasma and 7.29%, 7.02%, and 10.82% in serum during the first, second, and third trimesters, respectively. The contents of the following piRNAs increased in blood plasma from the first to the third trimester: piR 000765, piR 020326, piR 019825, piR 020497, piR 015026, piR 001312, and piR 017716. The study showed that the levels of piR 000765, piR 020326, piR 019825, piR 015026, piR 020497, piR 001312, piR 017716, and piR 004153 were significantly higher in serum compared with the corresponding values in plasma whereas the content of only one molecule, piR 018849, was higher in plasma.

Conclusion. This pilot work created a basis for understanding the processes of piRNA expression in plasma and serum of pregnant women and can become the foundation for the search for biomarkers of various complications in pregnancy.

Keywords:	piRNA, pregnancy, plasma, serum, massive parallel sequencing.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	the study was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 19-75-20033).
Adherence to ethical standards:	informed consent was obtained from all patients. The study was approved by the Ethics Committee of D.O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynecology, and Reproduction (protocol No. 97 from 27.06.2019).
For citation:	Glotov A.S., Kozyulina P.Yu., Vashukova E.S., Illarionov R.A., Yurkina N.O., Pachulia O.V., Butenko M.G., Postnikova T.B., Bespalova O.N. Pilot study of changes in the level of piRNA in plasma and serum in women at different stages of physiological pregnancy. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2021;36(4):62–69. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-62-69 .

Введение

Исследование и поиск новых транскриптомных биомаркеров многофакторных заболеваний, включая большие акушерские синдромы, представляет интерес как для фундаментальной науки, так и для практической медицины. Однако, несмотря на длительную историю изучения, этиология и патогенез наиболее распространенных и тяжелых осложнений беременности остаются по-прежнему малопонятными.

Внедрение технологии секвенирования следующего поколения в различные аспекты биомедицины способствовало развитию интереса к малым некодирующим РНК в качестве перспективных молекулярных биомаркеров [1]. В настоящее время известно, что многие микроРНК определяют риск развития распространенных осложнений беременности, таких как, например, гестационный диабет [2] и преэклампсия [3, 4]. Про роль других классов малых некодирующих РНК в развитии гестационной патологии известно намного меньше. В то же время показано, что такой тип малых РНК, как рiРНК наиболее активен во время эмбриогенеза, когда непредсказуемые «перетасовки» генома особенно опасны и могут привести к гибели плода [5, 6].

Пилотные работы уже продемонстрировали перспективность использования рiРНК в качестве потенциального неинвазивного пренатального биомаркера

врожденных пороков развития и эффективности процессов имплантации [6, 7].

Несмотря на то, что основной функцией рiРНК (небольших молекул длиной 2135 нуклеотидов) является подавление активности транспозонов, регуляция экспрессии некоторых генов и «борьба» с вирусной инфекцией, ее роль в эмбриональном развитии остается открытой [5, 8].

Цель настоящего исследования: провести пилотный анализ спектра и оценить изменение уровня рiРНК в плазме и сыворотке крови женщин при физиологической беременности, включая ранние стадии развития плода, как первый шаг, необходимый для последующей оценки роли рiРНК в качестве биомаркера акушерской патологии.

Материал и методы

Формирование клинических групп и сбор образцов

Исследование было проведено на образцах биологического материала, полученных от женщин с физиологической одноплодной беременностью без акушерско-гинекологической патологии (преэклампсии, гестационного диабета и др.) и хронических заболеваний (гипертензии, сердечно-сосудистых заболеваний, диабета, гепатита, болезней почек и др.), таблица 1. Всего было собрано 42 образца плазмы и сыворотки крови от 7 пациенток в трех временных точках (первая – 813, вторая – 1825 и третья – 3035 нед. беременности).

Таблица 1. Основные характеристики исследуемой группы

Table 1. Main characteristics of the research group

Характеристики Characteristics	Исследуемая группа (n = 7) Research group (n = 7)
Характеристика матери Maternal characteristic	
Возраст, лет Age, years	32 (29–33)
Национальность Ethnicity	Русская, 7/7 Russian, 7/7
Вес, кг Weight, kg	64 (62–67)
Рост, м Height, m	1,70 (1,62–1,76)
Индекс массы тела, кг/м ² Body mass index, kg/m ²	24,5 (22,1–25,4)
Срок гестации во время сбора образцов Gestational age during sample collection	
Первый триместр, нед. The first trimester, weeks	11 (10–12)
Второй триместр, нед. The second trimester, weeks	22 (20–23)
Третий триместр, нед. The third trimester, weeks	32 (31–33)
Исход беременности Pregnancy outcome	
Способ родоразрешения Mode of delivery	Естественное родоразрешение / Кесарево сечение Vaginal delivery / Cesarean section
Гестационный возраст во время родов, нед. Gestational age at delivery, weeks	40 (39–41)
Вес плода, г Fetal weight, g	3500 (3200–3700)
Рост плода, см Fetal height, cm	52 (49–54)

Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» № 97 от 27.06.2019 г. Информированное согласие было подписано каждым участником до их включения в исследование и обработки личных и медицинских данных. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией.

Пробоподготовка

Образцы крови были взяты в стандартные 8 мл вакуумные пробирки с активатором свертывания крови (для сыворотки) и с K_2EDTA (для плазмы). Для получения сыворотки крови давали стугиться, оставляя ее нетронутой при комнатной температуре в течение 30 мин после сбора цельной крови, после чего стужок удаляли центрифугированием при 3000 г в течение 20 мин при +4 °С. Для получения плазмы пробирки с кровью центрифугировали при 1600 г в течение 10 мин при температуре +4 °С. Супернатант осторожно переносили в стерильную пробирку и снова центрифугировали при 2500 г в течение 10 мин при +4 °С, чтобы удалить остатки и нерастворимые компоненты клеток. После стадий центрифугирования образцы сыворотки или плазмы аликвотировали, помещали в криопробирки (LVL, Великобритания), замораживали и хранили при температуре –80 °С до дальнейшей обработки. Все процедуры с сывороткой и плазмой проводили параллельно в одно и то же время.

Выделение малых РНК и подготовка библиотек для секвенирования

Фракцию малых некодирующих РНК выделяли из 200 мкл плазмы или сыворотки, используя miRNeasy Serum/Plasma Kit (Qiagen, Германия), в соответствии с инструкцией. РНК растворяли в 12 мкл RNase-free воды и затем хранили при температуре –80 °С до момента подготовки библиотек для секвенирования.

Для создания образцов кДНК использовали набор реагентов QIAseq miRNA Library Kit (Qiagen, Германия), рекомендованный для приготовления библиотек с целью последующего полногеномного секвенирования.

Для оценки качества полученных кДНК-библиотек (размера, количества, концентрации) использовали прибор 2200 Tape Station Instrument с набором реагентов High Sensitivity D1K ScreenTape and High Sensitivity D1K Reagents (Agilent Technologies, США). Количество библиотек, необходимой для секвенирования, определяли в соответствии с инструкцией производителя набора miRNeasy Serum/Plasma Kit (Qiagen, Германия).

NGS секвенирование

Библиотеки были просеквенированы на приборе HiSeq 2500 (Illumina, США) с прочтениями в одну сторону на 75 п.о. в соответствии с протоколом производителя.

Анализ данных секвенирования

Анализ данных секвенирования малых РНК, включая «обрезку» адаптеров и картирование, осуществляли с использованием веб-программы GeneGlobe Data Analysis Center (<https://geneglobe.qiagen.com/us/analyze>). Среднее количество прочтений по типам РНК в плазме и сыворотке рассчитывали отдельно по группам (7 образцов на группу). Анализ дифференциальной экспрессии между двумя группами образцов с различными фенотипами проводили с помощью пакета DESeq2 R package [9], используя поправку на парные образцы и триместры. Ста-

тистически значимыми отличия в уровне рiPHK считали при $p < 0,05$ и абсолютном значении $\log_2(\text{fold change}) > 2$. Коррекцию p -значений при множественных сравнениях проводили с помощью алгоритма FDR по методу Бенъямини – Хохберга [10].

Анализ клинических данных

Для обработки клинических данных использовали пакет программ STATISTICA 10.0 (StatSoft, США). Непрерывные переменные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка.

Результаты и обсуждение

В настоящей работе впервые изучен спектр и изменение уровня рiPHK в крови беременной на протяжении всего периода гестации. Такой подход позволяет не только изучать новые механизмы, связанные с особенностями развития плода, и оценивать состояние здоровья беременной женщины, но и является важным элементом для сравнительной оценки эффективности молекулярных биомаркеров, которые будут выявлены при изучении различной патологии беременности в будущем.

Для оценки спектра и изменения рiPHK на уровне транскриптома был использован метод полногеномного секвенирования. Данный метод позволяет оценивать все разнообразие малых РНК и их количество, которое может быть обнаружено в биологическом образце с наибольшей чувствительностью [11]. Для исследования нами были выбраны два типа биологического материала – плазма и сыворотка венозной крови, из которых наиболее просто получить биологические образцы для исследования.

Всего было просеквенировано 42 библиотеки кДНК (по 21 на каждую биологическую жидкость). В результате секвенирования из образцов плазмы и сыворотки было получено 34 013 380 и 32 981 722 прочтений (просеквенированных фрагментов ДНК) в первом, 38 145 207 и 34 342 265 во втором, 38 391 138 и 33 991 358 в третьем триместре соответственно. Процент картированных на геном человека (hg19) прочтений составил 46,7; 50,7 и 42,5% для плазмы, 45,5; 41,3 и 44,1% – для сыворотки в первом, втором и третьем триместре соответственно. МикроРНК были выявлены в качестве наибольшей фракции среди всех малых РНК на всех стадиях беременности и в обеих биологических жидкостях, и их общее содержание превысило 65% для плазмы и 46% – для сыворотки. Процент рiPHK среди всех малых РНК составил 2,29; 2,61 и 4,16% для плазмы, 7,29; 7,02 и 10,82% – для сыворотки в первом, втором и третьем триместре соответственно. Необходимо отметить увеличение процента содержания данного класса РНК среди прочих к третьему триместру беременности и большую долю рiPHK в сыворотке крови (превышающую соответствующую в плазме в 2,5–3 раза).

В общем, 73 известных рiPHK были обнаружены в плазме и сыворотке крови после фильтрации по уровню экспрессии (суммарно не менее 10 прочтений на все образцы) в первом триместре, 84 рiPHK – во втором триместре и 68 рiPHK – в третьем триместре беременности соответственно. Среди наиболее представленных рiPHK в плазме беременных на протяжении всего периода гестации были следующие: piR 008113, piR 008112, piR 000765, piR 020381, piR 016658, piR 019675, тогда как в сыворотке наиболее часто встречались рiPHK: piR 000765, piR 020326, piR 008113, piR 008112, piR 020381, piR 019675.

Далее нами было проведено сравнение спектра piRNA между разными триместрами беременности. Статистически значимые отличия были выявлены только для образцов плазмы. От первого триместра к третьему увеличивалось содержание следующих piRNA: piR 000765, piR 020326, piR 019825, piR 020497, piR 015026, piR 001312, piR 017716 ($\log_2 > 2,33$, $p \text{ adj} < 3,92 \cdot 10^{-2}$). От первого триместра ко второму уменьшалось содержание только одной piRNA: piR 019825 ($\log_2 = -15,65$, $p \text{ adj} = 2,90 \cdot 10^{-22}$), в то время как от второго триместра к третьему содержание данной piRNA росло, увеличилось содержание и других piRNA: piR 000765, piR 020326, piR 020497, piR 001312, piR 015026 ($\log_2 > 3,13$, $p \text{ adj} < 1,74 \cdot 10^{-2}$). Данные различия могут быть связаны с развитием плаценты и повышением уровня содержания плацентарной фракции нуклеиновых кислот в крови беременной во время гестации.

После было проведено сравнение общего содержания piRNA в плазме и сыворотке. Было обнаружено, что в сыворотке значительно больше представлены следующие piRNA: piR 000765, piR 020326, piR 019825, piR 015026, piR 020497, piR 001312, piR 017716, piR 004153, ($\log_2 > 2,76$, $p \text{ adj} < 5,25 \cdot 10^{-3}$), и только одна молекула – piR 018849 – была больше представлена в плазме по сравнению с сывороткой ($\log_2 = -15,65$, $p \text{ adj} = 2,90 \cdot 10^{-22}$). Отличия в количестве прочтений piRNA между сывороткой и

плазмой согласуются с работами других авторов [12]. Сыворотка представляет собой более привлекательный тип биоматериала, так как количество piRNA больше, соответственно, затрат на секвенирование будет меньше, но в то же время профиль piRNA в плазме разнообразнее, что делает ее более информативной для отслеживания изменения уровня экспрессии. Различия в концентрации piRNA в сыворотке и плазме могут быть связаны с загрязнением тромбоцитами, эритроцитами или лейкоцитами, влиянием гемолиза или присутствием ингибиторов реакции обратной транскрипции [13]. Учитывая данный факт, необходимо отметить большое значение в динамической оценке биомаркеров в определенном типе биоматериала при проведении исследований и не сравнивать полученные данные из разного биоматериала между собой. Проведенное нами исследование по сбору различных типов биоматериала от одного пациента позволяет расширить потенциальные возможности будущих исследований [14].

Уровень экспрессии piRNA (количество прочтений после нормализации с помощью пакета DESeq2 R package) по триместрам беременности в плазме и сыворотке крови представлен на рисунке 1 и в таблице 2. Нужно отметить, что среди этих piRNA присутствуют почти все те молекулы, для которых были обнаружены статистически значимые отличия между триместрами беременности в плазме крови.

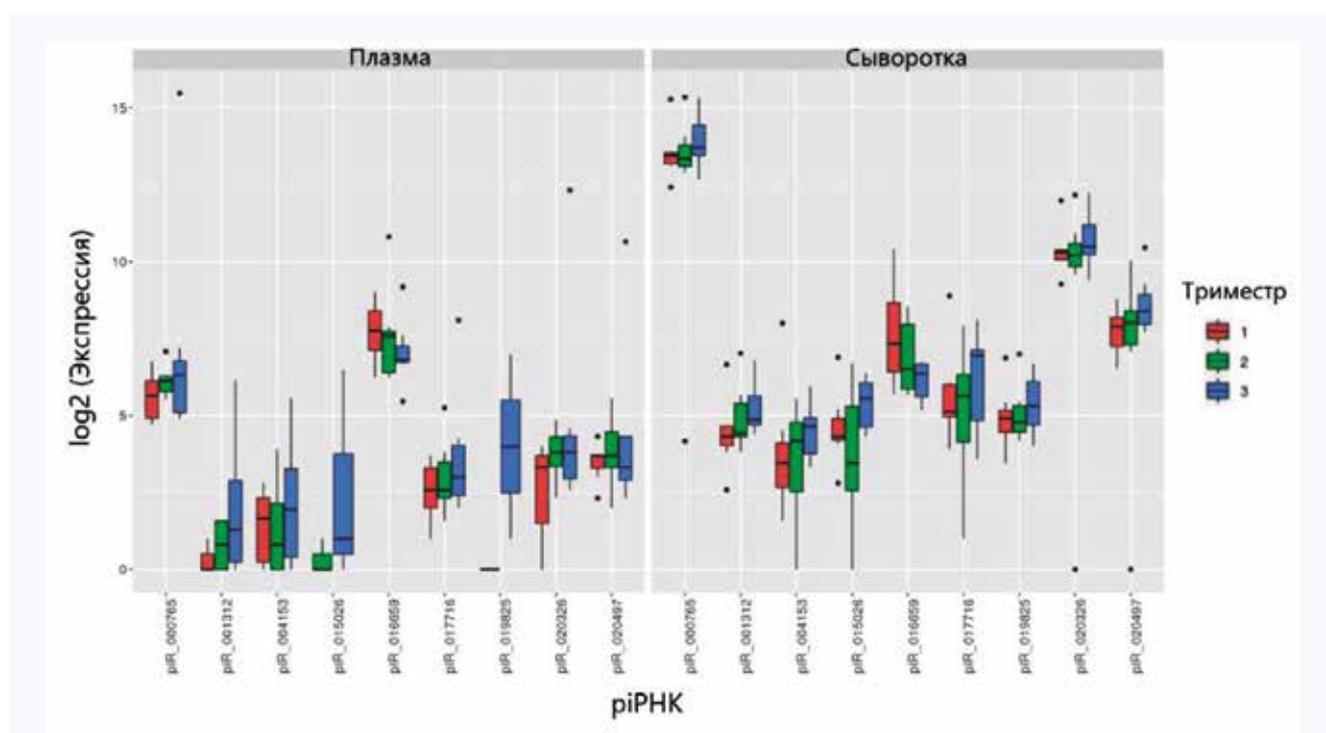


Рис. 1. Уровень piRNA в образцах сыворотки и плазмы на разных сроках гестации
Fig. 1. The piRNA levels in serum and plasma samples at different stages of gestation

Крайне интересными для дальнейших исследований являются следующие piRNA: piR 000765, piR 020326, piR 019825, piR 001312, piR 020497. piR 000765 – наиболее представленная piRNA в обоих типах биологического материала. Более того, показано, что уровень данной piRNA меняется в плазме с первого по третий триместр. Извест-

но, что данная молекула может синтезироваться с tRNA (встроена в нее), ее экспрессия повышается при раке груди [15]. Известны и гены-мишени данной piRNA: *SCN2B*, *SH3TC2*, *SEMA6D*, *SLC16A4*, *SYNPO*, *TMTC1*, *TSHZ2*, *TIFA*, *TRPM3*, *WFIKNN2*, *ZSCAN12*, *UBQLNL*, *APCDD1*, *CNR1*, *CES2*, которые регулируют Wnt-сигнальный путь.

Таблица 2. Уровень экспрессии piРНК по триместрам беременности в плазме и сыворотке крови**Table 2.** The level of piRNA expression by trimesters of pregnancy in plasma and serum

piРНК	Плазма Plasma			Сыворотка Serum		
	Первый триместр Trimester 1	Второй триместр Trimester 2	Третий триместр Trimester 3	Первый триместр Trimester 1	Второй триместр Trimester 2	Третий триместр Trimester 3
piR 000765	50 (30,5–70,5)	70 (55,5–77)	80 (34,5–114)	11206 (9306–11953,5)	10404 (8858–14399)	13333 (11309–22901)
piR 001312	0 (0–1)	1 (0–2)	2 (1–6,5)	20 (16,5–25)	20 (17–37)	29 (26–50,5)
piR 004153	2 (1–5)	1 (1–4)	3 (1–8,5)	11 (6,5–18)	18 (7–27,5)	25 (13,5–30,5)
piR 015026	0	0 (0–1)	0 (0–1,5)	20 (18,5–30,5)	11 (6–45)	47 (25–67)
piR 016659	217 (148–363)	192 (84,5–214)	113 (106,5–157,5)	162 (90,5–470)	91 (58–258,5)	82 (49,5–102)
piR 017716	6 (4–10)	6 (5–11,5)	8 (5,5–16,5)	35 (31–64)	50 (20,5–84,5)	124 (30–139,5)
piR 019825	0	0	0 (0–1)	30 (22–36,5)	25 (19,5–37)	40 (26–69)
piR 020326	10 (3–13)	14 (10,5–20)	14 (8–20,5)	1269 (1069,5–1325)	1182 (936–1578)	1445 (1201,5–2453,5)

piR 020326 также является одной из наиболее представленных РНК в сыворотке крови. Уровень ее меняется с первого по третий триместр. Показано, что она участвует в регуляции сигнального пути MAPK-киназы [16].

piR 019825 является низко представленной РНК. Однако именно ее уровень меняется во всех триместрах беременности в плазме крови. Являются ли эти данные точной закономерностью или артефактом, сказать сложно. В исследовании выявлено небольшое число прочтений, соответствующих данной piРНК. В других работах, напротив, показано, что данная piРНК встречается во многих биологических жидкостях [17]. В плазме она составляет 15–30% всех РНК данного класса. В моче ее количество достигает 50% [14]. piR 019825 ассоциирована с колоректальным раком (у женщин при колоректальном раке уровень данной piРНК в плазме крови выше, чем у мужчин) [18]. Кроме того, было выявлено, что у курильщиков piR 019825 в экзосомах, полученных из плазмы, имеет статистически значимо более высокий уровень, чем у некурящих [19]. Ее пониженный уровень в материнской плазме связывают с риском эмбриональных нарушений – хейлосхизисом (заячья губы) [6].

piR 001312 является одной из немногих РНК, которая начинает активно экспрессироваться в плазме крови в третьем триместре. Однако о роли данной РНК мало что известно.

Наиболее интересная piРНК – это piR 020497. Она является не только меняющейся от первого к третьему триместру беременности, но и, как было показано ранее, вносит существенный вклад в процессы имплантации [7, 20].

В нашем исследовании мы обнаружили 5 piРНК, участвующих в процессе развития беременности: piR 000765, piR 020326, piR 019825, piR 001312, piR 020497. Как было представлено, все они играют определенную роль в регуляции физиологических процессов, происходящих в том числе и при беременности [6, 7, 20]. piРНК наряду с уже более изученными miРНК могут стать крайне интересными биомаркерами различных осложнений беременности, но для этого необходимы дальнейшие исследования.

Заключение

Несмотря на то, что piРНК активно изучаются уже более 10 лет, сегодня имеется немного информации о роли данного класса малых некодирующих РНК в оценке риска многофакторных заболеваний. Более того, существуют лишь отрывочные сведения об особенностях экспрессии этих молекул при эмбриональном развитии человека. Мы полагаем, что настоящая пилотная работа создает определенный базис для понимания процессов экспрессии piРНК в плазме и сыворотке беременных женщин и может стать основой для поиска биомаркеров различных осложнений беременности.

Литература / References

1. Watson C.N., Belli A., Di Pietro V. Small non-coding RNAs: New class of biomarkers and potential therapeutic targets in neurodegenerative disease. *Front. Genet.* 2019;10:364. DOI: 10.3389/fgene.2019.00364.
2. Guarino E., Delli Poggi C., Grieco G.E., Cenci V., Ceccarelli E., Crisci I. et al. Circulating microRNAs as biomarkers of gestational diabetes mellitus: Updates and perspectives. *Int. J. Endocrinol.* 2018;2018:6380463. DOI: 10.1155/2018/6380463.
3. Vashukova E.S., Glotov A.S., Fedotov P.V., Efimova O.A., Pakin V.S., Mozgovaya E.V. et al. Placental microRNA expression in pregnancies complicated by superimposed preeclampsia on chronic hypertension. *Mol. Med. Rep.* 2016;14(1):22–32. DOI: 10.3892/mmr.2016.5268.
4. Hromadnikova I., Kottabova K., Ivankova K., Krofta L. First trimester screening of circulating C19MC microRNAs and the evaluation of their potential to predict the onset of preeclampsia and IUGR. *PLoS One.* 2017;12(2):e0171756. DOI: 10.1371/journal.pone.0171756.
5. Rayford K.J., Cooley A., Rumph J.T., Arun A., Rachakonda G., Villalt F. et al. piRNAs as modulators of disease pathogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(5):2373. DOI: 10.3390/ijms22052373.
6. Jia S., Zhang Q., Wang Y., Wang Y., Liu D., He Y. et al. PIWI-interacting RNA sequencing profiles in maternal plasma-derived exosomes reveal novel non-invasive prenatal biomarkers for the early diagnosis of non-syndromic cleft lip and palate. *EBioMedicine.* 2021;65:103253. DOI: 10.1016/j.ebiom.2021.103253.
7. Timofeeva A.V., Chagovets V.V., Drapkina Y.S., Makarova N.P., Kalinina E.A., Sukhikh G.T. Cell-free, embryo-specific sncRNA as a molecular biological bridge between patient fertility and IVF efficiency. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(12):2912. DOI: 10.3390/ijms20122912.
8. Жарикова А.А., Миронов А.А. PiРНК: биология и биоинформатика. *Молекулярная биология.* 2016;50(1):80–88. DOI: 10.7868/S0026898416010225. Zharikova A.A., Mironov A.A. PiRNAs: Biology and bioinformatics. *Molecular Biology.* 2016;50(1):69–76 (In Russ.). DOI: 10.7868/S0026898416010225.

9. Love M.I., Huber W., Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 2014;15(12):550. DOI: 10.1186/s13059-014-0550-8.
10. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: A practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*. 1995;57(1):289–300. DOI: 10.2307/2346101.
11. Veneziano D., Nigita G., Ferro A. Computational approaches for the analysis of ncRNA through deep sequencing techniques. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2015;3:77. DOI: 10.3389/fbioe.2015.00077.
12. Yang X., Cheng Y., Lu Q., Wei J., Yang H., Gu M. Detection of stably expressed piRNAs in human blood. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2015;8(8):13353–13358.
13. Mompeón A., Ortega-Paz L., Vidal-Gómez X., Costa T.J. Disparate miRNA expression in serum and plasma of patients with acute myocardial infarction: a systematic and paired comparative analysis. *Sci. Rep.* 2020;10(1):5373. DOI: 10.1038/s41598-020-61507-z.
14. Илларионов Р.А., Косякова О.В., Вашукова Е.С., Юркина Н.О., Баклейчева М.О., Долгова Ю.С. и др. Особенности создания коллекции образцов беременных женщин на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров преждевременных родов. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19(6):2708. DOI: 10.15829/1728-8800-2020-2708.
Illarionov R.A., Kosyakova O.V., Vashukova E.S., Yurkina N.O., Bakleicheva M.O., Dolgova Yu.S. et al. Collection of samples from women at different stages of pregnancy to search for early biomarkers of preterm birth. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(6):2708 (In Russ.). DOI: 10.15829/1728-8800-2020-2708.
15. Krishnan P., Ghosh S., Wang B., Heyns M., Li D., Mackey J.R. et al. Genome-wide profiling of transfer RNAs and their role as novel prognostic markers for breast cancer. *Sci. Rep.* 2016;6:32843. DOI: 10.1038/srep32843.
16. Wang A., Liu J., Zhuang X., Yu S., Zhu S., Liu Y. et al. Identification and comparison of piRNA expression profiles of exosomes derived from human stem cells from the apical papilla and bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev.* 2020;29(8):511–520. DOI: 10.1089/scd.2019.0277.
17. El-Mogy M., Lam B., Haj-Ahmad T.A., McGowan S., Yu D., Nosal L. et al. Diversity and signature of small RNA in different bodily fluids using next generation sequencing. *BMC Genomics*. 2018;19(1):408. DOI: 10.1186/s12864-018-4785-8.
18. Yuan T., Huang X., Woodcock M., Du M., Dittmar R., Wang Y. et al. Plasma extracellular RNA profiles in healthy and cancer patients. *Sci. Rep.* 2016;6:19413. DOI: 10.1038/srep19413.
19. Singh K.P., Maremanda K.P., Li D., Rahman I. Exosomal microRNAs are novel circulating biomarkers in cigarette, waterpipe smokers, E-cigarette users and dual smokers. *BMC Med. Genomics*. 2020;13(1):128. DOI: 10.1186/s12920-020-00748-3.
20. Timofeeva A., Drapkina Y., Fedorov I., Chagovets V., Makarova N., Shamina M. et al. Small noncoding RNA signatures for determining the developmental potential of an embryo at the morula stage. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(24):9399. DOI: 10.3390/ijms21249399.

Благодарности

Исследование проведено при поддержке гранта РФФИ № 19-75-20033. Работа выполнена с использованием УНУ «Биоколлекция образцов пациентов с акушерскими, гинекологическими и репродуктивными заболеваниями» ФГБНУ «НИИ АГИР им. Д.О. Отта», часть задач исследования реализована с помощью инфраструктуры ПЦ «Центр Биобанк» Научного парка Санкт-Петербургского государственного университета.

Информация о вкладе авторов

Глотов А.С., Козюлина П.Ю., Вашукова Е.С. – дизайн исследования.
Глотов А.С., Козюлина П.Ю., Илларионов Р.А. – анализ данных, подготовка рисунков, написание статьи.

Пачулия О.В., Бутенко М.Г., Постникова Т.Б. – сбор биоматериала.
Илларионов Р.А., Юркина Н.О. – выделение малых РНК, подготовка библиотек, проверка качества библиотек.

Илларионов Р.А., Вашукова Е.С. – секвенирование малых РНК.

Козюлина П.Ю. – биоинформатический анализ данных.

Беспалова О.Н. – редактирование статьи.

Все авторы дали окончательное согласие на подачу рукописи и согласились нести ответственность за все аспекты работы, ручаясь за их точность и безупречность.

Information on author contributions

Glotov A.S., Kozulina P.Yu., Vashukova E.S. – study design.

Glotov A.S., Kozulina P.Yu., Illarionov R.A. – data analysis, creation of figures, and writing the manuscript.

Pachuliiia O.V., Butenko M.G., Postnikova T.B. – sampling of biomaterial.
Illarionov R.A., Yurkina N.O. – performance of small RNA isolation, library preparation, and quality control of samples.

Illarionov R.A., Vashukova E.S. – small RNA sequencing.

Kozulina P.Yu. – bioinformatical data analysis.

Bespalova O.N. – contribution to study concept and revision of the manuscript.

All authors have given their final consent to the submission of the manuscript and agreed to be responsible for all aspects of work, vouching for their accuracy and flawlessness.

Сведения об авторах

Глотов Андрей Сергеевич, д-р биол. наук, руководитель отдела геномной медицины, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта; заведующий лабораторией биобанкинга и геномной медицины, Санкт-Петербургский государственный университет. ORCID 0000-0002-7465-4504.

E-mail: anglotov@mail.ru.

Козюлина Полина Юрьевна, биолог, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта; младший научный сотрудник, Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии. ORCID 0000-0001-8520-3445.

E-mail: polykoz@gmail.com.

Илларионов Роман Арионович, аспирант, Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет); специалист, ПЦ «Центр Биобанк» Научного парка, Санкт-Петербургский государственный университет; младший научный сотрудник, лаборатория геномики и биоресурсных коллекций, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта. ORCID 0000-0003-2711-748X.

E-mail: r.a.illarionov@gmail.com.

Information about the authors

Andrey S. Glotov, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Department of Genomic Medicine, D. O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynecology, and Reproduction; Head of the Laboratory of Biobanking and Genomic Medicine, St. Petersburg State University. ORCID 0000-0002-7465-4504.

E-mail: anglotov@mail.ru.

Polina Yu. Kozulina, Biologist, D. O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynecology, and Reproduction; Junior Research Scientist, All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology. ORCID 0000-0001-8520-3445.

E-mail: polykoz@gmail.com.

Roman A. Illarionov, Postgraduate Student, St. Petersburg State Institute of Technology; Specialist, RC Center Biobank, Science Park, St. Petersburg State University; Junior Research Scientist, D. O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynecology, and Reproduction. ORCID 0000-0003-2711-748X.

E-mail: r.a.illarionov@gmail.com.

Elena S. Vashukova, Research Scientist, D. O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynecology, and Reproduction. ORCID 0000-0002-6996-8891.

E-mail: vi_lena@list.ru

Вашукова Елена Сергеевна, научный сотрудник, лаборатория геномики и биоресурсных коллекций, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта. ORCID 0000-0002-6996-8891.

E-mail: vi_lena@list.ru.

Юркина Наталья Олеговна, младший научный сотрудник, лаборатория геномики и биоресурсных коллекций, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта. ORCID 0000-0002-5515-5363.

E-mail: yurkina.natali1002@gmail.com.

Пачулия Ольга Владимировна, врач акушер-гинеколог, научный сотрудник, лаборатория геномики и биоресурсных коллекций, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта. ORCID 0000-0003-4116-0222.

E-mail: for.olga.kosyakova@gmail.com.

Бутенко Мария Геннадьевна, клинический ординатор, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта. ORCID 0000-0002-1404-371X.

E-mail: butenkomariabutenko@gmail.com.

Постникова Татьяна Борисовна, врач акушер-гинеколог, женская консультация, Родильный дом № 10; младший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта. ORCID 0000-0002-1664-7103.

E-mail: ptb20@mail.ru.

Беспалова Олеся Николаевна, заместитель директора по научной работе, Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта. ORCID 0000-0002-6542-5953.

E-mail: sheggerra@mail.ru.

 **Глотов Андрей Сергеевич**, e-mail: anglotov@mail.ru.

Natalia O. Yurkina, Junior Research Scientist, D. O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynecology, and Reproduction. ORCID 0000-0002-5515-5363.

E-mail: yurkina.natali1002@gmail.com.

Olga V. Pachulia, Obstetrician-Gynecologist, Research Scientist, Laboratory of Genomics and Bioresource Collection, D. O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynecology, and Reproduction. ORCID 0000-0003-4116-0222.

E-mail: for.olga.kosyakova@gmail.com.

Maria G. Butenko, Clinical Resident, D. O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynecology, and Reproduction. ORCID 0000-0002-1404-371X.

E-mail: butenkomariabutenko@gmail.com.

Tatyana B. Postnikova, Obstetrician-Gynecologist, Antenatal clinic, Maternity Hospital No. 10; Junior Research Scientist, D. O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynecology, and Reproduction. ORCID 0000-0002-1664-7103.

E-mail: ptb20@mail.ru.

Olesya N. Bepalova, Dr. Sci. (Med.), Deputy Director for Research, D. O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynecology, and Reproduction. ORCID 0000-0002-6542-5953.

E-mail: sheggerra@mail.ru.

 **Andrey S. Glotov**, e-mail: anglotov@mail.ru.

Received May 13, 2021

Поступила 13.05.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-70-77>
УДК 575.174.015.3:616.127-005.4

Полиморфизм митохондриальной ДНК и ишемия миокарда: ассоциация гаплогруппы Н с сердечной недостаточностью

М.В. Голубенко¹, Т.В. Шумакова¹, О.А. Макеева¹, Н.В. Тарасенко¹,
Р.Р. Салахов¹, В.М. Шипулин², М.С. Назаренко¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук,
634050, Российская Федерация, Томск, наб. реки Ушайки, 10

² Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук,
634012, Российская Федерация, Томск, ул. Киевская, 111а

Аннотация

Патогенез атеросклероза и ишемической болезни сердца (ИБС) в значительной мере связан с окислительным стрессом и дисфункцией митохондрий. Митохондриальная ДНК, характеризующаяся высоким уровнем полиморфизма в популяциях человека, кодирует субъединицы дыхательной цепи митохондрий. Таким образом, митохондриальная ДНК может рассматриваться как кандидатный локус предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям.

Цель исследования: провести анализ ассоциаций полиморфизма митохондриального генома с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) у пациентов с ИБС.

Материал и методы. Исследование проведено в двух группах индивидов: в группе пациентов с сочетанием ИБС и ХСН (175 человек) и в популяционной выборке жителей г. Томска (424 человека). Пациенты со II, III и IV функциональным классом ХСН, согласно классификации NYHA, составили 37, 50 и 13% соответственно. У всех пациентов проведено эхокардиографическое обследование, определен индекс массы тела и содержание липидных фракций в сыворотке крови. Средний возраст в группе пациентов составил 55,4 года, в популяционной выборке – 47,6 лет. Полиморфизм мтДНК изучали с помощью секвенирования гипервариабельного сегмента D-петли мтДНК и последующей классификации гаплотипов мтДНК по известным гаплогруппам. Сравнение частот гаплогрупп мтДНК в выборках проводили с помощью критерия χ^2 . Анализ ассоциаций генотипа с изменчивостью количественных признаков осуществляли с помощью дисперсионного анализа.

Результаты. У пациентов мужского пола выявлена более высокая по сравнению с популяцией частота гаплогруппы Н (45,86% – в группе пациентов и 35,4% – в популяции), а также суммарная частота ее подгрупп за вычетом наиболее частой подгруппы Н1 (36,94 и 25,22% соответственно). Для гаплогруппы Н в целом уровень значимости различий $p = 0,04$; отношение шансов OR = 1,55 (95% доверительный интервал (ДИ) 1,02–2,34). Для гаплогруппы Н без подгруппы Н1 $p = 0,02$; OR = 1,74 (95% ДИ 1,12–2,70). Анализ количественных признаков выявил ассоциацию того же генетического маркера (гаплогруппа Н мтДНК) с уровнем липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) ($p = 0,03$) и уровнем триглицеридов (ТГ) ($p = 0,02$) в сыворотке крови у мужчин в популяционной выборке.

Заключение. Полученные результаты показывают, что принадлежность мтДНК к самой частой «европейской» гаплогруппе Н у мужчин может являться фактором риска для осложненного течения ИБС.

Ключевые слова:

ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недостаточность, митохондриальная ДНК, генетический полиморфизм.

Конфликт интересов:

авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность финансовой деятельности:

исследование проведено в рамках Программы фундаментальных научных исследований РАН при частичной поддержке гранта РФФИ № 19-04-01322-А. Исследование выполнено с использованием образцов ДНК из биобанка «Биобанк населения Северной Евразии» и оборудования Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Голубенко Мария Владимировна, e-mail: maria.golubenko@medgenetics.ru.

Соответствие принципам этики:	информированное согласие получено от каждого пациента. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ (протокол № 2 от 26.03.2013 г.).
Для цитирования:	Голубенко М.В., Шумакова Т.В., Макеева О.А., Тарасенко Н.В., Салахов Р.Р., Шипулин В.М., Назаренко М.С. Полиморфизм митохондриальной ДНК и ишемия миокарда: ассоциация гаплогруппы H с сердечной недостаточностью. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2021;36(4):70–77. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-70-77 .

Mitochondrial DNA polymorphism and myocardial ischemia: Association of haplogroup H with heart failure

Maria V. Golubenko¹, Tatyana V. Shumakova¹, Oksana A. Makeeva¹,
Nataliia V. Tarasenko¹, Ramil R. Salakhov¹, Vladimir M. Shipulin²,
Maria S. Nazarenko¹

¹ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 10, Nab. Ushaiki, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russian Federation

Abstract

The pathogenesis of atherosclerosis and ischemic heart disease is associated with oxidative stress and mitochondrial dysfunction. Mitochondrial DNA encodes subunits of mitochondrial respiratory chain and is highly polymorphic in human populations. Mitochondrial DNA can be considered a candidate genetic locus for predisposition to cardiovascular diseases.

Aim. To analyze the associations of the mitochondrial genome polymorphism and chronic heart failure in ischemic heart disease.

Material and Methods. The study included two groups of individuals: patients with a combination of ischemic heart disease and chronic heart failure ($n = 175$) and a population sample of residents of Tomsk ($n = 424$). Percentages of patients with chronic heart failure of NYHA classes II, III, and IV were 37%, 50%, and 13%, respectively. All patients underwent echocardiographic examination; body mass index and the lipid fractions in blood serum were determined. The average was 55.4 years in patients and 47.6 years in the population sample. Polymorphism of mtDNA was studied by sequencing the hypervariable segment of D-loop of mtDNA and subsequent classification of mtDNA haplotypes into the known haplogroups. The mtDNA haplogroup frequencies were compared between the samples using the Chi-square test. The associations of genotype with quantitative trait variability were analyzed by variance analysis.

Results. Male patients showed a higher frequency of haplogroup H compared to the population (45.86% in patients and 35.4% in population) and a higher total frequency of haplogroup H subgroups except the most frequent subgroup H1 (36.94% and 25.22%, respectively). The values of significance level (p -value) and odds ratio (OR) were determined as follows: $p = 0.04$; odds ratio OR = 1.55 (95% confidence interval (CI) 1.02–2.34) for haplogroup H as a whole; $p = 0.02$; OR = 1.74 (95% CI 1.12–2.70) for haplogroup H without subgroup H1. Analysis of quantitative traits revealed the associations of the same genetic marker (mtDNA haplogroup H) with the levels of high-density lipoproteins ($p = 0.03$) and triglycerides ($p = 0.02$) in blood serum of men in the population sample.

Conclusion. The obtained results suggested that the most frequent European mtDNA haplogroup H may be a risk factor for the complications of ischemic heart disease in men.

Keywords:	ischemic heart disease, chronic heart failure, mitochondrial DNA, genetic polymorphism.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	the study was performed in a framework of Basic Research Program of the Russian Academy of Sciences and was supported, in part, by RFBR grant to the project No. 19-04-01322-A. The study was performed using DNA samples from the biocollection “Biobank of the North Eurasia population” and equipment of the Core Facility “Medical Genomics” in the Research Institute of Medical Genetics of Tomsk NRMС.

Adherence to ethical standards:	informed consent was obtained from all patients. The study was approved by the Ethics Committee of Research Institute of Medical Genetics of Tomsk NRMС (protocol No. 2 from 26.03.2013).
For citation:	Golubenko M.V., Shumakova T.V., Makeeva O.A., Tarasenko N.V., Salakhov R.R., Shipulin V.M., Nazarenko M.S. Mitochondrial DNA polymorphism and myocardial ischemia: Association of haplogroup H with heart failure. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2021;36(4):70–77. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-70-77 .

Введение

Исследование генетической основы многофакторных заболеваний представляет собой сложную проблему, в первую очередь, из-за высокой гетерогенности как со стороны фенотипа, так и со стороны генотипа, а также из-за того, что в формировании подверженности многофакторным болезням ненаследственные факторы (окружающая среда и образ жизни) играют не меньшую роль, чем генотип. Тем не менее исследования в этой области идентифицируют все новые гены и генные варианты, влияющие на риск развития отдельных фенотипов и их сочетаний. Каждый из этих вариантов обычно имеет небольшой эффект, однако их совместное использование в мультигенных шкалах оценки риска помогает выявить индивидов со значительно повышенным наследственно обусловленным риском развития заболевания [1].

В патогенезе заболеваний сердечно-сосудистого континуума, в частности атеросклероза, существенную роль играет окислительный стресс, который, в свою очередь, возникает как результат действия различных физиологических факторов, одним из которых является производство активных форм кислорода в митохондриях. Окислительный стресс может приводить к эндотелиальной дисфункции, развитию атеросклероза и ишемической болезни сердца (ИБС) [2–4]. Митохондриальный геном кодирует белки комплексов дыхательной цепи и, соответственно, задействован в фундаментальных процессах энергетического обмена. Таким образом, митохондриальная ДНК может рассматриваться как кандидатный локус предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям. Высокий уровень полиморфизма мтДНК в популяциях и его географическая дифференциация, а также особенности митохондриальной генетики, такие как наследование по материнской линии и многокопийность митохондриального генома, усложняют задачу поиска функционально значимых вариантов. Наследование мтДНК по материнской линии в отсутствие рекомбинации приводит к последовательному накоплению мутаций в гаплотипах, что позволяет построить родословное (филогенетическое) древо этих гаплотипов. Отдельные ветви этого древа обозначены как гаплогруппы. Генотипирование мтДНК позволяет локализовать индивидуальные гаплотипы на родословном древе мтДНК человека, и принадлежность мтДНК индивида к какой-либо гаплогруппе означает, что она несет набор вариантов по сравнению с предковой последовательностью мтДНК, характерных для всех мтДНК этой гаплогруппы.

Цель исследования: анализ ассоциаций полиморфизма митохондриального генома с таким патологическим фенотипом сердечно-сосудистого континуума, как хроническая сердечная недостаточность (ХСН) у пациентов с ИБС.

Материал и методы

Группа 175 пациентов с сочетанием ИБС и ХСН ниже II класса по классификации NYHA (New York Heart Association) была сформирована по мере поступления больных на оперативное лечение в отделение сердечно-сосудистой хирургии НИИ кардиологии Томского НИМЦ. Диагноз ИБС ставили на основании результатов клинично-инструментального обследования в соответствии с критериями Всемирной организации здравоохранения. В выборке преобладали мужчины (90%), средний возраст составил $55,4 \pm 7,8$ лет. У 94% пациентов в анамнезе были перенесенные инфаркты миокарда (один или несколько). Аортокоронарное шунтирование (АКШ) проведено у 87% пациентов, в том числе АКШ в сочетании с резекцией аневризмы левого желудочка – у 31% пациентов. У 50% пациентов выявлена ХСН III функционального класса, у 37% – ХСН II функционального класса, у 13% – ХСН IV функционального класса. У 41% пациентов был диагностирован сахарный диабет 2-го типа, 86% пациентов имели дислипидемию, 82% – артериальную гипертензию. У всех пациентов проведено эхокардиографическое обследование, определены индекс массы тела и содержание липидных фракций в сыворотке крови.

В качестве контрольной группы была использована популяционная выборка, сформированная из жителей г. Томска в возрасте от 22 до 74 лет численностью 424 человека (средний возраст – 47 ± 10 лет, 54% мужчин и 46% женщин). Выборка сформирована на основе образцов из биобанка НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ «Биобанк населения Северной Евразии». У всех индивидов было проведено эхокардиографическое исследование, определены липидный спектр в сыворотке крови и уровень глюкозы натощак, рассчитан индекс массы тела, измерено артериальное давление.

Исследование одобрено этическим комитетом НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ (протокол № 2 от 26.03.2013 г.).

Для определения и классификации генотипа мтДНК осуществляли секвенирование первого гипервариабельного сегмента D-петли мтДНК (позиции 16024–16400 по референсной последовательности) методом Сэнгера на автоматическом ДНК-анализаторе (Life Technologies) в центре коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского НИМЦ. Реакцию секвенирования проводили с набором флуоресцентно меченных ddNTP (Big Dye Terminators v.3.1 RR kit) по протоколу производителя (Life Technologies). После этого выполняли сравнение последовательностей ДНК обследованных индивидов с референсной последовательностью митохондриального генома человека [5] и на основе отличий от референсной последовательности определяли принадлежность выявленных гаплотипов мтДНК (митотипов) к отдельным

гаплогруппам мтДНК в соответствии с принятой классификацией мтДНК [6]. Затем осуществляли генотипирование отдельных полиморфных сайтов мтДНК, приводящих к изменению сайтов рестрикции для эндонуклеаз, чтобы подтвердить принадлежность индивидуальных гаплотипов к данным гаплогруппам. Использовали последовательности праймеров и эндонуклеазы из статьи А. Torroni и соавт. [7].

В качестве митохондриальных генетических маркеров для анализа ассоциаций с фенотипами сердечно-сосудистого континуума использовали принадлежность мтДНК индивидов к основным распространенным у европеоидов гаплогруппам мтДНК (Н и ее подгруппа Н1, Н без Н1, HV0, J, Т, U и ее подгруппы U2e, U4, U5, U-K). Сравнение частот анализируемых маркеров между больными и контролем, а также между подгруппами пациентов было проведено с помощью критерия χ^2 с поправкой Йейтса.

Анализ ассоциаций генетических маркеров с количественными признаками (индекс массы тела, липидный спектр крови, эхокардиографические параметры, артериальное давление) осуществляли с помощью однофакторного дисперсионного анализа, отдельно у мужчин и женщин. Если распределение отклонялось от нормального, проводили предварительное логарифмирование значений признака.

Результаты и обсуждение

Данные о распределении генотипов мтДНК, принадлежащих к различным гаплогруппам в исследованных выборках, представлены в таблице 1. Частоты гаплогрупп мтДНК приведены как в общих выборках, так и отдельно для мужчин и женщин (в связи с тем, что пациентов с ИБС женского пола было всего 18 человек, расчеты для этой группы не проводили).

Таблица 1. Частоты гаплогрупп мтДНК в исследованных выборках (%)

Table 1. MtDNA haplogroup frequencies in the studied groups (%)

Выборка Sample	Н (общая) Total	Н* (-Н1)	Н1	HV0	J	Т	U (общая) Total	U2e	U4	U5	U-K
Популяция, общая, n = 424 Population, total, n = 424	38,68	26,65	12,03	3,07	7,31	9,91	24,76	1,42	2,59	12,26	4,71
Популяция, мужчины, n = 226 Population, males, n = 226	35,40	25,22	10,18	2,21	8,41	11,06	27,43	0,88	3,54	11,95	5,75
Популяция, женщины, n = 198 Population, females, n = 198	42,42	28,28	14,14	4,04	6,06	8,59	21,72	2,02	1,52	12,63	3,54
Больные ИБС, общая, n = 175 IHD patients, total, n = 175	44,57	35,43	9,14	1,14	7,43	7,43	23,43	1,14	2,29	10,86	4,57
Больные ИБС, мужчины, n = 157 IHD patients, males, n = 157	45,86	36,94	8,92	0,64	6,37	7,01	22,93	1,27	1,91	11,46	4,46

Примечание: частоты отдельных гаплогрупп приведены в процентах от общей численности выборки. Жирным шрифтом выделены значения, статистически отличающиеся ($p < 0,05$) от значений в выборке мужчин из популяции.

Note: haplogroup frequencies are given as a percentage of the total sample size. The values, which statistically differ ($p < 0.05$) from the values in males from the population sample are highlighted in bold.

Наиболее частой гаплогруппой мтДНК в изученных группах, как и в большинстве популяций европейского происхождения, является гаплогруппа Н: в среднем около 40% от выборки. Гаплогруппа Н далее может быть разделена на большое число подгрупп, самой частой из которых является Н1 (около 10%). В таблице 1 кроме общей частоты гаплогруппы Н приведены отдельно данные для гаплогруппы Н1 и суммарная частота остальных подгрупп Н.

Вторая по распространенности гаплогруппа мтДНК в европейских популяциях – это гаплогруппа U. Ее общая частота у русских составляет около 25%, и полученные нами данные согласуются с этими значениями. В гаплогруппе U также можно выделить отдельные гаплогруппы, самая частая из которых встречается у русских – U5 (более 10%). В таблице 1 отдельно приведены данные о субгаплогруппах U2e, U4, U5 и U-K.

Следующие по распространенности в популяциях Европы, в частности у русских, – это гаплогруппы J и Т,

которые являются ветвями одного кластера и вместе составляют до 20% от численности выборок. Относительно редкой является гаплогруппа HV0, частота которой обычно не превышает 5%. Кроме этих гаплогрупп в выборках были зарегистрированы в единичных случаях редкие гаплогруппы W, I, X, а также в небольшом количестве (в сумме около 6%) различные гаплогруппы мтДНК восточноевразийского («монголоидного») происхождения: А, С, D, F, G, Z. Данные по этим редким линиям не приведены в таблице 1.

Сравнение частот гаплогрупп в общей группе пациентов и в популяционной выборке, а также в подгруппах мужчин выявило единственное статистически значимое различие: общая частота гаплогруппы Н, а также суммарная частота ее подгрупп за вычетом Н1 (обозначена в таблице как Н*) у пациентов мужчин была выше (45,86 и 36,94% соответственно), чем у мужчин в общей популяции (35,40 и 25,22% соответственно). Для гаплогруппы Н в целом значение критерия χ^2 с поправкой Йейтса

составило 4,21 ($p = 0,04$); отношение шансов OR = 1,55 (95% доверительный интервал (ДИ) 1,02–2,34). Для гаплогруппы H без подгруппы H1 $\chi^2 = 5,51$ ($p = 0,02$); OR = 1,74 (95% ДИ 1,12–2,70). При этом частота субгаплогруппы H1 практически не различалась между группой пациентов и популяцией. Таким образом, принадлежность генотипа мтДНК пациента к гаплогруппе H, за исключением H1, можно рассматривать как возможный фактор риска развития тяжелой ХСН у мужчин с ИБС после инфаркта миокарда.

Анализ ассоциаций изменчивости количественных показателей с генотипом проводили в группе пациентов мужчин. Были проанализированы эхокардиографические параметры миокарда (толщина стенки левого желудочка, толщина межжелудочковой перегородки, конечный систолический и диастолический размер левого желудочка, фракция выброса левого желудочка), а также индекс массы миокарда, индекс массы тела, уровень общего холестерина и липидных фракций в сыворотке крови. Проведенный анализ не выявил статистически значимых ассоциаций генотипа мтДНК ни с одним из исследованных показателей.

Анализ ассоциаций в популяционной выборке отдельно для мужчин и женщин был проведен для тех же показателей, а также для уровня глюкозы натощак. Было выявлено две статистически значимые ассоциации для показателей липидного спектра, которые проявлялись только у мужчин: индивиды с мтДНК, принадлежащей к гаплогруппе H (но не H1) имели несколько более высокое значение уровня липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) и несколько более низкое значение уровня триглицеридов (ТГ) в сыворотке крови по сравнению с представителями всех остальных гаплогрупп мтДНК (табл. 2). Отсутствие ассоциаций в группе пациентов может быть обусловлено тем, что большинство пациентов с ИБС принимают липидснижающие лекарственные препараты. Также следует отметить, что мы не можем исключить аналогичного эффекта для женщин, но небольшое число женщин в группе пациентов не позволило провести для них анализ ассоциаций с генотипом мтДНК.

Таблица 2. Ассоциации полиморфизма мтДНК с показателями липидного спектра у мужчин популяционной выборки

Table 2. Associations of mtDNA polymorphism with the parameters of blood lipid profile in men from the population sample

Показатели Trait	Гаплогруппа H* (без H1), n = 80 Haplogroup H* (except H1), n = 80	Остальные генотипы мтДНК, n = 125 All other mtDNA genotypes, n = 125	Уровень значимости p-value (p)
ЛПВП HDL	1,39 ± 0,34	1,28 ± 0,35	0,03
ТГ TG	5,09 ± 0,16	5,15 ± 0,18	0,02

Примечание: p – достигнутый уровень значимости при проведении дисперсионного анализа, показатель триглицеридов был логарифмирован.

Note: p – p-value for analysis of variance, HDL – high-density lipoproteins, TG – triglycerides. The TG values were in logarithmic form.

Выявленные различия в уровне липидных фракций между разными гаплогруппами мтДНК невелики, и это говорит о малой величине эффекта митохондриального генотипа в отношении изменчивости данных количественных признаков. Тем не менее, интересно, что ассоциация

была выявлена с тем же генотипом (гаплогруппа H*), что и при сравнении частот гаплогрупп в дизайне «случай – контроль». Однако в случае липидного спектра этот генотип имеет скорее благоприятный «антиатерогенный» эффект. Объяснение этого противоречия может быть связано с особенностями функционирования дыхательной цепи митохондрий. Известно, что у носителей гаплогруппы H выше уровень поглощения кислорода, т. е. более эффективно работает дыхательная цепь, однако при этом производство активных форм кислорода тоже увеличивается и, как следствие, усиливается окислительный стресс [8]. ТГ являются основным источником энергии (энергетическим субстратом) в организме. ЛПВП, с другой стороны, могут обладать не только непосредственно антиатерогенным, но и антиоксидантным эффектом благодаря наличию в их составе параоксоназы и витамина E [9]. Таким образом, выявленные ассоциации могут косвенно свидетельствовать об изменении липидного спектра при более интенсивной работе дыхательной цепи вследствие ускоренного потребления ТГ тканями и повышения уровня ЛПВП в ответ на окислительный стресс.

Обращает на себя внимание тот факт, что ассоциация патологического фенотипа с полиморфизмом мтДНК была выявлена для гаплогруппы мтДНК (H), которая является самой частой в европейских популяциях. При этом она одна из самых эволюционно молодых: оценка возраста этой гаплогруппы составляет около 25 тыс. лет, и считается, что она была распространена в Европе еще до последнего ледникового периода. Предполагается, что носители гаплогруппы H, пережившие этот период в «рефугиуме» на юге Европы, затем расселились по освободившейся от ледника территории [10].

Гаплогруппа H принадлежит к крупной ветви HV на родословном древе мтДНК человека, и все мтДНК этой ветви несут нуклеотидную замену T14766C, приводящую к замене аминокислоты Thr7Ile в цитохроме b, который входит в состав комплекса III дыхательной цепи. Гаплогруппа H далее характеризуется заменой G2706A в гене 16S рРНК. Гаплогруппа H1 определяется заменой G3010A в том же гене, то есть мтДНК, принадлежащие к гаплогруппе H1, имеют обе эти замены. Сочетание этих вариантов (или каждый из них по отдельности) может оказывать влияние на вторичную структуру 16S рРНК. В частности, позиция 3010 в геномной последовательности мтДНК соответствует нуклеотиду 1340 в 16S рРНК, который образует водородную связь с нуклеотидом 1357 в одной из шпилек [11].

Кроме того, нуклеотиды 2706 и 3010 находятся в участках, кодирующих митохондриальные пептиды – сигнальные молекулы, обладающие нейропротекторными и кардиопротекторными свойствами [12]. В частности, замена G2706A в гене хуманина (24 аминокислоты, кодируется нуклеотидами 2634–2707) приводит к образованию стоп-кодона, общего с универсальным генетическим кодом, что делает возможной трансляцию этого пептида в цитоплазме (без этой замены стоп-кодон распознается только митохондриальными рибосомами). Замена G3010A входит в ген пептида SHLP6 (20 аминокислот, кодируется нуклеотидами 2992–3051), хотя она и не меняет аминокислотной последовательности этого пептида, но элиминирует CpG сайт, т. е. может иметь значение для метилирования мтДНК. Таким образом, мы видим, что частые, распространенные в европейской популяции варианты мтДНК потенциально могут влиять на

функцию митохондриального генома и кодируемых им белков. Очевидно, что эффект этих вариантов не может быть большим, так как правильное функционирование митохондрий критически важно для жизни клетки. Однако даже небольшие флуктуации в клеточном гомеостазе могут иметь значение для модуляции процессов более высокого уровня.

Результаты ассоциативных и функциональных исследований подтверждают эту гипотезу. Показано, что в клетках, содержащих мтДНК гаплогруппы Н, выше продукция АТФ и АФК [13]. Отмечено, что у носителей гаплогруппы Н значительно выше уровень окислительных повреждений мтДНК [8]. В российской популяции отмечено, что гаплогруппа Н встречалась статистически значимо чаще у больных ИБС по сравнению с контрольной группой [14]. Ранее была выявлена ассоциация гаплогруппы Н с инфарктом миокарда в молодом возрасте (до 55 лет) у курящих мужчин [15]. Более того, лица с гаплогруппой Н1 имели более высокую вероятность развития повторных сердечно-сосудистых катастроф в течение года после эпизода острого коронарного синдрома и инфаркта миокарда [16]. Н1 может быть также фактором риска ранней внезапной сердечной смерти (до 55 лет) [17]. Также была показана ассоциация гаплогруппы Н с ишемической и дилатационной кардиомиопатиями [18, 19].

В популяции Финляндии в группе долгожителей гаплогруппа Н встречалась статистически значимо реже, чем в группе лиц среднего возраста и в группе несовершеннолетних [20]. Также было отмечено, что среди лиц старческого возраста у татар частота гаплогруппы Н была значимо ниже [21]. Как и упомянутые исследования, полученные нами результаты свидетельствуют о неблагоприятном эффекте гаплогруппы Н мтДНК в отношении сердечно-сосудистых заболеваний в зрелом и пожилом возрасте.

В эволюционной медицине, рассматривающей болезнь как результат конфликта между современными условиями среды и геномом, несущим варианты, имев-

шие селективное преимущество в прошлом, существует гипотеза так называемых «экономных» генотипов, предложенная Дж. Нилом, согласно которой генотипы, обладающие большей приспособленностью на ранних этапах эволюции человека, стали невыгодными в современном обществе, в котором нет недостатка пищи, а физическая активность у многих людей снижена. В частности, этим объясняют рост заболеваемости сахарным диабетом 2-го типа в современных популяциях [22]. К полиморфизму мтДНК, непосредственно связанной с энергетическим, углеводным и липидным обменом, также можно применить эту гипотезу: более эффективная работа дыхательной цепи, выгодная на раннем этапе развития человечества, становится фактором риска в современных условиях, для которых характерен избыток калорий в пище и недостаток физической активности [23]. Кроме того, увеличение средней продолжительности жизни способствует повышению заболеваемости, связанной с «болезнями позднего возраста», в патогенезе которых задействован окислительный стресс, и к которым относятся в том числе сердечно-сосудистые заболевания. Таким образом, преобладание гаплогруппы Н в современных европейских популяциях может быть результатом селективного преимущества в прошлом, обусловленного более эффективной работой митохондрий. Однако теперь, с изменением условий жизни, на первый план выходят отрицательные побочные эффекты этого генотипа, связанные с окислительным стрессом.

Заключение

Проведенное исследование показало, что принадлежность мтДНК к гаплогруппе Н у мужчин может являться фактором риска для осложненного течения ИБС. Таким образом, самый частый генотип мтДНК европейцев – гаплогруппа Н (за исключением Н1), по-видимому, вносит небольшой, но значимый вклад в подверженность ИБС и ее осложнению – ХСН.

Литература

1. Khera A.V., Chaffin M., Aragam K.G., Haas M.E., Roselli C., Choi S.H. et al. Genome-wide polygenic scores for common diseases identify individuals with risk equivalent to monogenic mutations. *Nat. Genet.* 2018;50(9):1219–1224. DOI: 10.1038/s41588-018-0183-z.
2. Fearon I.M., Faux S.P. Oxidative stress and cardiovascular disease: Novel tools give (free) radical insight. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2009;47(3):372–381. DOI: 10.1016/j.jmcc.2009.05.013.
3. Gori T., Münzel T. Oxidative stress and endothelial dysfunction: Therapeutic implications. *Ann. Med.* 2011;43(4):259–272. DOI: 10.3109/07853890.2010.543920.
4. Mohammed S.A., Ambrosini S., Lüscher T., Paneni F., Costantino S. Epigenetic control of mitochondrial function in the vasculature. *Front. Cardiovasc. Med.* 2020;7:28. DOI: 10.3389/fcvm.2020.00028.
5. Andrews R.M., Kubacka I., Chinnery P.F., Lightowlers R.N., Turnbull D.M., Howell N. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat. Genet.* 1999;23(2):147. DOI: 10.1038/13779.
6. Van Oven M., Kayser M. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Hum. Mutat.* 2009;30(2):E386–394. DOI: 10.1002/humu.20921.
7. Torroni A., Huoponen K., Francalacci P., Petrozzi M., Morelli L., Scozzari R. et al. Classification of European mtDNAs from an analysis of three European populations. *Genetics.* 1996;144(4):1835–1850. DOI: 10.1093/genetics/144.4.1835.
8. Martínez-Redondo D., Marcuello A., Casajús J.A., Ara I., Dahmani Y., Montoya J. et al. Human mitochondrial haplogroup H: The highest VO₂max consumer – is it a paradox? *Mitochondrion.* 2010;10(2):102–107. DOI: 10.1016/j.mito.2009.11.005.
9. Kudinov V.A., Alekseeva O.Y., Torkhovskaya T.I., Baskaev K.K., Artyushev R.I., Saburina I.N. et al. High-density lipoproteins as homeostatic nanoparticles of blood plasma. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(22):8737. DOI: 10.3390/ijms21228737.
10. Achilli A., Rengo C., Magri C., Battaglia V., Olivieri A., Scozzari R. et al. The molecular dissection of mtDNA haplogroup H confirms that the Franco-Cantabrian glacial refuge was a major source for the European gene pool. *Am. J. Hum. Genet.* 2004;75(5):910–918. DOI: 10.1086/425590.
11. Elson J.L., Smith P.M., Greaves L.C., Lightowlers R.N., Chrzanoska-Lightowlers Z.M., Taylor R.W. et al. The presence of highly disruptive 16S rRNA mutations in clinical samples indicates a wider role for mutations of the mitochondrial ribosome in human disease. *Mitochondrion.* 2015;25:17–27. DOI: 10.1016/j.mito.2015.08.004.
12. Minasyan L., Sreekumar P.G., Hinton D.R., Kannan R. Protective mechanisms of the mitochondrial-derived peptide humanin in oxidative and endoplasmic reticulum stress in RPE cells. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2017;2017:1675230. DOI: 10.1155/2017/1675230.
13. Arning L., Haghikia A., Taherzadeh-Fard E., Saft C., Andrich J., Pula B. et al. Mitochondrial haplogroup H correlates with ATP levels and age at onset in Huntington disease. *J. Mol. Med. (Berl.)*. 2010;88(4):431–436. DOI: 10.1007/s00109-010-0589-2.
14. Майкова Е.В. Биохимические и генетические маркеры изменения активности антиоксидантной системы крови при ишемической болезни сердца: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Казань; 2012:24.
15. Palacín M., Alvarez V., Martín M., Díaz M., Corao A.I., Alonso B. et al. Mitochondrial DNA and TFAM gene variation in early-onset myocardial infarction: Evidence for an association to haplogroup H. *Mitochondrion.* 2011;11(1):176–181. DOI: 10.1016/j.mito.2010.09.004.

16. Голубенко М.В., Салахов Р.Р., Макеева О. А., Гончарова И.А., Кашталап В.В., Барбараш О.Л. и др. Ассоциации полиморфизма митохондриальной ДНК с инфарктом миокарда и прогностически значимыми признаками атеросклероза. *Молекулярная биология*. 2015;49(6):968–976. DOI: 10.7868/S0026898415050080.
17. Голубенко М.В., Бабушкина Н.П., Зарубин А.А., Салахов Р.Р., Макеева О.А., Маркова В.В. и др. Ассоциация вариантов гаплогруппы H1 митохондриальной ДНК с риском сердечно-сосудистых катастроф. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2019;5(4):19–31. DOI: 10.18413/2658-6533-2019-5-4-0-2.
18. Fernández-Caggiano M., Barallobre-Barreiro J., Rego-Pérez I., Crespo-Leiro M.G., Paniagua M.J., Grille Z. et al. Mitochondrial haplogroups H and J: Risk and protective factors for ischemic cardiomyopathy. *PLoS One*. 2012;7(8):e44128. DOI: 10.1371/journal.pone.0044128.
19. Govindaraj P., Rani B., Sundaravadevel P., Vanniarajan A., Indumathi K.P., Khan N.A. et al. Mitochondrial genome variations in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Mitochondrion*. 2019;48:51–59. DOI: 10.1016/j.mito.2019.03.003.
20. Niemi A.K., Hervonen A., Hurme M., Karhunen P.J., Jylhä M., Maja-maa K. Mitochondrial DNA polymorphisms associated with longevity in a Finnish population. *Hum. Genet.* 2003;112(1):29–33. DOI: 10.1007/s00439-002-0843-y.
21. Паук В.В. Молекулярно-генетические основы долголетия по полиморфизму ядерного и митохондриального геномов: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа; 2007:23.
22. Пузырев В.П., Кучер А.Н. Эволюционно-онтогенетические аспекты патогенетики хронических болезней человека. *Генетика*. 2011;47(12):1573–1585.
23. Wallace D.C. Bioenergetics in human evolution and disease: implications for the origins of biological complexity and the missing genetic variation of common diseases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2013;368(1622):20120267. DOI: 10.1098/rstb.2012.0267.

References

1. Khera A.V., Chaffin M., Aragam K.G., Haas M.E., Roselli C., Choi S.H. et al. Genome-wide polygenic scores for common diseases identify individuals with risk equivalent to monogenic mutations. *Nat. Genet.* 2018;50(9):1219–1224. DOI: 10.1038/s41588-018-0183-z.
2. Fearon I.M., Faux S.P. Oxidative stress and cardiovascular disease: Novel tools give (free) radical insight. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2009;47(3):372–381. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2009.05.013.
3. Gori T., Münzel T. Oxidative stress and endothelial dysfunction: Therapeutic implications. *Ann. Med.* 2011;43(4):259–272. DOI: 10.3109/07853890.2010.543920.
4. Mohammed S.A., Ambrosini S., Lüscher T., Paneni F., Costantino S. Epigenetic control of mitochondrial function in the vasculature. *Front. Cardiovasc. Med.* 2020;7:28. DOI: 10.3389/fcvm.2020.00028.
5. Andrews R.M., Kubacka I., Chinnery P.F., Lightowlers R.N., Turnbull D.M., Howell N. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat. Genet.* 1999;23(2):147. DOI: 10.1038/13779.
6. Van Oven M., Kayser M. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Hum. Mutat.* 2009;30(2):E386–394. DOI: 10.1002/humu.20921.
7. Torroni A., Huoponen K., Francalacci P., Petrozzi M., Morelli L., Scozzari R. et al. Classification of European mtDNAs from an analysis of three European populations. *Genetics*. 1996;144(4):1835–1850. DOI: 10.1093/genetics/144.4.1835.
8. Martínez-Redondo D., Marcuello A., Casajús J.A., Ara I., Dahmani Y., Montoya J. et al. Human mitochondrial haplogroup H: The highest VO₂max consumer – is it a paradox? *Mitochondrion*. 2010;10(2):102–107. DOI: 10.1016/j.mito.2009.11.005.
9. Kudinov V.A., Alekseeva O.Y., Torkhovskaya T.I., Baskaev K.K., Artyushchev R.I., Saburina I.N. et al. High-density lipoproteins as homeostatic nanoparticles of blood plasma. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(22):8737. DOI: 10.3390/ijms21228737.
10. Achilli A., Rengo C., Magri C., Battaglia V., Olivieri A., Scozzari R. et al. The molecular dissection of mtDNA haplogroup H confirms that the Franco-Cantabrian glacial refuge was a major source for the European gene pool. *Am. J. Hum. Genet.* 2004;75(5):910–918. DOI: 10.1086/425590.
11. Elson J.L., Smith P.M., Greaves L.C., Lightowlers R.N., Chrzanowska-Lightowlers Z.M., Taylor R.W. et al. The presence of highly disruptive 16S rRNA mutations in clinical samples indicates a wider role for mutations of the mitochondrial ribosome in human disease. *Mitochondrion*. 2015;25:17–27. DOI: 10.1016/j.mito.2015.08.004.
12. Minasyan L., Sreekumar P.G., Hinton D.R., Kannan R. Protective mechanisms of the mitochondrial-derived peptide humanin in oxidative and endoplasmic reticulum stress in RPE cells. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2017;2017:1675230. DOI: 10.1155/2017/1675230.
13. Arning L., Haghikia A., Taherzadeh-Fard E., Saft C., Andrich J., Pula B. et al. Mitochondrial haplogroup H correlates with ATP levels and age at onset in Huntington disease. *J. Mol. Med. (Berl.)*. 2010;88(4):431–436. DOI: 10.1007/s00109-010-0589-2.
14. Maykova E.V. Biochemical and genetic markers of changing the anti-oxidant system activity in the ischemic heart disease: Abstr. ... Cand. Biol. Nauk. Kazan; 2012:24 (In Russ.).
15. Palacin M., Alvarez V., Martín M., Díaz M., Corao A.I., Alonso B. et al. Mitochondrial DNA and TFAM gene variation in early-onset myocardial infarction: evidence for an association to haplogroup H. *Mitochondrion*. 2011;11(1):176–81. DOI: 10.1016/j.mito.2010.09.004.
16. Golubenko M.V., Salakhov, R.R., Makeeva, O.A., Goncharova I.A., Kashtalap V.V., Barbarash O.L. et al. Mitochondrial DNA polymorphism association with myocardial infarction and prognostic signs for atherosclerosis. *Mol. Biol. (Mosk.)*. 2015;49(6):867–874 (In Russ.). DOI: 10.1134/S0026893315050088.
17. Golubenko M.V., Babushkina N.P., Zarubin A.A., Salakhov R.R., Makeeva O.A., Markova V.V. et al. Association of the mitochondrial DNA haplogroup H1 variants with the risk of acute cardiovascular events. *Research Results in Biomedicine*. 2019;5(4):19–31 (In Russ.). DOI: 10.18413/2658-6533-2019-5-4-0-2.
18. Fernández-Caggiano M., Barallobre-Barreiro J., Rego-Pérez I., Crespo-Leiro M.G., Paniagua M.J., Grille Z. et al. Mitochondrial haplogroups H and J: Risk and protective factors for ischemic cardiomyopathy. *PLoS One*. 2012;7(8):e44128. DOI: 10.1371/journal.pone.0044128.
19. Govindaraj P., Rani B., Sundaravadevel P., Vanniarajan A., Indumathi K.P., Khan N.A. et al. Mitochondrial genome variations in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Mitochondrion*. 2019;48:51–59. DOI: 10.1016/j.mito.2019.03.003.
20. Niemi A.K., Hervonen A., Hurme M., Karhunen P.J., Jylhä M., Maja-maa K. Mitochondrial DNA polymorphisms associated with longevity in a Finnish population. *Hum. Genet.* 2003;112(1):29–33. DOI: 10.1007/s00439-002-0843-y.
21. Pauk V.V. Molecular genetic basis for longevity on the polymorphism of nuclear and mitochondrial genomes: Abstr. ... Cand. Biol. Nauk. Ufa; 2007:23 (In Russ.).
22. Puzyrev V.P., Kucher A.N. Evolutionary ontogenetic aspects of pathogenetics of chronic human diseases. *Russian Journal of Genetics*. 2011;47(12):1395–1405 (In Russ.).
23. Wallace D.C. Bioenergetics in human evolution and disease: implications for the origins of biological complexity and the missing genetic variation of common diseases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2013;368(1622):20120267. DOI: 10.1098/rstb.2012.0267.

Информация о вкладе авторов

Голубенко М.В. – концепция исследования, анализ данных, написание и доработка текста рукописи.

Шумакова Т.В. – выполнение экспериментальной работы по генотипированию мтДНК, анализ данных, участие в написании статьи.

Макеева О.А. – формирование групп для исследования, участие в обсуждении результатов.

Тарасенко Н.В. – проведение статистических расчетов, участие в обсуждении результатов и подготовке рукописи.

Information on author contributions

Golubenko M.V. – study design, data analysis, writing, and revising the manuscript.

Shumakova T.V. – performing experiments on mtDNA genotyping, data analysis, and contribution to writing the manuscript.

Makeeva O.A. – assignment of study groups and contribution to the discussion of results.

Tarasenko N.V. – carrying out statistical calculations and contributing to the discussion of results and manuscript preparation.

Салахов Р.Р. – участие в интерпретации и обсуждении результатов, подготовка окончательного варианта рукописи.

Шипулин В.М. – организация и проведение обследования пациентов, формирование выборки для исследования.

Назаренко М.С. – обсуждение результатов, участие в написании текста статьи.

Все авторы дали окончательное согласие на подачу рукописи и согласились нести ответственность за полученные результаты.

Salakhov R.R. – contributing to data interpretation, discussion of results, and preparing the final version of the manuscript.

Shipulin V.M. – organizing and performing patient examination and forming the study sample.

Nazarenko M.S. – discussion of results and contribution to writing the manuscript.

All authors have given their consent to submit the manuscript and agreed to be responsible for the results.

Сведения об авторах

Голубенко Мария Владимировна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник, лаборатория популяционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-7692-9954.

E-mail: maria.golubenko@medgenetics.ru.

Шумакова Татьяна Владимировна, канд. мед. наук, младший научный сотрудник, лаборатория популяционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-2057-5923.

E-mail: tv.shumakova@mail.ru.

Makeeva Оксана Алексеевна, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория наследственной патологии, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-0719-9732.

E-mail: oksana.makeeva@medgenetics.ru.

Тарасенко Наталия Викторовна, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория популяционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-3605-5009.

E-mail: nataly.tarasenko@medgenetics.ru.

Салахов Рамиль Ринатович, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория популяционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-9789-9555.

E-mail: ramil.salakhov@medgenetics.ru.

Шипулин Владимир Митрофанович, д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0003-1956-0692, 0000-0001-9887-8214.

E-mail: shipulin@cardio-tomsk.ru.

Назаренко Мария Сергеевна, д-р мед. наук, руководитель лаборатории популяционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-0673-4094.

E-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru.

 **Голубенко Мария Владимировна**, e-mail: maria.golubenko@medgenetics.ru.

Information about the authors

Maria V. Golubenko, Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Scientist, Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-7692-9954.

E-mail: maria.golubenko@medgenetics.ru.

Tatyana V. Shumakova, Cand. Sci. (Med.), Junior Research Scientist, Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-2057-5923.

E-mail: tv.shumakova@mail.ru.

Oksana A. Makeeva, Cand. Sci. (Med.), Senior Research Scientist, Laboratory of Hereditary Pathology, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-0719-9732.

E-mail: oksana.makeeva@medgenetics.ru.

Natalia V. Tarasenko, Cand. Sci. (Med.), Research Scientist, Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-3605-5009.

E-mail: nataly.tarasenko@medgenetics.ru.

Ramil R. Salakhov, Cand. Sci. (Med.), Research Scientist, Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-9789-9555.

E-mail: ramil.salakhov@medgenetics.ru.

Vladimir M. Shipulin, Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Research Scientist, Department of Cardiovascular Surgery, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0003-1956-0692, 0000-0001-9887-8214.

E-mail: shipulin@cardio-tomsk.ru.

Maria S. Nazarenko, Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-0673-4094.

E-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru.

 **Maria V. Golubenko**, e-mail maria.golubenko@medgenetics.ru.

Received October 13, 2021

Поступила 13.10.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-78-85>
УДК 575.174.015.3:618.19-006.6-036.4-039-033.2-097

Связь особенностей экспрессии интегринов $\beta 1$ и $\beta 3$ с лимфогенным метастазированием при инвазивной карциноме неспецифического типа молочной железы с учетом морфологической гетерогенности опухоли

Н.В. Крахмаль^{1, 2}, Н.С. Телегина², М.В. Завьялова^{1, 2}, С.В. Вторушин^{1, 2},
В.А. Крохмаль², В.М. Перельмутер¹

¹ Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634009, Российская Федерация, Томск, пер. Кооперативный, 5

² Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050, Российская Федерация, Томск, Московский тракт, 2

Аннотация

Цель: изучить экспрессию интегринов $\beta 1$ и $\beta 3$ при инвазивной карциноме неспецифического типа молочной железы и сопоставить полученные результаты с особенностями морфологической гетерогенности опухоли и показателями лимфогенной диссеминации.

Материал и методы. Группу исследования составили 107 пациенток с раком молочной железы (РМЖ), гистотип опухоли в 100% случаев соответствовал по морфологии инвазивной карциноме неспецифического типа (инвазивная протоковая карцинома). Предоперационное лечение больные не получали. В каждом случае выполняли морфологическое исследование образцов первичной опухоли и лимфатических узлов аксиллярной клетчатки, полученных в результате проведения оперативного этапа лечения (радикальная мастэктомия или секторальная резекция молочной железы с аксиллярной лимфаденэктомией). Иммуногистохимически оценивали показатели экспрессии маркеров интегринов $\beta 1$ и $\beta 3$ в ткани первичной опухоли.

Результаты. Исследование продемонстрировало, что увеличение степени злокачественности карциномы молочной железы ассоциировано с уменьшением частоты случаев с наличием позитивной экспрессии интегрин $\beta 1$ и с увеличением частоты случаев с позитивной экспрессией интегрин $\beta 3$. Метастазы в лимфатических узлах значимо реже определяли при наличии позитивной экспрессии интегрин $\beta 1$ в альвеолярных и солидных структурах по сравнению со случаями негативной экспрессии маркера в аналогичных структурах (48%; $\chi^2 = 3,5$; $p = 0,05$ и 48%; $\chi^2 = 4,8$; $p = 0,02$ соответственно). Лимфогенные метастазы регистрировали статистически значимо чаще при наличии позитивной экспрессии интегрин $\beta 3$ в дискретных группах клеток по сравнению со случаями, в которых экспрессия изучаемого маркера в описанных структурах была негативной (47 и 23% соответственно; $\chi^2 = 5,1$; $p = 0,02$).

Заключение. Результаты работы показали наличие взаимосвязей между морфологической гетерогенностью опухоли и показателями экспрессии интегринов $\beta 1$ и $\beta 3$ в паренхиматозных структурах новообразования, выявили зависимость описанных параметров с частотой лимфогенной диссеминации у пациенток с РМЖ. Полученные в результате проведенного исследования данные расширяют и дополняют известные ранее сведения, указывают на возможность оценки маркеров в качестве потенциальных факторов прогноза течения онкологического заболевания.

Ключевые слова: рак молочной железы, интегрины $\beta 1$ и $\beta 3$, морфологическая гетерогенность.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации НШ-2701.2020.7 «Разработка новых подходов к прогнозированию течения карцином молочной железы и легких с учетом морфологической и молекулярно-генетической гетерогенности опухоли».

Крахмаль Надежда Валерьевна, e-mail: krakhmal@mail.ru.

Соответствие принципам этики:	информированное согласие получено от каждого пациента. Исследование одобрено этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 3595 от 24.02.2014 г.).
Для цитирования:	Крахмаль Н.В., Телегина Н.С., Завьялова М.В., Вторушин С.В., Крохмаль В.А., Перельмутер В.М. Связь особенностей экспрессии интегринов $\beta 1$ и $\beta 3$ с лимфогенным метастазированием при инвазивной карциноме неспецифического типа молочной железы с учетом морфологической гетерогенности опухоли. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2021;36(4):78–85. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-78-85 .

Correlation between the features of $\beta 1$ and $\beta 3$ integrin expression and lymphangitic metastatic spread in nonspecific invasive breast carcinoma based on tumor morphological heterogeneity

Nadezhda V. Krakhmal^{1, 2}, Nadezhda S. Telegina², Marina V. Zavyalova^{1, 2},
Sergey V. Vtorushin^{1, 2}, Vladislav A. Krokhmal², Vladimir M. Perelmuter¹

¹ Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 5, Kooperativny str., Tomsk, 634009, Russian Federation

² Siberian State Medical University, 2, Moskovsky tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

Abstract

Objective. To study $\beta 1$ and $\beta 3$ integrin expression in nonspecific invasive breast carcinoma and to find the associations with parameters of tumor morphological heterogeneity and lymphatic dissemination.

Material and Methods. Study group comprised 107 patients with breast cancer. Histological type of tumor corresponded to invasive carcinoma of a nonspecific type (invasive ductal carcinoma) in 100% of cases. Patients did not receive any preoperative treatment. In each case, we performed morphological examination of samples of primary tumor and axillary lymph nodes obtained at the surgical stage of treatment (radical mastectomy or sectoral resection of mammary gland with axillary lymphadenectomy). The parameters of $\beta 1$ and $\beta 3$ integrin expression in primary tumor tissue were assessed by immunohistochemistry.

Results. The study demonstrated that an increase in the degree of malignancy of breast carcinoma was associated with a decrease in the incidence of positive expression of $\beta 1$ integrin as well as with an increase in the incidence of positive expression of $\beta 3$ integrin. Metastases in lymph nodes were significantly less frequently detected in the presence of positive expression of $\beta 1$ integrin in the alveolar and solid structures compared with the cases of absent expression of the marker in similar structures (48%; $\chi^2 = 3.5$; $p = 0.05$ and 48%; $\chi^2 = 4.8$; $p = 0.02$, respectively). Lymphogenic metastasis were detected significantly more often in cases with positive expression of $\beta 3$ integrin in discrete groups of cells compared with the cases where the expression of study marker in the described structures was absent (47 and 23%, respectively; $\chi^2 = 5.1$; $p = 0.02$).

Conclusion. The results of work showed the presence of relationships between the morphological heterogeneity of the tumor and the parameters of $\beta 1$ and $\beta 3$ integrin expression in the parenchymal structures of the neoplasm. The study showed the association of described parameters with the frequency of lymphatic dissemination in patients with breast cancer. Obtained data expand and support previously known evidence and suggest the possibility of assessing the markers as potential prognostic factors predicting the course of cancer.

Keywords:	breast cancer, $\beta 1$ and $\beta 3$ integrins, morphological tumor heterogeneity.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	no author has a financial or property interest in any material or method mentioned. The study was supported by Grant of the President of the Russian Federation No. ПШ-2701.2020.7 "Development of new approaches to predicting the course of breast carcinomas based on morphological and molecular-genetic tumor heterogeneity".

Adherence to ethical standards:

For citation:

informed consent was obtained from all patients. The study was approved by the Ethics Committee of Siberian State Medical University (protocol No. 3595 from 24.02.2014).

Krakhmal N.V., Telegina N.S., Zavyalova M.V., Vtorushin S.V., Krokmal V.A., Perelmuter V.M. Correlation between the features of $\beta 1$ and $\beta 3$ integrin expression and lymphangitic metastatic spread in nonspecific invasive breast carcinoma based on tumor morphological heterogeneity. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2021;36(4):78–85. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-78-85>.

Актуальность

Интегрины представляют собой одно из наиболее изученных семейств поверхностных рецепторов, способных формировать связи с молекулами внеклеточного матрикса и обладающих свойством трансформировать сигналы микроокружения во внутриклеточные сигналы, запуская тем самым множество каскадных механизмов клеточного ответа. По природе интегрины являются нековалентно связанными гетеродимерными трансмембранными молекулами (гликопротеины), в состав которых входят α - и β -субъединицы, выполняющие роль клеточного рецептора и не обладающие собственной ферментативной активностью. Интегрины осуществляют запуск биохимических и механических сигналов, контролирующих клеточный фенотип, что, в свою очередь, может определять дальнейшую судьбу клетки. На данный момент у человека было охарактеризовано 18 α - и 8 β -субъединиц, образующих около 24 комбинаций $\alpha\beta$ -рецепторов с различной субстратной специфичностью [1, 2].

Интегрины, связывающие Arg-Gly-Asp последовательность (RGD-пептид), принадлежат к наиболее изученному подсемейству, которое включает $\alpha v\beta 1$, $\alpha v\beta 3$, $\alpha v\beta 5$, $\alpha v\beta 6$, $\alpha v\beta 8$, $\alpha 5\beta 1$ и $\alpha 11\beta 3$ интегрины. Представители данного подсемейства распознают RGD-последовательность в некоторых компонентах внеклеточного матрикса, среди них фибронектин, витронектин, остеопонтин и фибриноген. Интегрины, участвующие в связывании клеток с коллагеном или ламинином, объединяют в другое подсемейство, которое включает $\beta 1$ ($\alpha 1\beta 1$, $\alpha 2\beta 1$, $\alpha 10\beta 1$, $\alpha 11\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$) или $\beta 4$ ($\alpha 6\beta 4$) [1]. В этих взаимосвязях интегрины осуществляют двунаправленную коммуникацию между клетками и структурами внеклеточного матрикса [3].

Особое значение для данного исследования представляют интегрины семейства $\beta 1$ и $\beta 3$, поскольку именно этим молекулам отведена значимая роль в онкогенезе рака молочной железы (РМЖ). Функции интегринов $\beta 1$ широко связаны с регуляцией многих клеточных процессов, таких как пролиферация, клеточная адгезия, дифференцировка, миграция и онкогенная трансформация клеток молочной железы. Так, к примеру, делеция гена субъединицы интегрин $\beta 1$ в базальных или люминальных клетках ставит под угрозу регенераторный потенциал эпителия железы, что обуславливает роль интегринов $\beta 1$ в поддержании пула стволовых клеток [2].

Цепь интегрин $\beta 1$ может связывать различные α -субъединицы, которые определяют специфичность лиганда внеклеточного матрикса к гетеродимеру интегрин. Мало что известно о вкладе отдельных димеров интегрин в развитие тканевых и клеточных структур молочной железы, при этом отмечен тесный синергизм сигнальных путей интегринов и EGFR (Epidermal growth factor receptor) [1, 2, 4]. При инвазивной карциноме молочной железы повышенная экспрессия интегрин $\beta 1$ в опухоли коррелирует с плохой выживаемостью, что де-

монстрирует его вклад в формирование более злокачественного потенциала в клетках новообразования [3]. Показано, что ремоделирование микроокружения с повышением жесткости фибриллярных коллагенов под действием лизилоксидазы, а также повышение содержания $\beta 1$ интегрин при РМЖ коррелируют с возникновением процессов злокачественной трансформации нормальной ткани в инвазивную карциному, определяя худший общий прогноз [5].

Интегрин $\beta 3$ в составе $\alpha v\beta 3$ -гетеродимера также связывается со многими белками внеклеточного матрикса, усиливает пролиферацию и миграцию за счет фосфорилирования нижестоящих сигналов киназного пути фокальной адгезии (FAK). Экспериментальные исследования демонстрируют способность интегринов осуществлять контроль над метастатической способностью клеток РМЖ в ткань головного мозга [6]. T. Vui и соавт. провели исследование, в котором изучение влияния комбинированной делеции $\beta 1$ -/ $\beta 3$ -интегринов на прогрессирование, пролиферативный и апоптотический статус опухоли молочной железы, управляемых и регулируемых ErbB2 рецептором тирозинкиназы, показало уменьшение количества пролиферирующих клеток с возникновением нарушений в прогрессии заболевания и маргинальное увеличение количества апоптотических клеток. Кроме того, в работе было подтверждено снижение клеточной адгезии к фибронектину и распространения клеток опухоли за счет уменьшения образования устойчивых фокальных адгезионных комплексов. Исследование демонстрирует потребность в интегрин $\beta 1$ в процессах метастазирования. Оценка метастатической пенетрантности и количества метастазов в легких в условиях комбинированной делеции $\beta 1$ -/ $\beta 3$ -интегринов показала как уменьшение количества метастазов в легочной ткани, так и снижение пенетрантности. При этом селективная делеция интегринов $\beta 1$ оказывает большее влияние на процессы опухолевой диссеминации, чем селективная делеция интегринов $\beta 3$ [7].

Известно, что для РМЖ характерным является наличие выраженной внутриопухолевой гетерогенности, при этом между опухолевыми клетками и компонентами микроокружения карциномы существуют сложные взаимодействия. Стромальные клетки, внеклеточный матрикс и межклеточная жидкость в значительной мере определяют процессы опухолевой прогрессии и метастазирования [3, 8]. В свою очередь, особенности микроокружения опухоли могут влиять на формирование клинически значимых вариаций фенотипов РМЖ и, возможно, способны предсказать исход [9]. Экспрессия и активность интегринов, их адгезионные свойства являются важными в процессах онкогенеза, определяя вероятность метастазирования, а также формирования лекарственной устойчивости опухоли [10]. В связи с этим определенным интерес представляло исследование и оценка экспрессионных характеристик описанных маркеров в опухоли

при РМЖ, сопоставление полученных результатов с особенностями гетерогенности строения карцином данной локализации и показателями лимфогенной опухолевой диссеминации.

Материал и методы

Группу исследования составили 107 пациенток, которые проходили лечение в отделении общей онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ. У всех пациенток был диагностирован РМЖ, гистотип опухоли в 100% случаев соответствовал по морфологии инвазивной карциноме неспецифического типа (инвазивная протоковая карцинома) молочной железы. Возраст пациенток варьировал от 29 до 85 лет (средний возраст – $57,2 \pm 11,2$ года), 74,8% ($n = 80$) составили женщины старше 50 лет, меньшими по количеству оказались группы в возрасте от 35 до 50 лет – 23,4% ($n = 25$) и до 35 лет – 1,8% ($n = 2$). У 31 пациентки (29%) менструальная функция была сохранена (возраст $45,7 \pm 8,1$ года), у 76 (71%) определялось состояние менопаузы (возраст $61,9 \pm 8,6$ года). Предоперационное лечение больные не получали. В 49% случаев ($n = 52$) объем оперативного пособия соответствовал радикальной мастэктомии, в 51% ($n = 55$) – секторальной резекции молочной железы с аксиллярной лимфаденэктомией. Стадию заболевания оценивали в соответствии с международной классификацией опухолей молочной железы по системе TNM (WHO Classification of Tumors Editorial Board. Breast Tumours; Lyon, 2019).

Чаще выявлялись I и IIA стадии ($n = 49$ и $n = 33$ соответственно), реже диагностировали IIB ($n = 14$), IIIA ($n = 9$), IIIB ($n = 1$) и IIIC ($n = 1$) стадии процесса. Новообразования наиболее часто располагались в наружных квадрантах молочных желез (48,6%; $n = 52$), реже – во внутренних квадрантах (25,23%; $n = 27$) и на границе наружных и внутренних квадрантов (24,3%; $n = 26$). Центральная локализация процесса наблюдалась лишь в 1,87% случаев

($n = 2$). В исследуемой группе преобладали опухоли, размер которых соответствовал 2–5 см и менее 2 см (52,34%; $n = 56$ и 46,73%; $n = 50$ соответственно), в 0,93% случаев ($n = 1$) размер первичного новообразования составил более 5 см.

Выполняли морфологическое исследование операционного материала. Макроскопически оценивали ткань первичной опухоли молочной железы и ткань органа вне новообразования с целью исключить случаи с мультицентрическим ростом. Аксиллярную клетчатку детально исследовали на предмет выявления всех имеющихся в пределах операционного материала лимфатических узлов. Материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 ч с последующей вырезкой образцов. Проводку, заливку материала в парафин и изготовление гистологических срезов осуществляли по стандартной методике с окраской препаратов гематоксилином и эозином. В полученных срезах морфологическое исследование ткани первичной опухоли проводили согласно следующему алгоритму: определяли гистологический тип РМЖ и оценивали степень злокачественности новообразования.

Гистотип устанавливали в соответствии с классификацией опухолей молочной железы (WHO Classification of Tumors Editorial Board. Breast Tumours; Lyon, 2019). В исследование включали только случаи с классической морфологией инвазивной карциномы неспецифического типа. Степень злокачественности определяли по модифицированной схеме P. Scarff, H. Bloom и W. Richardson. В паренхиматозном компоненте опухоли оценивали наличие различных типов структур: альвеолярных, трабекулярных, тубулярных и солидных, а также дискретные группы опухолевых клеток (рис. 1). К альвеолярным структурам относили комплексы опухолевых клеток (15–20 клеток) округлой или слегка неправильной округлой формы.

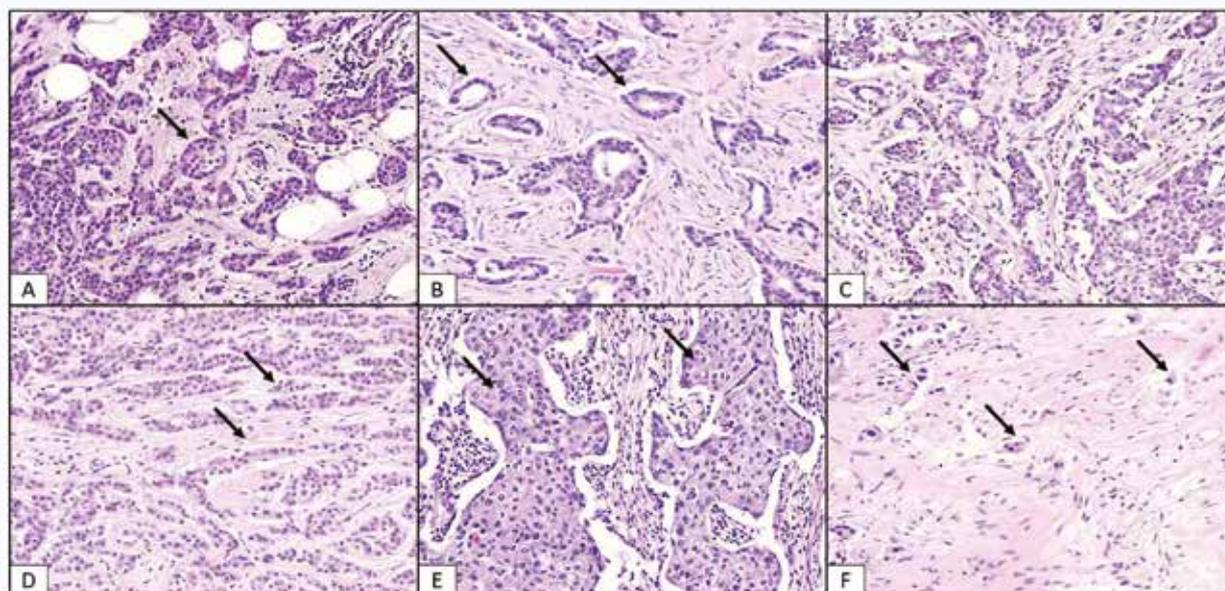


Рис. 1. Опухолевые структуры паренхиматозного компонента инвазивной карциномы неспецифического типа молочной железы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 400$. Стрелками указаны: А – альвеолярные структуры, В – тубулярные структуры, С – паренхиматозный компонент опухоли с разными структурами, D – трабекулярные структуры, E – солидные структуры, F – группы опухолевых клеток в строме опухоли
Fig. 1. Tumor structures in parenchymal component of nonspecific invasive breast carcinoma. Hematoxylin and eosin stain, $\times 400$. Arrows indicate: A – alveolar structures, B – tubular structures, C – parenchymal component of tumor with different structures, D – trabecular structures, E – solid structures, F – groups of tumor cells in the tumor stroma

Трабекулярные структуры представляли собой один ряд мелких относительно мономорфных клеток либо 2–3 практически параллельно расположенных ряда клеток средних размеров с умеренно выраженной цитоплазмой, с округлыми нормохромными или гиперхромными ядрами.

Тубулярными считали однорядные по типу «замыкающих» опухолевые структуры с наличием просвета в центре, образованные достаточно мономорфными клетками с нормохромными округлыми ядрами. К солидным относили структуры, представляющие собой различные по размеру и форме поля, состоящие из мелких клеток с умеренно выраженной цитоплазмой и мономорфными ядрами или из крупных клеток с обильной цитоплазмой и полиморфными ядрами, плотно прилежащих друг к другу. Дискретно располагающиеся в строме новообразования скопления от 1 до 4 клеток, различные по своему строению, считали группами клеток.

В большинстве случаев паренхиматозный компонент первичной опухоли молочной железы имел смешанное строение, в котором отмечалось наличие вариаций в сочетании разных типов перечисленных выше структур (см. рис. 1). Кроме того, в каждом случае при оценке паренхиматозного компонента подсчитывали количество

разных типов структур (от 1 до 5). При исследовании лимфатических узлов подсчитывали общее количество лимфоузлов, оценивали наличие в них метастатического поражения и количество лимфоузлов с метастазами.

Иммуногистохимическое исследование проводили с применением антител фирмы Abcam к интегину $\beta 3$ ab75872 (Clone EPR2417Y; кроличьи моноклональные; 1 : 250) и к интегину $\beta 1$ ab3167 (Clone 4B7R; мышинные моноклональные; 1 : 20) (рис. 2). Экспрессию исследуемых маркеров в структурах паренхиматозного компонента первичной опухоли инвазивной карциномы неспецифического типа молочной железы оценивали по следующим параметрам: наличие (позитивная экспрессия) или отсутствие (негативная экспрессия) экспрессии; процент опухолевых клеток с позитивной экспрессией маркера (в 10 полях зрения на 1000 клеток при увеличении $\times 400$).

Исследование выполнялось с применением светового микроскопа Carl Zeiss Axio Lab.A1 (Германия). Статистическая обработка полученных данных выполнялась с использованием пакета программ STATISTICA 10.0. Применялись дисперсионный анализ и критерий χ^2 . Обсуждались результаты со статистической значимостью различий при $p < 0,05$ и с тенденцией к различиям при $p < 0,1$.

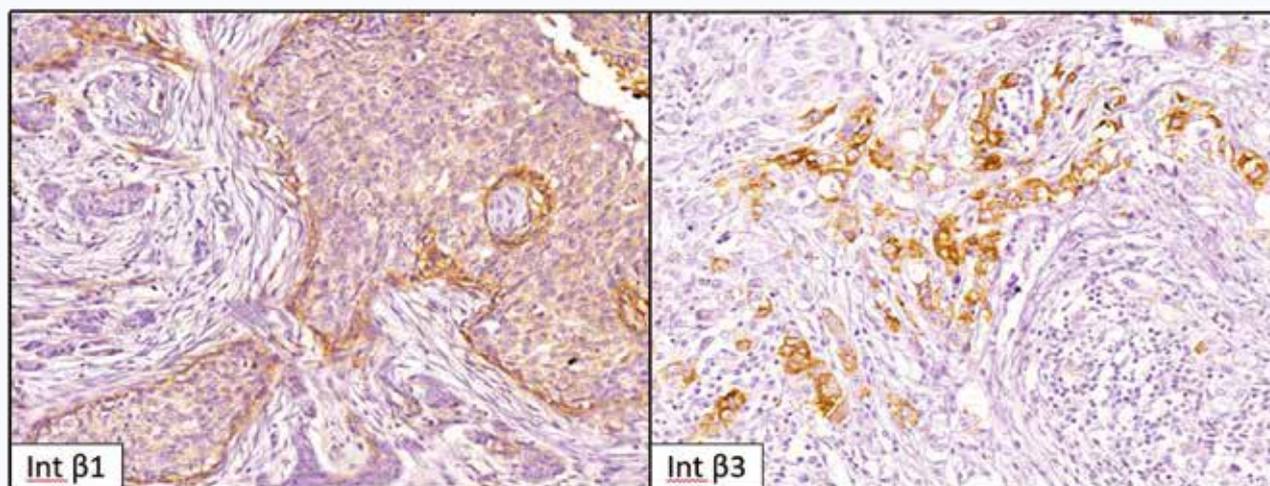


Рис. 2. Наличие позитивной экспрессии интегрин $\beta 1$ и интегрин $\beta 3$ в структурах паренхиматозного компонента инвазивной карциномы неспецифического типа молочной железы. Увеличение $\times 400$

Fig. 2. Presence of positive $\beta 1$ and $\beta 3$ integrin expression in the structures of parenchymal component of nonspecific invasive breast carcinoma, $\times 400$

Результаты и обсуждение

Морфологическое исследование образцов опухолевой ткани молочной железы показало следующие результаты. Оценка паренхиматозного компонента новообразования молочной железы выявила, что наименьшими по частоте встречаемости в опухоли являлись тубулярные структуры (49%), при этом альвеолярные (73%; $p = 0,0002$), трабекулярные (85%; $p = 0,0000$), солидные (65%; $p = 0,009$) структуры, в том числе группы клеток (75%; $p = 0,0001$), определялись значимо чаще и приблизительно с одинаковой частотой. Подсчет количества разных типов структур в паренхиматозном компоненте показал, что почти каждый образец характеризовался различным сочетанием опухолевых структур.

Наиболее часто выявлялись разнообразные по строению опухоли, паренхиматозный компонент которых включал до 4 типов структур. Представленные исключительно одним типом опухолевых структур мономорфные новообразования молочной железы диагностировали статистически значимо реже (1,87%; $n = 2$) по сравнению с карциномами, в которых присутствовали 2 (18,69%; $n = 20$; $p = 0,0000$), 3 (26,17%; $n = 28$; $p = 0,0000$), 4 (37,38%; $n = 40$; $p = 0,0000$) или 5 типов структур (15,89%; $n = 17$; $p = 0,0002$).

Следующим этапом с применением метода иммуногистохимии в опухолевой ткани проводили оценку экспрессии изучаемых маркеров с учетом морфологического строения карциномы молочной железы. Изучение особенностей экспрессии показало, что наличие пози-

тивной экспрессии интегрин $\beta 1$ чаще наблюдалось в солидных структурах (35%; $n = 27$) по сравнению с тубулярными (15%; $n = 6$; $p = 0,01$), трабекулярными (16%; $n = 9$; $p = 0,008$) структурами и группами опухолевых клеток (14%; $n = 4$; $p = 0,01$). При этом наиболее высокий процент позитивной экспрессии интегрин $\beta 1$ отмечался в тубулярных структурах и в группах опухолевых клеток (таблица). Позитивная экспрессия маркера интегрин $\beta 3$ статистически значимо чаще определялась в солидных структурах (72%; $n = 68$), а также в дискретных группах опухолевых клеток (65%; $n = 64$). При сопоставлении показателей частоты позитивной экспрессии маркера между структурами было отмечено наличие статистически значимых

различий между солидными структурами и альвеолярными (19%; $n = 11$; $p = 0,0000$), тубулярными (25%; $n = 9$; $p = 0,0000$) и трабекулярными структурами (22%; $n = 12$; $p = 0,0000$). Аналогичного рода закономерность прослеживалась и в отношении групп опухолевых клеток, в которых значимо чаще регистрировалась позитивная экспрессия интегрин $\beta 3$ нежели в альвеолярных, тубулярных и трабекулярных структурах ($p = 0,0000$). Наиболее высокий процент позитивной экспрессии интегрин $\beta 3$ отмечался в трабекулярных и солидных структурах, при этом тубулярные структуры и группы опухолевых клеток характеризовались наименьшим процентом экспрессии маркера (см. табл.).

Таблица. Позитивная экспрессия интегрин $\beta 1$ и $\beta 3$ в разных структурах паренхиматозного компонента инвазивной карциномы неспецифического типа молочной железы, %

Table. Positive $\beta 1$ and $\beta 3$ integrin expression in different structures of parenchymal component of nonspecific invasive breast carcinoma, %

Локализация экспрессии Expression localization		Экспрессия интегрин $\beta 1$, $M \pm SD$ Percentage of $\beta 1$ integrin expression, $M \pm SD$	Экспрессия интегрин $\beta 3$, $M \pm SD$ Percentage of $\beta 3$ integrin expression, $M \pm SD$
Альвеолярные структуры Alveolar structures	1	38,8 \pm 13,9 ($n = 15$)	13,6 \pm 6,2 ($n = 11$)
Тубулярные структуры Tubular structures	2	61,2 \pm 10,1 ($n = 6$) $p_1 = 0,0010$ $p_3 = 0,0001$ $p_4 = 0,0300$	7,5 \pm 0,3 ($n = 9$) $p_1 = 0,0040$ $p_3 = 0,0020$ $p_4 = 0,0000$
Трабекулярные структуры Trabecular structures	3	33,3 \pm 10,7 ($n = 9$)	25,9 \pm 16,3 ($n = 12$)
Солидные структуры Solid structures	4	44,2 \pm 19,9 ($n = 27$)	21,1 \pm 7,0 ($n = 68$)
Группы клеток Groups of tumor cells	5	70,5 \pm 13,8 ($n = 4$) $p_1 = 0,0004$ $p_3 = 0,0001$ $p_4 = 0,0080$	8,4 \pm 1,9 ($n = 64$) $p_1 = 0,0000$ $p_3 = 0,0000$ $p_4 = 0,0000$

Сопоставление особенностей экспрессии маркеров интегрин $\beta 1$ и интегрин $\beta 3$ в структурах паренхиматозного компонента со степенью злокачественности опухоли позволило выявить следующую зависимость. Позитивная экспрессия интегрин $\beta 1$ статистически значимо реже обнаруживалась при второй степени злокачественности, чем при первой (19%; $n = 15$ и 45,5%; $n = 5$; $p = 0,03$ соответственно). В отношении экспрессии интегрин $\beta 3$ исследование показало диаметрально противоположные результаты. Позитивная экспрессия интегрин $\beta 3$ значимо чаще определялась в опухолях, по морфологии соответствующих второй степени злокачественности, и значимо реже – при первой (77%; $n = 61$ и 45,5%; $n = 5$; $p = 0,01$ соответственно). В случаях опухолей с третьей степенью злокачественности отчетливых закономерностей обнаружено не было.

Морфологическое исследование и оценка паренхиматозного компонента инвазивной карциномы неспецифического типа молочной железы и последующее сопоставление полученных результатов с показателями лимфогенного метастазирования позволило выявить ряд взаимосвязей. Количество лимфатических узлов с наличием метастатического поражения не было ассоциировано с обнаружением в паренхиме конкретных опухолевых структур. Кроме того, количество разных типов структур в паренхиматозном компоненте новообразования не было

связано ни с частотой, ни с выраженностью лимфогенного метастазирования.

Представляющие определенный интерес результаты были получены при сопоставлении особенностей экспрессии интегринов семейств $\beta 1$ и $\beta 3$ в структурах опухоли с показателями лимфогенной диссеминации. Очаги метастатического поражения в лимфатических узлах значимо реже определялись при наличии позитивной экспрессии интегрин $\beta 1$ в альвеолярных (20%) и солидных (22%) структурах по сравнению со случаями с негативной экспрессией маркера в аналогичных структурах (48%; $\chi^2 = 3,5$; $p = 0,05$ и 48%; $\chi^2 = 4,8$; $p = 0,02$ соответственно). Лимфогенные метастазы наблюдались статистически значимо чаще при наличии позитивной экспрессии интегрин $\beta 3$ в дискретных группах клеток по сравнению со случаями, в которых экспрессия изучаемого маркера в описанных структурах была негативной (47 и 23% соответственно; $\chi^2 = 5,1$; $p = 0,02$). Исследование продемонстрировало, что при наличии лимфогенных метастазов значимо чаще нежели при их отсутствии определялся более высокий процент экспрессии интегрин $\beta 3$ в альвеолярных (22,5 \pm 4,1; $n = 6$ и 3,0 \pm 0,3; $n = 5$; $p = 0,0000$ соответственно), трабекулярных (43,8 \pm 15,4; $n = 6$ и 8,0 \pm 4,0; $n = 6$; $p = 0,0000$ соответственно), солидных структурах (31,4 \pm 4,0; $n = 27$ и 14,2 \pm 8,6; $n = 41$; $p = 0,0000$ соответственно) и дискретных группах опухолевых клеток

(12,6 ± 6,6; $n = 30$ и 4,8 ± 2,1; $n = 34$; $p = 0,0000$ соответственно). В тубулярных структурах процент экспрессии интегрин $\beta 3$ при наличии в лимфатических узлах метастазов был минимальным (3,2 ± 0,8; $n = 4$).

Исследование зависимости экспрессионных характеристик ткани опухолей и клинко-морфологических параметров позволило определить ряд особенностей. Было установлено, что увеличение степени злокачественности карциномы молочной железы ассоциировано с уменьшением частоты случаев с наличием позитивной экспрессии интегрин $\beta 1$ и с увеличением частоты случаев с позитивной экспрессией интегрин $\beta 3$. Описанный вектор изменения экспрессионного профиля исследуемых маркеров сопряжен с увеличением частоты случаев метастатического поражения лимфоузлов. На основании полученных данных можно сделать предположение о том, что степень злокачественности выше при наличии в клетках опухоли инвазивных признаков, определяющих процессы лимфогенной диссеминации. При уточнении характера изменения экспрессии изучаемых параметров в различных структурах паренхиматозного компонента опухоли обнаружено, что экспрессия маркеров в дискретных опухолевых клетках также сопряжена со степенью злокачественности. Наибольший интерес в этом плане представляет усиление экспрессии интегрин $\beta 1$ и $\beta 3$. В литературе имеются сведения о том, что повышенная экспрессия в ткани опухоли интегрин $\beta 3$ в случаях РМЖ, ассоциированная с высокой миграционной способностью злокачественно трансформированных клеток, определяет высокий злокачественный потенциал карциномы [11].

Данные, полученные в результате нашего исследования, также указывают на такую взаимосвязь. Наряду с этим, представленная в литературных источниках информация относительно экспрессии интегрин $\beta 1$ подтверждает его значение и участие в процессах пролиферации клеток, миграции и инвазии, что, в свою очередь,

определяет прогрессирование болезни. Авторы отмечают, что высокая экспрессия маркера интегрин $\beta 1$ при протоковой карциноме *in situ* молочной железы может быть ассоциирована с агрессивным течением, а повышенный уровень данного показателя при инвазивных формах сочетается с низкой выживаемостью пациентов, короткими безрецидивным и безметастатическим периодами [1, 12, 13].

Заключение

Таким образом, полученные в результате нашего исследования данные относительно существования взаимосвязи между экспрессией интегрин семейства $\beta 1$ и $\beta 3$ при инвазивной карциноме молочной железы неспецифического типа в разных структурах опухоли с показателями лимфогенной диссеминации расширяют и дополняют известные ранее сведения. Так, N.E. Ramirez и соавт. в эксперименте на моделях РМЖ у мышей продемонстрировали, что интегрин семейства $\beta 1$ скорее подавляют образование метастазов, подтверждая этот факт регистрацией высокой экспрессии маркера в клетках нормального эпителия молочной железы и его утратой при развитии карциномы. Эта закономерность позволила предположить, что интегрин семейства $\beta 1$ могут являться функциональными ингибиторами возникновения метастатических очагов [14]. S. Havaki в своем исследовании связывает повышение миграционной способности клеток опухоли и усиление их инвазивных свойств с повышенной экспрессией интегрин $\beta 3$ в опухолевых клетках при РМЖ, что впоследствии также может определять развитие метастазов [11]. Результаты работы демонстрируют потенциальную возможность получения дополнительных новых факторов прогностического значения в случаях инвазивной карциномы молочной железы, основанную на изучении молекулярно-биологического профиля опухоли с оценкой экспрессии интегрин рецепторов семейства $\beta 1$ и $\beta 3$.

Литература / References

- Blandin A.F., Renner G., Lehmann M., Lelong-Rebel I., Martin S., Donatenwill M. $\beta 1$ Integrins as therapeutic targets to disrupt hallmarks of cancer. *Front. Pharmacol.* 2015;6:279. DOI: 10.3389/fphar.2015.00279.
- Romagnoli M., Bresson L., Di-Cicco A., Pérez-Lanzón M., Legoux P., Baulande S. et al. Laminin-binding integrins are essential for the maintenance of functional mammary secretory epithelium in lactation. *Development*. 2020;147(4):dev181552. DOI: 10.1242/dev.181552.
- Smeland H.Y., Askeland C., Wik E., Knutsvik G., Molven A., Edelmann R.J. et al. Integrin $\alpha 11\beta 1$ is expressed in breast cancer stroma and associates with aggressive tumor phenotypes. *J. Pathol. Clin. Res.* 2020;6(1):69–82. DOI: 10.1002/cjp2.148.
- Shen M., Jiang Y.Z., Wei Y., Eil B., Sheng X., Esposito M. et al. Tinag1 suppresses triple-negative breast cancer progression and metastasis by simultaneously inhibiting Integrin/FAK and EGFR signaling. *Cancer Cell*. 2019;35(1):64–80. DOI: 10.1016/j.ccell.2018.11.016.
- Acerbi I., Cassereau L., Dean I., Shi Q., Au A., Park C. et al. Human breast cancer invasion and aggression correlates with ECM stiffening and immune cell infiltration. *Integr. Biol. (Camb.)*. 2015;7(10):1120–1134. DOI: 10.1039/c5ib00040h.
- Naik A., Al-Yahyaee A., Abdullah N., El-Sam J., Al-Zeheimi N., Yaish M. et al. Neuropilin-1 promotes the oncogenic Tenascin-C/integrin $\beta 3$ pathway and modulates chemoresistance in breast cancer cells. *BMC Cancer*. 2018;18(1):533. DOI: 10.1186/s12885-018-4446-y.
- Bui T., Rennhack J., Mok S., Ling C., Perez M., Roccamo J. et al. Functional redundancy between $\beta 1$ and $\beta 3$ Integrin in activating the IR/Akt/mTORC1 signaling axis to promote ErbB2-driven breast cancer. *Cell Rep.* 2019;29(3):589–602. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.09.004.
- Maman S., Witz I.P. A history of exploring cancer in context. *Nat. Rev. Cancer*. 2018;18(6):359–376. DOI: 10.1038/s41568-018-0006-7.
- Nienhuis H.H., Gaykema S.B., Timmer-Bosscha H., Jalving M., Brouwers A.H., de Hooge. et al. Targeting breast cancer through its microenvironment: current status of preclinical and clinical research in finding relevant targets. *Pharmacol. Ther.* 2015;147:63–79. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.11.004.
- Seguin L., Desgrosellier J.S., Weis S.M., Cheresh D.A. Integrins and cancer: Regulators of cancer stemness, metastasis, and drug resistance. *Trends Cell Biol.* 2015;25(4):234–240. DOI: 10.1016/j.tcb.2014.12.006.
- Havaki S., Kouloukoussa M., Amawi K., Drosos Y., Arvanitis L.D., Goutas N. et al. Altered expression pattern of integrin $\alpha v\beta 3$ correlates with actin cytoskeleton in primary cultures of human breast cancer. *Cancer Cell Int.* 2007;7:16. DOI: 10.1186/1475-2867-7-16.
- Missan D.S., DiPersio M. Integrin control of tumor invasion. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 2012;22(4):309–324. DOI: 10.1615/critrevukargeneexpr.v22.i4.50.
- Nisticò P., Di Modugno F., Spada S., Bissell M.J. $\beta 1$ and $\beta 4$ integrins: From breast development to clinical practice. *Breast Cancer Res.* 2014;16(5):459. DOI: 10.1186/s13058-014-0459-x.
- Ramirez N.E., Zhang Z., Madamanchi A., Boyd K.L., O'Rear L.D., Nashabi A. et al. The $\alpha v\beta 1$ integrin is a metastasis suppressor in mouse models and human cancer. *J. Clin. Invest.* 2011;121(1):226–237. DOI: 10.1172/JCI42328.

Информация о вкладе авторов

Крахмаль Н.В., Крохмаль В.А. осуществили сбор клинических данных пациентов на основе анализа медицинских карт, направлений на патогистологическое исследование и протоколов, произвели отбор гистологических блоков операционного материала.

Завьялова М.В., Перельмутер В.М. сформулировали идею, предложили концепцию и разработали протокол исследования, сформировали выборку пациентов с оценкой «критериев включения/исключения», осуществляли контроль над организацией и ходом работы.

Телегина Н.С. провела иммуногистохимическое исследование образцов ткани опухоли молочной железы, вместе с Крахмаль Н.В. и Крохмаль В.А. участвовали в написании первой версии рукописи.

Крохмаль В.А. провел обзор литературы по теме исследования.

Завьялова М.В., Вторушин С.В., Крахмаль Н.В. провели морфологическую оценку гистологических препаратов, оценили экспрессию маркеров в образцах опухолевой ткани.

Перельмутер В.М., Завьялова М.В., Вторушин С.В., Крахмаль Н.В. анализировали и интерпретировали полученные данные, внесли существенный вклад в доработку первой исходной версии рукописи.

Все авторы дали окончательное согласие на подачу рукописи и согласились нести ответственность за все аспекты работы, ручаясь за их точность и безупречность.

Сведения об авторах

Крахмаль Надежда Валерьевна, канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации; старший научный сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-1909-1681.
E-mail: krakhmal@mail.ru.

Телегина Надежда Семеновна, канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0003-2471-8626.
E-mail: nadezhda-telegina81@mail.ru.

Завьялова Марина Викторовна, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации; ведущий научный сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0001-9429-9813.
E-mail: zavyalovamv@mail.ru.

Вторушин Сергей Владимирович, д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации; руководитель отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-1195-4008.
E-mail: vtorushin@rambler.ru.

Крохмаль Владислав Алексеевич, студент 4-го курса, лечебный факультет, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации.
E-mail: krokhmal234@gmail.com.

Перельмутер Владимир Михайлович, д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-7633-9620.
E-mail: pvm@ngs.ru.

 **Крахмаль Надежда Валерьевна**, e-mail: krakhmal@mail.ru.

Information on author contributions

Krakhmal N.V. and Krokmal V.A. collected clinical data from patients based on medical record analysis, histopathological examination referrals, and protocols and selected the histological blocks of surgical material.

Zavyalova M.V. and Perelmutter V.M. formulated the idea, proposed study concept, developed research protocol, formed patient sample based on assessment of inclusion and exclusion criteria, and supervised the organization and progress of work.

Telegina N.S. performed the immunohistochemistry study of breast tumor samples and, together with Krakhmal N.V. and Krokmal V.A., participated in writing the first version of the manuscript.

Krokmal V.A. performed literature review on research topic.

Zavyalova M.V., Vtorushin S.V., and Krakhmal N.V. performed morphological assessment of histological slides and assessed the expression of markers in tumor tissue.

Perelmutter V.M., Zavyalova M.V., Vtorushin S.V., and Krakhmal N.V. analyzed and interpreted obtained data and made a significant contribution to the finalization of initial version of the manuscript.

All authors have given their final consent to the submission of manuscript and agreed to be responsible for all aspects of work vouching for their accuracy and flawlessness.

Information about the authors

Nadezhda V. Krakhmal, Cand. Sci. (Med.), Assistant Professor, Department of Pathology, Siberian State Medical University; Senior Research Scientist, Department of General and Molecular Pathology, Oncology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-1909-1681.
E-mail: krakhmal@mail.ru.

Nadezhda S. Telegina, Cand. Sci. (Med.), Assistant Professor, Department of Pathology, Siberian State Medical University. ORCID 0000-0003-2471-8626.
E-mail: nadezhda-telegina81@mail.ru.

Marina V. Zavyalova, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Pathology, Siberian State Medical University; Leading Research Scientist, Department of General and Molecular Pathology, Oncology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0001-9429-9813.
E-mail: zavyalovamv@mail.ru.

Sergey V. Vtorushin, Dr. Sci. (Med.), Professor, Pathology Department, Siberian State Medical University; Head of the Department of General and Molecular Pathology, Oncology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-1195-4008.
E-mail: vtorushin@rambler.ru.

Vladislav A. Krokmal, 4th Year Student, Faculty of Medicine, Siberian State Medical University.
E-mail: krokhmal234@gmail.com.

Vladimir M. Perelmutter, Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Research Scientist, Department of General and Molecular Pathology, Oncology Research Institute, Tomsk National Research medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-7633-9620.
E-mail: pvm@ngs.ru.

 **Nadezhda V. Krakhmal**, e-mail: krakhmal@mail.ru.

Received May 14, 2021

Поступила 14.05.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-86-91>
УДК 575.174.015.3:616.124-008.63-06:616-005.6

Полиморфизм генов фолатного обмена и тромботические осложнения у пациентов с функционально единственным желудочком сердца

Ю.Г. Лугачева, Т.Е. Суслова, И.В. Кулагина, Е.В. Кривошеков, О.С. Янулевич

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634012, Российская Федерация, Томск, ул. Киевская, 111а

Аннотация

Цель исследования: проанализировать связь носительства полиморфных вариантов генов фолатного обмена с развитием тромботических осложнений у пациентов с функционально единственным желудочком сердца (ФЕЖС) в ходе хирургического лечения.

Материал и методы. В проведенной работе были обследованы 102 ребенка с ФЕЖС. Всем пациентам выполнялась хирургическая гемодинамическая коррекция (ГК) врожденного порока сердца (ВПС). При ретроспективном анализе историй болезни у обследованных пациентов с ФЕЖС тромбоз диагностирован в 12,7% случаев. При анализе полиморфизма гена фермента *MTR A2756G* выявлены значимые различия в группе пациентов с тромбозом в анамнезе и без него.

Результаты. Нами установлено, что риск развития тромбоза связан с носительством гомозиготного генотипа *2756AA* гена фермента *MTR* (отношение шансов – ОШ = 11,21; 95% доверительный интервал – ДИ: 1,39–89,96; $p = 0,023$).

Ключевые слова:	полиморфизм генов фолатного обмена, гомоцистеин, тромбоз, функционально единственный желудочек сердца.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.
Соответствие принципам этики:	информированное согласие получено от каждого законного представителя пациента. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 98 от 09.10.2012 г.)
Для цитирования:	Лугачева Ю.Г., Суслова Т.Е., Кулагина И.В., Кривошеков Е.В., Янулевич О.С. Полиморфизм генов фолатного обмена и тромботические осложнения у пациентов с функционально единственным желудочком сердца. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2021;36(4):86–91. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-86-91 .

Polymorphism of folate metabolism genes and thrombotic complications in patients with functionally single ventricle

Julia G. Lugacheva, Tatiana E. Suslova, Irina V. Kulagina, Evgeny V. Krivoshchekov, Olga S. Yanulevich

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russian Federation

Abstract

Aim. To analyze the relationships between the carriage of polymorphic variants in the folate metabolism genes and the development of thrombotic complications in patients with single ventricle (SV) during surgical treatment.

Лугачева Юлия Геннадьевна, e-mail: ljg@cardio-tomsk.ru.

Material and Methods. A total of 102 children with SV were examined in the performed research. All patients underwent surgical hemodynamic correction of congenital heart disease (CHD). According to a retrospective chart review, thrombosis was diagnosed in 12.7 % of the examined patients with SV. The analysis of polymorphism in the MTR A2756G enzyme gene revealed significant differences between the groups of patients with a history of thrombosis and without it.

Results. We found that the risk of developing thrombosis was associated with the carriage of homozygous genotype 2756AA of the MTR enzyme gene (OR = 11.21; 95% CI: 1.39–89.96; $p = 0.023$).

Keywords:	folate metabolism gene polymorphism, homocysteine, thrombosis, single ventricle.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	no author has a financial or property interest in any material or method mentioned.
Adherence to ethical standards:	Informed consent was obtained from each legal representative of the patient. The study was approved by the Ethics Committee of Cardiology Research Institute of Tomsk NRMC (protocol No. 98 from 09.10.2012).
For citation:	Lugacheva J.G., Suslova T.E., Kulagina I.V., Krivoshchekov E.V., Yanulevich O.S. Polymorphism of folate metabolism genes and thrombotic complications in patients with functionally single ventricle. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2021;36(4):86–91. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-86-91 .

Введение

Функционально единственный желудочек сердца (ФЕЖС) – это врожденный порок сердца (ВПС), который включает совокупность анатомических нарушений, требующих проведения последовательных этапов гемодинамической коррекции (ГК). Риск возникновения послеоперационного тромбоза ассоциируется с летальностью пациентов, что в свою очередь приводит хирургическое и терапевтическое лечение к неблагоприятным исходам. Новые возможности прогнозирования, оценки риска маркеров нарушения гомеостаза, в том числе генетических, приводящих к развитию тромбообразования, могут способствовать значительному снижению числа осложнений в послеоперационном периоде.

В формировании тромботических осложнений самостоятельное значение имеют нарушения в обмене фолатного цикла, вызывающие гипергомоцистеинемию. Одной из причин повышения содержания гомоцистеина в плазме крови являются генетические изменения, обуславливающие снижение функциональной активности ферментов фолатного обмена [1].

Согласно данным литературы, исследования о распространенности генетических полиморфизмов ферментов фолатного обмена, сопряженных с риском развития

тромботических состояний, и особенностях их фенотипического проявления у детей освещены недостаточно [2–4], особенно это касается пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями [5, 6].

Целесообразность назначения молекулярно-генетического тестирования фолатного обмена в клинической практике остается спорной, что в большинстве случаев объясняется недостаточным числом исследований риска развития тромботического процесса с наличием определенных маркеров в генотипе пациента.

Цель исследования: проанализировать связь носительства полиморфных вариантов генов фолатного обмена с развитием тромботических осложнений у пациентов с ФЕЖС в ходе хирургического лечения.

Материал и методы

Были обследованы 102 пациента с ФЕЖС (47 девочек, 55 мальчиков), которые находились на госпитализации в отделении детской кардиологии НИИ кардиологии Томского НИМЦ. На рисунке 1 представлено распределение ВПС среди пациентов с различными видами порока. Медиана и интерквартильный интервал данных о возрасте детей с ВПС составляли 3,3 (0,6; 5,0) года.



Рис. 1. Виды врожденного порока сердца у пациентов с функционально единственным желудочком сердца, %
Fig. 1. Types of congenital heart diseases in patients with a single ventricle, %

Всем пациентам проводилась хирургическая ГК ВПС. На первом этапе выполнялась оптимизация легочного и системного кровотока, на втором этапе наложение двунаправленного кавопульмонального соединения (ДКПС). Третьим этапом коррекции ВПС являлось создание тотального кавопульмонального соединения (ТКПС).

Материалом исследования являлась цельная стабилизированная венозная кровь и данные ретроспективного анализа историй болезни пациентов с ФЕЖС. Образцы ДНК пациентов исследованы на наличие однонуклеотидных полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла: *MTHFR*: 677C>T (метилентетрагидрофолатредуктаза), *MTHFR*: 1298A>C (метилентетрагидрофолатредуктаза), *MTR*: 2756A>G (B_{12} -зависимая метионинсинтаза), *MTRR*: 66A>G (метионинсинтазаредуктаза). Проведение молекулярно-генетического тестирования осуществлялось однократно на разных этапах хирургической коррекции ВПС ($n = 102$). Генотип определяли методом полимеразной цепной реакции с использованием амплификатора DT-96 и реагентов компании ДНК-Технология (Россия).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакетов программ SPSS v.20.0, MedCalc v.17.9.7. Сравнение частот однонуклеотидных полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла осуществлялось с помощью χ^2 -критерия Пирсона с поправкой Йейтса на непрерывность при условии, что все значения частот анализируемых признаков больше 5; точного критерия Фишера – при частотах больше или равных 5. При выявлении статистически значимых различий в группах детей вычислялось отношение шансов (ОШ) и его 95% доверительный интервал (ДИ). Для всех видов анализа статистически значимыми считались различия при уровне $p < 0,05$.

Результаты

Пациенты с ФЕЖС проходят многоэтапный и сложный путь хирургической коррекции ВПС. Риск развития тромботических осложнений высок на каждом этапе

оперативного вмешательства, в послеоперационном периоде, а также при проведении инвазивных диагностических процедур, сопровождающихся катетеризацией сосудов.

При ретроспективном анализе историй болезни у обследованных пациентов с ФЕЖС было установлено, что за весь период проведения хирургической коррекции порока у 89 детей не отмечалось тромботических осложнений. Тромбоз был выявлен на разных этапах ГК в 12,7% случаев (13 из 102 детей). На первом этапе лечения тромбоз диагностирован у 3 пациентов (23,1%) с ФЕЖС, на втором этапе – у 8 (61,5%), на третьем этапе – у 2 пациентов (15,4%).

Локализация тромбоза была различной. У 9 из 12 пациентов с ФЕЖС диагностирован венозный тромбоз. Тромбоз подключичной вены выявлен у 3 пациентов с ФЕЖС, верхней полой вены – у 2, бедренной вены – у 3, подвздошной вены – у 1 ребенка. После оперативного вмешательства (наложение модифицированного Блелок – Тауссинг шунта – МБТШ) у 2 пациентов произошел тромбоз данного анастомоза. У 2 пациентов с ФЕЖС диагностирован тромбоз легочной артерии.

Распределение генотипов генов ферментов фолатного цикла было проанализировано в группе пациентов с тромбозом и без него. Результаты проведенного молекулярно-генетического тестирования представлены в таблице 1.

Частоты генотипов генов ферментов фолатного обмена *MTHFR*: 677C>T, *MTHFR*: 1298A>C, *MTRR*: 66A>G в анализируемых группах были сопоставимы. В группе пациентов с тромбозом гомозиготный генотип 2756AA гена фермента *MTR* встречался у 92,3% пациентов, без тромбоза – у 51,7% ($p = 0,006$). Носителями гетерозиготного генотипа 2756AG являлись 7,7% пациентов с тромбозом, 43,8% – без тромбоза ($p = 0,014$). Гомозиготный генотип 2756GG гена фермента *MTR* у пациентов с тромбозом не выявлен, тогда как у пациентов без тромбоза он диагностирован в 4,5% случаев ($p = 0,653$).

Таблица 1. Частота генотипов генов ферментов фолатного обмена у пациентов с функционально единственным желудочком сердца, %
Table 1. Genotype frequencies of genes of folate metabolism enzymes in patients with single ventricle, %

Гены Gene	Генотип Genotype	Пациенты с ФЕЖС Patients with SV		<i>p</i>
		С тромбозом, <i>n</i> = 13 With thrombosis, <i>n</i> = 13	Без тромбоза, <i>n</i> = 89 Without thrombosis, <i>n</i> = 89	
<i>MTHFR</i>	677CC	10 (76,9)	48 (53,9)	0,143
	677CT	2 (15,4)	35 (39,3)	0,126
	677TT	1 (7,7)	6 (6,7)	0,899
<i>MTHFR</i>	1298AA	4 (30,8)	41 (46,1)	0,378
	1298AC	8 (61,5)	45 (50,6)	0,559
	1298CC	1 (7,7)	3 (3,4)	0,460
<i>MTR</i>	2756AA	12 (92,3)	46 (51,7)	0,006
	2756AG	1 (7,7)	39 (43,8)	0,014
	2756GG	0	4 (4,5)	0,653
<i>MTRR</i>	66AA	2 (15,4)	17 (19,1)	0,748
	66AG	8 (61,5)	50 (56,2)	0,773
	66GG	3 (23,1)	22 (24,7)	0,898

Примечание: *n* – количество обследованных пациентов, *p* – статистическая значимость различий.

Note: *n* – number of examined patients, *p* – statistical significance of differences.

При анализе связи носительства полиморфных вариантов генов фолатного обмена с риском развития тромбоза получены результаты, представленные в таблице 2. У пациентов с ФЕЖС как в случае гомозиготного носительства генотипа 677ТТ гена фермента *MTHFR* (ОШ = 1,15; 95% ДИ: 0,13–10,42; $p = 0,899$), так и в случае полиморфной замены генов ферментов *MTHFR*: 1298А>С, *MTRR*: 66А>G у пациентов с ФЕЖС не связано с риском развития тромботических осложнений. При этом нами установлено, что у пациентов с ФЕЖС риск развития тромбоза связан с носительством гомозиготного генотипа 2756АА *MTR* (ОШ = 11,21; 95% ДИ: 1,39–89,96; $p = 0,023$).

Таблица 2. Связь носительства полиморфных вариантов генов фолатного обмена с риском развития тромбоза у пациентов с функционально единственным желудочком сердца

Table 2. Associations of polymorphic variants in the folate metabolism genes carriage with the risk of thrombosis in patients with single ventricle

Гены Genes	Генотип Genotype	Отношение шансов Odds ratio	p
<i>MTHFR</i>	677СС	2,84 (0,7311,05)	0,130
	677СТ	0,28 (0,061,34)	0,111
	677ТТ	1,15 (0,1310,42)	0,899
<i>MTHFR</i>	1298АА	0,52 (0,151,81)	0,305
	1298АС	1,56 (0,475,15)	0,462
	1298СС	2,38 (0,2324,85)	0,466
<i>MTR</i>	2756АА	11,21 (1,3989,96)	0,023
	2756АG	0,11 (0,010,85)	0,035
	2756GГ	0,70 (0,0313,82)	0,817
<i>MTRR</i>	66АА	0,77 (0,163,80)	0,748
	66АG	1,25 (0,384,12)	0,716
	66GГ	0,91 (0,233,62)	0,898

Примечание: p – статистическая значимость. В скобках (95% ДИ) – 95% доверительный интервал.

Note: p – statistical significance. In brackets (95% CI) – 95% confidence interval

Обсуждение

У пациентов с ВПС факторами, обуславливающими повышенное тромбообразование, могут быть повторные хирургические вмешательства, многократные катетерные процедуры, изменения в профиле кровотока из-за пассивного кровообращения. Применение синтетических материалов, таких как сосудистые протезы, клапаны, также приводит к активации механизмов свертывающей системы крови. Нельзя оставить без внимания и такие факторы, как генетически обусловленные нарушения со стороны системы гемостаза, снижение функциональной активности антикоагулянтного звена или фибринолитической системы. Большинство исследователей считают необходимым дальнейшее изучение факторов риска развития тромботических осложнений, в первую очередь, генетических [5, 7].

Носительство генетических полиморфизмов, ассоциированных с изменениями функциональной активности ферментов фолатного обмена, рассматривают как одну из причин развития тромбоза. Наиболее часто обсуждаемым ферментным дефектом, который связан с повышенным уровнем гомоцистеина в плазме крови, является полиморфизм гена, кодирующего метилентетрагидрофолатредуктазу, V_{12} -зависимую метионинсинтазу и метионинсинтазуредуктазу, которые участвуют в фолатном обмене. Повышение уровня гомоцистеина в плазме крови

сопровождается как повреждением эндотелия сосудов, так и угнетающим действием на естественные биологические антикоагулянты, выделяемые сосудистой стенкой, – тромбомодулин, антитромбин III, гепарин, простагландин. Подавление синтеза тромбомодулина приводит к нарушению процесса активации тромбином естественных антикоагулянтов (протеинов С и S), в норме оказывающих пресорное воздействие на активность факторов Va и VIIIa. В результате V фактор свертывания крови становится нечувствительным к действию протеина С. Описанные процессы способствуют дополнительному повышению коагуляционных свойств крови, увеличивая тем самым риск развития тромботических осложнений.

Полиморфизм гена фермента фолатного цикла *MTHFR* в позиции С677Т наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Изменения активности данного фермента наиболее выражены у носителей гомозиготного генотипа 677ТТ метилентетрагидрофолатредуктазы. Активность фермента снижена на 70% у гомозигот 677ТТ гена фермента *MTHFR*, а у носителей гетерозиготного 677СТ генотипа – на 35% [1]. Снижение активности фермента метилентетрагидрофолатредуктазы приводит к легкой или умеренной гипергомоцистеинемии, которая может запускать нарушения в свертывающей системе крови. Ранее в нашей работе у пациентов с ФЕЖС было показано, что содержание гомоцистеина в плазме крови у носителей 677ТТ генотипа гена фермента *MTHFR* был значительно выше по сравнению с носителями генотипа 677СС – 9,0 мкмоль/л ($p = 0,020$) [8]. Мы сделали вывод, что носительство гомозиготного генотипа 677ТТ у пациентов с ФЕЖС ассоциировано с повышенным содержанием гомоцистеина в плазме крови. У детей содержание гомоцистеина в плазме крови значительно ниже, чем у взрослых. Физиологической нормой у детей до 12 лет независимо от пола считается уровень до 5 мкмоль/л [9].

Полиморфная замена А1298С гена фермента фолатного цикла *MTHFR* снижает его активность, хотя и не так значительно, как при полиморфизме С677Т *MTHFR*. Сочетания гетерозиготных компаундов гена *MTHFR* СТ677 и гена *MTHFR* АС1298 снижают активность фермента и повышают содержание гомоцистеина в плазме крови [1].

В литературе обращается внимание на снижение функциональной активности фермента V_{12} -зависимой метионинсинтазы *MTR* А2756G, сопровождающееся повышением уровня гомоцистеина в плазме крови. Значимость полиморфной замены А2756G гена фермента *MTR* описана в группе пациентов и связана с патологией развития плода, а именно с повышением риска развития синдрома Дауна, незаращением нервной трубки. Ранее в нашей работе мы установили, что у носителей гомозиготного генотипа 2756АА гена фермента *MTR* и 677СТ/ТТ гена фермента *MTHFR* содержание гомоцистеина в плазме крови составило 8,2 мкмоль/л [8]. Комбинация данных полиморфизмов является факторами риска гипергомоцистеинемии у пациентов с ишемическим инсультом в корейской популяции [12].

Полиморфизм А66G гена фермента фолатного цикла *MTRR* в 4 раза снижает активность данного фермента. Влияние полиморфной замены увеличивается на фоне дефицита витамина V_{12} . Полиморфизм А66G гена фермента фолатного цикла *MTRR* также усиливает гипергомоцистеинемии, вызываемую полиморфной заменой С677Т *MTHFR* [1].

Мы проанализировали риск развития тромботических осложнений у пациентов с ФЕЖС с тромбозами в анамнезе и без него. Многими авторами описывается связь гомозиготного генотипа 677TT *MTHFR* с риском развития венозных и артериальных тромбозов [1, 10]. U. Nowak-Gottl и соавт. продемонстрировали, что носительство только 677TT гена фермента *MTHFR* повышает риск развития ишемического инсульта у детей в 2,6 раз (ОШ = 2,6; 95% ДИ: 1,5–4,5) [11]. В работах отдельных авторов у детей носительство гомозиготного генотипа 677TT гена фермента *MTHFR* не влияло на риск развития церебральных венозных тромбозов (ОШ = 1,2; 95% ДИ: 0,2–6,9) [12] и (ОШ = 1,0; 95% ДИ: 0,3–3,6) [13]. В нашем исследовании носительство гомозиготного генотипа TT гена фермента *MTHFR* у пациентов с ФЕЖС не связано с риском развития тромботических осложнений (ОШ = 1,15; 95% ДИ: 0,13–10,42; $p = 0,899$).

В представленной нами ранее работе анализ частоты генотипов генов ферментов фолатного цикла у пациентов с ФЕЖС был сопоставим с группой практически здоровых детей [8]. Распределение частоты генотипов гена фермента *MTR* A2756G в группе пациентов с ФЕЖС без тромбоза соответствовало группе практически здоровых детей. В результате проведенного анализа частота генотипов гена фермента *MTR* A2756G статистически значимо различалась у пациентов с тромбозом в анамнезе и без него. Мы установили, что риск развития тромбоза связан с носительством гомозиготного генотипа 2756AA гена фермента *MTR* (ОШ = 11,21; 95% ДИ: 1,39–89,96; $p = 0,023$). В литературе мы не нашли подтверждающих данных, связывающих носительство генотипа 2756AA гена фермента *MTR* с риском развития тромботических осложнений.

Исходя из результатов проведенных исследований, можно предположить, что у пациентов с ФЕЖС имеются генетические факторы риска, такие как полиморфизм ферментов фолатного цикла, приводящие к повышению содержания гомоцистеина в плазме крови. В предыдущих работах показано наличие носительства полиморфных вариантов генов системы гемостаза (гетерозиготного генотипа 20210GA гена фактора II, гомозиготного генотипа 10976GG гена фактора VII) [14]. Реализация тромботических осложнений в каждом клиническом случае зависит от индивидуального генетического фона пациента и факторов риска в данный момент времени.

Заключение

В результате нашего исследования мы установили, что у пациентов с ФЕЖС носительство гомозиготного генотипа 677TT *MTHFR* не связано с риском развития тромбоза (ОШ = 1,15; 95% ДИ: 0,13–10,42; $p = 0,899$). Не выявлено связи носительства полиморфных вариантов генов ферментов *MTHFR*: 1298A>C, *MTRR*: 66A>G у пациентов с ФЕЖС с риском развития тромботических осложнений. Мы определили, что риск развития тромбоза связан с носительством гомозиготного генотипа 2756AA *MTR* (ОШ = 11,21; 95% ДИ: 1,39–89,96; $p = 0,023$).

Распространенность генетических полиморфизмов генов ферментов фолатного обмена и особенности их фенотипической реализации среди пациентов с ВПС в доступной литературе рассматриваются в единичных сообщениях. Формирование базы данных о частоте полиморфных вариантов генов ферментов фолатного обмена и их роли в реализации тромботических осложнений у пациентов с ВПС требует дальнейшего изучения в рамках исследования полиморфизма факторов системы гемостаза.

Литература

- Azzini E., Ruggeri S., Polito A. Homocysteine: Its possible emerging role in at-risk population groups. *Int. J. Mol. Sciences*. 2020;21(4):1421. DOI: 10.3390/ijms21041421.
- Строзенко Л.А., Лобанов Ю.Ф., Черепанова Л.А., Колесникова М.А., Снигирь О.А., Королева Е.А. и др. Качество жизни подростков – носителей полиморфизмов генов фолатного цикла. *Российский педиатрический журнал*. 2017;20(1):11–18. DOI: 10.18821/1560-9561-2017-20-1-11-18.
- Klaassen I.L.M., van Ommen C.H., Middeldorp S. Manifestations and clinical impact of pediatric inherited thrombophilia. *Blood*. 2015;125(7):1073–1077. DOI: 10.1182/blood-2014-05-536060.
- Yang J.Y.K., Chan A.K.C. Pediatric thrombophilia. *Pediatr. Clin. North Am.* 2013;60(6):1443–1462. DOI: 10.1016/j.pcl.2013.09.004.
- Alioglu B., Avci Z., Tokel K., Atac F.B., Ozbek N. Thrombosis in children with cardiac pathology: analysis of acquired and inherited risk factors. *Blood Coagul. Fibrinolysis*. 2008;19(4):294–304. DOI: 10.1097/MBC.0b013e3282fe73b1.
- Malbora B., Ozbek N., Avci Z., Verdi H., Alioglu B., Varan B. et al. Role of thrombophilic mutations in childhood cardiac and great vessel thrombosis. *Journal of Pediatric Sciences*. 2014;6:e218.
- De Leval M.R., Deanfield J.E. Four decades of Fontan palliation. *Nat. Rev. Cardiol.* 2010;7(9):520–527. DOI: 10.1038/nrcardio.2010.99.
- Лугачева Ю.Г., Кулагина И.В., Ковалев Л.А., Кривошеков Е.В., Янулевич О.С., Плотникова И.В. и др. Распределение аллельных вариантов генов ферментов фолатного цикла и уровень гомоцистеина у пациентов с врожденными пороками сердца с функционально

единственным желудочком. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2015;60(6):55–59.

- Березовская Т.С., Мироманова Н.А. Диагностическое значение определения гомоцистеина в сыворотке крови у детей при нейроинфекциях. *Журнал инфектологии*. 2018;10(1):42–46. DOI: 10.22625/2072-6732-2018-10-1-42-46.
- Kenet G., Lutkhoff L.K., Albisetti M., Bernard T., Bonduel M., Brandao L. et al. Impact of thrombophilia on risk of arterial ischemic stroke or cerebral sinovenous thrombosis in neonates and children: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Circulation*. 2010;121(16):1838–1847. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.913673.
- Nowak-Gottl U., Janssen V., Manner D. Venous thromboembolism in neonates and children—update 2013. *Thromb. Res.* 2013;131(1):S39–S41. DOI: 10.1016/S0049-3848(13)70019-7.
- Kim O.J., Hong S.P., Ahn J.Y., Hong S.H., Hwang T.S., Kim S.O. et al. Influence of combined methionine synthase (*MTR* 2756A>G) and methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR* 677 C>T) polymorphisms to plasma homocysteine levels in Korean patients with ischemic stroke. *Yonsei Med. J.* 2007;48(2):201–209. DOI: 10.3349/ymj.2007.48.2.201.
- Miller S.P., Wu Y.W., Lee J., Lammer E.J., Iovannisci D.M., Glidden D.V. et al. Candidate gene polymorphisms do not differ between newborns with stroke and normal controls. *Stroke*. 2006;37(11):2678–2683. DOI: 10.1161/01.STR.0000244810.91105.c9.
- Лугачева Ю.Г., Кулагина И.В., Ковалев Л.А., Кривошеков Е.В., Янулевич О.С., Суслова Т.Е. Факторы риска тромботических осложнений у пациентов с функционально единственным желудочком сердца. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2019;64(2):68–74. DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-2-68-74.

References

- Azzini E., Ruggeri S., Polito A. Homocysteine: Its possible emerging role in at-risk population groups. *Int. J. Mol. Sciences*. 2020;21(4):1421. DOI: 10.3390/ijms21041421.

- Strozenko L.A., Lobanov Yu.F., Cherepanova L.A., Kolesnikova M.A., Snigir O.A., Koroleva E.A. et al. Quality of life of adolescents-carriers of folate cycle gene polymorphisms. *Russian Pediatric Journal*. 2017;20(1):11–18 (In Russ.). DOI: 10.18821/1560-9561-2017-20-1-11-18.

- Klaassen I.L.M., van Ommen C.H., Middeldorp S. Manifestations and clinical impact of pediatric inherited thrombophilia. *Blood*. 2015;125(7):1073–1077. DOI: 10.1182/blood-2014-05-536060.
- Yang J.Y.K., Chan A.K.C. Pediatric thrombophilia. *Pediatr. Clin. North Am.* 2013;60(6):1443–1462. DOI: 10.1016/j.pcl.2013.09.004.
- Alioglu B., Avci Z., Tokel K., Atac F.B., Ozbek N. Thrombosis in children with cardiac pathology: analysis of acquired and inherited risk factors. *Blood Coagul. Fibrinolysis*. 2008;19(4):294–304. DOI: 10.1097/MBC.0b013e3282fe73b1.
- Malbora B., Ozbek N., Avci Z., Verdi H., Alioglu B., Varan B. et al. Role of thrombophilic mutations in childhood cardiac and great vessel thrombosis. *Journal of Pediatric Sciences*. 2014;6:e218.
- De Leval M.R., Deanfield J.E. Four decades of Fontan palliation. *Nat. Rev. Cardiol.* 2010;7(9):520–527. DOI: 10.1038/nrcardio.2010.99.
- Lugacheva Yu.G., Kulagina I.V., Kovalev L.A., Krivoshchekov E.V., Yanulevich O.S., Plotnikova I.V. et al. The distribution of allelic variants in the folate cycle enzyme genes and the level of homocysteine in patients with congenital heart disease and functional single ventricle. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2015;60(6):55–59 (In Russ.).
- Berezovskaya T.S., Miromanova N.A. Diagnostic meaning of determination of homocystein in the blood serum in children with neuroinfections. *Journal Infectology*. 2018;10(1):42–46 (In Russ.). DOI: 10.22625/2072-6732-2018-10-1-42-46.
- Kenet G., Lutkhoff L.K., Alibetti M., Bernard T., Bonduel M., Brandao L. et al. Impact of thrombophilia on risk of arterial ischemic stroke or cerebral sinovenous thrombosis in neonates and children: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Circulation*. 2010;121(16):1838–1847. DOI: 10.1161/CIRCULATIONHA.109.913673.
- Nowak-Gottl U., Janssen V., Manner D. Venous thromboembolism in neonates and children—update 2013. *Thromb. Res*. 2013;131(1):S39–S41. DOI: 10.1016/S0049-3848(13)70019-7.
- Kim O.J., Hong S.P., Ahn J.Y., Hong S.H., Hwang T.S., Kim S.O. et al. Influence of combined methionine synthase (MTR 2756A>G) and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR 677 C>T) polymorphisms to plasma homocysteine levels in Korean patients with ischemic stroke. *Yonsei Med. J.* 2007;48(2):201–209. DOI: 10.3349/ymj.2007.48.2.201.
- Miller S.P., Wu Y.W., Lee J., Lammer E.J., Iovannisci D.M., Glidden D.V. et al. Candidate gene polymorphisms do not differ between newborns with stroke and normal controls. *Stroke*. 2006;37(11):2678–2683. DOI: 10.1161/01.STR.0000244810.91105.c9.
- Lugacheva Yu.G., Kulagina I.V., Kovalev I.A., Krivoschekov Y.V., Yanulevich O.S., Suslova T.E. Risk factors of thrombotic complications in patients with single functional ventricle. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2019;64(2):68–74 (In Russ.). DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-2-68-74.

Информация о вкладе авторов

Лугачева Ю.Г. провела молекулярно-генетическое исследование генов ферментов фолатного цикла, анализировала и интерпретировала данные, написала первую версию рукописи.

Суслова Т.Е., Кулагина И.В. предложили концепцию исследования, разработали его протокол, внесли вклад в доработку исходного варианта рукописи.

Кривошеков Е.В. выполнял хирургическое вмешательство и проводил послеоперационное наблюдение.

Янулевич О.С. участвовала в обсуждении результатов.

Все авторы дали окончательное согласие на подачу рукописи и согласились нести ответственность за все аспекты работы, ругаясь за их точность и безупречность.

Сведения об авторах

Лугачева Юлия Геннадьевна, канд. мед. наук, врач клинической лабораторной диагностики клинко-диагностической лаборатории, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-5417-1038.

E-mail: ljug@cardio-tomsk.ru.

Суслова Татьяна Евгеньевна, канд. мед. наук, заведующий отделением клинической лабораторной диагностики, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0001-9645-6720.

E-mail: tes@cardio-tomsk.ru.

Кулагина Ирина Владимировна, канд. мед. наук, заведующий клинико-диагностической лабораторией, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID: 0000-0002-6147-0060.

E-mail: kulagina@cardio-tomsk.ru.

Кривошеков Евгений Владимирович, д-р мед. наук, заведующий кардиохирургическим отделением № 2, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID: 0000-0002-0828-3995.

E-mail: KEV@cardio-tomsk.ru.

Янулевич Ольга Сергеевна, канд. мед. наук, врач-детский кардиолог, кардиохирургическое отделение № 2, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID: 0000-0003-3690-5373.

E-mail: osya@cardio-tomsk.ru.

Лугачева Юлия Геннадьевна, e-mail: ljug@cardio-tomsk.ru.

Information on author contributions

Lugacheva J.G. conducted molecular genetic study for the genes of folate cycle enzymes, analyzed and interpreted the data, and wrote the first version of the manuscript.

Suslova T.E. and Kulagina I.V. proposed the study concept, developed study protocol, and revised the final version of the manuscript.

Krivoshchekov E.V. performed surgical interventions and conducted postoperative observation.

Yanulevich O.S. participated in the discussion of the results.

All authors gave their final consent to the submission of the manuscript and agreed to be responsible for all aspects of the work, vouching for their accuracy and perfection.

Information about the authors

Julia G. Lugacheva, Cand. Sci. (Med.), Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Clinical Diagnostic Laboratory, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-5417-1038.

E-mail: ljug@cardio-tomsk.ru.

Tatiana E. Suslova, Cand. Sci. (Med.), Head of the Clinical Diagnostic Laboratory, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0001-9645-6720.

E-mail: tes@cardio-tomsk.ru.

Irina V. Kulagina, Cand. Sci. (Med.), Chief of the Clinical Diagnostic Laboratory, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-6147-0060.

E-mail: kulagina@cardio-tomsk.ru.

Evgeny V. Krivoschekov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Cardiac Surgery No. 2, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre, Russian Academy of Sciences. ORCID: 0000-0002-0828-3995.

E-mail: KEV@cardio-tomsk.ru.

Olga S. Yanulevich, Cand. Sci. (Med.), Pediatric Cardiologist, Cardiac Surgery No. 2, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre, Russian Academy of Sciences. ORCID: 0000-0003-3690-5373.

E-mail: osya@cardio-tomsk.ru.

Julia G. Lugacheva, e-mail: ljug@cardio-tomsk.ru.

Received May 06, 2021

Поступила 06.05.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-92-98>
УДК 575.174.015.3:616.248](571.14)

Поиск ассоциаций полиморфных вариантов гена кислой хитиназы человека с бронхиальной астмой у детей г. Новосибирска

С.И. Макарова¹, Д.В. Митрофанов¹, А.Б. Шиндяпина¹, Е.Г. Комова³,
В.В. Зеленская², Т.В. Карцева², Е.Г. Кондюрина², В.А. Вавилин¹

¹ Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины, Институт молекулярной биологии и биофизики,
630117, Российская Федерация, Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² Новосибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации,
630091, Российская Федерация, Новосибирск, Красный пр., 52

³ АО «Вектор-Бест»,
630117, Российская Федерация, Новосибирск, а/я 492

Аннотация

Высокая распространенность бронхиальной астмы (БА) среди населения (около 300 млн чел. во всем мире) делает актуальным поиск кандидатных генов заболевания. Кислая хитиназа человека (CHIA (AMCase)), кодируемая геном *CHIA*, участвует в деградации хитина, компонента клеточных стенок грибов и экзоскелета членистоногих, присутствие которых в пище или домашней пыли является провоцирующим фактором развития БА. Функционально значимые мутации в гене *CHIA* могут, по-видимому, усиливать риск подверженности БА.

Цель исследования: оценка ассоциации однонуклеотидных замен (SNP) rs12033184 и rs3806448 в гене *CHIA* с БА у детей г. Новосибирска.

Материал и методы. Исследование было организовано как «случай – контроль». В работе были использованы 537 образцов крови. SNP определяли методом ПЦР с детекцией в реальном времени. Ассоциацию полиморфных вариантов с заболеванием оценивали по отношению шансов (odds ratio – OR).

Результаты. Не обнаружено ассоциации rs12033184 и rs3806448 с БА. Эти результаты приводят к выводу, что роль гена кислой хитиназы в развитии БА в популяции жителей г. Новосибирска менее существенна, чем в индийской популяции, где ранее была показана ее связь с заболеванием.

Ключевые слова:	ген кислой хитиназы человека, бронхиальная астма, rs12033184, rs3806448.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	работа выполнена в рамках бюджетного проекта АААА-А18-118012490236-3 с использованием оборудования ЦКП «Протеомный анализ», реестровый № 201716.
Для цитирования:	Макарова С.И., Митрофанов Д.В., Шиндяпина А.Б., Комова Е.Г., Зеленская В.В., Карцева Т.В., Кондюрина Е.Г., Вавилин В.А. Поиск ассоциаций полиморфных вариантов гена кислой хитиназы человека с бронхиальной астмой у детей г. Новосибирска. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2021;36(4):92–98. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-92-98 .

Search for associations between polymorphic variants of human acid chitinase gene and bronchial asthma in children of Novosibirsk

Svetlana I. Makarova¹, Dmitry V. Mitrofanov¹, Alexandra B. Shintyapina¹,
Elena G. Komova³, Vera V. Zelenskaya², Tatyana V Kartseva²,
Elena G. Kondyurina², Valentin A. Vavilin¹

¹Institute of Molecular Biology and Biophysics of Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, 2, Timakov str., Novosibirsk, 630117, Russian Federation

²Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny pr., Novosibirsk, 630091, Russian Federation

³JSC Vector-Best, mailbox 492, Novosibirsk, 630117, Russian Federation

Abstract

High prevalence of bronchial asthma among the population (about 300 million people all over the world) provides rationale for the search for candidate genes of disease. Human acidic chitinase (CHIA (AMCase)), encoded by the *CHIA* gene, is involved in the degradation of chitin, a component of the fungal cell wall and arthropod exoskeleton, which, if present in food or house dust, is a provoking factor for the bronchial asthma (BA) development. Functionally significant mutations in the *CHIA* gene may apparently increase the risk of susceptibility to BA.

Aim. The aim of the study was to assess the associations of single nucleotide polymorphisms (SNPs) rs12033184 and rs3806448 in the *CHIA* gene with bronchial asthma in children in Novosibirsk.

Material and Methods. The study was organized as case-control. A total of 537 blood samples were used. SNPs were determined by real-time PCR. The associations of polymorphic variants with the disease were assessed by the odds ratio.

Results. No associations of rs12033184 and rs3806448 with BA were found.

Conclusion. The role of acidic chitinase gene in the development of BA in residents of Novosibirsk was found to be less significant than in the Indian population where it was previously shown to be associated with the disease.

Keywords:	gene of human acidic mammalian chitinase, bronchial asthma, rs12033184, rs3806448.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	the work was carried out within the framework of the AAAA-A18-118012490236-3 budget project using the equipment of the Proteomic Analysis Center for Collective Use, registry number 201716.
For citation:	Makarova S.I., Mitrofanov D.V., Shintyapina A.B., Komova E.G., Zelenskaya V.V., Kartseva T.V., Kondyurina E.G., Vavilin V.A. Search for associations between polymorphic variants of human acid chitinase gene and bronchial asthma in children of Novosibirsk. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2021;36(4):92–98. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-92-98 .

Введение

Бронхиальная астма (БА) – это хроническое воспалительное заболевание легких, характеризующееся воспалением дыхательных путей, обструкцией и ремоделированием. Воздействие аллергенов приводит к адаптивным и врожденным иммунным реакциям и усилению провоспалительных и профибротических факторов. В результате происходит реконструкция дыхательных путей. Тем не менее механизмы, лежащие в основе воспалительных и структурных изменений при астме, до сих пор до конца неясны [1].

Поиск кандидатных генов для различных заболеваний продолжается по сей день. Ген кислой хитиназы (*CHIA*)

привлекает внимание в качестве кандидатного гена для БА по нескольким причинам: во-первых, он располагается на первой хромосоме в районе 1p13.2, который ассоциирован с астмой в полногеномных исследованиях (Genome-wide Association Studies – GWAS) [2, 3]. Во-вторых, этот ген кодирует белок, деградирующий хитин, содержащийся в клеточных стенках большинства грибов и насекомых (в частности клещей), которые часто являются провоцирующими агентами для развития астмы [4, 5]. Кроме того, этот белок играет роль в иммунном ответе Т-хелперных клеток 2-го типа (Th2), способствует ответу на IL-13 и воспалению в ответ на IL-13, стимулирует выработку хемокинов эпителиальными клетками легких,

защищает эпителиальные клетки легких от апоптоза и способствует фосфорилированию AKT1 [5]. Ген *CH1A* полиморфен [6].

В некоторых работах [7–9] показана ассоциация полиморфизмов *CH1A* с предрасположенностью к БА, тогда как в работе [10] не выявлено ассоциаций полиморфных вариантов этого гена с заболеванием астмой. В российских популяциях ген *CH1A* не изучен ни в отношении распространения полиморфных вариантов, ни в отношении их связи с БА. Необходимость таких исследований обусловлена значительной генетической дифференциацией популяций по генам, ассоциированным с различными заболеваниями [11, 12]. Мы оценили два варианта этого гена: rs12033184 (C/A) и rs3806448 (G/A), которые находятся в промоторной области гена и для которых показано, что rs12033184 снижает транскрипцию гена, а rs3806448 не влияет на нее [7].

Материал и методы

В работе использовались 537 образцов цельной крови от двух групп населения г. Новосибирска. Группу I составили больные atopической БА, установленной в рамках исследования по протоколу Международного исследования астмы и аллергии у детей (International Study of Asthma and Allergy in Childhood – ISAAC) ($n = 92$, возраст от 7 до 14 лет, средний возраст – 10,2 года, 64,8% мальчиков и 35,2% девочек). Дети были отобраны в ходе эпидемиологического исследования, проведенного по программе ISAAC, в результате которого были выявлены школьники с врачом-установленным диагнозом БА. Диагноз был подтвержден в соответствии с критериями, обозначенными в международных и российских согласи-

тельных документах; факторы риска изучены на основании опросника 2-й фазы программы ISAAC. Всем детям было проведено исследование функции внешнего дыхания, в том числе с выполнением провокационных (физическая нагрузка) и бронходилатационных тестов, аллергологическое обследование методом прик-тестирования со стандартным набором аллергенов. У всех детей выявлено персистирующее течение БА: у 66 детей – легкой и у 26 – среднетяжелой степени.

Группа II – популяционная выборка жителей г. Новосибирска, предоставленная АО «Вектор-Бест» ($n = 445$).

Информированное согласие на исследование детей подписывали их родители.

Выделение ДНК осуществлялось при помощи набора «РеалБест экстракция 100» (АО «Вектор-Бест», Новосибирск) согласно рекомендациям производителя. Предварительно размороженная кровь обрабатывалась ферментативным реагентом «РеалБестГемолитик» той же фирмы.

Оценка полиморфных вариантов гена *CH1A* проводилась ПЦР с детекцией в реальном времени с использованием «БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue(2x)» компании «Биолабмикс». Условия проведения реакции для rs12033184: первичная денатурация и активация Taq-полимеразы при 95 °C 3 мин; затем 44 цикла (95 °C – 10 с, 59 °C – 30 с). Для rs3806448: 95 °C – 3 мин; затем последующие 44 цикла (95 °C – 10 с, 61 °C – 30 с). Праймеры для аллель-специфичной ПЦР в реальном времени подбирали с использованием программы PrimerBlast. Для каждого полиморфного варианта предложено по три праймера (два прямых и один обратный), таблица 1.

Таблица 1. Праймеры для аллель-специфичной ПЦР

Table 1. Primers for allele-specific Real-Time PCR

Варианты Variants	Название Primer title	Последовательность праймера Primer sequence	Tm, °C
rs12033184 (A/C)	CH1A-184FC	5'- TCATAAAGACATCATGGTTGATGC	60,3
	CH1A-184FA	5'- TCATAAAGACATCATGGTTGACGA	60,3
	CH1A-184R	5'- AACAACTTAAGTCCAGTGCCG	60,1
rs3806448 (G/A)	CH1A-448FG	5'- GATACTGCGTAGTTAAGATCAACG	62,0
	CH1A-448FA	5'- GATACTGCGTAGTTAAGATCACCA	62,0
	CH1A-448R	5'- TTGATCCTGCTTGGATAAGACCAT	62,0

На рисунках 1, 2 показан метод оценки генотипа пациента. В зависимости от генотипа различалось пороговое число циклов: если в геноме пациента присутствуют оба аллеля rs12033184 – А и С, то пороговое значение было примерно 25 циклов. Если генотип гомозиготный, то наблюдаются два пороговых значения цикла: 25 – для комплементарного данному аллелю праймера и 32 – для отсутствующего rs12033184 А или 36 – для rs12033184 С (см. рис. 1). Для гетерозиготного генотипа rs3806448 пороговое значение также составляло 25 циклов. В случае гомозиготного генотипа наблюдается два пороговых значения цикла: 25 – для комплементарного аллелю праймера и 29 – для отсутствующего rs3806448G или 33 для rs3806448A (см. рис. 2).

Статистическая обработка результатов проводилась в программе Epi_Infob. На этапе планирования были рассчитаны величины выборок, достаточных для получения достоверных величин отношения шансов (odds ratio – OR) при статистической значимости 0,05 и мощности 80% при известных частотах встречаемости мутации. Для OR = 2 достаточной является численность 360 в контрольной группе и 90 – в группе пациентов при организации исследования «случай – контроль» при частоте встречаемости SNP в контрольной группе 44–47%, которая и сообщается для европеоидов [13, 14]. Таким образом, размер наших выборок был достаточным для того, чтобы заметить ассоциации полиморфных вариантов гена кислой хитиназы человека с БА.

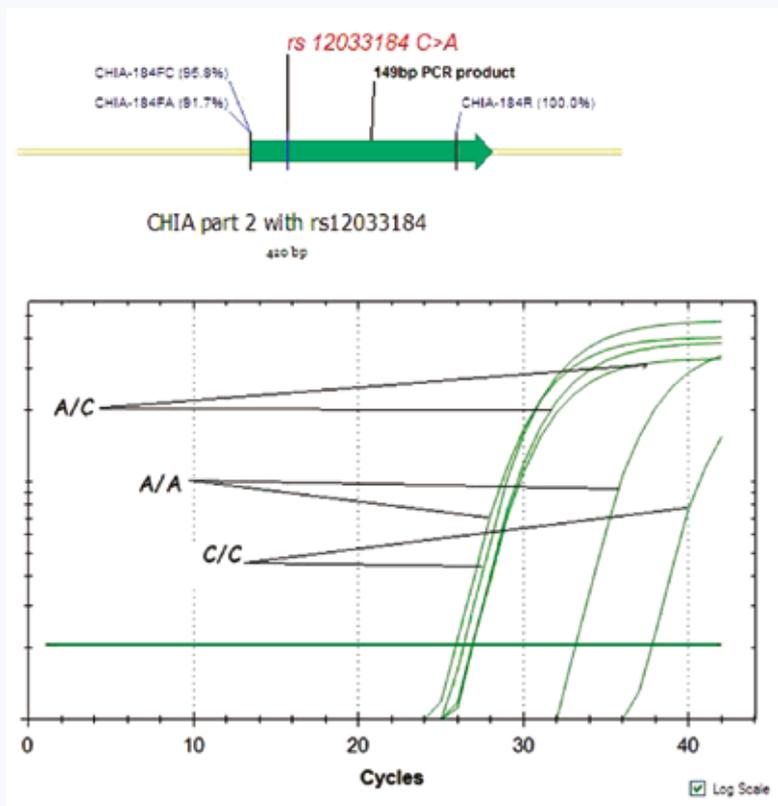


Рис. 1. Генотипирование rs12033181
Fig. 1. Genotyping of rs12033181

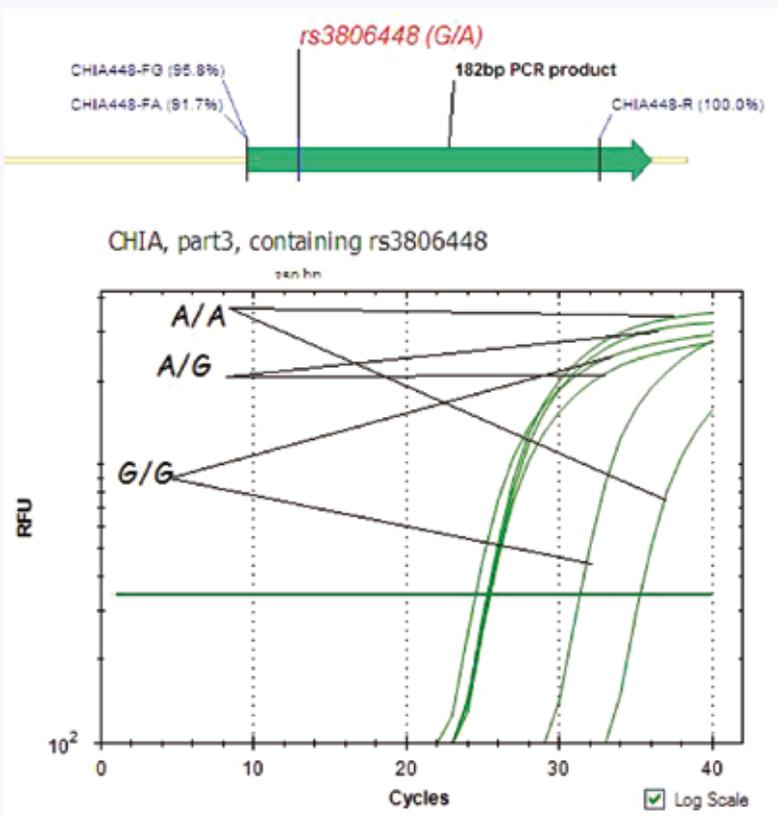


Рис. 2. Генотипирование rs3806448
Fig. 2. Genotyping of rs3806448

Результаты

Мы оценили частоты встречаемости в гене *CHIA* (rs3806448(G→A) и rs12033184 (C→A)) в 445 образцах крови жителей г. Новосибирска (популяционный контроль) и в 91 образце крови детей с признаками астмы, выявленной по опроснику ISAAC. Частоты встречаемости полиморфных вариантов составили для rs3806448 G – 0,5272; A – 0,4728 – для популяционного контроля и G 0,5055; A – 0,4945 – для детей с признаками астмы. Соответственно для rs12033184 G 0,5528; A – 0,4472 – для популяционного контроля и G – 0,5281; A – 0,4719 – для детей с признаками астмы. Частоты встречаемости этих вариантов соответствуют данным по другим выборкам европеоидов [13, 14]. Расчеты величин отношения шансов показали отсутствие ассоциации исследованных полиморфных вариантов с заболеванием (OR = 0,92 для rs3806448 G; OR = 0,91 для rs12033184), таблица 2.

Таблица 2. Ассоциация полиморфных вариантов гена *CHIA* с бронхиальной астмой

Table 2. Associations between polymorphic variants of the *CHIA* gene and bronchial asthma

Показатель	Популяционный контроль Population control	БА Asthma	OR (95% ДИ)	<i>p</i>
<i>CHIA</i> rs3806448				
GG	116	23	–	–
AG	233	46	–	–
AA	92	22	–	–
G	465	92	0,92 (0,66–1,28)	0,5933
A	417	90	1,09 (0,78–1,52)	0,5933
<i>CHIA</i> rs12033184				
CC	133	23	–	–
AC	226	48	–	–
AA	86	18	1,1 (0,79–1,54)	0,5452
C	492	94	0,91 (0,65–1,27)	0,5452
A	398	84	–	–

Обсуждение

Для защиты от хитинсодержащих патогенов у человека экспрессируются хитиназы (*CHIT1* и *CHIA*) и хитиназоподобные белки, включая *CHI3L1* (хитиназа 3-like 1), *CHI3L2* (хитиназа 3-like 2), *OVGP1* (специфичный для яйцевода гликопротеин) и *CHID1* (стабилизин-1 – взаимодействующий хитиназоподобный белок). Хитин поступает в дыхательные пути с частичками пылевых клещей и других организмов. В стенке дыхательных путей эти частицы инициируют врожденный иммунный ответ, стимулируя, в том числе, выработку цитокинов, хитиназ (*CHIT1* и *CHIA* и *CHI3L1*) в макрофагах, нейтрофилах и эозинофилах.

Литература

- Grayson M.H., Feldman S., Prince B.T., Patel P.J., Matsui E.C., Apter A.J. Advances in asthma in 2017: Mechanisms, biologics, and genetics. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2018;142(5):1423–1436. DOI: 10.1016/j.jaci.2018.08.033.
- García-Sánchez A., Isidoro-García M., García-Solaesa V., Sanz C., Hernández-Hernández L., Padrón-Morales J. et al. Genome-wide

Хитиназы, продуцируемые в стенке дыхательных путей, расщепляют хитины (полимеры) на фрагменты, или хитины связываются с хитиназоподобными белками, такими как *CHI3L2*, которые изменяют биологические эффекты фрагментов хитина на иммунный ответ [15, 16]. Они также индуцируют Th2-доминантные иммунные ответы, которые связаны с аллергическим воспалением, включая повышенную выработку провоспалительных цитокинов, сывороточного IgE и выраженную эозинофилию ткани. Эти цитокины и профибротические факторы, в свою очередь, управляют воспалением и ремоделированием в стенках бронхов [17]. Несмотря на столь многообещающие свойства хитиназ и хитиназоподобных белков для изучения их в качестве кандидатных генов для БА, работ по исследованию ассоциации полиморфных вариантов *CHIA* с астмой немного, хотя интерес к этим белкам наблюдается с начала 2000-х гг. В настоящее время известно множество полиморфных вариантов гена *CHIA* [6].

В нескольких работах показана ассоциация вариантов этих генов с астмой в индийской [7] и китайской [8] популяциях при значительно меньших выборках, чем в нашем исследовании. Противоречивые результаты получены в европеоидных выборках [9, 10]. Ассоциация с БА именно тех вариантов, что мы исследовали в своей работе, наблюдалась в работах [7, 10]. Указанные различия могут объясняться, по-видимому, как этническими особенностями изученных выборок, так и средовыми различиями и гетерогенностью факторов риска БА в нашем и цитируемых исследованиях. В пользу наличия связи между функциональной активностью хитиназ и астмой говорят результаты работы [18], в которой исследовано влияние на госпитализацию с приступами астмы пациентов с разными генотипами хитиназ и разным уровнем пыли от плесневых грибов в их домах.

Показано, что роль полиморфных вариантов хитиназ способна меняться в зависимости от экспозиции плесневыми грибами. Поскольку в нашей работе и в работах [7, 10, 18] выборки составлены из европеоидов, и мы не видим значимых различий в частотах изученных SNP между этими выборками, этнические особенности не имели существенного значения. Наши результаты имеют определенные ограничения, так как в анализ вошли дети только с легкой и среднетяжелой персистирующей БА, что не исключает возможной связи полиморфных вариантов гена кислой хитиназы человека с тяжелой формой патологии и может быть предметом дальнейших исследований, в том числе с учетом характера и степени сенсibilизации к определенным аллергенам, в частности к клещам-дерматофагоидам. В то же время эти результаты отражают, по-видимому, тот факт, что в условиях больших городов, к числу которых относится и г. Новосибирск, относительно большой вклад в развитие БА вносят присущие им антропогенные загрязнители, что подтверждается высокими показателями ассоциаций с этим заболеванием полиморфных вариантов генов метаболизма ксенобиотиков [19, 20].

- association studies (GWAS) and their importance in asthma. *Allergol. Immunopathol. (Madr.)*. 2015;43(6):601–608. DOI: 10.1016/j.aller.2014.07.004.
- Ober C. Asthma genetics in the Post-GWAS Era. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2016;13(1):S85–S90. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201507-459MG.
 - Masaki K., Fukunaga K., Matsusaka M., Kabata H., Tanosaki T., Mochimaru T. et al. Characteristics of severe asthma with fungal sensitization. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2017;119(3):253–257. DOI: 10.1016/j.anai.2017.07.008.

- Agache I., Lau S., Akdis C.A., Smolinska S., Bonini M., Cavkaytar O.J. et al. EAAACI Guidelines on Allergen Immunotherapy: House dust mite-driven allergic asthma. *Allergy*. 2019;74(5):855–873. DOI: 10.1111/all.13749. dbSNP. CHIA. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=CHIA>
- Chatterjee R., Batra J., Das S., Sharma S.K., Ghosh B. Genetic association of acidic mammalian chitinase with atopic asthma and serum total IgE levels. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008;122 (1):202–208,208.e1–7. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.04.030.
- Zhu Y., Yan X., Zhai C., Yang L., Li M. Association between risk of asthma and gene polymorphisms in *CHI3L1* and *CHIA*: A systematic meta-analysis. *BMC Pulm. Med.* 2017;17(1):193. DOI: 10.1186/s12890-017-0515-2.
- Bierbaum S., Nickel R., Koch A., Lau S., Deichmann K.A., Wahn U. et al. Polymorphisms and haplotypes of acid mammalian chitinase are associated with bronchial asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2005;172(12):1505–1509. DOI: 10.1164/rccm.200506-890OC.
- Wu A.C., Lasky-Su J., Rogers C.A., Klanderman B.J., Litonjua A. Polymorphisms of chitinases are not associated with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010;125(3):754–757,757.e1–757.e2. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.12.995.
- Пузырев В.П., Кучер А.Н. Эволюционно-онтогенетические аспекты патогенетики хронических болезней человека. *Генетика*. 2011;47(12):1573–1585.
- Степанов В.А. Геномы, популяции, болезни: этническая геномика и персонализированная медицина. *Acta Naturae*. 2010;2(4):18–34.
- dbSNP. rs3806448. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs3806448#-frequency_tab
- dbSNP. rs12033184. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs12033184#frequency_tab
- Tjoelker L.W., Gosting L., Frey S., Hunter C.L., Trong H.L., Steiner B. et al. Structural and functional definition of the human chitinase chitin-binding domain. *J. Biol. Chem.* 2000;275(1):514–520. DOI: 10.1074/jbc.275.1.514.
- Ober C., Chupp G.L. The chitinase and chitinase-like proteins: A review of genetic and functional studies in asthma and immune-mediated diseases. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2009;9(5):401–408. DOI: 10.1097/ACI.0b013e3283306533.
- Van Eijk M., van Rooijen C.P., Renkema G.H., Bussink A.P., Andrews L., Blommaert E.F. et al. Characterization of human phagocyte-derived chitotriosidase, a component of innate immunity. *Int. Immunol.* 2005;17(11):1505–1512. DOI: 10.1093/intimm/dxh328.
- Wu A.C., Lasky-Su J., Rogers C.A., Klanderman B.J., Litonjua A. Fungal exposure modulates the effect of polymorphisms of chitinases on emergency department visits and hospitalizations. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2010;182(7):884–889. DOI: 10.1164/rccm.201003-0322OC.
- Вавилин В.А., Макарова С.И., Ляхович В.В., Гавалов С.М. Ассоциация полиморфных генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с предрасположенностью к бронхиальной астме у детей с наследственной отягощенностью и без таковой. *Генетика*. 2002;38(4):539–545.
- Карунас А.С., Юнусбаев Б.Б., Федорова Ю.Ю., Гималова Г.Ф., Рамазанова Н.Н., Гурьева Л.Л. и др. Полногеномный анализ ассоциации бронхиальной астмы в Волго-Уральском регионе России. *Молекулярная биология*. 2011;45(6):992–1003.

References

- Grayson M.H., Feldman S., Prince B.T., Patel P.J., Matsui E.C., Apter A.J. Advances in asthma in 2017: Mechanisms, biologics, and genetics. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2018;142(5):1423–1436. DOI: 10.1016/j.jaci.2018.08.033.
- García-Sánchez A., Isidoro-García M., García-Solaesa V., Sanz C., Hernández-Hernández L., Padrón-Morales J. et al. Genome-wide association studies (GWAS) and their importance in asthma. *Allergol. Immunopathol. (Madr.)*. 2015;43(6):601–608. DOI: 10.1016/j.aler.2014.07.004.
- Ober C. Asthma genetics in the Post-GWAS Era. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2016;13(1):S85–S90. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201507-459MG.
- Masaki K., Fukunaga K., Matsusaka M., Kabata H., Tanosaki T., Mochimaru T. et al. Characteristics of severe asthma with fungal sensitization. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2017;119(3):253–257. DOI: 10.1016/j.anai.2017.07.008.
- Agache I., Lau S., Akdis C.A., Smolinska S., Bonini M., Cavkaytar O.J. et al. EAAACI Guidelines on Allergen Immunotherapy: House dust mite-driven allergic asthma. *Allergy*. 2019;74(5):855–873. DOI: 10.1111/all.13749. dbSNP. CHIA. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=CHIA>
- Chatterjee R., Batra J., Das S., Sharma S.K., Ghosh B. Genetic association of acidic mammalian chitinase with atopic asthma and serum total IgE levels. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008;122 (1):202–208,208.e1–7. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.04.030.
- Zhu Y., Yan X., Zhai C., Yang L., Li M. Association between risk of asthma and gene polymorphisms in *CHI3L1* and *CHIA*: A systematic meta-analysis. *BMC Pulm. Med.* 2017;17(1):193. DOI: 10.1186/s12890-017-0515-2.
- Bierbaum S., Nickel R., Koch A., Lau S., Deichmann K.A., Wahn U. et al. Polymorphisms and haplotypes of acid mammalian chitinase are associated with bronchial asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2005;172(12):1505–1509. DOI: 10.1164/rccm.200506-890OC.
- Wu A.C., Lasky-Su J., Rogers C.A., Klanderman B.J., Litonjua A. Polymorphisms of chitinases are not associated with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010;125(3):754–757,757.e1–757.e2. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.12.995.
- Пузырев В.П., Кучер А.Н. Evolutionary ontogenetic aspects of pathogenetics of chronic human diseases. *Genetics*. 2011;47(12):1573–1585 (In Russ.).
- Stepanov V.A. Genomes, populations, diseases: Ethnic genomics and personalized medicine. *Acta Naturae*. 2010;2(4):18–34 (In Russ.).
- dbSNP. rs3806448. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs3806448#-frequency_tab
- dbSNP. rs12033184. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs12033184#frequency_tab
- Tjoelker L.W., Gosting L., Frey S., Hunter C.L., Trong H.L., Steiner B. et al. Structural and functional definition of the human chitinase chitin-binding domain. *J. Biol. Chem.* 2000;275(1):514–520. DOI: 10.1074/jbc.275.1.514.
- Ober C., Chupp G.L. The chitinase and chitinase-like proteins: A review of genetic and functional studies in asthma and immune-mediated diseases. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2009;9(5):401–408. DOI: 10.1097/ACI.0b013e3283306533.
- Van Eijk M., van Rooijen C.P., Renkema G.H., Bussink A.P., Andrews L., Blommaert E.F. et al. Characterization of human phagocyte-derived chitotriosidase, a component of innate immunity. *Int. Immunol.* 2005;17(11):1505–1512. DOI: 10.1093/intimm/dxh328.
- Wu A.C., Lasky-Su J., Rogers C.A., Klanderman B.J., Litonjua A. Fungal exposure modulates the effect of polymorphisms of chitinases on emergency department visits and hospitalizations. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2010;182(7):884–889. DOI: 10.1164/rccm.201003-0322OC.
- Vavilin V.A., Makarova S.I., Lyakhovich V.V., Gavalov S.M. Association of polymorphic genes of xenobiotic biotransformation enzymes with predisposition to bronchial asthma in children with and without hereditary burden. *Genetics*. 2002;38(4):539–545 (In Russ.).
- Karunas A.S., Yunusbayev B.B., Fedorova Yu.Yu., Himolova G.F., Ramazanov N.N., Guryeva L.L. et al. Genome-wide analysis of the association of bronchial asthma in the Volga-Ural region of Russia. *Molecular Biology*. 2011;45(6):992–1003 (In Russ.).

Информация о вкладе авторов

Макарова С.И., Шинтяпина А.Б. – концепция исследования, разработка его протокола.

Комова Е.Г. – формирование популяционной выборки жителей г. Новосибирска.

Кондюрина Е.Г., Зеленская В.В., Карцева Т.В. – планирование и организация исследования по программе ISAAC, формирование группы детей, больных бронхиальной астмой.

Information on author contributions

Makarova S.I. and Shintyapina A.B. – study concept and development of study protocol.

Komova E.G. – formation of population sample of Novosibirsk residents.

Kondyurina E.G., Zelenskaya V.V., and Kartseva T.V. – planning and organization of the study under the ISAAC program and formation of a group of children with BA.

Митрофанов Д.В. – дизайн праймеров, отработка условий ПЦР-анализа, генотипирование образцов.

Макарова С.И. – анализ и интерпретация полученных результатов, подготовка первой версии рукописи.

Вавилин В.А. – обсуждение и доработка исходного варианта рукописи в целом.

Все авторы дали окончательное согласие на подачу рукописи и согласились нести ответственность за все аспекты работы, ручаясь за их точность и безупречность.

Mitrofanov D.V. – primer design, Adjusting PCR conditions, and genotyping of samples.

Makarova S.I. – analysis and interpretation of the results and preparation of the first version of the manuscript.

Vavilin V.A. – discussion and revision of the original version of the manuscript.

All authors have given their final consent to the submission of the manuscript and agreed to be responsible for all aspects of the work, vouching for their accuracy and integrity.

Сведения об авторах

Макарова Светлана Ивановна, д-р биол. наук, доцент, старший научный сотрудник, лаборатория метаболизма лекарств и фармакокинетики, Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины. ORCID 0000-0001-9531-2717.

E-mail: makar@niimbb.ru.

Митрофанов Дмитрий Владиславович, младший научный сотрудник, лаборатория метаболизма лекарств и фармакокинетики, Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины. ORCID 0000-0002-9162-0584.

E-mail: mitro@ngs.ru.

Шинтыпина Александра Борисовна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник, лаборатория метаболизма лекарств и фармакокинетики, Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины. ORCID 0000-0001-6253-6490.

E-mail: shintyapina@yandex.ru.

Комова Елена Георгиевна, канд. биол. наук, научный сотрудник, лаборатория ПЦР, АО «Вектор-Бест». ORCID 0000-0003-2886-513X.

E-mail: cytoch@yandex.ru.

Зеленская Вера Викторовна, д-р мед. наук, профессор кафедры педиатрии, факультет повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей, Новосибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0003-0344-9412.

E-mail: v.zelenskaya@mail.ru.

Карцева Татьяна Валерьевна, д-р мед. наук, профессор, декан педиатрического факультета, Новосибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0001-7007-1996.

E-mail: kartseva-t@mail.ru.

Кондюрина Елена Геннадьевна, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой педиатрии, факультет повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей, проректор по последипломному образованию, Новосибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0003-3250-3107.

E-mail: condur@ngs.ru.

Вавилин Валентин Андреевич, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, руководитель лаборатории метаболизма лекарств и фармакокинетики, и.о. директора Института молекулярной биологии и биофизики, Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины. ORCID 0000-0002-9769-6512.

E-mail: drugsmet@niimbb.ru.

 **Вавилин Валентин Андреевич**, e-mail: drugsmet@niimbb.ru.

Information about the authors

Svetlana I. Makarova, Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor, Senior Research Scientist, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Institute of Molecular Biology and Biophysics of Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine. ORCID 0000-0001-9531-2717.

E-mail: makar@niimbb.ru.

Dmitry V. Mitrofanov, Junior Research Scientist, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Institute of Molecular Biology and Biophysics of Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine. ORCID 0000-0002-9162-0584.

E-mail: mitro@ngs.ru.

Alexandra B. Shintyapina, Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Scientist, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Institute of Molecular Biology and Biophysics of Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine. ORCID 0000-0001-6253-6490.

E-mail: shintyapina@yandex.ru.

Elena G. Komova, Cand. Sci. (Biol.), Research Scientist, PCR Laboratory, JSC Vector-Best. ORCID 0000-0003-2886-513X.

E-mail: cytoch@yandex.ru.

Vera V. Zelenskaya, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Pediatrics, Faculty of Advanced Training and Professional Retraining of Medical Doctors, Novosibirsk State Medical University. ORCID 0000-0003-0344-9412.

E-mail: v.zelenskaya@mail.ru.

Tatyana V. Kartseva, Dr. Sci. (Med.), Professor, Dean of the Faculty of Pediatrics, Novosibirsk State Medical University. ORCID 0000-0001-7007-1996.

E-mail: kartseva-t@mail.ru.

Elena G. Kondyurina, Dr. Sci. (Med.), Professor, Pro-Rector for Postgraduate Education, Novosibirsk State Medical University. ORCID 0000-0003-3250-3107.

E-mail: condur@ngs.ru.

Valentin A. Vavilin, Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, acting Head of the Institute of Molecular Biology and Biophysics of Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine. ORCID 0000-0002-9769-6512.

E-mail: drugsmet@niimbb.ru.

 **Valentin A. Vavilin**, e-mail: drugsmet@niimbb.ru.

Received May 31, 2021

Поступила 31.05.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-99-106>
УДК 577.21:616.895.8-072.87

Молекулярно-генетическое исследование клинических и когнитивных характеристик шизофрении: отсутствие ассоциаций с генами *SOD2*, *GSTO1*, *NQO1*

Е.Г. Полтавская, О.Ю. Федоренко, Е.Г. Корнетова, С.А. Иванова

Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634014, Российская Федерация, Томск, ул. Алеутская, 4

Аннотация

Основные особенности шизофрении характеризуются тремя доменами симптомов, включающими позитивные симптомы, негативные симптомы и когнитивный дефицит, взаимное перекрытие которых образует полиморфизм его клинических проявлений. Ранее в молекулярно-генетических исследованиях были обнаружены значительные генетические перекрытия между когнитивными способностями и риском развития шизофрении. Последние данные свидетельствуют о том, что окислительный стресс может играть важную роль в патофизиологии шизофрении.

Цель исследования: исследовать ассоциации полиморфизмов генов антиоксидантных ферментов *SOD2*, *GSTO1*, *NQO1* с клиническими характеристиками шизофрении и выраженностью когнитивного дефицита.

Материал и методы. Проведено комплексное обследование 457 пациентов с диагнозом «шизофрения». Из общей группы обследованных пациентов у 150 больных шизофренией проведена оценка когнитивных функций с использованием шкалы BACS. Контрольную группу составили 135 здоровых человек, соответствующих по полу и возрасту группе пациентов. У них осуществлена оценка когнитивных функций. Генотипирование *SOD2* (rs4880), *GSTO1* (rs4925), *NQO1* (rs1800566) проведено методом ПЦР в реальном времени.

Результаты. При проведении анализа распределения генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов антиоксидантных ферментов *SOD2*, *GSTO1*, *NQO1* не было выявлено ассоциаций исследуемых локусов с шизофренией в русской популяции сибирского региона. Также не было обнаружено ассоциаций с клиническим полиморфизмом шизофрении (тип течения, ведущая симптоматика (позитивная или негативная), возраст начала заболевания). Когнитивные способности больных шизофренией и здоровых лиц ожидаемо различались, однако ассоциаций с генетическими особенностями обнаружено не было.

Заключение. В данной работе мы получили отрицательные результаты в отношении ассоциаций полиморфных вариантов генов антиоксидантных ферментов *SOD2* (rs4880), *GSTO1* (rs4925) и *NQO1* (rs1800566) с развитием шизофрении в русской популяции сибирского региона, а также с выраженностью когнитивного дефицита. На клинические проявления заболевания в обследованной выборке генетический профиль по исследуемым локусам не влиял.

Ключевые слова:	генетический полиморфизм, антиоксидантные ферменты, окислительный стресс, когнитивный дефицит.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	исследование проведено в рамках гранта РФФИ № 18-315-20019 «Новые подходы к генетике клинического полиморфизма и нейрокогнитивного дефицита при шизофрении».
Соответствие принципам этики:	информированное согласие получено от каждого пациента. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 10 от 05.04.2017 г.).
Для цитирования:	Полтавская Е.Г., Федоренко О.Ю., Корнетова Е.Г., Иванова С.А. Молекулярно-генетическое исследование клинических и когнитивных характеристик шизофрении: отсутствие ассоциаций с генами <i>SOD2</i> , <i>GSTO1</i> , <i>NQO1</i> . <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2021;36(4):99–106. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-99-106 .

✉ Полтавская Евгения Григорьевна, e-mail: egboyarko@mail.ru.

Molecular genetic study of clinical and cognitive features of schizophrenia: No associations with genes *SOD2*, *GSTO1*, *NQO1*

Evgeniya G. Poltavskaya, Olga Yu. Fedorenko, Elena G. Kornetova,
Svetlana A. Ivanova

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
4, Aleutskaya str., Tomsk, 634014, Russian Federation

Abstract

The main features of schizophrenia are characterized by three domains of symptoms, including positive symptoms, negative symptoms, and cognitive deficits, the overlap of which forms a polymorphism of clinical manifestations. Previous molecular genetic studies have found significant genetic overlaps between the cognitive abilities and the risk of schizophrenia developing. Recent evidence suggests that oxidative stress may play an important role in the pathophysiology of schizophrenia.

Aim. The aim of the study was to investigate the associations of polymorphisms of genes encoding the antioxidant enzymes *SOD2*, *GSTO1*, and *NQO1* with clinical polymorphism of schizophrenia and the severity of cognitive deficit.

Material and Methods. A comprehensive examination of 457 patients with a diagnosis of schizophrenia was carried out. Out of the total group of examined patients, cognitive functions were assessed using the BACS scale in 150 schizophrenic patients. The control group comprised 135 healthy individuals with age and gender corresponding to patient group. Their cognitive function was assessed. Genotyping of *SOD2* (rs4880), *GSTO1* (rs4925), and *NQO1* (rs1800566) was done by real-time PCR.

Results. When analyzing the distribution of genotypes and alleles of polymorphic variants of genes encoding the antioxidant enzymes *SOD2*, *GSTO1*, and *NQO1*, no associations between the studied loci and schizophrenia in the Russian population of the Siberian region were revealed. Also, no associations were found with clinical polymorphism of disease (disease course type, leading symptoms (positive or negative), and age of disease onset). The cognitive abilities of schizophrenic patients and healthy individuals were different as expected, but no associations with genetic characteristics were found.

Conclusion. In this work, we obtained negative results in regard to associations of polymorphic variants of genes encoding the antioxidant enzymes *SOD2* (rs4880), *GSTO1* (rs4925), and *NQO1* (rs1800566) with the development of schizophrenia in the Russian population in the Siberian region, as well as with the severity of cognitive deficit. The genetic profile for the studied loci did not affect the clinical manifestations of disease in the examined sample.

Keywords:	schizophrenia, genetic polymorphism, antioxidant enzymes, oxidative stress, cognitive deficit.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	the study was carried out within the framework of the RFBR grant No. 18-315-20019 “New approaches to the genetics of clinical polymorphism and neurocognitive deficits in schizophrenia”.
Adherence to ethical standards:	informed consent was obtained from all patients. The study was approved by the Ethics Committee of Mental Health Research Institute of Tomsk NRMC (protocol No. 10 from 05.04.2017).
For citation:	Poltavskaya E.G., Fedorenko O.Yu., Kornetova E.G., Ivanova S.A. Molecular genetic study of clinical and cognitive features of schizophrenia: No associations with genes <i>SOD2</i> , <i>GSTO1</i> , <i>NQO1</i> . <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2021;36(4):99–106. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-99-106 .

Введение

Шизофрения – тяжелое психическое расстройство со сложным патогенезом и тяжелым исходом, несмотря на многочисленные подходы к лечению, характеризующееся бредом, галлюцинациями, негативными симптомами и когнитивной дисфункцией [1]. Последние данные свидетельствуют о том, что окислительный стресс может играть важную роль в патофизиологии шизофрении [1,

2]. Окислительный стресс относится к дисбалансу свободных радикалов, таких как активные формы кислорода (АФК), которые образуются как в результате нормальных метаболических процессов с участием нейромедиаторов, связанных с шизофренией, таких как дофамин и глутамат, так и в результате различных воздействий окружающей среды. При шизофрении предполагается нарушение регуляции метаболизма свободных радикалов, что обнаруживается по аномальной активности критических

антиоксидантных ферментов и другим показателям перекисного окисления липидов в плазме, эритроцитах и спинномозговой жидкости [3]. Однако дальнейшее выяснение роли свободных радикалов и антиоксидантов в развитии шизофрении и ее лечении требует систематических исследований. Окислительный дисбаланс наблюдался у пациентов, никогда не принимавших антипсихотические препараты [4], а также у пациентов, получавших лечение [5].

Основные особенности шизофрении характеризуются тремя доменами симптомов, включающими позитивные симптомы, негативные симптомы и когнитивный дефицит (DSM-5, 2013), взаимное перекрытие которых образует полиморфизм его клинических проявлений [6]. В результате молекулярно-генетических исследований были обнаружены значительные генетические перекрытия между когнитивными способностями и риском развития шизофрении [7]. Когнитивному дефициту отводится большая роль в исследованиях шизофрении, так как он является предиктором не только функционального исхода заболевания, но и плохого ответа на лечение и большей вероятности рецидива. Нарушения познавательной деятельности не обусловлены переходом болезни в хроническую стадию, так как возникают уже в период манифестации заболевания. Более того, снижение когнитивных функций отмечено в периоде, предшествующем манифестации заболевания. Анализ течения болезни показывает, что нейрокогнитивный дефицит не является клинически стабильным, а прогрессирует, особенно в первые годы заболевания. На отдаленных этапах наблюдается снижение темпов нарастания нейрокогнитивного дефицита [8].

Система антиоксидантной защиты включает антиоксидантные ферменты, в том числе супероксиддисмутазу-2 (*SOD2*), глутатион S-трансферазу омега-1 (*GSTO1*) и цитоплазматическую 2-электронную редуктазу (*NQO1*) – член семейства NAD(P)H дегидрогеназы (хинона). Межиндивидуальные различия в антиоксидантной способности, вызванные различным генетическим профилем, могут потенциально влиять на восприимчивость пациента к окислительному повреждению при шизофрении.

Супероксиддисмутазы защищают от окислительного стресса и имеют три формы: Cu-Zn SOD (*SOD1*), расположенную в цитозоле; Mn-SOD (*SOD2*), расположенный в митохондриальном матриксе; и внеклеточную SOD (*SOD3*). Полиморфизмы в *SOD2* были связаны с психическими расстройствами, такими как шизофрения [9] и биполярное расстройство [10], а также с антипсихотик-индуцированной тардивной дискинезией [11]. Исследования показывают, что эффекты всех природных вариантов могут в первую очередь отражать функциональный полиморфизм митохондриального транспорта Mn-SOD человека. Несмотря на то, что человеческая *SOD2* является высококонсервативной, миссенс-мутация может оказывать влияние на функцию белка.

Глутатион, один из основных небелковых антиоксидантов и редокс-регуляторов, детоксифицирует активные формы кислорода и, таким образом, играет важную роль в защите нервных тканей. *GST* представляют собой семейство многофункциональных ферментов, которые катализируют конъюгацию восстановленного глутатиона с электрофильными группами широкого спектра соединений, включая канцерогены, загрязнение окружающей среды и продукты окислительного стресса [12]. Гены человеческого *GST* включают по крайней мере восемь раз-

личных семейств генов (альфа, мю, тета, пи, дзета, сигма, каппа, омега), и среди них несколько классов генов *GST* являются полиморфными: *GSTM1* и *M3* (мю), *GSTT1* и *T2* (тета), *GSTP1* (пи) и *GSTO1* (омега). Полиморфизмы *GSTO1*, как было показано, снижают активность фермента [13].

Ген НАД (Ф) Н: хинон оксидоредуктазы 1 (*NQO1*) кодирует цитозольный флавоэнзим, который катализирует двухэлектронное восстановление хинонов до гидрохинонов. Накопленные данные выявили участие *NQO1* в дофаминергической системе [14]. *NQO1* превращает хиноны в относительно стабильные и менее токсичные гидрохиноны и предотвращает образование токсичных семихинонов. Кроме того, *NQO1* играет роль в предотвращении образования активных форм кислорода. Сообщалось, что *NQO1* существует в головном мозге человека и играет роль в нейропротекции [15]. Таким образом, эти физиологические данные указывают на то, что *NQO1* является вариабельным геном-кандидатом, который может быть ассоциирован с предрасположенностью к шизофрении.

Поскольку считается, что окислительное повреждение является важным фактором в патогенезе шизофрении, все известные варианты, возможно, могут вносить вклад в связанные с ее проявлением риски.

Цель исследования: выявление ассоциативных связей генетических полиморфизмов антиоксидантных ферментов *SOD2* (rs4880), *GSTO1* (rs4925), *NQO1* (rs1800566) с шизофренией в русской популяции сибирского региона, а также с клиническими характеристиками данного психического расстройства (возраст дебюта заболевания, тип течения, преобладающая негативная или позитивная симптоматика, выраженность когнитивного дефицита у больных шизофренией).

Материал и методы

Проведено комплексное обследование 457 пациентов в возрасте от 18 до 60 лет, имеющих диагноз «шизофрения» в соответствии с диагностическими критериями МКБ-10 [16]. Клиническая симптоматика оценивалась по шкале позитивных и негативных синдромов (Positive and Negative Syndrome Scale – PANSS) [17], на всех пациентов заполнялся модифицированный вариант карты стандартизированного описания больного шизофренией.

Критериями невключения являлись наличие органических и неврологических нарушений, тяжелых соматических заболеваний, приводящих к органной недостаточности, отказ от участия в исследовании. Генетическое исследование проведено во всей группе. Из общей группы обследованных пациентов у 150 больных шизофренией проведена оценка когнитивных функций с использованием шкалы BACS (BRIEF ASSESSMENT OF COGNITION IN SCHIZOPHRENIA – краткий опросник оценки когнитивных функций при шизофрении) [18] в адаптированной русскоязычной версии [19], который включает в себя задания по оценке функции программирования и контроля, речевой беглости, рабочей памяти и моторных навыков. Контрольную группу составили 135 здоровых человек, соответствующих по полу и возрасту группе пациентов. У них проведена оценка когнитивных функций. Критерии включения: возраст 18–60 лет, получение информированного согласия, образование не менее 9 классов, отсутствие органической, неврологической и тяжелой соматической патологии, приводящей к органной недостаточности и

когнитивным нарушениям. Критерии невключения: синдром зависимости от любого психоактивного вещества, употребление любого психоактивного вещества за 3 дня до участия в исследовании. Исследование проведено согласно протоколу, который рассмотрен и утвержден биоэтическим комитетом НИИ психического здоровья Томского НИМЦ.

Выполнено генотипирование образцов ДНК пациентов с шизофренией и здоровых лиц методом ПЦР в реальном времени на амплификаторах StepOnePlus™ Real-Time PCR System, Applied Biosystems™ QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, США) с использованием наборов TaqMan Validated SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, США). Статистический анализ выполнен с помощью программы SPSS 20.0 и в среде R 3.6.1 с использованием базовых функций и дополнительного пакета SNPAssoc. При статистической обработке применены: *t*-критерий Стьюдента, непараметрический U-критерий Манна – Уитни (Mann – Whitney U-test), критерий χ^2 Пирсона, критерий Краскела – Уоллиса ANOVA с процедурой множественного сравнения, кластерный анализ методом K-средних. Данные представлены в виде

$M \pm m$ (M – среднее значение, m – стандартное отклонение) и в виде $Me (Q_1; Q_3)$, (Me – медиана, Q_1 и Q_3 – нижний и верхний квартили соответственно).

Результаты и обсуждение

Анализ полного набора заданий шкалы BACS у психически здоровых лиц и у больных шизофренией показал, что распределение всех полученных показателей соответствовало нормальному распределению. Полученные данные приведены в таблице 1. По всем показателям, как и ожидалось, значения в группе здоровых отличались от значений в группе больных шизофренией (уровень значимости $p < 0,001$ по всем параметрам шкалы), когнитивные способности у больных шизофренией снижены по отношению к контролю.

Распределение генотипов для всех исследуемых локусов соответствовало закону Харди – Вайнберга (табл. 2).

При проведении сравнения распределений частот аллелей и генотипов исследуемых генов между больными шизофренией и здоровыми донорами не было выявлено ассоциаций исследуемых локусов с шизофренией (табл. 3).

Таблица 1. Сравнение данных выполнения заданий по шкале BACS для русскоязычной популяции сибирского региона здоровых лиц и больных шизофренией, $M \pm m$

Table 1. Comparative data on task performance by the BACS scale in healthy individuals and patients with schizophrenia in the Russian-speaking population of the Siberian region, $M \pm m$

Задание теста Test assignment	Здоровые лица Healthy individuals ($n = 161$)	Больные шизофренией Patients with schizophrenia ($n = 150$)
Заучивание списка слов, баллы List learning, points	41,4 ± 9,05	34,07 ± 11,64
Последовательность чисел, баллы Digit sequencing task, points	21,78 ± 3,69	16,82 ± 5,38
Двигательный тест с фишками, баллы Token motor task, points	66,84 ± 16,78	37,39 ± 19,2
Речевая беглость, баллы Verbal fluency, points	53,73 ± 11,67	36,85 ± 14,31
Шифровка, баллы Symbol coding, points	56,79 ± 11,65	36,57 ± 15,11
«Башня Лондона», баллы Tower of London, points	18,09 ± 2,972	13,91 ± 5,05

Таблица 2. Характеристика полиморфных вариантов генов *SOD2*, *GSTO1*, *NQO1*

Table 2. Characteristics of polymorphic variants of genes *SOD2*, *GSTO1*, and *NQO1*

Ген Gene	Полиморфизм Polymorphism	Хромосома: положение на хромосоме Chromosome: Position on the chromosome	Регион расположения Location region	Аллели Alleles	Частота минорного аллеля Minor allele frequency	HWE ш, p HWE sch, p	HWE к, p HWE c, p
<i>SOD2</i>	rs4880	6:159692840	missense variant	A/G	0.41 (G)	0,2236	0,8631
<i>GSTO1</i>	rs4925	10:104263031	missense variant	C/A	0.18 (A)	0,8983	0,4783
<i>NQO1</i>	rs1800566	16:69711242	missense variant	G/A	0.29 (A)	0,4908	0,2485

Примечание: проверка на соответствие равновесию Харди – Вайнберга проведена в программной среде R с использованием пакета SNPAssoc; ш – шизофрения, к – контроль.

Note: compliance with the Hardy – Weinberg equilibrium was tested in the R software environment using the SNPAssoc package; sch – schizophrenia, c – control.

Таблица 3. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизмов генов *SOD2*, *GSTO1*, *NQO1* у здоровых лиц и больных шизофренией, абс., %

Table 3. Frequency distribution for genotypes and alleles of polymorphisms of genes *SOD2*, *GSTO1*, and *NQO1* in healthy individuals and patients with schizophrenia, n , %

Ген Полиморфизм Gene Polymorphism	Генотип Аллель Allele genotype	Здоровые (контроль) Healthy (control)	Больные шизофренией People with schizophrenia	OR	95% CI	χ^2	p
<i>SOD2</i> rs4880	CC	31 (23,3%)	126 (27,6%)	1,25	0,80–1,97	1,079	0,583

Окончание табл. 3
End of table 3

Ген Полиморфизм Gene Polymorphism	Генотип Аллель Allele genotype	Здоровые (контроль) Healthy (control)	Больные шизофренией People with schizophrenia	OR	95% CI	χ^2	<i>p</i>
SOD2 rs4880	CT	68 (51,1%)	215 (47,0%)	0,78	0,48–1,25	1,079	0,583
	TT	34 (25,6%)	116 (25,4%)	0,84	0,48–1,45		
	C	130 (48,9%)	467 (51,1%)	1,09	0,83–1,44	0,407	0,524
	T	136 (51,1%)	447 (48,9%)	0,91	0,70–1,20		
GSTO1 rs4925	CC	73 (57,9%)	211 (53,6%)	0,84	0,56–1,26	0,781	0,677
	CA	44 (34,9%)	154 (39,1%)	1,21	0,79–1,86		
	AA	9 (7,1%)	29 (7,4%)	1,11	0,50–2,47	0,521	0,471
	C	190 (75,4%)	576 (73,1%)	0,89	0,64–1,23		
NQO1 rs1800566	A	62 (24,6%)	212 (26,9%)	1,13	0,81–1,56	1,671	0,434
	GG	78 (58,2%)	283 (61,9%)	1,17	0,79–1,73		
	AG	46 (33,6%)	150 (32,8%)	0,92	0,61–1,39		
	AA	11 (8,2%)	24 (5,3%)	0,60	0,28–1,28	1,327	0,249
	G	202 (75,0%)	716 (78,3%)	1,21	0,88–1,66		
A	68 (25,0%)	198 (21,7%)	0,83	0,60–1,14			

Далее проведено сравнение распределений частот аллелей и генотипов исследуемых генов между больными шизофренией в зависимости от ведущей симптоматики шизофрении (позитивная или негативная) согласно баллам по шкале PANSS. В исследуемой выборке по ведущей симптоматике пациенты распределились следующим образом: 64,7% – с ведущей негативной симптоматикой, 26% – с ведущей позитивной симптоматикой, у 9,3% ведущую симптоматику выделить не смогли. Не было обнаружено значимых различий в распределении генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов SOD2, GSTO1, NQO1 в группах сравнения.

Проведено сравнение распределений частот аллелей и генотипов исследуемых генов между больными шизофренией в зависимости от возраста манифестации заболевания. Приблизительно 8% больных шизофренией характеризовались поздним началом заболевания (старше 40 лет), группа больных с ранним дебютом (до 18 лет)

была представлена 13,5%, для основной части больных шизофренией возраст начала заболевания был от 18 до 40 лет. В ходе исследования не было выявлено ассоциаций генов SOD2, GSTO1, NQO1 с возрастом дебюта.

При сравнении распределений частот аллелей и генотипов исследуемых генов между больными шизофренией в зависимости от типа течения шизофрении (непрерывный или эпизодический) не было установлено ассоциаций генов антиоксидантных ферментов с типом течения шизофрении.

Далее выполнена проверка гипотезы об ассоциации всех исследуемых полиморфных вариантов генов с нейрокогнитивным дефицитом у больных шизофренией в русской популяции сибирского региона. Результаты тестирования в группе больных шизофренией и в группе здоровых лиц с различными генотипами по полиморфным вариантам генов SOD2, GSTO1, NQO1 представлены на рисунках 1 и 2.

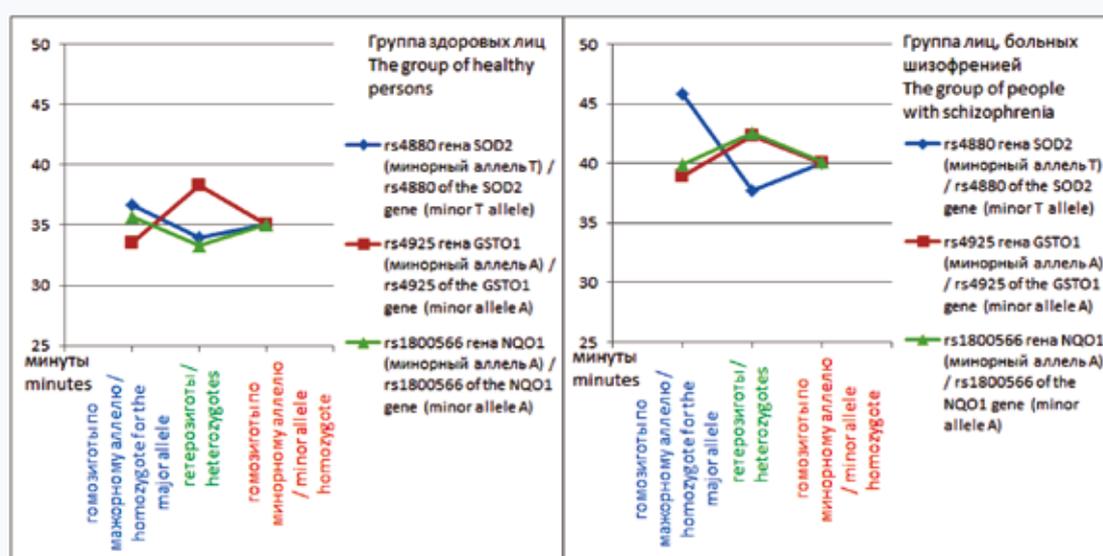


Рис. 1. Общее время выполнения тестов шкалы BACS у здоровых лиц и в группе больных шизофренией (*Me*) в зависимости от носительства генотипов полиморфизма rs4880 гена SOD2, rs4925 гена GSTO1 и rs1800566 гена NQO1

Fig. 1. The total time taken to perform BACS tests in healthy individuals and in the group of schizophrenic patients (*Me*), depending on carrying the genotypes of SOD2 polymorphism rs4880, GSTO1 polymorphism rs4925, and NQO1 polymorphism rs1800566



Рис. 2. Показатели шкалы BACS у здоровых лиц и в группе больных шизофренией (*Me*) в зависимости от носительства генотипов полиморфизма rs4880 гена *SOD2* (a), rs4925 гена *GSTO1* (b) и rs1800566 гена *NQO1* (c)
Fig. 2. The BACS scale score in healthy individuals and in the group of schizophrenic patients (*Me*) depending on the carriage of genotypes of *SOD2* polymorphism rs4880 (a), *GSTO1* polymorphism rs4925 (b), and *NQO1* polymorphism rs1800566 (c)

Когнитивные способности в группе здоровых лиц значимо выше, чем в группе больных шизофренией, однако в зависимости от генотипа значения по всем тестам шкалы BACS статистически не различались ни в группе здоровых, ни в группе пациентов. Таким образом, мы не получили подтверждения влияния генотипов по исследуемым локусам на выраженность когнитивного дефицита у больных шизофренией.

Учитывая ряд заслуживающих внимания доказательств того, что оксидативный стресс связан с шизофренией [1, 2], остаются актуальными исследования, направленные на поиск генетических маркеров шизофрении среди генов, кодирующих антиоксидантные ферменты.

Межиндивидуальные различия в антиоксидантной способности, вызванные различным генетическим профилем, могут потенциально влиять на восприимчивость пациента к окислительному повреждению. Многочисленные данные указывают на генетическую природу когнитивного дефицита при шизофрении [7, 20]. Наследуемость когнитивных нарушений в семьях лиц с шизофренией довольно высокая. На другие особенности течения шизофрении, к которым относятся ведущая симптоматика, тип течения, а также раннее или позднее начало заболевания, также могут влиять генетические особенности. Тем не менее в проведенном исследовании не было выявлено ассоциаций генов *SOD2*, *GSTO1*, *NQO1* с изу-

чаемыми клиническими характеристиками шизофрении. Исследуемые локусы не оказывали влияния на развитие шизофрении в русской популяции сибирского региона.

Заключение

В данной работе мы получили отрицательные результаты в отношении ассоциаций полиморфных вари-

антов генов антиоксидантных ферментов *SOD2* (rs4880), *GSTO1* (rs4925) и *NQO1* (rs1800566) с развитием шизофрении в русской популяции сибирского региона, с типом течения заболевания, ведущей симптоматикой (позитивная или негативная) шизофрении, возрастом начала заболевания, а также с выраженностью когнитивного дефицита.

Литература

1. Terada K., Murata A., Toki E., Goto S., Yamakawa H., Setoguchi S. et al. Atypical antipsychotic drug ziprasidone protects against rotenone-induced neurotoxicity: An *in vitro* study. *Molecules*. 2020;25(18):4206. DOI: 10.3390/molecules25184206.
2. Flatow J., Buckley P., Miller B.J. Meta-analysis of oxidative stress in schizophrenia. *Biol. Psychiatry*. 2013;74(6):400–409. DOI: 10.1016/j.biopsych.2013.03.018.
3. Reddy R., Yao J.K. Free radical pathology in schizophrenia: A review. *PLEFA*. 1996;55(1–2):33–43. DOI: 10.1016/s0952-3278(96)90143-x.
4. Li X.F., Zheng Y.L., Xiu M.H., da Chen C., Kosten T.R., Zhang X.Y. Reduced plasma total antioxidant status in first-episode drug-naive patients with schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2011;35(4):1064–1067. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2011.03.001.
5. Zhang X.Y., Tan Y.L., Cao L.Y., Wu G.Y., Xu Q., Shen Y. et al. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different forms of schizophrenia treated with typical and atypical antipsychotics. *Schizophr. Res.* 2006;81(2–3):291–300. DOI: 10.1016/j.schres.2005.10.011.
6. Корнетов А.Н., Корнетова Е.Г., Голенкова А.В., Козлова С.М., Аржаник М.Б., Самойленко Ж.А. и др. Нейрокогнитивный дефицит в клиническом полиморфизме шизофрении: типология, выраженность и синдромальные перекрытия. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019;18(2):107–118. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-2-107-118.
7. Федоренко О.Ю., Иванова С.А. Новый взгляд на генетику нейрокогнитивного дефицита при шизофрении. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2020;120(8):183–192. DOI: 10.17116/jnevro2020120081183.
8. Гурович И.Я., Шмуклер А.Б., Зайцева Ю.С. Нейрокогнитивный дефицит у больных шизофренией. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2012;4(2S):75–78. DOI: 10.14412/2074-2711-2012-2514.
9. Akyol O., Yanik M., Elyas H., Namli M., Canatan H., Akin H. et al. Association between Ala-9Val polymorphism of Mn-SOD gene and schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2005;29(1):123–131. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2004.10.014.
10. Fullerton J.M., Tiwari Y., Agahi G., Heath A., Berk M., Mitchell P.B. et al. Assessing oxidative pathway genes as risk factors for bipolar disorder. *Bipolar. Disord.* 2010;12(5):550–556. DOI: 10.1111/j.1399-5618.2010.00834.x.
11. Al Hadithy A.F.Y., Ivanova S.A., Pechlivanoglou P., Wilffert B., Semke A., Fedorenko O. et al. Missense polymorphisms in three oxidative-stress enzymes (GSTP1, SOD2, and GPX1) and dyskinesias in Russian psychiatric inpatients from Siberia. *Hum. Psychopharmacol.* 2010;25(1):84–91. DOI: 10.1002/hup.1087.
12. Hayes J.D., Strange R.C. Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology*. 2000;61(3):154–166. DOI: 10.1159/000028396.
13. Tanaka-Kagawa T., Jinno H., Hasegawa T., Makino Y., Seko Y., Hanio-ka N. et al. Functional characterization of two variant human GSTO 1-1s (Ala140Asp and Thr217Asn). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003;301(2):516–520. DOI: 10.1016/s0006-291x(02)03066-8.
14. Go J., Ryu Y.K., Park H.Y., Choi D.H., Choi Y.K., Hwang D.Y. et al. NQO1 regulates pharmaco-behavioral effects of D-amphetamine in striatal dopaminergic system in mice. *Neuropharmacology*. 2020;170:108039. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2020.108039.
15. Duffy S., So A., Murphy T.H. Activation of endogenous antioxidant defenses in neuronal cells prevents free radicals-mediated damage. *Journal of Neurochemistry*. 1998;71(1):69–77. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1998.71010069.x.
16. The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders: Diagnostic criteria for research. Geneva: World Health Organization; 1993:262.
17. Kay S.R., Fiszbein A., Opler L.A. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 1987;13(2):261–276. DOI: 10.1093/schbul/13.2.261.
18. Keefe R.S., Harvey P.D., Goldberg T.E. Norms and standardization of the Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia (BACS). *Schizophr. Research*. 2008;102(1–3):108–115. DOI: 10.1016/j.schres.2008.03.024.
19. Саркисян Г.Р., Гурович И.Я., Киф П.С. Нормативные данные для российской популяции и стандартизация шкалы «Краткая оценка когнитивных функций у пациентов с шизофренией». *Социальная и клиническая психиатрия*. 2010;20(3):13–19.
20. Голимбет В.Е. Молекулярно-генетические исследования познавательных нарушений при шизофрении. *Молекулярная биология*. 2008;42(5):830–839.
21. S.S. Korsakova. 2020;120(8):183–192 (In Russ.). DOI: 10.17116/jnevro2020120081183.
22. Gurovich I.Ya., Shmukler A.B., Zaitseva Yu.S. Neurocognitive deficit in patients with schizophrenia. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2012;4(2S):75–78 (In Russ.). DOI: 10.14412/2074-2711-2012-2514.
23. Akyol O., Yanik M., Elyas H., Namli M., Canatan H., Akin H. et al. Association between Ala-9Val polymorphism of Mn-SOD gene and schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2005;29(1):123–131. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2004.10.014.
24. Fullerton J.M., Tiwari Y., Agahi G., Heath A., Berk M., Mitchell P.B. et al. Assessing oxidative pathway genes as risk factors for bipolar disorder. *Bipolar. Disord.* 2010;12(5):550–556. DOI: 10.1111/j.1399-5618.2010.00834.x.
25. Al Hadithy A.F.Y., Ivanova S.A., Pechlivanoglou P., Wilffert B., Semke A., Fedorenko O. et al. Missense polymorphisms in three oxidative-stress enzymes (GSTP1, SOD2, and GPX1) and dyskinesias in Russian psychiatric inpatients from Siberia. *Hum. Psychopharmacol.* 2010;25(1):84–91. DOI: 10.1002/hup.1087.
26. Hayes J.D., Strange R.C. Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology*. 2000;61(3):154–166. DOI: 10.1159/000028396.
27. Tanaka-Kagawa T., Jinno H., Hasegawa T., Makino Y., Seko Y., Hanio-ka N. et al. Functional characterization of two variant human GSTO 1-1s (Ala140Asp and Thr217Asn). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003;301(2):516–520. DOI: 10.1016/s0006-291x(02)03066-8.

14. Go J., Ryu Y.K., Park H.Y., Choi D.H., Choi Y.K., Hwang D.Y. et al. NQO1 regulates pharmacological effects of D-amphetamine in striatal dopaminergic system in mice. *Neuropharmacology*. 2020;170:108039. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2020.108039.
15. Duffy S., So A., Murphy T.H. Activation of endogenous antioxidant defenses in neuronal cells prevents free radicals-mediated damage. *Journal of Neurochemistry*. 1998;71(1):69–77. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1998.71010069.x.
16. The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders: Diagnostic criteria for research. Geneva: World Health Organization; 1993:262.
17. Kay S.R., Fiszbein A., Opler L.A. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 1987;13(2):261–276. DOI: 10.1093/schbul/13.2.261.
18. Keefe R.S., Harvey P.D., Goldberg T.E. Norms and standardization of the Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia (BACS). *Schizophr. Research*. 2008;102(1–3):108–115. DOI: 10.1016/j.schres.2008.03.024.
19. Sarkisyan G.R., Gurovich I.Ya., Kif R.S. Normative data for the Russian population and standardization of the brief assessment of cognitive in schizophrenia (BACS) scale. *Social and Clinical Psychiatry*. 2010;20(3):13–19 (In Russ.).
20. Golimbet V.E. Molecular genetic studies of cognitive deficit in schizophrenia. *Molecular Biology*. 2008;42(5):738–746 (In Russ.).

Информация о вкладе авторов

Полтавская Е.Г. – статистическая обработка данных, осмысление результатов, написание текста, подготовка исходного варианта рукописи.
Федоренко О.Ю. – доработка текста статьи, переработка рукописи.
Корнетова Е.Г. – разработка дизайна и выбор методологии в клинической части исследования, редактирование текста рукописи.
Иванова С.А. – концепция и дизайн исследования, переработка рукописи, доработка текста статьи.

Сведения об авторах

Полтавская Евгения Григорьевна, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярной генетики и биохимии, Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-1504-7966.

E-mail: egboyarko@mail.ru.

Федоренко Ольга Юрьевна, д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория молекулярной генетики и биохимии, Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-9565-6314.

E-mail: f_o_y@mail.ru.

Корнетова Елена Георгиевна, д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник отделения эндогенных расстройств, Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-5179-9727.

E-mail: kornetova@sibmail.com.

Иванова Светлана Александровна, д-р мед. наук, профессор, заместитель директора по научной работе, Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; профессор кафедры психиатрии, наркологии и психотерапии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0001-7078-323X.

E-mail: ivanovaniipz@gmail.com.

 **Полтавская Евгения Григорьевна**, e-mail: egboyarko@mail.ru.

Information on author contributions

Poltavskaya E.G. – statistical data processing, interpretation of results, writing the manuscript, and preparation of the initial version of manuscript for publication.

Fedorenko O.Yu. – revision of the manuscript.

Kornetova E.G. – development of study design, selection of methodology for the clinical part of the study, and editing the text of the manuscript.

Ivanova S.A. – study concept, study design, manuscript revision, and manuscript correction.

Information about the authors

Evgeniya G. Poltavskaya, Cand. Sci. (Med.), Research Scientist, Laboratory of Molecular Genetics and Biochemistry, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-1504-7966.

E-mail: egboyarko@mail.ru.

Olga Yu. Fedorenko, Dr. Sci. (Med.), Leading Research Scientist, Laboratory of Molecular Genetics and Biochemistry, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-9565-6314.

E-mail: f_o_y@mail.ru.

Elena G. Kornetova, Dr. Sci. (Med.), Leading Research Scientist, Department of Endogenous Disorders, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-5179-9727.

E-mail: kornetova@sibmail.com.

Svetlana A. Ivanova, Dr. Sci. (Med.), Professor, Deputy Director for Research, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Psychiatry, Narcology, and Psychotherapy, Siberian State Medical University. ORCID 0000-0001-7078-323X.

E-mail: ivanovaniipz@gmail.com.

 **Evgeniya G. Poltavskaya**, e-mail: egboyarko@mail.ru.

Received May 14, 2021

Поступила 14.05.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-107-119>
УДК 616.132.2/.133-004.6-089.168

Непосредственные и отдаленные результаты сочетанных и этапных операций у пациентов с сочетанным атеросклеротическим поражением коронарных и брахиоцефальных артерий

А.В. Марченко^{1,2}, А.С. Вронский^{1,2}, П.А. Мялюк¹, Р.Н. Чебыкин²,
В.Н. Минасян¹, П.В. Лазарьков^{1,2}, Ю.С. Синельников^{1,2}

¹ Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии имени С.Г. Суханова Министерства здравоохранения Российской Федерации,
614000, Российская Федерация, Пермь, ул. Маршала Жукова, 35

² Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера Министерства здравоохранения Российской Федерации,
614000, Российская Федерация, Пермь, ул. Петропавловская, 26

Аннотация

Цель: изучить непосредственные и отдаленные результаты хирургического лечения пациентов с сочетанным атеросклеротическим поражением коронарных и брахиоцефальных артерий (БЦА) при выборе тактики лечения по разработанному алгоритму дифференцированного подхода.

Материал и методы. За период с 01.07.2014 по 01.01.2021 гг. в исследование вошли 243 пациента с сочетанным атеросклеротическим поражением коронарных и сонных артерий. Пациентам были выполнены реваскуляризирующие операции на основании ранее разработанного в ФЦССХ им. С.Г. Суханова алгоритма выбора объема и этапности хирургического вмешательства. 104 пациентам (42,8%) была проведена одномоментная сочетанная операция аортокоронарного шунтирования (АКШ) и каротидной эндартерэктомии (КЭЭ), 139 (57,2%) пациентов получили поэтапную реваскуляризацию, из них 102 (73,4%) пациентам первым этапом было выполнено АКШ, 37 (26,6%) пациентам – КЭЭ. Конечными точками как при сравнении непосредственных, так и отдаленных результатов были: смерть от всех причин, острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), транзиторная ишемическая атака (ТИА), острый инфаркт миокарда (ИМ), а также комбинированная конечная точка, включающая все перечисленные события. Среднее время наблюдения – 41,1 ± 21,8 мес.

Результаты. В раннем послеоперационном периоде летальных случаев не было ни в одной из групп. На госпитальном этапе было зафиксировано 5 (2,1%) случаев ОНМК, 1 (0,4%) случай ТИА и 3 (1,2%) случая острого ИМ. Отдаленные результаты были оценены у 225 пациентов (92,3%). Общая выживаемость составила 93,8%. За время наблюдения было зафиксировано 5 (2,4%) случаев ИМ, 11 (4,9%) случаев ОНМК, 1 (1,0%) случай ТИА. Не было выявлено значимого различия между группами этапных и сочетанных вмешательств ни по одной из конечных точек как при сравнении непосредственных (острый ИМ – $p = 0,680$; ТИА – $p = 0,500$; ОНМК – $p = 0,567$; комбинированный показатель – $p = 0,940$), так и отдаленных результатов (летальность – 0,860; острый ИМ – $p = 0,906$; ТИА – $p = 0,528$; ОНМК – $p = 0,378$; комбинированный показатель – $p = 0,669$).

Заключение. Благодаря успешному опыту по лечению пациентов с сочетанным атеросклерозом коронарных артерий и БЦА в ФЦССХ им. С.Г. Суханова (Пермь) на основе разработанного алгоритма стало возможным безопасное выполнение коррекции в обоих артериальных бассейнах и достижение удовлетворительных результатов в госпитальном и отдаленном периодах.

Ключевые слова:

мультифокальный атеросклероз, аортокоронарное шунтирование, каротидная эндартерэктомия, отдаленные результаты, периоперационный инсульт, периоперационный инфаркт.

Конфликт интересов:

авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность финансовой деятельности:

никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

✉ Вронский Алексей Сергеевич, e-mail: ASVronskiy@gmail.com.

Соответствие принципам этики:	информированное согласие получено от каждого пациента. Исследование одобрено этическим комитетом Пермского государственного медицинского университета им. акад. Е.А. Вагнера (протокол № 5 от 22.05.2019 г.).
Для цитирования:	Марченко А.В., Вронский А.С., Мялюк П.А., Чебыкин Р.Н., Минасян В.Н., Лазарьков П.В., Синельников Ю.С. Непосредственные и отдаленные результаты сочетанных и этапных операций у пациентов с сочетанным атеросклеротическим поражением коронарных и брахиоцефальных артерий. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2021;36(4):107–119. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-107-119 .

Early and late outcomes of combined and staged surgeries in patients with concomitant atherosclerotic lesions of the coronary and brachiocephalic arteries

Andrei V. Marchenko^{1,2}, Alexei S. Vronskiy^{1,2}, Pavel A. Myalyuk¹,
Roman N. Chebykin², Viktor N., Minasyan¹, Petr V. Lazarkov^{1,2},
Yuriy S. Sinelnikov^{1,2}

¹Federal Center for Cardiovascular Surgery named after S.G. Sukhanov,
35, Marshala Zhukova str., Perm, 614000, Russian Federation

²Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner,
26, Petropavlovskaya str., Perm, 614000, Russian Federation

Abstract

Objective. To study the early and late outcomes of surgical treatment of patients with concomitant atherosclerotic lesions of coronary and brachiocephalic arteries while choosing a treatment strategy based on the developed differentiated approach algorithm.

Material and Methods. The study comprised 243 patients with combined atherosclerotic lesions of the coronary and carotid arteries examined during the period from 01.07.2014 to 01.01.2021. Patients underwent revascularization surgeries based on the algorithm for choosing the volume and stages of surgical intervention, which was previously developed in the Federal Center for Cardiovascular Surgery named after S.G. Sukhanov. A single-stage combined surgery of coronary artery bypass grafting (CABG) and carotid endarterectomy (CEE) was performed in 104 patients (42.8%); 139 patients (57.2%) received staged revascularization including 102 patients (73.4%) who received CABG as the first step and 37 patients (26.6%) who received CEE as the first step of surgery. The endpoints for both early and late results were death from all causes, stroke, transient ischemic attack (TIA), acute myocardial infarction (AMI), and combined endpoint that included all of the above. Average follow-up time was 41.1 ± 21.8 months.

Results. No fatal outcomes were in any group during the early postoperative period. At the hospital stage, there were 5 cases (2.1%) of stroke, 1 case (0.4%) of TIA, and 3 cases (1.2%) of acute MI. Long-term results were evaluated in 225 patients (92.3%). The overall survival rate was 93.8%. There were 5 cases (2.4%) of MI, 11 cases (4.9%) of stroke, and 1 case (1.0%) of TIA. No significant differences were observed in immediate and long-term endpoints between the groups of staged and combined interventions as compared to immediate (AMI: $p = 0.680$; TIA: $p = 0.500$; acute cerebrovascular events: $p = 0.567$; combined: $p = 0.940$) and long-term results (deaths: 0.860; AMI: $p = 0.906$; TIA: $p = 0.528$; acute cerebrovascular events: $p = 0.378$; combined: $p = 0.669$).

Conclusion. Based on successful experience with treating the concomitant atherosclerotic lesions of the coronary and brachiocephalic arteries, the proposed algorithm allowed to perform safe procedures in both arterial basins and to achieve satisfactory results in in-hospital and long-term periods in the Federal Center for Cardiovascular Surgery named after S.G. Sukhanov (Perm).

Keywords:	multifocal atherosclerosis, coronary artery bypass grafting, carotid endarterectomy, long-term results, myocardial infarction, stroke.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	no author has a financial or property interest in any material or method mentioned.
Adherence to ethical standards:	informed consent was obtained from all patients. The study was approved by the Ethics Committee of Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner (protocol No. 5 from 22.05.2019).

For citation:

Marchenko A.V., Vronskiy A.S., Myalyuk P.A., Chebykin R.N., Minasyan V.N., Lazarkov P.V., Sinelnikov Y.S. Early and late outcomes of combined and staged surgeries in patients with concomitant atherosclerotic lesions of the coronary and brachiocephalic arteries. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2021;36(4):107–119. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-107-119>.

Введение

Коронарное шунтирование является хирургическим методом лечения ишемической болезни сердца (ИБС). Несмотря на широкое применение, операция может иметь несколько осложнений, наиболее разрушительным из которых является послеоперационный инсульт. Частота выявления острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) после аортокоронарного шунтирования (АКШ) достигает 4–5% [1]. Аналогично, ИБС является основной причиной смерти пациентов с атеросклеротическим поражением сонной артерии [2]. По данным литературы, частота выявления гемодинамически значимых поражений брахиоцефальных артерий (БЦА) у пациентов с ИБС достигает 20% [3]. В то же время сопутствующее поражение коронарных артерий при поражении БЦА выявляется в 19–40% случаев [4, 5]. У пациентов с бессимптомным стенозом сонной артерии риск инфаркта миокарда (ИМ) в четыре раза выше, чем у пациентов с перенесенным инсультом [6], а наличие стеноза сонной артерии является независимым предиктором сердечной смерти [7].

На сегодняшний день нет рекомендаций высокого класса доказательности по лечению пациентов с сочетанным атеросклеротическим поражением коронарных артерий и БЦА. Рекомендации Европейского общества кардиологов и Европейского общества сосудистых хирургов (ЕОК/ЕОСХ) по диагностике и лечению заболеваний периферических артерий (2017) в отношении сочетанного атеросклероза коронарных и сонных артерий содержат положение: для проведения реваскуляризации сонной артерии у пациентов, нуждающихся в АКШ, рекомендуется индивидуальное для каждого пациента обсуждение показаний (и если таковые имеются, то метод и время) многопрофильной командой специалистов, включая невролога (класс I, уровень C) [8]. Российские рекомендации по лечению пациентов с патологией БЦА, разработанные под руководством академика А.В. Покровского, датируются 2013 г. Согласно руководству, пока не получены результаты рандомизированных исследований, хирургический подход к лечению пациентов с критическим сочетанным поражением коронарного и каротидного русла индивидуален, основывается на специфическом уровне риска для каждого пациента и опыте учреждения [9]. Мы хотим представить свой опыт лечения данной когорты пациентов, показать непосредственные и отдаленные результаты.

Материал и методы

За период с 01.07.2014 по 01.01.2021 гг. в исследование вошли 243 пациента с сочетанным атеросклеротическим поражением коронарных и сонных артерий. 104 пациентам (42,8%) была выполнена одномоментная сочетанная операция АКШ и каротидной эндартерэктомии (КЭЭ), 139 (57,2%) пациентов получили поэтапную реваскуляризацию, из них 102 (73,4%) пациентам первым эта-

пом было выполнено АКШ, 37 (26,6%) пациентам – КЭЭ. Мы определяли объем и этапность оперативных вмешательств согласно разработанному нами алгоритму дифференцированного подхода. Стоит отметить, что в исследование вошли только пациенты с плановым характером оперативных вмешательств.

Экстренные пациенты исключались из исследования. Согласно алгоритму, выделяются группы пациентов с критическим поражением сонных и коронарных артерий. Критическое поражение сонных артерий означает поражение более 80%. Поражение коронарных артерий считается критическим при стенозировании более 75%. Профессор С.Г. Суханов методом электромагнитной флуометрии изучал зависимость между степенью сужения просвета внутренней сонной артерии (ВСА) и объемным кровотоком. Было установлено, что стенозирование просвета до 75% приводит к пропорциональному уменьшению кровотока. Дальнейшее стенозирование вызывает резкое непропорциональное падение ударного объема [10]. Таким образом, стеноз сонной артерии 80% и более был выбран нами как критическое значение. Считается, что чем больше степень стеноза коронарной артерии, тем выше вероятность того, что поражение является гемодинамически значимым. Особые разногласия связаны с реваскуляризацией промежуточных коронарных поражений (с уменьшением диаметра сосуда от 50 до 70%) [11]. Предполагается, что стеноз более 70% является функционально значимым. Большинство стенозов с ангиографической степенью тяжести от 50 до 70% являются функционально незначительными, по данным исследования фракционного резерва кровотока. Однако при более тяжелых поражениях (от 71 до 90%) до 80% всех поражений вызывают ишемию миокарда [12]. Поражение коронарных артерий более 75% было выбрано нами как критическое значение. Основным критерием при выборе тактики хирургического вмешательства у пациентов с сочетанным атеросклеротическим поражением коронарных и сонных артерий в нашем алгоритме является анатомическая картина поражения. Кроме того, мы оценивали клиническое проявление ИБС при выборе этапности лечения.

При наличии безболевого ишемии миокарда либо стенокардии напряжения (СН) III–IV функционального класса (ФК) пациенту первым этапом выполнялось АКШ, вторым – КЭЭ. В эту группу также вошли пациенты со СН II ФК, которые имели критическое изолированное проксимальное поражение передней нисходящей артерии (ПНА) либо в сочетании с другими артериями. При критическом поражении сонных артерий, поражении коронарных артерий до 75% и СН на уровне II–III ФК пациенту первым этапом выполнялась КЭЭ, вторым – АКШ. Мы считаем оптимальным временем между этапами оперативных вмешательств один месяц с момента выписки пациента после первой операции. Мы учитывали «симптомность – асимптомность» поражения сонных артерий как показание к оперативной

реконструкции сонных артерий, согласно актуальным рекомендациям, однако данный критерий не вошел в алгоритм выбора тактики лечения больных сочетанной группы. При наличии критического поражения в обоих артериальных бассейнах пациент направлялся на одномоментную реконструкцию в бассейнах коронарных и каротидных артерий вне зависимости от клинических проявлений.

Таким образом, мы профилактикуем сосудистые события, которые могут возникнуть в периоперационном периоде после вмешательства на одном артериальном

русле ввиду критического нарушения гемодинамики в неоперированном бассейне.

Данный алгоритм принят в ФЦССХ им. С.Г. Суханова для определения тактики лечения пациентов с мультифокальным атеросклерозом. Был разработан дизайн исследования, чтобы подтвердить гипотезу его верности (рис. 1).

Нами проведен анализ предоперационных клинических показателей пациентов каждой из групп. Ни по одному признаку не было выявлено значимого различия (табл. 1).

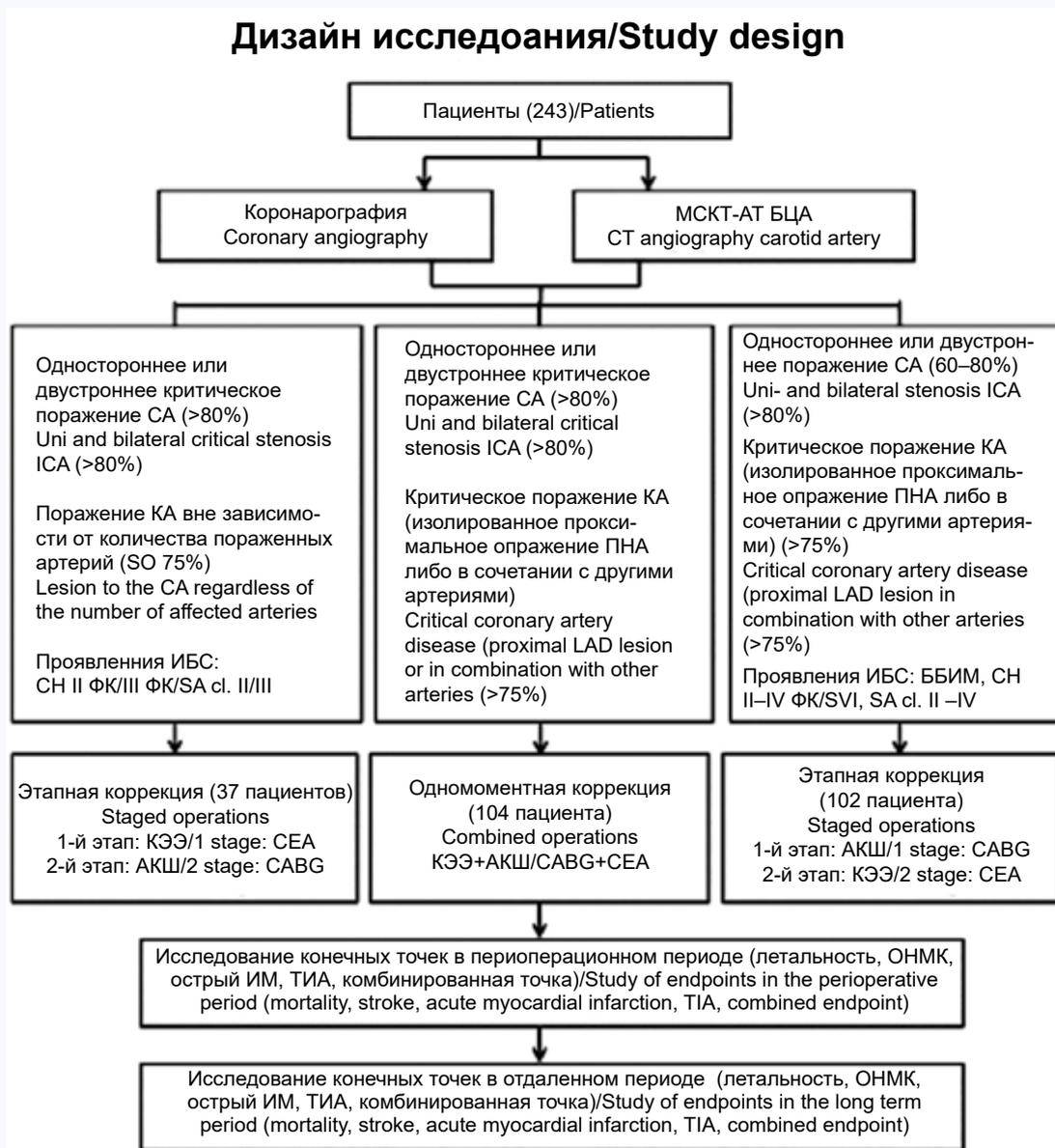


Рис. 1. Дизайн исследования по выбору хирургической тактики у пациентов с сочетанным атеросклерозом коронарных и брахиоцефальных артерий (Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии им. С.Г. Суханова, Пермь)

Примечание: МСКТ-АТ БЦА – мультиспиральная компьютерная томография-ангиография брахиоцефальных артерий, СА – сонные артерии, КА – коронарные артерии, КЭЭ – каротидная эндартерэктомия, АКШ – коронарное шунтирование, ИБС – ишемическая болезнь сердца, СН – стенокардия напряжения, ФК – функциональный класс, ББИМ – безболевого ишемия миокарда, ТИА – транзиторная ишемическая атака.

Fig. 1. Design of study on differentiated surgical tactics choice in patients with concomitant atherosclerosis of coronary and brachiocephalic arteries (Federal Center of Cardiovascular Surgery named after S.G. Sukhanov, Perm)

Note: CA – coronary artery, CABG – coronary artery bypass grafting, CEA – carotid endarterectomy, CT – computer tomography, ICA – internal carotid artery, LAD – left anterior descending artery, SA – stable angina, SMI – silent myocardial ischemia, TIA – transient ischemic attack.

Таблица 1. Предоперационная клиническая характеристика пациентов

Table 1. Preoperative clinical characteristics of patients

Признаки Variables	Группа этапных вмешательств (первый этап АКШ), n = 102 Staged interventions (CABG first, then CEA), n = 102	Группа этапных вмешательств (первый этап КЭЭ), n = 37 Staged interventions (CEA first, then CABG) n = 37	Группа сочетанных вмешательств, n = 104 Combined CEA + CABG, n = 104	Уровень значимости p p-value
Возраст, лет Age, years	64,9 ± 6,4	62,8 ± 5,6	63,95 ± 6,27	0,202
Пол, муж./жен., n (%) Sex, male/female, n (%)	Муж./male – 79 (77,5) Жен./female – 23 (22,5)	Муж./male – 27 (73,0) Жен./female – 10 (27,0)	Муж./male – 86 (82,7) Жен./female – 18 (17,3)	0,404
ИМТ BMI	28,2 ± 4,3	27,3 ± 3,4	28,4 ± 4,9	0,389
Наличие ожирения, n (%) Obesity, n (%)	1 ст./cl. 1 – 27 (26,5) 2 ст./cl. 2 – 7 (6,9) 3 ст./cl. 3 – 0 (0)	1 ст./cl. 1 – 6 (16,2) 2 ст./cl. 2 – 0 (0) 3 ст./cl. 3 – 0 (0)	1 ст./cl. 1 – 27 (25,9) 2 ст./cl. 2 – 7 (6,7) 3 ст./cl. 3 – 2 (1,9)	0,178
Гиперхолестеринемия, n (%) Hypercholesterolemia, n (%)	25 (24,5)	8 (25,0)	28 (26,9)	0,802
ХБП, n (%) Chronic kidney disease, n (%)	3a/3a – 20 (19,6) 3б/3b – 2 (2,0)	3a/3a – 5 (13,5) 3б/3b – 4 (10,8)	3a/3a – 19 (18,3) 3б/3b – 6 (5,8)	0,144
ПИКС, n (%) PICS, n (%)	55 (53,9)	16 (43,2)	60 (57,69)	0,318
ОНМК в анамнезе, n (%) Previous stroke, n (%)	26 (25,5)	11 (29,7)	28 (26,92)	0,882
ТИА, n (%) TIA, n (%)	9 (8,8)	5 (13,5)	15 (14,42)	0,440
Проявления ИБС, n (%) CAD signs, n (%)	ББИМ/SMI – 3 (2,9) СН II ФК/SA cl. II – 24 (23,5) СН III ФК/SA cl. III – 70 (68,6) СН IV ФК/SA cl. IV – 5 (4,9)	ББИМ/Silent myocardial ischemia – 0 (0) СН II ФК/SA cl. II – 15 (40,5) СН III ФК/ A cl. III – 22 (59,5) СН IV ФК/SA cl. IV – 0 (0)	ББИМ/Silent myocardial ischemia – 4 (3,8) СН II ФК/SA cl. II – 21 (20,2) СН III ФК/SA cl. III – 68 (65,4) СН IV ФК/SA cl. IV – 11 (10,58)	0,209
ХСН (класс по NYHA), n (%) CHF NYHA FC, n (%)	II ФК/cl. II – 80 (78,4) III ФК/cl. III – 22 (21,6)	II ФК/cl. II – 31 (83,8) III ФК/cl. III – 6 (16,2)	II ФК/cl. II – 77 (74,0) III ФК/cl. III – 27 (26,0)	0,081
Гипертоническая болезнь, n (%) Hypertension, n (%)	1 ст./st. 1 – 8 (7,8) 2 ст./st. 2 – 17 (16,7) 3 ст./st. 3 – 76 (74,5)	1 ст./st. 1 – 4 (10,8) 2 ст./st. 2 – 3 (8,1) 3 ст./st. 3 – 30 (81,1)	1 ст./st. 1 – 3 (2,9) 2 ст./st. 2 – 19 (18,3) 3 ст./st. 3 – 82 (78,9)	0,149
Сахарный диабет, n (%) Diabetes mellitus, n (%)	25 (24,5)	5 (13,5)	24 (23,1)	0,372
Хроническая обструктивная болезнь легких, n (%) Chronic obstructive pulmonary disease, n (%)	14 (13,7)	6 (16,2)	19 (18,3)	0,674
Фибрилляция предсердий, n (%) Atrial fibrillation, n (%)	12 (11,8)	6 (16,2)	7 (6,7)	0,215
ХИНК, n (%) Peripheral vascular disease, n (%)	15 (14,7)	5 (13,5)	16 (15,4)	0,962
Систолическая функция ЛЖ, n (%) LV systolic function, n (%)	Нормальная (ФВ > 50%)/ Normal LV EF – 71 (69,6)	Нормальная (ФВ > 50%)/ Normal LV EF – 28 (75,7)	Нормальная (ФВ > 50%)/ Normal LV EF – 75 (72,1)	0,773
	Легкая дисфункция/ (ФВ 40–49%)/Mild dysfunction LV EF – 22 (21,6)	Легкая дисфункция/ (ФВ 40–49%)/Mild dysfunction LV EF – 7 (18,9)	Легкая дисфункция/ (ФВ 40–49%)/Mild dysfunction LV EF – 21 (20,2)	0,936
	Умеренная дисфункция (ФВ 30–39%)/Moderate dysfunc- tion LV EF – 7 (6,9)	Умеренная дисфункция (ФВ 30–39%)/Moderate dysfunction LV EF – 2 (5,4)	Умеренная дисфункция (ФВ 30–39%)/Moderate dysfunction LV EF – 6 (5,8)	0,927
	Тяжелая дисфункция (ФВ < 30%)/Severe dysfunction LV EF – 2 (2,0)	Тяжелая дисфункция (ФВ < 30%)/Severe dysfunction LV EF – 0 (0)	Тяжелая дисфункция (ФВ < 30%)/Severe dysfunction LV EF – 2 (1,9)	0,956
Гипертрофия ЛЖ, n (%) LV hypertrophy, n (%)	86 (84,3)	33 (89,2)	84 (80,8)	0,476

Примечание: КЭЭ – каротидная эндартерэктомия, АКШ – аортокоронарное шунтирование, ИМТ – индекс массы тела, ХБП – хроническая болезнь почек, ПИКС – постинфарктный кардиосклероз, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, ТИА – транзиторная ишемическая атака, ББИМ – безболевого ишемия миокарда, СН – стенокардия напряжения, ГБ – гипертоническая болезнь, ХИНК – хроническая ишемия нижних конечностей, ХСН – хроническая сердечная недостаточность, ВСА – внутренняя сонная артерия, ФВ – фракция выброса, ЛЖ – левый желудочек (здесь и далее).

Note: BMI – body mass index, CABG – coronary artery bypass grafting, CAD – coronary artery disease, CEA – carotid endarterectomy, CHF – chronic heart failure, NYHA FC – functional class of CHF according to New York Heart Association, EF – ejection fraction, LV – left ventricular, MI – myocardial infarction, PICS – postinfarction cardiosclerosis, SA – stable angina, SMI – silent myocardial ischemia, TIA – transient ischemic attack.

Ангиографические исследования

Характеристики ангиографических исследований коронарных артерий и БЦА указаны в таблице 2. При статистическом исследовании получено значимое межгрупповое отличие по поражению коронарных и сонных

артерий. Данный факт объясняется тем, что пациенты распределялись на группы, в первую очередь, согласно ангиографической картине поражения. В зависимости от этого определялись тактика и объем хирургического лечения.

Таблица 2. Ангиографические характеристики пациентов

Table 2. Angiographic characteristics of patients

Признаки Variables	Группа этапных вмешательств (первый этап АКШ), <i>n</i> = 102 Staged interventions (CABG first, then CEA), <i>n</i> = 102	Группа этапных вмешательств (первый этап КЭЭ), <i>n</i> = 37 Staged interventions (CEA first, then CABG), <i>n</i> = 37	Группа сочетанных вмешательств, <i>n</i> = 104 Combined CEA + CABG, <i>n</i> = 104	Уровень значимости <i>p</i> <i>p</i> -value
Критическое поражение коронарных артерий (> 75%), <i>n</i> (%) Critical coronary artery disease, <i>n</i> (%)	102 (100)	0 (0)	104 (100)	< 0,001
Поражение коронарных артерий, <i>n</i> (%) Coronary artery disease, <i>n</i> (%)	Поражение 50–75%/ 50–75% lesion – 0 (0)	Поражение 50–75%/ 50–75% lesion – 37 (100)	Поражение 50–75%/ 50–75% lesion – 0 (0)	< 0,001
	Стволовое поражение (>75%)/ Left main coronary artery disease – 9 (8,8)	Стволовое поражение (>75%)/ Left main coronary artery disease – 0 (0)	Стволовое поражение (>75%)/ Left main coronary artery disease – 7 (6,7)	
	Однососудистое поражение (>75%)/ one-vessel disease – 13 (12,7)	Однососудистое поражение (> 75%)/one-vessel disease – 0 (0)	Однососудистое поражение (>75%)/one-vessel disease – 11 (10,6)	
	Двухсосудистое поражение (>75%)/ Two-vessel disease – 42 (41,2)	Двухсосудистое поражение (>75%)/ Two-vessel disease – 0 (0)	Двухсосудистое поражение (>75%)/ Two-vessel disease – 45 (43,3)	
	Трехсосудистое поражение (>75%)/ Three-vessel disease – 38 (37,3)	Трехсосудистое поражение (>75%)/ Three-vessel disease – 0 (0)	Трехсосудистое поражение (>75%)/ Three-vessel disease – 41 (39,42)	
Критическое поражение БСА (>80%), <i>n</i> (%) ICA critical stenosis, <i>n</i> (%)	0 (0)	37 (100)	104 (100)	< 0,001
Поражение сонных артерий, <i>n</i> (%) ICA stenosis, <i>n</i> (%)	Поражение 60–80%/ lesion – 102 (100)	Поражение 60–80%/ lesion – 102 (100)	Поражение 60–80%/ lesion – 0 (0)	< 0,001
	Одностороннее поражение (>80%)/ Unilateral ICA stenosis – 0 (0)	Одностороннее поражение (>80%)/ Unilateral ICA stenosis – 33 (89,2)	Одностороннее поражение (>80%)/ Unilateral ICA stenosis – 92 (88,5)	
	Двустороннее поражение (>80%)/ Bilateral ICA stenosis – 0 (0)	Двустороннее поражение (>80%)/ Bilateral ICA stenosis – 4 (10,8)	Двустороннее поражение (>80%)/ Bilateral ICA stenosis – 12 (11,5)	

Первичными конечными точками были смерть от всех причин, ОНМК, ТИА, острый ИМ, а также комбинированная конечная точка, включающая в себя смерть от всех причин, острый ИМ, ОНМК и ТИА. Оценку проводили на госпитальном этапе и в отдаленном послеоперационном периоде.

Сравнение количественных признаков в группах осуществляли с помощью критериев Манна – Уитни и Краскела – Уоллиса. При оценке качественных признаков использовали критерий χ^2 Пирсона. Результаты исследований обработаны при помощи пакета прикладных программ STATISTICA for Windows 13 (StatSoftInc., США). Функцию выживаемости рассчитывали с использованием метода Каплана – Майера. Результаты представлены в виде графиков кривых Каплана – Майера с указанием уровня значимости лог-рангового теста для определения различий в исследуемых группах. Период риска возникновения события был определен в месяцах для каждого пациента. Каждый период между моментом включения в исследование и наступлением события либо окончанием исследования представлял отдельное наблюдение.

Непосредственные результаты (за время госпитализации)

Во время госпитализации летальных случаев зарегистрировано не было. Всего было зафиксировано 6 (2,5%) случаев неврологических осложнений и 3 (1,2%) случая острого ИМ: в группе одномоментных вмешательств – 3 (2,9%) ОНМК и 1 (0,9%) ИМ, в группе с выполнением первым этапом АКШ – 2 (2,0%) ОНМК, 1 (1,0%) ТИА и 1 (1,0%) ИМ, в группе с выполнением первым этапом КЭЭ – 1 (2,7%) ОНМК. Группы имели схожие комбинированные результаты: 4 (3,9%) для группы с выполнением первым этапом АКШ, 1 (2,7%) – для группы с выполнением первым этапом КЭЭ и 4 (3,8%) – для сочетанной группы. Не было выявлено значимого различия ни в одной из конечных точек (табл. 3).

Все случаи ОНМК возникли к моменту пробуждения пациента после операции. В группе сочетанных вмешательств в одном случае возникло ОНМК в бассейне средней мозговой артерии с оперируемой стороны. Учитывая проходимость зоны реконструкции по данным МСКТ АГ БЦА, осложнение, вероятно, связано с ишемией во время пережатия сонных артерий.

Таблица 3. Непосредственные результаты хирургического лечения согласно алгоритму ФЦССХ им. С.Г. Суханова (Пермь)

Table 3. Early results of surgical treatment based on the algorithm developed in the Federal Center of Cardiovascular Surgery named after S.G. Sukhanov, Perm

Признаки Variables	Группа этапных вмешательств (первый этап АКШ), <i>n</i> = 102 Staged interventions (CABG, then CEA), <i>n</i> = 102	Группа этапных вмешательств (первый этап КЭЭ), <i>n</i> = 37 Staged interventions (CEA, then CABG), <i>n</i> = 37	Группа сочетанных вмешательств, <i>n</i> = 104 Combined CEA + CABG, <i>n</i> = 104	Уровень значимости <i>p</i> <i>p</i> -value
Летальность Lethality	0	0	0	–
Острый ИМ, <i>n</i> (%) Acute myocardial infarction, <i>n</i> (%)	1 (1,0)	1 (2,7)	1 (0,9)	0,680
ТИА, <i>n</i> (%) TIA, <i>n</i> (%)	1 (1,0)	0 (0)	0 (0)	0,500
ОНМК, <i>n</i> (%) Perioperative stroke, <i>n</i> (%)	2 (2,0)	0 (0)	3 (2,9)	0,567
Комбинированная точка, <i>n</i> (%) Composite events, <i>n</i> (%)	4 (3,9)	1 (2,7)	4 (3,8)	0,940

Второй и третий случаи ОНМК проявились в бассейне задней мозговой артерии. Острый ИМ по переднебоковой стенке в сочетанной группе был зафиксирован на четвертые сутки после маммарокоронарного шунтирования и КЭЭ справа у пациентки с хронической окклюзией правой коронарной артерии и диффузным критическим поражением огибающей артерии на всем протяжении. Выполнена коронарошунтография – маммарный шунт проходим.

В группе этапных вмешательств оба случая ОНМК в бассейне пораженной сонной артерии были зафиксированы в раннем послеоперационном периоде у пациентов, которым первым этапом было выполнено АКШ. У одного пациента на третьи сутки после АКШ возникла ТИА в бассейне пораженной сонной артерии. Всем пациентам в среднем через месяц после первого этапа была выполнена КЭЭ. У одной пациентки на вторые сутки после выполнения первым этапом КЭЭ возникла клиника острого ИМ по переднебоковой стенке. По экстренным показаниям выполнено АКШ. В группе этапных вмешательств с выполнением первым этапом АКШ в одном случае в первые сутки после операции возникла ишемия по передней стенке. По данным коронарошунтографии, выявлена окклюзия маммарного шунта. Учитывая диффузное поражение ПНА до периферии, высокие риски при повторной реваскуляризации, острый ИМ велся консервативно.

Отдаленные результаты

Телефонные или клинические интервью проводились в апреле 2021 г. Для групп этапных операций оценка осуществлялась после выполнения обоих этапов реконструктивных вмешательств. Максимальное время наблюдения за пациентом составило 78 мес., минимальное – 4 мес., среднее время наблюдения – $41,1 \pm 21,8$ мес. Конечными точками были смерть от всех причин, ОНМК, ТИА, ИМ, а также комбинированная конечная точка, включающая в себя смерть от всех причин, острый ИМ, ОНМК, ТИА за время госпитализации больного.

Нам удалось связаться с 225 пациентами из 243 прооперированных (92,6%). Мы не смогли узнать отдаленные результаты у 3 пациентов из группы этапных вмешательств (первым этапом АКШ), 7 пациентов из группы этапных вмешательств (первым этапом КЭЭ) и 8 пациентов из группы сочетанных вмешательств. Общая выживаемость составила 93,8%: 92,9% – для этапной груп-

пы (первым этапом АКШ), 93,3% – для этапной группы (первым этапом КЭЭ) и 94,8% для группы сочетанных вмешательств, $p = 0,807$). Умерли 14 человек (6,2%): 7 (7,1%) пациентов – в группе с выполнением первым этапом АКШ, 2 (6,7%) – в группе с выполнением первым этапом КЭЭ и 5 (5,2%) – в сочетанной группе. Всего было зафиксировано 5 (2,4%) случаев ИМ: 2 (9,1%) случая – в группе с выполненным в первую очередь АКШ, 1 (3,3%) – в группе с выполненной в первую очередь КЭЭ, 2 (2,1%) – в сочетанной группе, и 11 (4,9%) случаев ОНМК: 4 (4,0%) случая – в группе с выполненным в первую очередь АКШ, 3 (10%) – в группе с выполненной в первую очередь КЭЭ и 4 (4,1%) – в группе одномоментных вмешательств.

Также был зафиксирован 1 (1,0%) случай ТИА в этапной группе (первым этапом АКШ). От ИМ умер один человек в сочетанной группе, в группе этапных вмешательств летальных случаев от ИМ не было. От ОНМК умерли по 1 человеку в обеих этапных группах и 1 человек в сочетанной группе. Комбинированная точка составила 15 (15,2%) в этапной группе (первым этапом АКШ), 5 (16,7%) – в этапной группе (первым этапом КЭЭ) и 11 (10,6%) – в сочетанной группе. Не было выявлено значимого различия между группами ни в одном из исследуемых параметров конечных точек (табл. 4).

При анализе методом Каплана – Майера выживаемость в течение 6 лет в группе одномоментных вмешательств составила 94,8%, в группе этапных вмешательств (первым этапом АКШ) – 92,9%, в группе этапных вмешательств (первым этапом КЭЭ) – 93,3% с соответствующими 95% доверительными интервалами (рис. 2). При анализе выживаемости по лог-ранговому критерию не выявлено статистически значимых различий ($\chi^2 = 0,487$; $p = 0,784$).

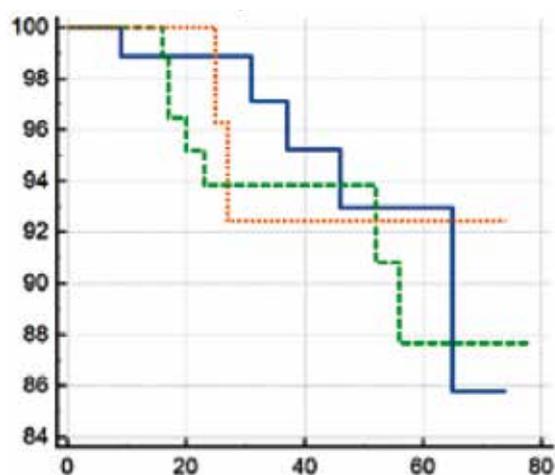
Группы не отличались по показателю свободы от ИМ в отдаленном послеоперационном периоде (рис. 3). Для сочетанной группы данный показатель составил 97,9%, для этапной (первым этапом АКШ) – 97,9%, для группы этапных вмешательств (первым этапом КЭЭ) – 96,7% ($\chi^2 = 0,013$; $p = 0,994$).

При анализе свободы от ОНМК по лог-ранговому критерию также не было выявлено различий между группами (рис. 4). Так, показатель для сочетанной группы составил 95,8%, для этапной (первым этапом АКШ) – 95,7%, для этапной (первым этапом КЭЭ) – 90,0% ($\chi^2 = 0,410$; $p = 0,815$).

Таблица 4. Отдаленные результаты хирургического лечения согласно алгоритму ФЦССХ им. С.Г. Суханова (Пермь)

Table 4. Late results of surgical treatment performed according to the algorithm developed in the Federal Center of Cardiovascular Surgery named after S.G. Sukhanov, Perm

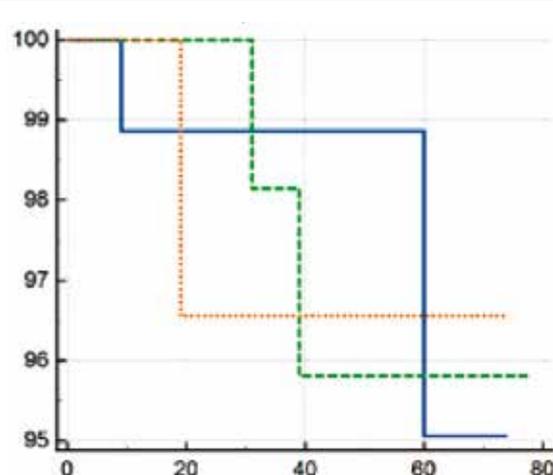
Признаки Variables	Обследованные пациенты из группы этапных вмешательств (первый этап АКШ), <i>n</i> = 99 Staged interventions (CABG first, then CEA), <i>n</i> = 99	Обследованные пациенты из группы этапных вмешательств (первый этап КЭЭ), <i>n</i> = 30 Staged interventions (CEA first, then CABG), <i>n</i> = 30	Обследованные пациенты из группы сочетанных вмешательств, <i>n</i> = 96 Combined CEA + CABG, <i>n</i> = 96	Уровень значимости <i>p</i> <i>p</i> -value
Летальность, <i>n</i> (%) Deaths, <i>n</i> (%)	7 (7,1)	2 (6,7)	5 (5,2)	0,860
Живы Survived	89 (92,9)	28 (93,3)	91 (94,8)	0,860
Острый ИМ, <i>n</i> (%) Acute myocardial infarction, <i>n</i> (%)	2 (9,1)	1 (3,3)	2 (2,1)	0,906
ОНМК, <i>n</i> (%) acute cerebrovascular event, <i>n</i> (%)	4 (4,0)	3 (10,0)	4 (4,1)	0,378
ТИА, <i>n</i> (%) TIA, <i>n</i> (%)	1 (1,0)	0	0	0,528
Смерть от острого ИМ, <i>n</i> (%) Death from acute myocardial infarction, <i>n</i> (%)	0	0	1 (1,0)	0,509
Смерть от ОНМК, <i>n</i> (%) Death from stroke, <i>n</i> (%)	1 (1,0)	1 (3,3)	1 (1,0)	0,590
Смерть от других причин, <i>n</i> (%) Death from other causes, <i>n</i> (%)	6 (6,1)	1 (3,3)	3 (3,1)	0,580
Комбинированная точка, <i>n</i> (%) Composite events, <i>n</i> (%)	15 (15,2)	5 (16,7)	11 (10,6)	0,669



Группы/groups
— Сочетанная CEA+CABG
- - - Этапная (1-м этапом АКШ) Staged CABG-CEA
· · · Этапная (1-м этапом КЭЭ) Staged CEA-CABG

$p = 0,784$

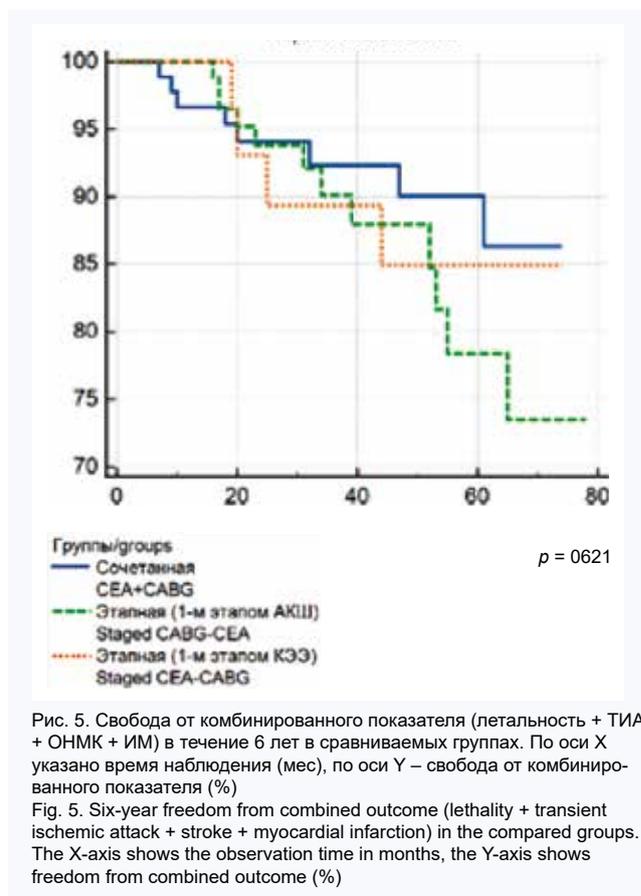
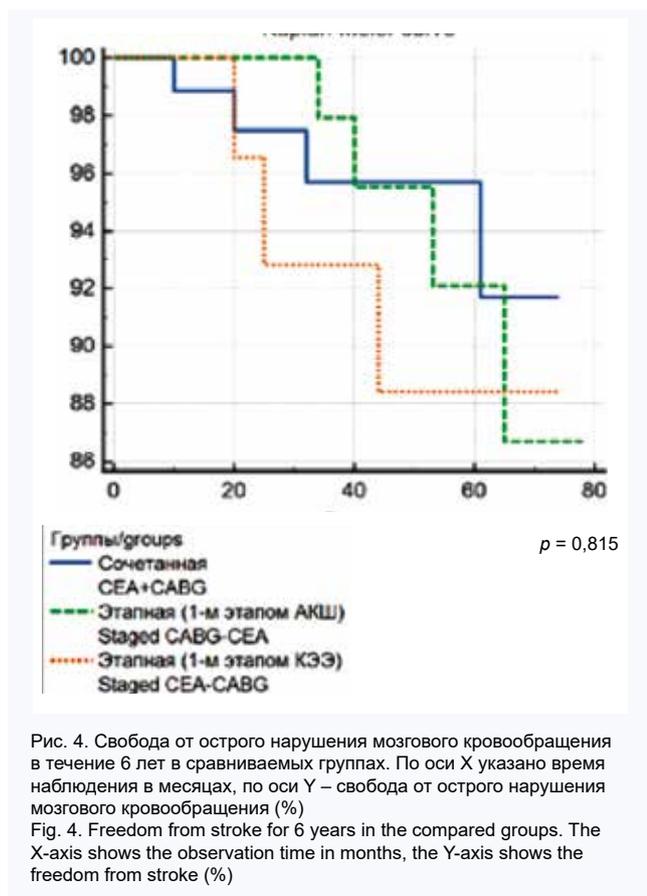
Рис. 2. Кривые выживаемости в течение 6 лет между группами сочетанных и этапных оперативных вмешательств. По оси X указано время наблюдения (мес), по оси Y – вероятность выживания (%)
Fig. 2. Six-year survival curves in the groups of combined and staged surgical interventions. Observation time is on the X-axis (months); survival probability is on the Y-axis (percentage)



Группы/groups
— Сочетанная CEA+CABG
- - - Этапная (1-м этапом АКШ) Staged CABG-CEA
· · · Этапная (1-м этапом КЭЭ) Staged CEA-CABG

$p = 0,994$

Рис. 3. Свобода от инфаркта миокарда в течение 6 лет в сравниваемых группах. По оси X указано время наблюдения в месяцах, по оси Y – свобода от инфаркта миокарда (%)
Fig. 3. Six-year freedom from myocardial infarction in the compared groups. Observation time is on the X-axis (months); freedom from myocardial infarction is on the Y-axis (%)



При сравнении свободы от осложнений комбинированной конечной точки (летальность от всех причин + ИМ + ОНМК + ТИА) методом Каплана – Майера суммирование нескольких событий у одного пациента не происходило, а считалось, что произошло одно осложнение, в силу особенностей данного метода. Свобода от развития комбинированного показателя (летальность от всех причин + ИМ + ОНМК + ТИА) в течение 6 лет составила 91,7% для группы одномоментных вмешательств, 87,9% – для группы, в которой первым этапом было выполнено АКШ, 86,7% – для группы, в которой первым этапом была проведена КЭЭ ($\chi^2 = 0,952$; $p = 0,621$), рисунок 5.

Обсуждение

Несмотря на то, что АКШ превосходит чрескожное вмешательство в отношении снижения смертности и ИМ у пациентов с сахарным диабетом, которые имеют запущенную ИБС, эта польза нивелируется более высоким риском инсульта. Исследования показали, что пациенты с односторонним или двусторонним стенозом сонной артерии при выполнении АКШ имеют повышенный риск периоперационного инсульта (от 2 до 11%), что позволяет предположить зависимость между стенозом сонной артерии и периоперационным инсультом после АКШ [13]. До сих пор нет единого мнения не только по лечению, но и по диагностике и выявлению сопутствующих асимптомных поражений артериальных бассейнов.

В 2015 г. были опубликованы результаты крупного рандомизированного исследования, доказывающего необходимость проведения коронарографии перед КЭЭ. 426 пациентов, нуждающихся в КЭЭ, были рандомизированы

на две группы. 30-дневные результаты в группе пациентов, которым была проведена коронарография, показали отсутствие случаев острого ИМ и нулевую летальность. В то же время в группе без коронарографии 30-дневная частота острого ИМ составила 4,3%, а летальность 0,5%. При исследовании отдаленных 6-летних результатов в группе с коронарографией частота острого ИМ составила 1,4%, в группе без коронарографии – 15,7%, а летальность – 0 (0%) и 2,9% соответственно [14].

Несмотря на распространенность мультифокального атеросклероза, современные рекомендации допускают выполнение скрининга стеноза сонных артерий перед АКШ пациентам без недавнего анамнеза ТИА/ОНМК только при соответствии следующим критериям: возраст ≥ 70 лет, многососудистое поражение коронарного русла, сопутствующие ХИНК, шумы при аускультации сонных артерий. При этом рекомендация имеет низкий класс и уровень доказательности [15]. Аналогично, рекомендации по селективной коронарографии перед выполнением КЭЭ имеют низкий класс рекомендаций и уровень доказательности (IIb, B) [8].

Нами были проанализированы результаты обследования пациентов, которым была проведена реваскуляризация коронарных и сонных артерий с 1.07.2014 по 01.01.2021 г. в ФЦССХ им. С.Г. Суханова. Из 7716 пациентов, которым было выполнено АКШ, 1597 (20,7%) пациентов имели поражение БЦА, причем 430 (5,6%) из них была проведена реваскуляризация сонных артерий. В то же время из 681 пациентов, получивших КЭЭ и каротидную ангиопластику со стентированием (КАС), 430 (63,1%) пациентам было выполнено АКШ. Такой высо-

кий показатель встречаемости выраженного коронарного атеросклероза у пациентов, направляющихся на реваскуляризацию сонных артерий, можно объяснить тем, что в ФЦССХ им. С.Г. Суханова чаще направляются пациенты на коронарографию и реваскуляризацию коронарных артерий, и поражение сонных артерий выявляется при дообследовании. Несмотря на данную поправку, такая частая встречаемость сочетанного атеросклероза позволяет нам сделать вывод о необходимости скринингового ультразвукового исследования БЦА перед коронарной реваскуляризацией и проведения коронарографии перед вмешательством на сонных артериях.

Механизмы, лежащие в основе повышенного риска инсульта при АКШ, многофакторны [3, 16]. Не стоит забывать, что атеросклероз сонных артерий является не единственным предиктором ишемического инсульта при АКШ. Атероматоз аорты, вероятно, представляется еще более значимым фактором. Большинство операций АКШ выполняются при помощи искусственного кровообращения (ИК) с канюляцией и пережатием аорты; даже если они выполняются без ИК, с аортой часто манипулируют для создания проксимальных анастомозов. Согласно результатам наших исследований, применение эпиаортального сканирования снижает летальность в 5 раз, а риски возникновения инсульта уменьшаются в 12 раз [17]. Необходимо рутинно на каждой операции, даже без ИК, проводить эпиаортальное сканирование. При выявлении атероматоза аорты хирург должен владеть всем спектром методик реваскуляризации и выбрать подходящую. Важно помнить о возможности гибридной реваскуляризации для минимизации манипуляций на аорте при выраженном атероматозе. В нашем исследовании операции выполнялись как с ИК, так и без ИК, а при выявлении атероматоза аорты использовались методики смены места канюляции, «single clamp», «no touch aorta» и гибридной реваскуляризации. Мы предполагаем, что рутинное эпиаортальное сканирование является одним из факторов получения нами удовлетворительных результатов на госпитальном этапе.

Для предотвращения интраоперационной десатурации головного мозга, связанной с ишемическими осложнениями, рекомендуется непрерывный мониторинг с использованием ближней инфракрасной спектроскопии [18]. Нейромониторинг позволяет изменить стратегию операции при значимом падении церебральной сатурации и уменьшить время пережатия сонных артерий, тем самым профилактировав ишемические повреждения. Но также важны и стабильные показатели мозговой оксиметрии. Большинство хирургов стараются максимально сократить время пережатия сонных артерий, тем самым уменьшить время ишемии. Иногда это может приводить к неполной эндартерэктомии с фиксированными остатками частичек бляшки в просвете. Стабильные показатели нейромониторинга позволяют хирургу спокойно работать без излишней спешки и максимально полно провести эндартерэктомию с удалением всех фиксированных и флотирующих частичек бляшки без опасения ишемического повреждения вследствие долгого пережатия сонных артерий.

Механизм церебрального повреждения после кардиохирургической операции с применением ИК еще до

конца не изучен. Патогенез может включать в себя эмболизацию или гипоперфузию, вызывающую церебральную ишемию. Контроль церебральной оксиметрии необходим при выполнении АКШ у пациентов с сочетанным поражением сонных артерий. Это позволяет предотвратить ишемию как при ИК, так и при выполнении операции без ИК, при котором происходит позиционирование сердца с периодами гипотонии. В данном исследовании мы использовали церебральную оксиметрию при всех операциях.

На сегодняшний день существует значительное количество стратегий и алгоритмов по выбору тактики лечения пациентов с сочетанным атеросклеротическим поражением коронарных и сонных артерий. Примером является алгоритм, предложенный отечественными исследователями, в основе которого лежит выполнение функциональных проб с определением резерва перфузии в бассейнах коронарных и сонных артерий [19]. Ряд авторов придерживаются мнения, что этапная коррекция является более безопасным и эффективным методом хирургического лечения пациентов с мультифокальным атеросклерозом [20]. Другие исследователи делают выводы, что при использовании современных методов хирургического лечения, новейших средств анестезиологического пособия и послеоперационного ведения больных сочетанные операции на каротидном бассейне и сосудах сердца могут успешно выполняться с результатами, сопоставимыми с результатами этапных операций [21].

Мы придерживаемся мнения, что результаты этапных и сочетанных операций при дифференцированном подходе к выбору тактики сопоставимы. При должном опыте клиники, грамотном выборе кандидатов на симультантную операцию и непрерывном нейромониторинге на всех этапах одномоментная коррекция поражения коронарных и БЦА не увеличивает риск послеоперационных осложнений по сравнению с этапным лечением.

Выводы

Выбор тактики лечения сочетанного атеросклеротического поражения коронарных и сонных артерий на протяжении четырех десятилетий является проблемой для клиницистов. В отсутствие рандомизированных контролируемых исследований рекомендации по ведению этих пациентов основаны на результатах одноцентровых ретроспективных исследований. Множество вариантов хирургического лечения обоих состояний затрудняет достижение четкого консенсуса относительно оптимального. По нашему мнению, ангиографическая картина поражения у плановых пациентов в совокупности с клинической картиной должны играть ключевую роль в выборе тактики хирургического лечения. При критическом поражении в обоих артериальных бассейнах выполнение одномоментной реконструкции позволяет профилактировать сосудистые события, которые могут возникнуть при этапном характере вмешательств. Риски осложнений при одномоментной реваскуляризации коронарных и сонных артерий у более тяжелой когорты пациентов, а также отдаленные выживаемость и свобода от сосудистых событий не отличаются от таковых у пациентов, получивших этапные вмешательства на коронарном и каротидном бассейнах.

Литература

1. Бокерия Л.А., Бухарин В.А., Работников В.С., Алшибая М.Д. Хирургическое лечение больных ишемической болезнью сердца с поражением брахиоцефальных артерий. М.: Изд-во НЦССХ им. А.Н. Бакулева Минздрава России; 2006:180.
2. Krievins D., Zellans E., Latkovskis G., Jegere S., Kumsars I., Kaufmanis K. et al. Diagnosis and management of silent coronary ischemia in patients undergoing carotid endarterectomy. *J. Vasc. Surg.* 2021;73(2):533–541. DOI: 10.1016/j.jvs.2020.06.045.
3. Сигаев И.Ю. Реваскуляризация миокарда у больных ишемической болезнью сердца с мультифокальным атеросклерозом: дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2003.
4. Иванов С.В., Сумин А.Н., Казачек Я.В., Филиппов Д.Е., Гусев С.М., Малышенко Е.С. и др. Пути оптимизации результатов реваскуляризации у пациентов с мультифокальным атеросклерозом. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2013;(2):26–35.
5. Naylor A.R., Cuffe R.L., Rothwell P.M., Bell P.R.F. A systematic review of outcomes following staged and synchronous carotid endarterectomy and coronary artery bypass. *Eur. J. Vasc. Endovasc.* 2003;25(5):380–389. DOI: 10.1053/ejvs.2002.1895.
6. Goessens B.M.B., Visseren F.L.J., Kappelle L.J., Algra A., van der Graaf Y. Asymptomatic carotid artery stenosis and the risk of new vascular events in patients with manifest arterial disease: the SMART study. *Stroke.* 2007;38(5):1470–1475. DOI: 10.1161/STROKEAHA.106.477091.
7. Steinvil A., Sadeh B., Bornstein N.M., Havakuk O., Greenberg S., Arbel Y. et al. Impact of carotid atherosclerosis on the risk of adverse cardiac events in patients with and without coronary disease. *Stroke.* 2014;45(8):2311–2317. DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.005663.
8. Aboyans V., Ricco J.-B., Bartelink M.-L.E.L., Björck M., Brodmann M., Cohnert T. et al. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries. Endorsed by: the European Stroke Organization (ESO)The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). *Eur. Heart J.* 2018;39(9):763–816. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx095.
9. Национальные рекомендации по ведению пациентов с заболеваниями брахиоцефальных артерий. М.; 2013:72.
10. Суханов С.Г. Хирургическое лечение и реабилитация больных с мультифокальными поражениями при заболеваниях аорты и магистральных артерий: дис. ... д-ра мед. наук. Пермь; 1993.
11. Min J.K., Koo B.-K., Erglis A., Doh J.-H., Daniels D.V., Jegere S. et al. Effect of image quality on diagnostic accuracy of noninvasive fractional flow reserve: Results from the prospective multicenter international DISCOVER-FLOW study. *J. Cardiovasc. Comput. Tomogr.* 2012;6(3):191–199. DOI: 10.1016/j.jcct.2012.04.010.
12. Tonino P.A.L., Fearon W.F., De Bruyne B., Oldroyd K.G., Leeser M.A., Ver Lee P.N. et al. Angiographic versus functional severity of coronary artery stenoses in the FAME study fractional flow reserve versus angiography in multivessel evaluation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2010;55(25):2816–2821. DOI: 10.1016/j.jacc.2009.11.096.
13. Naylor A.R. Synchronous cardiac and carotid revascularisation: The devil is in the detail. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2010;40(3):303–308. DOI: 10.1016/j.ejvs.2010.05.017.
14. Illuminati G., Schneider F., Greco C., Mangieri E., Schiariti M., Tanzilli G. et al. Long-term results of a randomized controlled trial analyzing the role of systematic pre-operative coronary angiography before elective carotid endarterectomy in patients with asymptomatic coronary artery disease. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2015;49(4):366–374. DOI: 10.1016/j.ejvs.2014.12.030.
15. Neumann F.-J., Sousa-Uva M., Ahlsson A., Alfonso F., Banning A.P., Benedetto U. et al. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur. Heart J.* 2019;40(2):87–165. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy394.
16. Белов Ю.В., Кузьмин А.Л. Каротидная эндартерэктомия под местной анестезией у больных с изолированными, множественными и сочетанными поражениями брахиоцефальных артерий. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2002;8(3):76–80.
17. Мялюк П.А., Марченко А.В., Арутюнян В.Б., Чрагян В.А., Алексеевич Г.Ю., Вронский А.С. Профилактика цереброваскулярных осложнений при коронарном шунтировании. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2017;23(2):148–156.
18. De Tournay-Jetté E., Dupuis G., Bherer L., Deschamps A., Cartier R., Denault A. The relationship between cerebral oxygen saturation changes and postoperative cognitive dysfunction in elderly patients after coronary artery bypass graft surgery. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2011;25(1):95–104. DOI: 10.1053/j.jvca.2010.03.019.
19. Горохов А.С., Козлов Б.Н., Кузнецов М.С., Шипулин В.М. Сочетанное атеросклеротическое поражение сонных и коронарных артерий: выбор хирургической тактики с учетом оценки функциональных резервов головного мозга. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2013;(3):50–56. DOI: 10.17802/2306-1278-2013-3-50-56.
20. Бокерия Л.А., Сигаев И.Ю., Дарвиш Н.А., Озолиньш А.А., Есенева М.Ф., Моллаев Э.Б. и др. Тактика лечения больных с сочетанным атеросклеротическим поражением брахиоцефальных и коронарных артерий. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2016;116(2):22–28.
21. Шнейдер Ю.А., Цой В.Г., Павлов А.А. Непосредственные и среднеотдаленные результаты этапных операций на сонных артериях в сочетании с коронарным шунтированием. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2019;25(3):95–99.

References

1. Bokeriya L.A., Buharin V.A., Rabotnikov V.S., Alshibaya M.D. Surgical treatment of patients with ischemic heart disease with damage to the brachiocephalic arteries. Moscow: Izd-vo NCCSKH im. A.N. Bakuleva Minzdrava Rossii, 2006:180 (In Russ.).
2. Krievins D., Zellans E., Latkovskis G., Jegere S., Kumsars I., Kaufmanis K. et al. Diagnosis and management of silent coronary ischemia in patients undergoing carotid endarterectomy. *J. Vasc. Surg.* 2021;73(2):533–541. DOI: 10.1016/j.jvs.2020.06.045.
3. Sigaev I.Yu. Myocardial revascularization in patients with ischemic heart disease with multifocal atherosclerosis: Dis. ... Dr. Sci. Med. Moscow; 2003 (In Russ.).
4. Ivanov S.V., Sumin A.N., Kazachek Ya.V., Filip'ev D.E., Gusev S.M., Malyshechenko E.S. et al. Options for revascularization outcomes optimizations in patients with polyvascular disease. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2013;(2)26–35 (In Russ.).
5. Naylor A.R., Cuffe R.L., Rothwell P.M., Bell P.R.F. A systematic review of outcomes following staged and synchronous carotid endarterectomy and coronary artery bypass. *Eur. J. Vasc. Endovasc.* 2003;25(5):380–389. DOI: 10.1053/ejvs.2002.1895.
6. Goessens B.M.B., Visseren F.L.J., Kappelle L.J., Algra A., van der Graaf Y. Asymptomatic carotid artery stenosis and the risk of new vascular events in patients with manifest arterial disease: the SMART study. *Stroke.* 2007;38(5):1470–1475. DOI: 10.1161/STROKEAHA.106.477091.
7. Steinvil A., Sadeh B., Bornstein N.M., Havakuk O., Greenberg S., Arbel Y. et al. Impact of carotid atherosclerosis on the risk of adverse cardiac events in patients with and without coronary disease. *Stroke.* 2014;45(8):2311–2317. DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.005663.
8. Aboyans V., Ricco J.-B., Bartelink M.-L.E.L., Björck M., Brodmann M., Cohnert T. et al. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries. Endorsed by: the European Stroke Organization (ESO)The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). *Eur. Heart J.* 2018;39(9):763–816. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx095.
9. National guidelines for the management of patients with brachiocephalic artery disease. Moscow; 2013:72 (In Russ.).
10. Suhanov S.G. Surgical treatment and rehabilitation of patients with multifocal lesions in diseases of the aorta and great arteries: Dis. ... Dr. Sci. Med. Perm; 1993 (In Russ.).
11. Min J.K., Koo B.-K., Erglis A., Doh J.-H., Daniels D.V., Jegere S. et al. Effect of image quality on diagnostic accuracy of noninvasive fractional flow reserve: Results from the prospective multicenter international DISCOVER-FLOW study. *J. Cardiovasc. Comput. Tomogr.* 2012;6(3):191–199. DOI: 10.1016/j.jcct.2012.04.010.
12. Tonino P.A.L., Fearon W.F., De Bruyne B., Oldroyd K.G., Leeser M.A., Ver Lee P.N. et al. Angiographic versus functional severity of coronary artery stenoses in the FAME study fractional flow reserve versus angiography in multivessel evaluation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2010;55(25):2816–2821. DOI: 10.1016/j.jacc.2009.11.096.

13. Naylor A.R. Synchronous cardiac and carotid revascularisation: The devil is in the detail. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2010;40(3):303–308. DOI: 10.1016/j.ejvs.2010.05.017.
14. Illuminati G., Schneider F., Greco C., Mangieri E., Schiariti M., Tanzili G. et al. Long-term results of a randomized controlled trial analyzing the role of systematic pre-operative coronary angiography before elective carotid endarterectomy in patients with asymptomatic coronary artery disease. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2015;49(4):366–374. DOI: 10.1016/j.ejvs.2014.12.030.
15. Neumann F.-J., Sousa-Uva M., Ahlsson A., Alfonso F., Banning A.P., Benedetto U. et al. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur. Heart J.* 2019;40(2):87–165. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy394.
16. Belov Yu.V., Kuz'min A.L. Carotid endarterectomy under local anesthesia in patients with isolated, multiple and combined lesions of the brachiocephalic arteries. *Angiology and Vascular Surgery.* 2002;8(3):76–80 (In Russ.).
17. Myalyuk P.A., Marchenko A.V., Arutyunyan V.B., Chragyan V.A., Alekseevich G.Yu., Vronskiy A.S. Prevention of cerebrovascular complications in coronary artery bypass grafting. *Angiology and Vascular Surgery.* 2017;23(2):148–156 (In Russ.).
18. De Tournay-Jetté E., Dupuis G., Bherer L., Deschamps A., Cartier R., Denault A. The relationship between cerebral oxygen saturation changes and postoperative cognitive dysfunction in elderly patients after coronary artery bypass graft surgery. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2011;25(1):95–104. DOI: 10.1053/j.jvca.2010.03.019.
19. Gorokhov A.S., Kozlov B.N., Kuznetsov M.S., Shipulin V.M. Combined atherosclerotic lesions of carotid and coronary arteries: Choice of surgical strategy based on brain functional reserve assessment. *Complex Problems of Cardiovascular Diseases.* 2013;(3):50–56 (In Russ.). DOI: 10.17802/2306-1278-2013-3-50-56.
20. Bokeriya L.A., Sigaev I.Yu., Darvish N.A., Ozolin'sh A.A., Eseneev M.F., Mollaev E.B. et al. Treatment tactics for patients with combined atherosclerotic lesions of brachiocephalic and coronary arteries. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry.* 2016;116(2):22–28 (In Russ.).
21. Schneider Yu.A., Tsoi V.G., Pavlov A.A. Immediate and intermediate results of staged carotid endarterectomy in combination with coronary artery bypass grafting. *Angiology and Vascular Surgery.* 2019;25(3):95–99 (In Russ.).

Информация о вкладе авторов

Марченко А.В. – разработка концепции исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Вронский А.С. – разработка концепции исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания, планирование методов для получения результатов, анализ и интерпретация данных.

Мялюк П.А. – разработка концепции исследования, планирование методов для получения результатов, анализ и интерпретация данных.

Чебыкин Р.Н. – планирование методов для получения результатов, анализ и интерпретация данных.

Минасян В.Н. – планирование методов для получения результатов, анализ и интерпретация данных.

Лазарков П.В. – планирование методов для получения результатов, анализ и интерпретация данных.

Синельников Ю.С. – проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Information on author contributions

Marchenko A.V. – study concept, revision of essential intellectual content, and final approval of the manuscript for publication.

Vronskiy A.S. – study concept, methodological support, data analysis, data interpretation, and revision of essential intellectual content of the manuscript.

Myalyuk P.A. – study concept, methodological support, data analysis, and data interpretation.

Chebykin R.N. – methodological support, data analysis, and data interpretation.

Minasyan V.N. – methodological support, data analysis, and data interpretation.

Lazarkov P.V. – methodological support, data analysis, and data interpretation.

Sinelnikov Yu.S. – revision of essential intellectual content and final approval of the manuscript for publication.

Сведения об авторах

Марченко Андрей Викторович, д-р мед. наук, заместитель главного врача, сердечно-сосудистый хирург, кардиохирургическое отделение № 2, Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии имени С.Г. Суханова Министерства здравоохранения Российской Федерации; доцент, Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0003-3310-2110.

E-mail: mammaria@mail.ru.

Вронский Алексей Сергеевич, сердечно-сосудистый хирург, кардиохирургическое отделение № 2, Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии имени С.Г. Суханова Министерства здравоохранения Российской Федерации; аспирант, Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0002-0465-8964.

E-mail: ASVronskiy@gmail.com.

Мялюк Павел Анатольевич, канд. мед. наук, сердечно-сосудистый хирург, кардиохирургическое отделение № 2, Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии имени С.Г. Суханова Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0002-8343-2129.

E-mail: Mmk@mail.ru.

Чебыкин Роман Николаевич, ординатор по специальности «сердечно-сосудистая хирургия», Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0002-7837-0613.

E-mail: chebykinroman@list.ru.

Минасян Виктор Нверович, сердечно-сосудистый хирург, кардиохирургическое отделение № 1, Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии имени С.Г. Суханова Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0001-6554-4998.

E-mail: mdminasyan@mail.ru.

Information about the authors

Andrei V. Marchenko, Dr. Sci. (Med.), Deputy Chief Physician, Cardiovascular Surgeon, Cardiac Surgery Department No. 2, Federal Center for Cardiovascular Surgery named after S.G. Sukhanov; Associate Professor, Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner. ORCID 0000-0003-3310-2110.

E-mail: mammaria@mail.ru.

Alexei S. Vronskiy, Cardiovascular Surgeon, Cardiac Surgery Department No. 2, Federal Center for Cardiovascular Surgery named after S.G. Sukhanov; Postgraduate Student, Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner. ORCID 0000-0002-0465-8964.

E-mail: ASVronskiy@gmail.com.

Pavel A. Myalyuk, Cand. Sci. (Med.), Cardiovascular Surgeon, Cardiac Surgery Department No. 2, Federal Center for Cardiovascular Surgery named after S.G. Sukhanov. ORCID 0000-0002-8343-2129.

E-mail: Mmk@mail.ru.

Roman N. Chebykin, Resident in Cardiovascular Surgery, Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner. ORCID 0000-0002-7837-0613.

E-mail: chebykinroman@list.ru.

Viktor N. Minasyan, Cardiovascular Surgeon, Cardiac Surgery Department No. 1, Federal Center for Cardiovascular Surgery named after S.G. Sukhanov. ORCID 0000-0001-6554-4998.

E-mail: mdminasyan@mail.ru.

Petr V. Lazarkov, Cardiovascular Surgeon, Cardiac Surgery Department No. 4, Federal Center for Cardiovascular Surgery named after S.G. Sukhanov; Postgraduate Student, Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner. ORCID 0000-0001-7165-9134.

E-mail: petr08@mail.ru.

Лазарьков Петр Владимирович, сердечно-сосудистый хирург, кардиохирургическое отделение № 4, Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии имени С.Г. Суханова Министерства здравоохранения Российской Федерации; аспирант, Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0001-7165-9134.

E-mail: petr08@mail.ru.

Синельников Юрий Семенович, д-р мед. наук, главный врач, сердечно-сосудистый хирург, кардиохирургическое отделение № 4, Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии имени С.Г. Суханова Министерства здравоохранения Российской Федерации; доцент, Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0002-6819-2980.

E-mail: fccvs@permheart.ru.

 **Вронский Алексей Сергеевич**, e-mail: ASVronskiy@gmail.com.

Yuriy S. Sinelnikov, Dr. Sci. (Med.), Chief Physician, Cardiovascular Surgeon, Cardiac Surgery Department No. 4, Federal Center for Cardiovascular Surgery named after S.G. Sukhanov; Associate Professor, Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner. ORCID 0000-0002-6819-2980.

E-mail: fccvs@permheart.ru.

 **Alexei S. Vronskiy**, e-mail: ASVronskiy@gmail.com.

Received September 09, 2021

Поступила 06.09.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-120-124>
УДК 616.132.1-089:616.1-78

Основные аспекты искусственного кровообращения при операциях на дуге аорты

И.В. Пономаренко¹, Д.С. Панфилов^{1, 2}, Э.Л. Сондуев¹, Б.Н. Козлов^{1, 2}

¹ Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634012, Российская Федерация, Томск, ул. Киевская, 111а

² Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050, Российская Федерация, Томск, Московский тракт, 2

Аннотация

В статье приведен собственный опыт органопroteкции при операциях на грудной аорте в условиях циркуляторного ареста (ЦА) и предложена собственная концепция перфузионной защиты органов при операциях по поводу расслоения и аневризм грудной аорты.

Ключевые слова:	грудная аорта, перфузия, циркуляторный арест.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.
Соответствие принципам этики:	информированное согласие получено от каждого пациента. Исследование одобрено этическим комитетом Научно-исследовательского института кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (протокол № 167 от 14.02.2019 г.).
Для цитирования:	Пономаренко И.В., Панфилов Д.С., Сондуев Э.Л., Козлов Б.Н. Основные аспекты искусственного кровообращения при операциях на дуге аорты. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2021;36(4):120–124. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-120-124 .

The main issues of cardiopulmonary bypass in aortic arch surgery

Igor V. Ponomarenko^{1, 2}, Dmitriy S. Panfilov¹, Erdeni L. Sonduev¹, Boris N. Kozlov^{1, 2}

¹ Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russian Federation

² Siberian State Medical University, 2, Moskovsky tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

Abstract

The article presents our own experience of organoprotection during thoracic aortic surgery under circulatory arrest and offers our own concept for perfusion of organs during surgical interventions for aortic dissection and thoracic aortic aneurysms.

Keywords:	thoracic aorta, perfusion, circulatory arrest.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	no author has a financial or property interest in any material or method mentioned.
Adherence to ethical standards:	informed consent was obtained from all patients. The study was approved by the Ethics Committee of Cardiology Research Institute of Tomsk NRMС (protocol No. 167 from 14.02.2019).

✉ Сондуев Эрдэни Леонидович, e-mail: erdeniooo@mail.ru.

For citation:

Ponomarenko I.V., Panfilov D.S., Sonduev E.L., Kozlov B.N. The main issues of cardiopulmonary bypass in aortic arch surgery. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2021;36(4):120–124. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-120-124>.

Введение

Реконструктивные вмешательства на дуге аорты представляют собой один из самых сложных разделов сердечно-сосудистой хирургии. Это касается не только хирургической техники и тактики, объема вмешательства, но и проведения искусственного кровообращения (ИК), при котором важную роль играют конфигурация контура, температурный режим, методы оценки адекватности перфузии.

Критериальным стандартом хирургии дуги аорты сегодня считается сочетание антеградной селективной перфузии головного мозга с оптимальной для длительности вмешательства температурой циркуляторного ареста (ЦА) [1, 2].

Значительный опыт выполненных хирургических вмешательств на дуге аорты с использованием ЦА по поводу аневризм и расслоений аорты (292 операции) позволил разработать собственную концепцию проведения ИК, которая представлена в данном сообщении.

Перфузия головного мозга

Для защиты головного мозга во время ЦА мы применяем унилатеральную антеградную перфузию головного мозга (уАПГМ) [3] со следующими характеристиками: скорость потока крови составляет 700–1000 мл/мин (с учетом перфузии правой руки), перфузия проводится под контролем давления (50–70 мм рт. ст.). Адекватность уАПГМ оценивается посредством инфракрасной спектроскопии (near-infrared spectroscopy – NIRS), данные которого позволяют мониторировать насыщение кислородом гемоглобина в оттекающей от мозга крови.

Для артериального возврата мы используем безымянную артерию. Кровь в пациента подается через (основную) линию, фиксированную в синтетическом протезе, анастомозированном с брахиоцефальным стволом (БЦС) по типу «конец в бок» (рис. 1).



Рис. 1. Схематическое изображение (а) и интраоперационная фотография (b) проведения перфузии через брахиоцефальный ствол
Fig. 1. Schematic representation (a) and intraoperative photograph (b) of the perfusion performed through the innominate artery

Известно, что прямая канюляция артерии увеличивает риск атероземболии вследствие манипуляций с атеросклеротически измененной стенкой сосуда [4]. Таким образом, канюляция БЦС через протез позволяет сократить до минимума эмболические осложнения, обусловленные непосредственной канюляцией БЦС. К основной артериальной линии после фильтра всякий раз присоединяется дополнительная заполненная магистраль. Значимое снижение венозной оксигенации левой гемисферы головного мозга в ходе уАПГМ, отмеченной по данным NIRS (более 20% от исходных значений), является показанием к конверсии на билатеральный вариант церебральной перфузии. В этом случае дополнительную артериальную линию используют для перфузии левого полушария через левую общую сонную артерию. Левая подключичная артерия всегда пережимается во избежание синдрома «обкрадывания».

Многими авторами обоснованно признается возможность билатеральной перфузии головного мозга (БПГМ) для его защиты в качестве альтернативы уАПГМ. Однако БПГМ требует канюляции не одного, а двух–трех сосудов с соответственным возрастанием рисков неврологических катастроф. В пользу выбранной нами тактики с использованием унилатеральной церебральной перфузии свидетельствуют данные крупного метаанализа (6788 пациентов), проведенного E. Angeloni et al. Авторы опубликовали сопоставимые показатели летальности (7,6 против 9,8%, $p = 0,19$) и неврологических осложнений (5,8 против 6,9%, $p = 0,53$) в случаях применения уАПГМ и БПГМ соответственно. Высказано мнение о том, что развитие неврологического дефицита при билатеральной церебральной перфузии обусловлено дополнительными манипуляциями на брахиоцефальных сосудах, что увеличивает риск эмболизации артерий головного мозга.

При этом при унилатеральной перфузии высокоскоростной ретроградный поток из супрааортальных сосудов, вероятно, минимизирует риск эмболических осложнений [5]. Таким образом, согласно данным литературы, в ряде случаев уАПГМ эквивалентна БПГМ по клиническим результатам, но более проста в техническом исполнении.

Частота постоянных неврологических осложнений по ишемическому типу у оперированных нами пациентов с использованием уАПГМ составила 2 (0,68%) случая, а преходящих неврологических нарушений, проявившихся делирием, агитацией, дезориентацией пациентов – 13 (4,5%) случаев.

Дистальная перфузия

Концепцию дистальной перфузии (ДП) через бедренную артерию использовал еще в 1957 г. М.Е. DeBakey [6]. В 2006 г. A. Della Corte et al. показали, что ДП посредством внутрисосудистой канюляции нисходящей грудной аорты снижает количество респираторных и почечных осложнений, укорачивает длительность искусственной вентиляции легких, нахождение в палате интенсивной терапии и срок госпитализации [7].

В нашей клинике до последнего времени ДП проводили через дополнительную линию, предназначенную для билатеральной перфузии головы (если линия не использовалась по назначению), сразу после выполнения дистального анастомоза. В ходе первых операций с ДП (33 случая) для установки дополнительной артериальной линии канюлировали протез аорты проксимальнее зоны дистального анастомоза на 2 см (рис. 2).

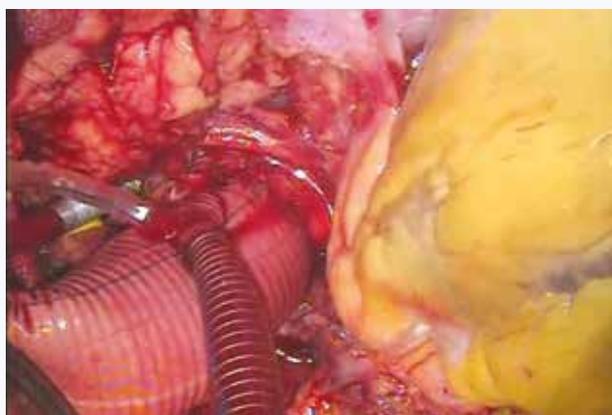


Рис. 2. Способ установки дополнительной артериальной линии путем канюлирования протеза
Fig. 2. An approach to the placement of an additional arterial line by cannulating the prosthesis

Поскольку при этом нарушалась целостность протеза, что впоследствии требовало дополнительных усилий по его герметизации, было решено перейти к использованию одноступенчатой прямой венозной канюли с раздуваемой манжетой (15 случаев), рисунок 3. Такой подход позволяет избежать дополнительных манипуляций с протезом аорты, но в определенной мере ухудшает экспозицию операционного поля.

При использовании гибридного протеза аорты с дополнительной браншей ДП осуществляли через нее (10 случаев), рисунок 4. Такой вариант ДП в большой степе-

ни облегчает манипуляцию в операционном поле, одновременно обеспечивая адекватную скорость перфузии нижней половины тела.

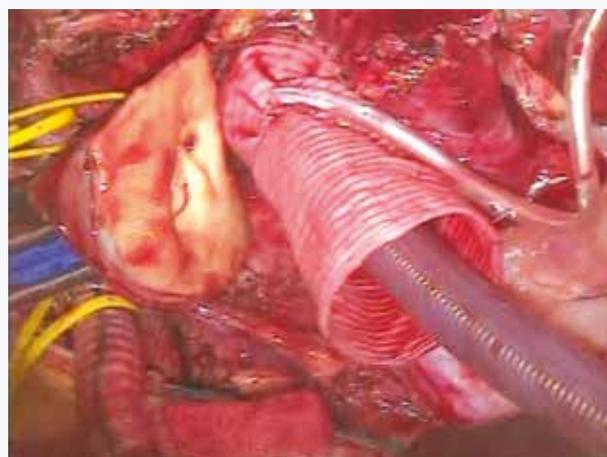


Рис. 3. Способ установки дополнительной артериальной линии с помощью прямой венозной канюли с раздуваемой манжетой
Fig. 3. An approach to the placement of an additional arterial line using a straight venous cannula with an inflated cuff



Рис. 4. Способ установки дополнительной артериальной линии в браншу протеза
Fig. 4. An approach to the placement of an additional arterial line to the branch of the prosthesis

Температурный режим

Степень охлаждения пациента перед ЦА выбирается в зависимости от вида операции («полудуга» либо «замороженный хобот слона») и, соответственно, предполагаемой длительности ЦА. После публикации Н. Kamiya et al. [8], согласно которой умеренная гипотермия имеет ряд преимуществ перед глубокой в отношении выраженности общего воспалительного ответа и гипокоагуляции, произошёл сдвиг парадигмы в сторону увеличения температурного режима до уровня 28–35 °С, что потенциально несет угрозу неадекватной защиты организма, особенно при выполнении вмешательств хирургами, не имеющими соответствующего опыта и мастерства.

При рассмотрении вопроса температурного режима логически возникает следующая дилемма: адекватная перфузия головного мозга сегодня достижима при любой температуре, в том числе при нормотермии, и с учетом отрицательных эффектов охлаждения пациента перфузия мозга нормотермической кровью оказывается наиболее адекватным подходом. Однако формирование открытого дистального анастомоза, как правило, выполняется на гипотермическом ЦА. Оригинальным выходом из данной ситуации служит использование двух контуров, отдельно для перфузии головы и остального тела. Данную концепцию с превосходными результатами применили Е.В. Россейкин и М.Е. Евдокимов в Пензе [9]. Однако это усложняет конфигурацию контуров ИК и существенно повышает стоимость операции.

Руководствуясь небольшим прогнозируемым временем ЦА при операциях «hemiarh» (15–18 мин) мы охлаждаем пациента до уровня 28–30 °С. При более объемных вмешательствах на дуге аорты – классический и «замороженный хобот слона» – время ожидаемого ЦА составляет 30–40 мин. С учетом этого обстоятельства мы

обеспечиваем уровень умеренной гипотермии в диапазоне 25–28 °С.

Управление кислотно-основным состоянием

В нашей клинике альфа-стат является принятым стандартом стратегии управления рН. В отличие от рН-стат она предотвращает «роскошную» перфузию за счет поддержания церебральной ауторегуляции [10]. Кроме того, применение альфа-стат стратегии не предусматривает подачи в оксигенатор углекислого газа, что немаловажно, поскольку не требует специальных газовых блендеров и источника CO₂.

Таким образом, используемая нами стратегия комплексной перфузионной органопroteкции при выполнении реконструктивных операций на грудной аорте, включающая уАПГМ, через брахиоцефальный ствол в сочетании с перфузией нижней половины тела на фоне умеренной гипотермии позволяет обеспечить достаточный уровень защиты органов и систем, тем самым создавая условия для сокращения послеоперационных осложнений и летальности.

Литература

1. Misfeld M., Mohr F., Etz C. Best strategy for cerebral protection in arch surgery – antegrade selective cerebral perfusion and adequate hypothermia. *Ann. Cardiothorac. Surg.* 2013;2(3):331–338. DOI: 10.3978/j.issn.2225-319X.2013.02.05.
2. Белов Ю.В., Чарчян Э.Р., Аксельрод Б.А., Гуськов Д.А., Федулова С.В., Еременко А.А. и др. Защита головного мозга и внутренних органов при реконструктивных вмешательствах на дуге аорты: особенности интраоперационной тактики и мониторинга. *Патология кровообращения и кардиохирургия.* 2016;20(4):34–44. DOI: 10.21688-1681-3472-2016-4-34-44.
3. Козлов Б.Н., Панфилов Д.С., Кузнецов М.С., Пономаренко И.В., Насрашвили Г.Г., Шипулин В.М. Антеградная унилатеральная перфузия головного мозга через брахиоцефальный ствол при операциях на дуге аорты. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2016;22(1):195–197.
4. Hagl C., Khaladj N., Karck M., Kallenbach K., Leyh R., Winterhalter M. et al. Hypothermic circulatory arrest during ascending and aortic arch surgery: The theoretical impact of different cerebral perfusion techniques and other methods of cerebral protection. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2003;24(3):371–378. DOI: 10.1016/s1010-7940(03)00337-3.
5. Angeloni E., Melina G., Refice S.K., Roscitano A., Capuano F., Comito C. et al. Unilateral versus bilateral antegrade cerebral protection

- during aortic surgery: An updated meta-analysis. *Ann. Thorac. Surg.* 2015;99(6):2024–2031. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2015.01.070.
6. De Bakey M.E., Crawford E.S., Cooley D.A., Morris G.C. Jr. Successful resection of fusiform aneurysm of aortic arch with replacement by homograft. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1957;105(6):657–664.
7. Della Corte A., Scardone M., Romano G., Amarelli C., Biondi A., De Santo L.S. et al. Aortic arch surgery: Thoraco-abdominal perfusion during antegrade cerebral perfusion may reduce postoperative morbidity. *Ann. Thorac. Surg.* 2006;81(4):1358–1364. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2005.11.062.
8. Kamiya H., Hagl C., Kropivnitskaya I., Böthig D., Kallenbach K., Khaladj N. et al. The safety of moderate hypothermic lower body circulatory arrest with selective cerebral perfusion: A propensity score analysis. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2007;133(2):501–509. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2006.09.045.
9. Россейкин Е.В., Евдокимов М.Е., Базылев В.В., Батраков П.А., Кобзев Е.Е., Гебгарт Т.В. Смена парадигмы при операциях на дуге аорты – «теплая голова – холодное тело». *Патология кровообращения и кардиохирургия.* 2016;20(4):26–33. DOI: 10.21688-1681-3472-2016-4-26-33.
10. Halstead J., Spielvogel D., Meier D., Weisz D., Bodian C., Zhang N. et al. Optimal pH strategy for selective cerebral perfusion. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2005;28(2):266–273. DOI: 10.1016/j.ejcts.2005.04.029.

References

1. Misfeld M., Mohr F., Etz C. Best strategy for cerebral protection in arch surgery – antegrade selective cerebral perfusion and adequate hypothermia. *Ann. Cardiothorac. Surg.* 2013;2(3):331–338. DOI: 10.3978/j.issn.2225-319X.2013.02.05.
2. Belov Yu.V., Charchyan E.R., Akselrod B.A., Guskov D.A., Fedulova S.V., Eremenko A.A. et al. Cerebral and visceral organ protection during aortic arch surgery. Intraoperative tactics and monitoring details. *Circulation Pathology and Cardiac Surgery.* 2016;20(4):34–44 (In Russ.). DOI: 10.21688-1681-3472-2016-4-34-44.
3. Kozlov B.N., Panfilov D.S., Kuznetsov M.S., Ponomarenko I.V., Nasrashvili G.G., Shipulin V.M. Antegrade unilateral perfusion of the brain through the brachiocephalic trunk in operations on the aortic arch. *Angiology and Vascular Surgery.* 2016;22(1):195–197 (In Russ.).
4. Hagl C., Khaladj N., Karck M., Kallenbach K., Leyh R., Winterhalter M. et al. Hypothermic circulatory arrest during ascending and aortic arch surgery: The theoretical impact of different cerebral perfusion techniques and other methods of cerebral protection. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2003;24(3):371–378. DOI: 10.1016/s1010-7940(03)00337-3.
5. Angeloni E., Melina G., Refice S.K., Roscitano A., Capuano F., Comito C. et al. Unilateral versus bilateral antegrade cerebral protection

- during aortic surgery: An updated meta-analysis. *Ann. Thorac. Surg.* 2015;99(6):2024–2031. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2015.01.070.
6. De Bakey M.E., Crawford E.S., Cooley D.A., Morris G.C. Jr. Successful resection of fusiform aneurysm of aortic arch with replacement by homograft. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1957;105(6):657–664.
7. Della Corte A., Scardone M., Romano G., Amarelli C., Biondi A., De Santo L.S. et al. Aortic arch surgery: Thoraco-abdominal perfusion during antegrade cerebral perfusion may reduce postoperative morbidity. *Ann. Thorac. Surg.* 2006;81(4):1358–1364. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2005.11.062.
8. Kamiya H., Hagl C., Kropivnitskaya I., Böthig D., Kallenbach K., Khaladj N. et al. The safety of moderate hypothermic lower body circulatory arrest with selective cerebral perfusion: A propensity score analysis. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2007;133(2):501–509. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2006.09.045.
9. Rosseykin E.V., Evdokimov M.E., Bazylev V.V., Batrakov P.A., Kobzev E.E., Gebgart T.V. Change of paradigm in the aortic arch reconstruction – “warm head – cool body”. *Circulation Pathology and Cardiac Surgery.* 2016;20(4):26–33 (In Russ.). DOI: 10.21688-1681-3472-2016-4-26-33
10. Halstead J., Spielvogel D., Meier D., Weisz D., Bodian C., Zhang N. et al. Optimal pH strategy for selective cerebral perfusion. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2005;28(2):266–273. DOI: 10.1016/j.ejcts.2005.04.029.

Информация о вкладе авторов

Пономаренко И.В. – разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания, написание черновика рукописи и участие в переработке статьи, окончательное утверждение рукописи для публикации.

Панфилов Д.С. – разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания, написание черновика рукописи и участие в переработке статьи, окончательное утверждение рукописи для публикации.

Сондуев Э.Л. – проверка критически важного интеллектуального содержания, написание черновика рукописи и участие в переработке статьи, подготовка рисунков.

Козлов Б.Н. – разработка концепции и дизайна, общее руководство, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации.

Сведения об авторах

Пономаренко Игорь Валерьевич, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0003-2494-0104.

E-mail: piv@cardio-tomsk.ru.

Панфилов Дмитрий Сергеевич, д-р мед. наук, научный сотрудник, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; ассистент кафедры госпитальной хирургии с циклом сердечно-сосудистой хирургии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0003-2201-350X.

E-mail: pand2006@yandex.ru.

Сондуев Эрдэни Леонидович, аспирант, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-0835-022X.

E-mail: erdeniooo@mail.ru.

Козлов Борис Николаевич, д-р мед. наук, заведующий отделением сердечно-сосудистой хирургии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; профессор кафедры госпитальной хирургии с циклом сердечно-сосудистой хирургии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0002-0217-7737.

E-mail: bnkozlov@yandex.ru.

 **Сондуев Эрдэни Леонидович**, e-mail: erdeniooo@mail.ru.

Information on author contributions

Ponomarenko I.V. – study concept and design, revision of critical intellectual content, writing the draft of the manuscript, contribution to manuscript revision, and final approval of the manuscript for publication.

Panfilov D.S. – study concept and design, revision of critical intellectual content, writing the draft of the manuscript, contribution to manuscript revision, and final approval of the manuscript for publication.

Sonduiev E.L. – revision of critical intellectual content, writing the draft of the manuscript, contribution to manuscript revision, and drawing the figures.

Kozlov B.N. – study concept and design, general research supervision, revision of critical intellectual content, and final approval of the manuscript for publication.

Information about the authors

Igor V. Ponomarenko, Cand. Sci. (Med.), Senior Research Scientist, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0003-2201-350X.

E-mail: piv@cardio-tomsk.ru.

Dmitriy S. Panfilov, Dr. Sci. (Med.), Cardiovascular Surgeon, Department of Cardiovascular Surgery, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Assistant Professor, Department of Hospital Surgery with the Course of Cardiovascular Surgery, Siberian State Medical University. ORCID 0000-0003-2201-350X.

E-mail: pand2006@yandex.ru.

Erdeni L. Sonduiev, Postgraduate Student, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-0835-022X.

E-mail: erdeniooo@mail.ru.

Boris N. Kozlov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Cardiovascular Surgery, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Hospital Surgery with the Course of Cardiovascular Surgery, Siberian State Medical University. ORCID 0000-0002-0217-7737.

E-mail: bnkozlov@yandex.ru.

 **Erdeni L. Sonduiev**, e-mail: erdeniooo@mail.ru.

Received January 12, 2021

Поступила 12.01.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-125-131>
УДК 616-056.7:575.174.015.3

Ассоциации rs4244285 в гене *CYP2C19* с многофакторными заболеваниями

Н.П. Бабушкина¹, А.Е. Постригань¹, А.Н. Кучер¹, В.М. Шипулин²

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634050, Российская Федерация, Томск, наб. реки Ушайки, 10

² Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634012, Российская Федерация, Томск, ул. Киевская, 111а

Аннотация

В современных популяциях система биотрансформации работает в условиях повышенной нагрузки, так как обеспечивает метаболизм не только широкого спектра эндогенных субстратов, но и различных ксенобиотиков, что может способствовать развитию заболеваний различных систем органов, а в ряде случаев приводит к формированию коморбидных состояний, при которых наблюдается усиленная работа системы метаболизма ксенобиотиков. В связи с этим большой интерес вызывает изучение вовлеченности полиморфизма генов метаболизма ксенобиотиков в формирование не только изолированной патологии, но и различных коморбидных состояний.

Цель исследования: изучение вовлеченности полиморфного варианта rs4244285 гена *CYP2C19*, приводящего к синтезу нефункционального белка, в развитие как изолированной патологии, так и сочетанных заболеваний.

Материал и методы. Изучена распространенность аллелей и генотипов rs4244285 в гене *CYP2C19* в двух группах больных с коморбидными состояниями: ишемическая болезнь сердца с артериальной гипертензией (ИБС_АГ, $n = 133$); бронхиальная астма с гипертензией (БА_АГ, $n = 178$), в группе с изолированной патологией (БА, $n = 135$) и в популяционной выборке г. Томска ($n = 377$). Ассоциативный анализ проведен как в отношении исходных трех групп больных (ИБС, БА, БА_АГ), так и подгрупп, дифференцированных на основании наличия/отсутствия диагноза «артериальная гипертензия», сформированных с учетом анализа сопутствующих патологий как в выборках больных, так и в популяционном контроле.

Результаты и обсуждение. Показан предрасполагающий, по сравнению с изолированной БА, эффект генотипа GA для развития сочетания БА с АГ (OR = 1,94; $p = 0,038$) и для сочетания ИБС с АГ (OR = 2,26; $p = 0,009$). Частота генотипа AA в 3,98 раза реже регистрировались в группе индивидов с АГ, чем с нормотензией, однако из-за низкой встречаемости данного генотипа различия не достигают уровня статистической значимости.

Заключение. Полученные результаты могут быть объяснены участием *CYP2C19*-метаболитов арахидоновой кислоты в регуляции сосудистого тонуса, однако представленные данные требуют дальнейшего изучения.

Ключевые слова:	ассоциативный анализ, генетика многофакторных заболеваний, коморбидные и изолированные состояния, цитохромы.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	работа проведена в рамках выполнения Государственного задания Министерства науки и высшего образования № 075-00603-19-00.
Для цитирования:	Бабушкина Н.П., Постригань А.Е., Кучер А.Н., Шипулин В.М. Ассоциации rs4244285 в гене <i>CYP2C19</i> с многофакторными заболеваниями. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2021;36(4):125–131. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-125-131 .

Associations of rs4244285 in the *CYP2C19* gene with multifactorial diseases

Nadezhda P. Babushkina¹, Anna E. Postrigan¹, Aksana N. Kucher¹,
Vladimir M. Shipulin²

¹ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 10, Nab. Ushaiki, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russian Federation

Abstract

Xenobiotic metabolism system in the current populations is involved in the biotransformation of a wide range of endogenous substrates and various xenobiotics, which can contribute to developing the diseases of various organ systems, and, in some cases, comorbid conditions where increased biotransformation system activity is observed. In this regard, it is of great interest to study the involvement of polymorphism in xenobiotic metabolism genes in the development of both isolated pathology and various comorbid conditions.

Aim. The goal of study was to investigate the involvement of rs4244285 in the *CYP2C19* gene in the development of isolated pathology and comorbidities.

Material and Methods. The frequencies of alleles and genotypes were studied in groups of patients with comorbid conditions including groups of coronary artery disease (CAD) with hypertension (HTN) (CAD_HTN, $n = 133$) and bronchial asthma (BA) with HTN (BA_HTN, $n = 178$), in group of isolated BA ($n = 135$), and in the population sample of the city of Tomsk ($n = 377$). Association analysis covered three initial groups of patients (CAD, BA, and BA_HTN) and subgroups assigned based on the presence of absence of HTN diagnosis taking into account comorbid conditions both in patient samples and in population control.

Results and Discussion. The study demonstrated the predisposing effect of GA genotype on the development of comorbid BA and HTN (OR = 1.94, $p = 0.038$) and comorbid CAD and HTN (OR = 2.26, $p = 0.009$) compared to isolated BA. The AA genotype was observed 3.98 times less often in HTN patients than in normotensive individuals. However, the differences did not reach the level of statistical significance due to the low occurrence of this genotype.

Conclusion. The obtained results may be explained by the involvement of *CYP2C19*-metabolites of arachidonic acid in the regulation of vascular tone, which requires further study.

Keywords:	association analysis, genetics of multifactorial diseases, comorbid and isolated states, cytochromes.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	the work was carried out in a framework of the State Assignment of the Ministry of Science and Higher Education No. 075-00603-19-00.
For citation:	Babushkina N.P., Postrigan A.E., Kucher A.N., Shipulin V.M. Associations of rs4244285 in the <i>CYP2C19</i> gene with multifactorial diseases. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2021;36(4):125–131. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-125-131 .

Введение

Современные популяции человека испытывают сильные антропогенные нагрузки и все чаще сталкиваются с «эволюционно незнакомыми» веществами, в результате система биотрансформации ксенобиотиков вынуждена работать с большим напряжением. В то же время на относящиеся к этой системе ферменты эволюционно возложена совершенно иная задача, а именно участие в поддержании гомеостаза в организме посредством метаболизма эндогенных веществ (липидов, гормонов, витаминов и т. д.). Насколько успешно будет проходить биотрансформация как эндогенных, так и экзогенных веществ зависит, с одной стороны, от структурно-функцио-

нальных особенностей ферментов системы биотрансформации (определяемых полиморфизмом кодирующих их генов), с другой, – от испытываемой организмом нагрузки вредными экзогенными факторами. При наличии дефектов в работе ферментов может повышаться риск возникновения патологических состояний как вследствие экзогенных воздействий, так и в результате сбоев в функционировании метаболических путей.

В системе метаболизма ксенобиотиков особая роль отводится обширной группе ключевых ферментов первой фазы биотрансформации ксенобиотиков – семейству цитохромов P450. Это монооксигеназы с низкой субстратной специфичностью, обуславливающей их возможность окислять различные вещества. Цитохромы P-450 игра-

ют важную роль в биотрансформации лекарственных средств и других ксенобиотиков, но их первичная функция заключается в метаболизме желчных кислот, ненасыщенных жирных кислот, синтезе глюкокортикостероидных гормонов, холестерина, эйказаноидов и др. [1].

CYP2C19 является одной из семи изоформ P450, метаболизирующей лекарственные препараты [2]. Для цитохромов P450 характерно наличие генетически обусловленных форм с различной каталитической активностью: «медленные» (ферментативная активность снижена или отсутствует), «активные» (нормально функционирующий фермент), «быстрые» (повышенная ферментативная активность) метаболизаторы. Основной генетический дефект CYP2C19, исторически впервые обнаруженный у «медленных» метаболизаторов (S)-мефенитоина – это точечная замена G на A в пятом экзоне в положении 681 гена CYP2C19 (CYP2C19*2, rs4244285), приводящая к появлению аберрантного сайта сплайсинга и, как следствие, к синтезу укороченного нефункционального белка [3]. Позже снижение активности у гомозигот по вариантному аллелю rs4244285 было подтверждено в многочисленных исследованиях [4]. В настоящее время известно, что в результате синтеза укороченного белка кроме (S)-мефенитоина плохо метаболизируются и другие антиэпилептические и антиконвульсивные средства, а также антидепрессанты, ингибиторы протонной помпы, антигельминтные препараты, диклофенак, индометацин, прогунил, варфарин, клопидогрел, пропранолол, циклофосфамид, нелфинавир, прогестерон, тенипозид, вориконозол и ряд других лекарственных препаратов [2]. Несмотря на то, что описан ряд нуклеотидных замен, приводящих к формированию фенотипа «медленных метаболизаторов» [2; <https://omim.org>; <https://www.uniprot.org>], наиболее патогенетически значимым является именно rs4244285 в связи с высоким уровнем полиморфизма: среднепопуляционная частота неблагоприятного редкого аллеля A rs4244285 составляет 22%, варьируя от 6% у жителей Перу, до 41% у тамильцев (Шри-Ланка) [<http://uswest.ensembl.org>].

В связи с тем, что цитохромы участвуют в метаболизме лекарственных препаратов, наибольший интерес вызывает изучение вовлеченности полиморфизма генов цитохромов P450 в целом, и rs4244285 в частности, в формировании не изолированной патологии, а различных коморбидных состояний. Сочетание нескольких патологий у пациента предполагает наличие более тяжелой лекарственной нагрузки на организм, и в зависимости от того, насколько хорошо справляется с такой нагрузкой система биотрансформации, происходит либо компенсация имеющихся состояний, либо развиваются побочные эффекты вплоть до появления новых сопутствующих заболеваний. В развитии коморбидных состояний далеко не всегда можно выделить первичную патологию; еще сложнее сказать, является ли она причиной развития сочетанных

болезней, или же имеется фактор, способствующий возникновению сразу нескольких патологических состояний.

В связи с вышесказанным представляется интересным изучение вовлеченности полиморфного варианта rs4244285 гена CYP2C19 в развитие изолированной и сочетанной форм патологии.

Материал и методы

Материалом для исследования послужила ДНК из «Биобанка населения Северной Евразии» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ. Включенный в исследование материал собирался с 2001 по 2018 г. при участии сотрудников медицинских учреждений г. Томска, диагнозы ставились на основании общепринятых критериев. В исследование включены русские жители г. Томска (всего 823 человек), каждый из которых подписал информированное согласие на проведение исследования.

Было сформировано 4 выборки:

1. Группа больных ишемической болезнью сердца (ИБС) в сочетании с артериальной гипертензией (АГ) и некоторыми другими заболеваниями (далее – группа «ИБС_АГ», $n = 133$ индивида, средний возраст = $55,3 \pm 7,7$ года).

2. Группа больных бронхиальной астмой (БА) смешанного происхождения (форма, в патогенезе которой задействованы как экзогенные, так и эндогенные факторы, код по МКБ–10 J45.8) в сочетании с АГ (и некоторыми другими заболеваниями, «БА_АГ», $n = 178$, $61,8 \pm 8,5$).

3. Больные с изолированной БА (аллергическая БА, код J45.0, «БА», $n = 135$, $39,3 \pm 12,3$).

4. Популяционная выборка («К», $n = 377$, $47,0 \pm 9,4$).

Генотипирование осуществляли методом ПЦР-ПДРФ-анализа (полимеразная цепная реакция – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов). Амплификацию проводили при $47\text{ }^\circ\text{C}$ (F: $5\text{'-AGAGCTTGGCATATTGTA-3'}$; R: $5\text{'-GAATCACAATAACGCAAG-3'}$). Полученный продукт длиной 299 п.о. подвергали гидролизу эндонуклеазой рестрикции MspI (ООО «СибЭнзим»). В результате при наличии аллеля G получали фрагмент длиной 299 п.о., аллеля A – 193 п.о. и 106 п.о.

Статистическую обработку данных проводили с использованием общепринятых методов (χ^2 , OR с 95% CI, оценка гетерогенности частот аллелей и генотипов осуществлялась методом χ^2); статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты

Проведено изучение частот аллелей и генотипов нуклеотидной замены G681A (rs4244285) в гене CYP2C19, приводящей к синтезу нефункционального фермента, в двух группах больных с коморбидными состояниями (ИБС с АГ, БА с АГ), в группе с изолированной патологией (БА) и в популяционной выборке г. Томска (таблица).

Таблица. Распределение частот аллелей и генотипов rs4244285 в гене CYP2C19 в изученных группах, %

Table. Frequencies of alleles and genotypes of rs4244285 in the CYP2C19 gene in study groups, %

Группы Groups	n	Генотипы Genotypes			Аллели Alleles		p (PXB) (HWE)
		GG	GA	AA	G	A	
Аллергическая БА Allergic bronchial asthma	135	85,19	14,07	0,74	92,22	7,78	0,826
Популяционная выборка г. Томска Population sample of the city of Tomsk	377	78,25	20,95	0,80	88,73	11,27	0,356

Окончание табл.
End of table

Группы Groups	n	Генотипы Genotypes			Аллели Alleles		p (PXB) (HWE)
		GG	GA	AA	G	A	
ИБС с АГ Coronary artery disease + hypertension	134	73,88	26,12	0,00	86,94	13,06	0,082
БА с АГ Bronchial asthma + hypertension	178	75,28	24,16	0,56	87,36	12,64	0,211
*Сравнение групп / Intergroup comparison							
БА vs. БА_АГ BA vs. BA_HTN	GG: OR = 1,89 (CI: 1,01-3,53), $\chi^2 = 4,04$; p = 0,044						
БА_АГ vs. БА BA_HTN vs. BA	AG: OR = 1,94 (CI: 1,03-3,68), $\chi^2 = 4,30$; p = 0,038						
ИБС_АГ vs. БА CAD_HTN vs. BA	AG: OR = 2,26 (CI: 1,21-4,27), $\chi^2 = 6,81$; p = 0,009						

Примечание: n – численность выборки, p (PXB) – достигнутый уровень статистической значимости при сравнении наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому при равновесии Харди – Вайнберга, * – приведены только статистически значимые различия, где OR – отношение шансов, CI – 95%-й доверительный интервал, χ^2 – значение критерия χ^2 , p – достигнутый уровень значимости.

Note. n – sample size; p (HWE) – the achieved level of statistical significance when comparing the observed genotype distribution expected at Hardy-Weinberg equilibrium; * – only statistically significant differences are shown, where OR is the odds ratio, CI – 95% confidence interval, χ^2 – value of the χ^2 criterion, p – achieved level of significance.

Во всех изученных выборках наблюдалось соответствие наблюдаемого распределения генотипов, ожидаемому при равновесии Харди – Вайнберга.

Распределение аллелей и генотипов по rs4244285 ни в одной из исследованных групп больных статистически значимо не отличалось от такового в популяционной выборке. В то же время наблюдались существенные различия в распределении частот аллелей и генотипов между группами больных. При этом частота генотипа GG в группе пациентов с аллергической БА была выше, а в выборках пациентов с ИБС и БА в сочетании с АГ – ниже, чем в популяционной выборке (см. таблицу). При сравнении частот аллелей между двумя группами больных с БА различия были статистически не значимы (p = 0,07), тем не менее можно говорить, что гомозиготный по частому аллелю генотип статистически значимо чаще (OR = 1,89 (CI: 1,01–3,53), $\chi^2 = 4,04$; p = 0,044) встречается в группе с аллергической БА. Гетерозиготный генотип, напротив, чаще встречается в группах больных с коморбидными состояниями: OR = 1,94 (CI: 1,03–3,68), $\chi^2 = 4,30$; p = 0,038 (при сравнении группы пациентов с БА и АГ и выборки пациентов с аллергической БА) и OR = 2,26 (CI: 1,21–4,27), $\chi^2 = 6,81$; p = 0,009 (при сравнении выборок пациентов с ИБС и АГ и группы пациентов с аллергической БА).

Таким образом, аллель G в гомозиготном состоянии в большей степени способствует развитию аллергической БА, а в гетерозиготном состоянии предрасполагает к обоим изученным коморбидным состояниям. При этом значения частот как аллелей, так и генотипов в популяционной выборке занимают среднее положение, будучи немного ближе к таковым в выборках с коморбидными патологиями (с таким общим клиническим фенотипом, как АГ) (см. таблицу). Таким образом, встает вопрос: что мы зарегистрировали – предрасполагающий эффект аллеля G (в гомозиготном состоянии) к развитию БА или же предрасполагающий эффект аллеля A (в гетерозиготном состоянии) к развитию АГ?

По критериям формирования выборок одним из фенотипов, общих для двух групп больных, была БА (группы БА и БА_АГ), вторым – АГ (группы ИБС_АГ и БА_АГ). В

популяционной выборке, в отличие от здорового контроля, есть определенная доля индивидов с различными заболеваниями, количество которых определяется распространенностью данных патологий в анализируемой популяции. Интересно, что исключение из популяционной выборки индивидов с АГ, БА и аллергией (подгруппа «К1», n = 117) меняет частоты аллелей всего на 1%, частоты генотипов – в пределах 1,2%. Анализ информации о сопутствующих заболеваниях, доступной для анализируемых групп, позволил подразделить всех включенных в исследование индивидов на пары подгрупп в зависимости от наличия или отсутствия заболеваний: «есть бронхиальная астма» – «нет бронхиальной астмы» и «есть гипертензия» – «нет гипертензии».

Подгруппы, дифференцированные по наличию/отсутствию диагноза «бронхиальная астма» (рис. 1), оказались близки между собой как по частотам аллелей (различия порядка 1%), так и по частотам генотипов (различия менее 4%). В то же время между подгруппами, сформированными в зависимости от наличия/отсутствия диагноза «артериальная гипертензия», различия несколько больше и составляют по частотам аллелей 2,3%, по частотам генотипов доходят до 5,9%. При этом различия частот генотипа AG в группах, дифференцированных по наличию/отсутствию АГ, достигают пограничных значений (уровень значимости без поправки Йейтса составляет 0,049; с введением поправки – 0,06). Сравнимые группы, выделенные по наличию/отсутствию АГ, достаточно гетерогенны, так как «собраны» искусственно из выборок пациентов с различными заболеваниями. Однако полученные нами результаты сравнения значительно более гомогенных групп, унифицированных по одному из фенотипов (БА) и дифференцированных по другому (АГ) (см. таблицу), подтверждают наличие более высокой частоты гетерозиготного генотипа у групп с АГ по сравнению с выборкой без этого диагноза, и этот результат статистически значим. Соответственно, оба подхода к выделению групп с АГ приводят к одному результату, а именно: гетерозиготный генотип rs4244285 в гене CYP2C19 дифференцирует группу с АГ в составе коморбидности.

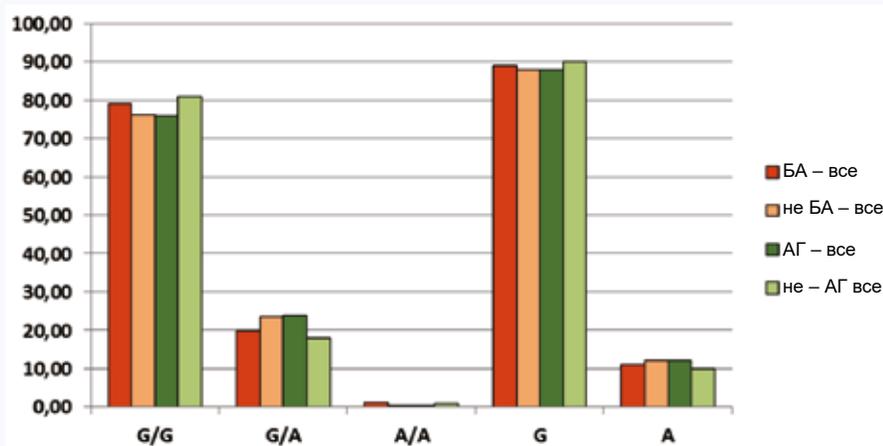


Рис. 1. Диаграмма частот аллелей и генотипов rs4244285 в гене *CYP2C19* в подгруппах, дифференцированных по фенотипам «бронхиальная астма» и «артериальная гипертензия»

Fig. 1. Frequency diagram of alleles and genotypes rs4244285 in the *CYP2C19* gene in subgroups assigned based on the phenotypes of “bronchial asthma” and “hypertension”

Вовлеченность полиморфных вариантов генов изоформ цитохрома P450 в развитие АГ изучается довольно активно. Наиболее часто в этой связи для анализа привлекался полиморфизм гена *CYP2J2* [5, 6], а также *CYP2C8* [5, 7], *CYP2C9* [7]. Публикаций, посвященных изучению ассоциаций *CYP2C19* с АГ, немного и они противоречивы. В двух популяциях (в корейской и китайской) выявлены ассоциации АГ с другими маркерами (rs4986893 и rs10509676) в гене *CYP2C19* [8, 9]. В большом метаанализе, включающем более 146 тыс. индивидов (американцы европейского происхождения, афроамериканцы и латиноамериканцы), установлена ассоциация интронного варианта в гене *CYP2C19* (rs4494250) с уровнем артериального давления [10]. Корейскими учеными показано преобладание (на 2,31% чаще) редкого аллеля А rs4244285 у больных с гипертензией [9]. В популяции русских центральной России зарегистрирован на уровне тенденции протективный эффект генотипа АА rs4244285 по отношению к эссенциальной гипертензии (различия частот между группами – 2,2%) [11]. В проведенном нами исследовании генотип АА у больных с гипертензией также встречается реже (в 3,98 раза), чем у индивидов без этой патологии. Следует акцентировать внимание на том факте, что замена G681A (rs4244285) является достаточно редким вариантом, ее усредненная частота в настоящем исследовании составляет 11,3%, частота генотипа АА – 0,61% (варьируя от 0 до 0,8% в сравниваемых подгруппах).

Таким образом, вклад в развитие патологических фенотипов редко регистрируемого гомозиготного генотипа АА, во-первых, трудно оценить (требует больших выборок), во-вторых, не может быть большим. Тем не менее на уровне гетерозигот, частота которых в исследуемых группах варьирует от 14,07 до 26,12%, эффект патологического аллеля выявляется и достигает уровня статистической значимости. Однако увеличения частоты гетерозигот у больных с гипертензией, выявленного в настоящем исследовании (на 5,9%), наши коллеги [11] не наблюдали. Этот феномен может быть связан с тем, что в сравниваемые исследования были включены пациенты с гипертензией различного генеза – исключительно

эссенциальная гипертензия в центрально-европейской русской когорте и значительно более гетерогенная группа в нашем исследовании. Стоит отметить и тот факт, что в целом частота гомозигот в нашем исследовании была значительно ниже (0,8%) по сравнению с данными А.В. Полоникова и соавт. (0,84–2,82%) [11].

Не до конца понятно, каков механизм вовлеченности данного гена в реализацию гипертензивного фенотипа; в качестве наиболее вероятного в научной литературе обсуждается путь метаболизма арахидоновой кислоты [8, 11]. Арахидоновую кислоту метаболизирует ряд изоформ подсемейства *CYP2*. Метаболиты арахидоновой кислоты являются вазоактивными медиаторами: эпоксиэйкозатриеновые кислоты (ЕЕТ) способствуют вазодилатации, а гидроксид-метаболиты (НЕТЕ) обладают вазоконстрикторным свойством [12]. Соответственно, при сниженном метаболизме арахидоновой кислоты можно наблюдать эффекты, к которым приводит недостаток ее активных метаболитов [13].

Наиболее изучен физиологический механизм действия таких медиаторов, как 11,12-ЕЕТ, 14,15-ЕЕТ (синтезирующихся в результате работы *CYP2C8* и *CYP2C9*) и 20-НЕТЕ (продукт ω -гидроксилазы *CYP4A11*) [14]. Кроме того, известно, что в клетках тканей сердечно-сосудистой системы из всех цитохромов P450 наиболее активно экспрессируется *CYP2J2* [15]. Вероятно, поэтому в ассоциативных исследованиях гипертензии из всех генов цитохромов основное внимание фокусируется именно на генах *CYP2J2*, *CYP2C8* и *CYP2C9*. Вместе с тем показано, что *CYP2C19* также метаболизирует арахидоновую кислоту до 8,9-ЕЕТ, 14,15-ЕЕТ и 19-НЕТЕ [16]. Видимо, этим и может объясняться рискованный эффект аллеля А rs4244285 гена *CYP2C19*, для АГ: синтез нефункционального белка в общем пуле ферментов может снижать эффективность продукции ЕЕТ, что при сохранном уровне продукции НЕТЕ может привести к сдвигу баланса в сторону вазоконстрикции и, следовательно, способствовать развитию гипертензии. Следует заметить, что фенотип медленных метаболизаторов наследуется по аутосомно-рецессивному типу [https://www.uniprot.org, 4], в связи с этим выявленный нами рискованный эффект гетерозиготного

генотипа остается не вполне объяснимым и требует дальнейшего изучения.

Гены белков семейства цитохромов активно привлекаются для изучения подверженности многофакторной патологии. Так, rs4244285 ассоциирован с метаболическим синдромом, атеросклерозом у курящих пациентов, аспирином-индуцированной БА, патогенетически значимыми количественными показателями (у больных БА, туберкулезом легких), циркулирующими сывороточными маркерами воспаления, АДФ-стимулированной реактивностью тромбоцитов, более высокой агрегацией тромбоцитов и остаточной реактивностью тромбоцитов [https://www.disgenet.org/home/ и др.]. Много исследований посвящено изучению rs4244285 при сердечно-сосудистых заболеваниях [13, 15, 17, 18].

Поскольку данный полиморфный вариант в гене *CYP2C19* приводит к потере функции фермента, основные исследования rs4244285 направлены именно на установление его роли в развитии лекарственного ответа у пациентов. Так, было выявлено, что вероятность неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (инфаркты, инсульты и пр.) у принимающих клопидогрел носителей аллеля А (как гомо- так и гетерозиготных) значительно выше, чем у гомозигот по аллелю G [19, 20]. И, напротив, для некоторых патологий лечение оказывается более успешным именно у гомозиготных по аллелю А индивидов, поскольку действующие вещества препаратов у них метаболизируются существенно медленнее, что обуславливает более пролонгированный терапевтический эффект. Этот факт показан, например, при лечении язвенной болезни ингибиторами протонной помпы [21].

Развитие неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у лиц с патологией сердечно-сосудистой системы, принимающих клопидогрел, чаще всего объясняется с

точки зрения метаболизма этого препарата, хотя есть данные об ассоциациях неблагоприятных исходов с носительством аллеля А и независимо от приема клопидогрела [22]. Например, некоторые данные подтверждают тот факт, что в патогенез сердечно-сосудистых заболеваний rs4244285 может быть вовлечен через повышение уровней маркеров воспаления в крови у носителей аллеля А (как было показано в проспективном исследовании STANISLAS) [23]. Приведенные выше данные указывают на важность и эндогенного *CYP2C19*-опосредованного метаболизма в развитии сердечно-сосудистой патологии.

Заключение

Таким образом, в настоящем исследовании был выявлен предрасполагающий к развитию АГ эффект гетерозиготного генотипа rs4244285 в гене *CYP2C19*; рассмотрен вероятный биохимический путь «реализации» эффекта нуклеотидной замены в патологический фенотип. Выраженную плейотропность гена *CYP2C19* определяет как участие кодируемого им фермента во многих биохимических процессах, так и высокую биологическую активность образующихся метаболитов. В то же время, несмотря на активные исследования гена *CYP2C19*, плейотропные эффекты данного гена и значимость генетических вариантов для развития патологических состояний разных систем органов изучены недостаточно. В отношении заболеваний сердечно-сосудистой системы, и гипертонии в частности, значимость структурно-функциональных особенностей *CYP2C19* получила дополнительное подтверждение для русского населения Томской области. Однако противоречивость результатов в отношении определения неблагоприятного аллеля по изученному SNP в разных регионах указывает на необходимость расширения исследований по данному направлению.

Литература / References

1. Rekka E.A., Kourounakis P.N., Pantelidou M. Xenobiotic metabolising enzymes: Impact on pathologic conditions, drug Interactions and drug design. *Curr. Top Med. Chem.* 2019;19(4):276–291. DOI: 10.2174/1568026619666190129122727.
2. Botton M.R., Whirl-Carrillo M., Del Tredici A.L., Sangkuhl K., Cavallari L.H., Agúndez J.A.G. et al. PharmVar GeneFocus: CYP2C19. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2021;109(2):352–366. DOI: 10.1002/cpt.1973.
3. De Morais S.M.F., Wilkinson G.R., Blaisdell J., Nakamura K., Meyer U.A., Goldstein J.A. The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J. Biol. Chem.* 1994;269(22):15419–15422.
4. Song B.L., Wan M., Tang D., Sun C., Zhu Y.B., Linda N. et al. Effects of CYP2C19 genetic polymorphisms on the pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of Clopidogrel and its active metabolite in healthy Chinese subjects. *Clin. Ther.* 2018;40(7):1170–1178. DOI: 10.1016/j.clinthera.2018.06.001.
5. King L.M., Gainer J.V., David G.L., Dai D., Goldstein J.A., Brown N.J. et al. Single nucleotide polymorphisms in the CYP2J2 and CYP2C8 genes and the risk of hypertension. *Pharmacogenet. Genomics.* 2005;15(1):7–13. DOI: 10.1097/01213011-200501000-00002.
6. Polonikov A.V., Ponomarenko I.V., Bykanova M.A., Sirotnina S.S., Bocharova A.V., Vagaytseva K.V. et al. A comprehensive study revealed SNP-SNP interactions and a sex-dependent relationship between polymorphisms of the CYP2J2 gene and hypertension risk. *Hypertens. Res.* 2019;42(2):257–272. DOI: 10.1038/s41440-018-0142-1.
7. Dreisbach A.W., Japa S., Sigel A., Parenti M.B., Hess A.E., Srinouanchanh S.L. et al. The prevalence of CYP2C8, 2C9, 2J2, and soluble epoxide hydrolase polymorphisms in African Americans with hypertension. *Am. J. Hypertens.* 2005;18(10):1276–1281. DOI: 10.1016/j.amjhyper.2005.04.019.
8. Ma Y., Ni W., Zhu W., Xiong Y., Deng X. Association of genetic polymorphisms of CYP2C19 with hypertension in a Chinese Han population. *Blood Press.* 2011;20(3):166–170. DOI: 10.3109/08037051.2010.542640.
9. Shin D.J., Kwon J., Park A.R., Bae Y., Shin E.S., Park S. et al. Association of CYP2C19*2 and *3 genetic variants with essential hypertension in Koreans. *Yonsei Med. J.* 2012;53(6):1113–1119. DOI: 10.3349/ymj.2012.53.6.1113.
10. Liu C., Kraja A.T., Smith J.A., Brody J.A., Franceschini N., Bis J.C. et al. Meta-analysis identifies common and rare variants influencing blood pressure and overlapping with metabolic trait loci. *Nat. Genet.* 2016;48(10):1162–1170. DOI: 10.1038/ng.3660.
11. Polonikov A., Bykanova M., Ponomarenko I., Sirotnina S., Bocharova A., Vagaytseva K. et al. The contribution of CYP2C gene subfamily involved in epoxygenase pathway of arachidonic acids metabolism to hypertension susceptibility in Russian population. *Clin. Exp. Hypertens.* 2017;39(4):306–311. DOI: 10.1080/10641963.2016.1246562.
12. Fleming I. The factor in EDHF: Cytochrome P450 derived lipid mediators and vascular signaling. *Vascul. Pharmacol.* 2016;86:31–40. DOI: 10.1016/j.vph.2016.03.001.
13. Zordoky B.N.M., El-Kadi A.O.S. Effect of cytochrome P450 polymorphism on arachidonic acid metabolism and their impact on cardiovascular diseases. *Pharmacol. Ther.* 2010;125(3):446–463. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2009.12.002.
14. Capdevila J.H., Wang W., Falck J.R. Arachidonic acid monooxygenase: Genetic and biochemical approaches to physiological/pathophysiological relevance. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2015;120:40–49. DOI: 10.1016/j.prostaglandins.2015.05.004.
15. Fava C., Bonafini S. Eicosanoids via CYP450 and cardiovascular disease: Hints from genetic and nutrition studies. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2018;139:41–47. DOI: 10.1016/j.prostaglandins.2018.10.001.
16. Bylund J., Kunz T., Valmsen K., Oliw E.H. Cytochromes P450 with bisallylic hydroxylation activity on arachidonic and linoleic acids studied with human recombinant enzymes and with human and rat liver microsomes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1998;284(1):51–60.
17. Tantray J.A., Reddy K.P., Jamil K., Yerra S.K. Role of cytochrome epoxide hydrolase (CYP2J2) in the pathophysiology of coronary artery disease

- in South Indian population. *Indian Heart J.* 2019;71(1):60–64. DOI: 10.1016/j.ihj.2018.11.011.
18. Swadi A.A., Mohammad B.I., Hadi N.R., Al-Aubaidy H.A. Correlation of CYP2D6 allelic polymorphism to outcome of acute coronary syndrome in mid-Euphrates Iraqi patients on metoprolol therapy. *Gene.* 2019;703:112–119. DOI: 10.1016/j.gene.2019.04.012.
19. Li S., Choi J.L., Guo L.Z., Goh R.Y., Kim B.R., Woo K.S. et al. Correlation between the CYP2C19 phenotype status and the results of three different platelet function tests in cardiovascular disease patients receiving antiplatelet therapy: An emphasis on newly introduced platelet function analyzer-200 P2Y test. *Ann. Lab. Med.* 2016;36(1):42–48. DOI: 10.3343/alm.2016.36.1.42.
20. Yang D., Peng C., Liao Z., Wang X., Guo W., Li J. The effect of the CYP2C19*2 allele on cardiovascular outcomes in patients with coronary artery stenting: A prospective study. *Arch. Med. Sci.* 2019;15(4):837–844. DOI: 10.5114/aoms.2018.75349.
21. Lima J.J., Thomas C.D., Barbarino J., Desta Z., Van Driest S.L., El Rouby N. et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for CYP2C19 and proton pump inhibitor dosing. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2021;109(6):1417–1423. DOI: 10.1002/cpt.2015.
22. Chen M., Liu X.J., Yan S.D., Peng Y., Chai H., Li Q. et al. Association between cytochrome P450 2C19 polymorphism and clinical outcomes in Chinese patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2012;220(1):168–171. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.04.008.
23. Bertrand-Thiébaud C., Berrahmoune H., Thompson A., Marie B., Drosch S., Siest G. et al. Genetic Polymorphism of CYP2C19 gene in the Stanislas cohort. A link with inflammation. *Ann. Hum. Genet.* 2008;72(2):178–183. DOI: 10.1111/j.1469-1809.2007.00417.x.

Благодарности

Авторы выражают искреннюю признательность сотрудникам Томского НИМЦ и других медицинских учреждений г. Томска, принимавшим участие в сборе биологического материала.

Информация о вкладе авторов

Бабушкина Н.П. – генотипирование, анализ данных, поиск литературы, написание рукописи, подготовка рукописи к публикации.

Постригань А.Е. – генотипирование, участие в редактировании рукописи.

Кучер А.Н. – поиск литературы, написание рукописи, редактирование и финальное утверждение рукописи.

Шипулин В.М. – обследование пациентов, сбор материала, обсуждение рукописи.

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

Information on author contributions

Babushkina N.P. – genotyping, data analysis, literature search, writing the manuscript, and preparing the manuscript for publication.

Postrigan A.E. – genotyping and contribution to manuscript revision.

Kucher A.N. – literature search, writing the manuscript, manuscript revision, and final approval of the manuscript for publication.

Shipulin V.M. – examination of patients, collection of material, and manuscript discussion.

All authors significantly contributed to preparing the article and approved the final version of the manuscript for publication.

Информация об авторах

Бабушкина Надежда Петровна, канд. биол. наук, научный сотрудник, лаборатория популяционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0001-6133-8986.

E-mail: nad.babushkina@medgenetics.ru.

Постригань Анна Евгеньевна, младший научный сотрудник, лаборатория геномики орфанных болезней, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-5144-001X.

E-mail: postrigan.anna@medgenetics.ru.

Кучер Аксана Николаевна, д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник, лаборатория популяционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0003-3824-3641.

E-mail: aksana-kucher@medgenetics.ru.

Шипулин Владимир Митрофанович, д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0003-1956-0692.

E-mail: shipulin@cardio-tomsk.ru.

 **Бабушкина Надежда Петровна**, e-mail: nad.babushkina@medgenetics.ru.

Information about the authors

Nadezhda P. Babushkina, Cand. Sci. (Biol.), Research Scientist, Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0001-6133-8986.

E-mail: nad.babushkina@medgenetics.ru.

Anna E. Postrigan, Junior Research Scientist, Laboratory of Genomics of Orphan Diseases, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-5144-001X.

E-mail: postrigan.anna@medgenetics.ru.

Aksana N. Kucher, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Leading Research Scientist, Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0003-3824-3641.

E-mail: aksana-kucher@medgenetics.ru.

Vladimir M. Shipulin, Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Research Scientist, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0003-1956-0692.

E-mail: shipulin@cardio-tomsk.ru.

 **Nadezhda P. Babushkina**, e-mail: nad.babushkina@medgenetics.ru.

Received September 30, 2021

Поступила 30.09.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-132-143>
УДК616.98:578.834.1-036.21-039.5:578.5](470+571)

Линии коронавируса SARS-CoV-2 российского происхождения: генетическая характеристика и корреляции с клиническими параметрами, тяжестью коронавирусной инфекции

О.С. Глотов^{1, 2, 4}, А.Н. Чернов⁵, А.И. Коробейников³,
Р.С. Калинин⁴, В.В. Цай⁴, А.Ю. Анисенкова^{1, 3}, С.П. Уразов¹,
А.А. Лапидус³, С.В. Мосенко¹, С.Г. Щербак^{1, 3}

¹ Городская больница № 40 Курортного административного района,
197706, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Сестрорецк, ул. Борисова, 9

² Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта,
199034, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3

³ Санкт-Петербургский государственный университет,
199034, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7

⁴ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства,
197022, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 9

⁵ Институт экспериментальной медицины,
197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

Аннотация

Во время пандемии COVID-19 актуальным является выявление новых белковых и генных мишеней коронавируса (SARS-CoV-2) и организма человека, которые могут оказаться маркерами тяжести и исхода заболевания.

Цель: провести генетический анализ образцов РНК SARS-CoV-2 и установить корреляции генетических показателей и характера SNP с клиническими данными и степенью тяжести инфекции COVID-19.

Материал и методы. В исследование включены образцы вирусной РНК, выделенной от 56 пациентов с инфекцией COVID-19, находившихся на лечении в ГБУЗ «Городская больница № 40» Санкт-Петербурга в период с 18.04.2020 по 31.01.2021 г. Пациентам проводили объективный осмотр с оценкой параметров гемодинамики, дыхательной системы, оценку по шкале NEWS (National Early Warning Score), компьютерную томографию (КТ) органов грудной клетки, лабораторные исследования: клинический анализ крови, определение уровней ферритина, С-реактивного белка (СРБ), интерлейкина-6 (ИЛ-6), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), Д-димера, креатинина, глюкозы. У всех пациентов был положительный тест на РНК SARS-CoV-2, выполненный методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). SNP (Single Nucleotide Polymorphism) в вирусной РНК идентифицировали через создание библиотек кДНК таргетным секвенированием (MiSeq Illumina).

Биоинформационный анализ генома вируса был проведен при помощи вычислительной цепочки viralrecon v2, с последующей аннотацией вариантов утилитам Pangolin и Nextstrain. Визуализация собранных геномов была проведена с помощью программы Integrative Genomics Viewer (IGV). Статистическую обработку данных (описательная статистика, графический анализ взаимосвязей данных из разных таблиц) выполняли с помощью прибора GraphPad на платформе Prism 8.01.

Результаты. Проведен сравнительный анализ частот SNP в геноме вируса в образцах у погибших и выписанных пациентов. Идентифицированы SNP, ассоциированные с риском летального исхода ($OR > 1$), нейтральные SNP ($OR = 1$) и протективные SNP ($OR < 1$). Пациенты были инфицированы 14 линиями SARS-CoV-2, пять из которых (В.1.1.129, В.1.1.407, В.1.1.373, В.1.1.397 и В.1.1.152) имели российское происхождение. Установлены положительные корреляционные зависимости между средним количеством SNP, несинонимичными SNP, SNP в S-белке со степенью дыхательной недостаточности, суммой баллов по шкале NEWS, формой заболевания по КТ, длительностью лечения на искусственной вентиляции легких (ИВЛ), исходом заболевания, уровнями ЛДГ, глюкозы, Д-димера, ферритина, количеством РНК в ПЦР тесте. SNP в S-белке отрицательно коррелируют с уровнем лейкоцитов и нейтрофилов.

Глотов Олег Сергеевич, e-mail: olglov@mail.ru.

Выводы. Результаты позволяют предположить влияние генетических факторов SARS-CoV-2 на степень тяжести течения и риск летального исхода заболевания.

Ключевые слова:	SARS-CoV-2, инфекция COVID-19, гены, SNP, степень тяжести, клинические симптомы, биохимические маркеры, корреляции.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	финансирование исследования было проведено из средств бюджета СПб ГБУЗ «Городская больница № 40 Курортного административного района» и грантов из средств СПбГУ – ID PURE: 75253103 и ID PURE 73023672.
Для цитирования:	Глотов О.С., Чернов А.Н., Коробейников А.И., Калинин Р.С., Цай В.В., Анисенкова А.Ю., Уразов С.П., Лapidус А.Л., Мосенко С.В., Щербак С.Г. Линии коронавируса SARS-CoV-2 российского происхождения: генетическая характеристика и корреляции с клиническими параметрами, тяжестью коронавирусной инфекции. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2021;36(4):132–143. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-132-143 .

The lineage of coronavirus SARS-CoV-2 of Russian origin: Genetic characteristics and correlations with clinical parameters and severity of coronavirus infection

Oleg S. Glotov^{1, 2, 4}, Alexander N. Chernov⁵, Anton I. Korobeynikov³, Roman S. Kalinin⁴, Viktoria V. Tsai⁴, Anna Yu. Anisenkova^{1, 3}, Stanislav P. Urazov¹, Alla L. Lapidus³, Sergei V. Mosenko¹, Sergei G. Shcherbak^{1, 3}

¹ City Hospital No. 40 of Kurortny Administrative District, 9, Borisov str., Sestroretsk, Saint Petersburg, 197706, Russian Federation

² D.O. Ott Research Institute for Obstetrics, Gynecology, and Reproduction, 3, Mendeleevskaya liniya, Saint Petersburg, 199034, Russian Federation

³ Saint Petersburg State University, 7, Universitetskaya emb., Saint-Petersburg, 199034, Russian Federation

⁴ Children's Scientific and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical and Biological Agency, 9, Professor Popov str., Saint Petersburg, 197022, Russian Federation

⁵ Institute of Experimental Medicine, 12, Pavlov str., Saint Petersburg, 197376, Russian Federation

Abstract

The identification of new SARS-CoV-2 and human protein and gene targets, which may be markers of the severity and outcome of the disease, are extremely important during the COVID-19 pandemic. The goal of this study was to carry out genetic analysis of SARS-CoV-2 RNA samples to elucidate correlations of genetic parameters (SNPs) with clinical data and severity of COVID-19 infection.

Material and Methods. The study included viral RNA samples isolated from 56 patients with COVID-19 infection who received treatment at the City Hospital No. 40 of St. Petersburg from 04/18/2020 to 04/18/2021. Patients underwent physical examination with the assessments of hemodynamic and respiratory parameters, clinical risk according to National Early Warning Score (NEWS), computed tomography (CT) of the chest, and laboratory studies including clinical blood analysis, assessment of ferritin, C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6), lactate dehydrogenase (LDH), D-dimer, creatinine, and glucose levels. All patients tested positive for SARS-CoV-2 RNA by polymerase chain reaction (PCR). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in viral RNA were identified through the creation of cDNA libraries by targeted sequencing (MiSeq Illumina). Bioinformatic analysis of viral samples was performed using the viralrecon v2 pipeline with the further annotation via Pangolin and Nextlade. Sampled genomes were visualized using the Integrative Genomics Viewer (IGV) software. Statistical

data processing (descriptive statistics and graphical analysis of data relationships from different tables) was performed using a GraphPad device on the Prism 8.01 platform.

Results. A comparative analysis of SNP frequencies in the virus genome in samples from deceased and discharged patients was carried out. The SNPs associated with risk of death ($OR > 1$), neutral SNPs ($OR = 1$), and protective SNPs ($OR < 1$) were identified. Patient samples were infected with 14 lines of SARS-CoV-2, five of which (B.1.1.129, B.1.1.407, B.1.1.373, B.1.1.397, and B.1.1.152) were of Russian origin. The SNPs in the samples infected with the strains of non-Russian origin were associated with an increased risk of mortality ($OR = 2.267$, 95% confidence interval 0.1594–8.653) compared to the SNPs in the samples obtained from the group of patients infected with the strains of Russian origin. Positive correlations were identified between the average SNP number, nonsynonymous SNPs, and S-protein SNPs with the degree of respiratory failure, total NEWS score, CT-based form of disease, duration of treatment with mechanical ventilation, disease outcome, levels of LDH, glucose, D-dimer, and ferritin, and RNA amount in the PCR test. S-protein SNPs negatively correlated with the leukocyte and neutrophil counts.

Keywords:	SARS-CoV-2, COVID-19 infection, genes, SNP, severity, clinical symptoms, biochemical markers, correlations.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	the study was financed from the budget of the St. Petersburg State Budgetary Healthcare Institution “City Hospital No. 40 of the Kurortny Administrative District” and by St. Petersburg State University (grants ID PURE: 75253103 and ID PURE: 73023672).
For citation:	Glotov O.S., Chernov A.N., Korobeynikov A.I., Kalinin R.S., Tsai V.V., Anisenkova A.Yu., Urazov S.P., Lapidus A.L., Mosenko S.V., Shcherbak S.G. The lineage of coronavirus SARS-CoV-2 of Russian origin: Genetic characteristics and correlations with clinical parameters and severity of coronavirus infection. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2021;36(4):132–143. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-132-143 .

Введение

Пандемия коронавирусной инфекции COVID-19, начавшись в конце 2019 г. в китайском Ухане, в 2020–2021 гг. распространилась на 222 страны мира, включая и Россию, и вызвала более 190 млн случаев инфицирования и более 4 млн летальных исходов во всем мире [1]. Высокая скорость распространения и степень тяжести заболевания COVID-19 отчасти обусловлены высокой скоростью мутационного процесса в геноме вируса. Установлено, что геном SARS-CoV-2 состоит из одноцепочечной РНК, содержащей регуляторные последовательности и 10 открытых рамок считывания (ORF), которые транскрибируются с образованием мРНК функциональных белков, из которых мутации в РНК-полимеразе (ORF8), РНК-праймазе (ORF6), S-белке коррелируют с вирулентностью вируса и степенью тяжести коронавирусной инфекции [2].

Многочисленные исследования по секвенированию образцов РНК SARS-CoV-2 установили различные генетические подтипы коронавируса. На основании анализа SNP в образцах из эндемического региона Чанчуань Инь определены четыре генотипа SARS-CoV-2: генотип I (11083G>T), генотип II (26144G>T), генотип III (8782C>T, 28144T>C), генотип IV (241C>T, 3037C>T, 14408C>T, 23403A>G) [3]. Позже, в октябре 2020 г., в образцах от пациентов из штата Рио-де-Жанейро (Бразилия) были обнаружены мутации в S-белке, одна из которых (E484K) оказалась наиболее клинически значимой, вследствие чего данный вариант и получил свое название E484K.V2 [4].

В декабре 2020 г. были зарегистрированы варианты B.1.1.7 и B.1.351 (501Y.V2) коронавируса из Великобритании и Южной Африки, содержащие, соответственно, нуклеотидные замены 69-70del, Y144del и N501Y, K417N,

E484K в S-белке [5]. При анализе последовательностей 405871 образцов из базы GISAID в конце 2020 г. были выявлены варианты B.1.427 и B.1.429 коронавируса из Южной и Северной Калифорнии [6]. По состоянию на 22 января 2021 г. CAL.20C был обнаружен в 26 штатах и других странах [6]. В январе 2021 г. были обнаружены P.1 и P.2 (подлиния B.1.128) варианты, включающие 10 уникальных мутаций (E484K и N501K и др.) в S-белке, в 42% протестированных образцов из Манауса, Бразильского штата Амазонас [7].

В декабре 2020 г. появились данные о распространении линий B.1.1.31 и B.1.1.317 SARS-CoV-2, имеющих российское происхождение, в Великобритании, США, Японии, Сингапуре, Турции Таиланде, Швейцарии и Бразилии [8]. Однако до настоящего времени не проведен обстоятельный генетический анализ линий B.1.1.31 и B.1.1.317, не установлены корреляции с клиническими симптомами и степенью тяжести коронавирусного заболевания.

Цель исследования: провести генетический анализ образцов РНК SARS-CoV-2 и установить корреляции генетических показателей и SNP с клиническими данными и степенью тяжести инфекции COVID-19.

Материал и методы

Общая и клиническая характеристика пациентов

В исследование включены образцы вирусной РНК, выделенные от 56 пациентов с инфекцией COVID-19, находящихся на лечении в ГБУЗ «Городская больница № 40» Санкт-Петербурга в период с 18.04.2020 по 31.01.2021 г., имевших положительный результат теста на наличие РНК SARS-CoV-2 методом амплификации нуклеиновых кислот в полимеразной цепной реакции (ПЦР). Исследо-

вание было одобрено экспертным советом по этике СПб ГБУЗ «Городская больница № 40» (протокол № 171 от 18 мая 2020 г.).

У 25 пациентов (45,5%) заболевание закончилось летальным исходом (табл. 1).

Таблица 1. Общая характеристика пациентов с COVID-19

Table 1. General characteristics of patients

Параметры Parameters	Исход пациентов Patient Outcome	
	Выписанные Discharged	Умершие Died
Число пациентов Number of patients	31	25
Мужчины Men	17	11
Женщины Women	14	14
Возраст, лет Age, year	64,6 ± 16,6	69,2 ± 14,8
Легкая степень тяжести заболевания Mild disease severity	4	–
Среднетяжелая степень тяжести заболевания Moderate to severe disease severity	14	–
Тяжелая степень тяжести заболевания Severe degree of disease severity	13	25
PHK, нг RNA, ng	26,0 ± 4,9	25,4 ± 5,0

Для всех пациентов собирались данные: эпидемиологического анамнеза, наличие клинических симптомов (кашель, одышка, повышение температуры, лихорадка, слабость, потеря обоняния и вкуса, тяжесть в груди), степень дыхательной недостаточности. Учитывалось наличие сопутствующих заболеваний (ишемическая болезнь сердца (ИБС), острый коронарный синдром (ОКС), цереброваскулярная болезнь (ЦВБ), состояния после инсульта или инфаркта (ПИКС), сахарный диабет, ревматоидный артрит, хроническая болезнь почек, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), бронхиальная астма, хронический бронхит, гидроторакс. Выяснялись степень тяжести заболевания: легкая, средняя, тяжелая и крайне тяжелая, информация о дне заболевания при обращении в больницу.

Также проводился объективный осмотр с оценкой параметров гемодинамики, дыхательной системы (частота дыхательных движений (ЧДД), частота сердечных сокращений (ЧСС), артериальное давление (АД), SpO₂, степень дыхательной недостаточности). Осуществлялась оценка по шкале NEWS (National Early Warning Score), рекомендованной к использованию для пациентов с COVID-19 [9]. Проводилась компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки с оценкой формы заболевания по 4-значной шкале без внутривенного контрастного усиления (КТ-1, КТ-2, КТ-3, КТ-4). Выполнялись лабораторные исследования (клинический анализ крови, биохимический минимум, определение уровней ферретина, С-реактивного белка (СРБ), IL-6, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), Д-димера, креатинина, глюкозы). Проводилась электрокардиография, при необходимости использовались дополнительные инструментальные методики.

Терапия пациентов с коронавирусной инфекцией

Лечение инфекции COVID-19 и ее осложнений включало противовирусные препараты, профилактику гиперкоагуляции и синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома). У пациентов с прогрессирующим течением заболевания для предупреждения или лечения цитокинового шторма (ЦШ) стандартная терапия была дополнена назначением патогенредуцированной плазмы реконвалесценто, антицитокиновых препаратов: ингибиторов рецептора интерлейкина-6 (IL-6) (тоцилизумаба, олокизумаба, левилимаба), IL-1 (канакинумаба, RH104), JAK-киназ (тофацитиниба, руксолитиниба, барицитиниба), тирозинкиназы Vcr-Abl (радотиниба), в ряде случаев – глюкокортикостероидов. По показаниям проводили этапную респираторную терапию, антибактериальную терапию, лечение сепсиса и септического шока, экстракорпоральную детоксикацию и гемокоррекцию, экстракорпоральную мембранную оксигенацию.

Выделение РНК

Выделение РНК из мазков носоглотки проводили согласно инструкции к набору реагентов для экстракции GeneJET RNA Purification Kit (Thermo Scientific) [10]. Концентрацию РНК измеряли на флуориметре Quantus с использованием набора QuantiFluor RNA System (Promega). Оценку качества РНК выполняли при помощи прибора 4200 TapeStation System и набора High Sensitivity RNA ScreenTape Analysis. Отбор положительных проб (с Cq < 25) для дальнейшего исследования проводили с помощью Real-Time PCR с одним из наборов для диагностики вируса SARS-CoV-2.

RT-PCR анализ

RT-PCR анализ проводили с помощью наборов реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в клиническом материале (производство НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера) и GeneFinder™ COVID-19 plus RealAmp (OSANG Healthcare Co., Ltd., Korea) на приборах CFX96 Real-Time PCR Detection System (Biorad, USA).

Секвенирование

Для исследования вируса методом таргетного секвенирования выделяли кДНК с использованием следующих наборов: Mint-2 cDNA synthesis kit (Евроген, Россия), Maxima H Minus Double-Stranded cDNA Synthesis kit for RT-qPCR (ThermoFisher, USA). Оценка качества полученной кДНК проводилась с помощью прибора 4200 TapeStation System и набора D1000 ScreenTape и High Sensitivity D1000 ScreenTape, концентрацию измеряли на флуориметре Quantus с использованием набора QuantiFluor dsDNA System (Promega, USA). После получения подходящих по качеству образцов кДНК проводили подготовку библиотек для секвенирования по протоколу с использованием набора Illumina DNA Prep with Enrichment Kit для MiSeq Illumina [11]. Исследование полного транскриптома выполняли с помощью набора для подготовки библиотек MGIEasy RNA Library Prep Set User Manual на приборе MGISEQ-2000.

Биоинформатический анализ

Биоинформатический анализ включал в себя сборку с использованием существующего референсного генома вируса при помощи вычислительной цепочки viralrecon

v2 [12] с последующей аннотацией вариантов утилитам Pangolin и Nextstrain. Также обработку данных после секвенирования на приборе MiSeq выполняли при помощи сервиса basespace.illumina с использованием приложения «DRAGEN RNA Pathogen Detection». Визуализация генома производилась в программе The Integrative Genomics Viewer (IGV).

Статистический анализ

Статистическую обработку данных (описательная статистика, графический анализ взаимосвязей данных из разных таблиц) выполняли с помощью прибора GraphPad на платформе Prism 8.01. Взаимосвязи категориальных показателей (пола, степени и формы патологических процессов, жалоб) выявлялись с помощью χ^2 -критерия Пирсона и точного критерия Фишера. Пороговые уровни

для возраста, индекса NEWS и лабораторных данных определяли с помощью метода иерархической кластеризации. Отношение шансов OR (odds ratio, OR) и границы 95% доверительного интервала (CI) выполняли с помощью калькулятора на портале www.medstatistic.ru [13].

Результаты

Нами было выявлено всего 389 вариантов в РНК SARS-CoV-2, из них 263 (67,6%) были связаны с аминокислотной заменой в белках, 126 синонимичных мутаций (32,4%), причем 139 (35,7%) в образцах пациентов с летальным исходом. Вначале изучали корреляцию общего количества, количества несинонимичных, молчащих мутаций, и мутаций в S-белке SARS-CoV-2 со степенью тяжести коронавирусного заболевания (табл. 2).

Таблица 2. Количество мутаций в SARS-CoV-2 в зависимости от степени тяжести заболевания

Table 2. The number of mutations in SARS-CoV-2 depending on the severity of the disease

Степень тяжести COVID-19 Severity of COVID-19	Среднее количество мутаций Average number of mutations	Среднее количество несинонимичных мутаций Average number of nonsynonymous mutations	Среднее количество молчащих мутаций Average number of silent mutations	Среднее количество мутаций в S-белке Average number of mutations in S-protein
I (n = 4)	11,0 ± 0,2	7,0 ± 1,4	4,0 ± 1,4	1,0
II (n = 14)	11,4 ± 1,9	8,3 ± 1,9	3,3 ± 1,6	2,0 ± 1,0
III (n = 13)	13,0 ± 3,6	9,0 ± 2,4	4,0 ± 2,1	2,2 ± 1,0***
Умершие, III Died, 3 (n = 25)	17,1 ± 5,0	10,6 ± 3,0	6,6 ± 2,2	1,6 ± 0,9

Примечание: *** – статистическая значимость при $p < 0,001$. Легкая степень тяжести обозначена I, среднетяжелая степень – II, тяжелая степень – III, все умершие пациенты имели тяжелую III степень тяжести инфекции COVID-19.

Note: *** statistical significance at $p < 0.001$. Mild, moderate, and high severity degrees are designated by I, II, and III, respectively. All patients who died had degree III severity of COVID-19 infection.

Из данных таблицы 2 следует, что только количество мутаций в S-белке в образцах пациентов с III степенью тяжести было достоверно выше ($p < 0,001$), чем число мутаций в образцах пациентов с I степенью тяжести заболевания. Также отмечалась тенденция к росту общего числа и несинонимичных мутаций у умерших лиц по сравнению

с пациентами с I степенью тяжести заболевания. Далее для обнаруженных мутаций оценивали их потенциальную опасность, т. е. ассоциацию со степенью тяжести заболевания, рассчитывая частоты и OR в группах выписанных и умерших пациентов. Частоты и значения OR удалось оценить только для 38 (9,7%) мутаций (табл. 3).

Таблица 3. Сравнение частот мутаций в генах вируса SARS-CoV-2 со степенью тяжести заболевания

Table 3. Association of the frequencies of mutations in the genes of SARS-CoV-2 virus with the severity of the disease

Ген Gene	Нуклеотидная позиция Nucleotide position	Аминокислотная замена Amino acid substitution	Белок Protein	Выписанные Discharged	Умершие Died	Отношение шансов OR	Доверительный интервал 95% CI
				Частота Frequency	Частота Frequency		
5'UTR	21C>T	–	–	–	0,095	3,522	0,342–36,216
5'UTR	241C>T	–	–	0,928	0,954	1,615	0,137–19,068
ORF1a	346C>T	–	Nsp1	–	0,095	3,522	0,342–36,216
ORF1a	872G>A	Asp203Asn	Nsp2	0,071	–	0,439	0,043–4,516
ORF1a	1648C>T	–		0,036	0,095	2,947	0,249–34,85
ORF1a	1681G>T	Glu472Asp	Папаин-подобная протеаза (PL2pro), Nsp3 Papain-like protease (PL2pro), Nsp3	0,071	0,046	0,619	0,052–7,307
ORF1a	3037C>T	Phe924Phe		0,758	0,864	1,727	0,379–7,864
ORF1a	3058A>G	–		0,036	0,095	2,700	0,229–31,894
ORF1a	3737C>T	Pro1158Ser		0,107	0,095	0,912	0,139–6,005
ORF1a	4965C>T	Thr1567Ile		0,107	0,046	0,433	0,042–4,485
ORF1a	5040>G	–		0,143	0,136	1,042	0,207–5,237
ORF1a	7296C>T	Ala2344Val		0,071	–	0,439	0,043–4,516

Окончание табл. 3
End of table 3

Ген Gene	Нуклеотидная позиция Nucleotide position	Аминокислотная замена Amino acid substitution	Белок Protein	Выписанные Discharged Частота Frequency	Умершие Died Частота Frequency	Отношение шансов OR	Доверительный интервал 95% CI
ORF1a	8944T>C	Gly2893Gly	Nsp4	0,036	0,095	2,700	0,229–31,894
ORF1a	9967C>T	Leu3234Leu		0,036	0,095	2,700	0,229–31,894
ORF1a	10046G>T	Val 3261Phe		–	0,095	3,522	0,342–36,216
ORF1a	11916C>T	Ser3884Leu	Nsp7	0,143	0,046	0,313	0,032–3,021
ORF1a	13554C>T	–	РНК-полимераза, Nsp12 RNA polymerase, Nsp12	0,036	0,095	2,700	0,229–31,894
ORF1b	14408C>T	Pro323Leu		0,892	1,0	1,167	0,980–1,389
ORF1b	15738 C>T	–		0,071	0,046	0,619	0,052–7,307
ORF1b	16775A>G	Tyr103Cys	Геликаза, Nsp13 Helicase, Nsp13	0,071	0,227	3,824	0,664–22,005
ORF1b	17082A>G	–	–	0,036	0,095	2,700	0,229–31,894
ORF1b	18479A>G	Lys1671Arg	Эндонуклеаза Endonuclease	0,071	0,046	0,619	0,052–7,307
ORF1b	19839T>C	–	ЭндоРНКазы, Nsp15 EndoRNase, Nsp15	0,107	0,095	0,600	0,099–3,623
ORF1b	20028T>C	–	–	0,143	0,095	0,600	0,099–3,623
S	22020T>C	Met153Thr	S-белок S-protein	0,107	0,046	0,433	0,042–4,485
S	23403A>G	Asp614Gly		0,928	0,954	1,615	0,137–19,068
S	23586A>G	Gln675Arg		0,107	0,046	0,433	0,042–4,485
S	23604C>A	Pro681His		0,036	0,095	2,700	0,229–31,894
S	24095G>T	Ala845Ser		0,071	–	0,439	0,043–4,516
S	24383A>G	Thr941Ala		0,036	0,095	2,700	0,229–31,894
S	25046C>T	Phe1162Ser		–	0,095	3,522	0,342–36,216
ORF3a	25910A>G	Asp173Gly	Orf3a	–	0,095	3,522	0,342–36,216
N	28881G>A	Arg203Lys	N-белок нуклеокапсида N-nucleocapsid protein	1,0	1,0	1,000	–
N	28882G>A	Arg203Arg	–	1,0	1,0	1,000	–
N	28883G>A	Gly204Arg	–	1,0	1,0	1,000	–
N	28905C>T	Ala211Val	–	0,250	18,1	1,400	0,405–4,836
N	28975G>T	Met 234 Ile	–	0,071	–	0,439	0,043–4,516
N	29422G>A	–	–	–	0,095	3,522	0,342–36,216
3'UTR	29708C>T	–	–	–	0,095	3,522	0,342–36,216

Как следует из данных из таблицы 3, мутации можно сгруппировать в 3 кластера. В первую группу включены мутации, потенциально ассоциированные с тяжестью коронавирусной инфекции и летальным исходом ($OR > 1$). Они локализованы в генах, кодирующих лидерную 5'-концевую сар-область и белки Nsp1, Nsp2, Nsp3, Nsp4, РНК-зависимую РНК-полимеразу (Nsp12), геликазу (Nsp13), S-белок, Orf3a и в 3'-концевую poly-A-последовательность. Ко второй группе относились нейтральные

мутации ($OR = 1$), локализованные в генах, кодирующих Nsp3 и N-белки. Третий кластер образовали потенциально протекторные мутации ($OR < 1$), локализованные в генах, кодирующих белки: Nsp2, Nsp3, Nsp7, эндонуклеазу (Nsp14), эндоРНКазу (Nsp15), S- и N-белки.

В результате анализа мутаций с помощью утилит Nextclade и Pangolin, а также программы IGV мы установили типы линий вируса, инфицирующие каждый образец (табл. 4).

Таблица 4. Линии SARS-CoV-2, инфицирующие образцы пациентов из Санкт-Петербурга

Table 4. SARS-CoV-2 lines, infecting patient samples from St. Petersburg

Линия вируса Virus lineage	Часто встречаемые страны в родословной Common countries in pedigree	Количество образцов Number of samples	Исход (выписан) Outcome Discharged	Исход (умер) Outcome Died
Линии нероссийского генеза Lines of non-Russian genesis				
B.1	UK 33,0%, USA 13,0%, Japan 9,0%	3	1	2
B.1.1	UK 33,0%, USA 13,0%, Japan 9,0%	19	8	11
B.1.1.29	USA 100,0%	2	1	1
B.1.1.174	USA 74,0%, Ireland 4,0%, Turkey 3,0%, UK 3,0%, India 2,0%	1	0	1

Окончание табл. 4
End of table 4

Линия вируса Virus lineage	Часто встречаемые страны в родословной Common countries in pedigree	Количество образцов Number of samples	Исход (выписан) Outcome Discharged	Исход (умер) Outcome Died
B.1.1.57	South Africa 84,0%, India 5,0%, Russia 4,0%, Zimbabwe 3,0%, Japan 1,0%	1	1	0
B.1.610	UK 50,0%, Spain 20,0%, Turkey 10,0%, USA 5,0%, Japan 3,0%	1	0	1
B.1.1.155	United Kingdom 100,0%	2	1	1
Общее количество образцов Total number of samples		29	12	17
Отношение шансов (Odds ratio OR)		2,267	95% CI	0,594–8,653
Линии российского генеза Lines of Russian genesis				
B.1.1.129	Russia 90,0%, Germany 8,0%, Mexico 2,0%	2	1	1
B.1.1.407	Russia 81,0%, Germany 5,0%, Indonesia 5,0%, USA 5,0%, Finland 5,0%	4	2	2
B.1.1.373	Russia 81,0%, Estonia 5,0%, UK 5,0%, Hong Kong 2,0%, Indonesia 2,0%	5	4	1
B.1.1.397	Russia 46,0%, Estonia 14,0%, Latvia 10,0%, Israel 10,0%, Finland 4,0%	2	2	0
B.1.1.152	Russia 82,0%, Germany 14,0%, Finland 5,0%	1		1
Общее количество образцов Total number of samples		14	8	5
Отношение шансов (Odds ratio OR)		0,230	95%CI	0,05–0,889
Линии смешанного генеза Lines of mixed genesis				
B.1.1.317	Germany 46,0%, Russia 25,0%, Estonia 5,0%, Finland 4,0%, USA 3,0%	4	3	1
B.1.1.141	Latvia 53,0%, Russia 23,0%, Germany 11,0%, Sweden 3,0%, Georgia 2,0%	1	1	0
Общее количество образцов Total number of samples		5	4	1

Примечание: для 9 образцов происхождение вируса невозможно было определить.

Note: The origin of the virus could not be determined in nine samples.

Из данных таблицы 4 следует, что пациенты из Санкт-Петербурга были инфицированы 14 линиями SARS-CoV-2. Причем 14 образцов (29,8%) из 47, представленных в таблице, были инфицированы 5 линиями вируса российского происхождения. В целом OR для 5 линий вируса, имеющих российское происхождение, составил 0,441 (95% CI = 0,116–1,684). Это свидетельствует о том, что мутации в линиях SARS-CoV-2 нероссийско-

го генеза ассоциированы с повышенным риском (OR = 2,267, 95% CI = 0,1594–8,653) летального исхода в группе российских пациентов.

Также мы оценили корреляции общего количества, несинонимичных и мутаций в S-белке линий SARS-CoV-2 с клиническими данными, сопутствующими заболеваниями, биохимическими маркерами и исходом заболевания (табл. 5).

Таблица 5. Корреляции общего количества, несинонимичных и мутаций в S-белке линий SARS-CoV-2 с клиническими симптомами, сопутствующими заболеваниями, биохимическими маркерами

Table 5. Correlations of total number, nonsynonymous mutations, and mutations in the S-protein of SARS-CoV-2 lines with clinical symptoms, concomitant diseases, and biochemical markers

Линия вируса Virus line	Коэффициент корреляции r , уровень значимости p Correlation coefficient, r , significance level p			Параметр Parameter
	среднее количество SNP Average number of SNPs	Среднее количество несинонимичных SNP Average number of nonsynonymous SNPs	Среднее количество SNP в S-белке Average number of SNPs in S-protein	
	0,62 ($p = 0,03$)	0,65 ($p = 0,02$)	–	Слабость Weakness
	0,71 ($p = 0,009$)	–	–	Степень дыхательной недостаточности при выписке Grade of respiratory failure at discharge

Окончание табл. 5
End of table 5

Линия вируса Virus line	Коэффициент корреляции r , уровень значимости p Correlation coefficient, r , significance level p			Параметр Parameter
	среднее количество SNP Average number of SNPs	Среднее количество несинонимичных SNP Average number of nonsynonymous SNPs	Среднее количество SNP в S-белке Average number of SNPs in S-protein	
Российского генеза Lines of Russian genesis	0,67 ($p = 0,01$)	–	–	NEWS при выписке (сумма баллов) NEWS score at discharge
	0,75 ($p = 0,008$)	0,66 ($p = 0,02$)	–	Форма забол. по КТ 1–4 к началу терапии Disease form according to CT 1–4 at the beginning of therapy
	0,82 ($p = 0,006$)	0,76 ($p = 0,02$)	–	Форма заболевания по КТ 1–4 при выписке Disease form according to CT 1–4 at discharge
	0,73 ($p = 0,009$)	–	–	Количество суток на ИВЛ Number of days on mechanical ventilation
	0,62 ($p = 0,03$)	–	–	Исход заболевания Outcome of disease
	–	–0,52 ($p = 0,05$)	–0,57 ($p = 0,05$)	Лейкоциты Leukocytes
	–	–0,52 ($p = 0,05$)	–0,54 ($p = 0,05$)	Нейтрофилы Neutrophils
	0,83 ($p = 0,009$)	–	–	ЛДГ LDH
	–	0,68 ($p = 0,02$)	0,81 ($p = 0,002$)	Глюкоза Glucose
Нероссийского генеза Lines of non-Russian genesis	–	–0,44 ($p = 0,03$)	–	Одышка Dyspnea
	0,49 ($p = 0,02$)	0,50 ($p = 0,02$)	0,46 ($p = 0,02$)	Слабость Weakness
	0,43 ($p = 0,04$)	–	–	Применение системных кортикостероидов Systemic corticosteroid use
	–	–	0,41 ($p = 0,05$)	Количество РНК RNA amount
	0,42 ($p = 0,04$)	–	–	Койко-дни Length of hospital stay (days in hospital)
	0,49 ($p = 0,05$)	0,50 ($p = 0,05$)	–	Д-димер D-dimer
	–	–	0,85 ($p = 0,03$)	Ферритин Ferritin

Данные таблицы 5 свидетельствуют, что среднее количество SNP линий SARS-CoV-2 российского происхождения коррелирует со слабостью, степенью дыхательной недостаточности при выписке, суммой баллов NEWS при выписке, формой заболевания по КТ к началу терапии и при выписке, количеством суток на искусственной вентиляции легких (ИВЛ), исходом заболевания и уровнем ЛДГ. Среднее количество несинонимичных SNP и SNP в S-белке коррелируют с уровнем глюкозы и отрицательно коррелируют с уровнем лейкоцитов и нейтрофилов. Кроме того, среднее количество несинонимичных SNP также коррелирует со слабостью и формой заболевания по КТ к началу терапии и при выписке.

Среднее количество SNP, несинонимичных и SNP в S-белке линий SARS-CoV-2 нероссийского происхождения положительно коррелирует со слабостью ($p = 0,02$).

Среднее количество SNP и несинонимичных SNP положительно коррелирует с уровнем Д-димера ($p = 0,05$). Среднее количество SNP также коррелирует с применением кортикостероидов и количеством койко-дней. Среднее количество несинонимичных SNP отрицательно коррелирует с одышкой. Число SNP в S-белке коррелирует с количеством РНК и уровнем ферритина.

Обсуждение

В данном исследовании мы изучали корреляцию общего количества, несинонимичных мутаций, молчащих-мутаций и мутаций в S-белке SARS-CoV-2 со степенью тяжести вирусной инфекции и установили, что количество мутаций в S-белке было выше ($p < 0,001$) в образцах пациентов с III степенью тяжести, чем в образцах от пациентов со II степенью тяжести коронави

русной инфекции. Коллективом авторов из университета Кейо (Токио, Япония) при проведении секвенирования геномной РНК SARS-CoV-2 из образцов от 90 пациентов с инфекцией COVID-19 и при изучении ассоциации вирусных гаплотипов с тяжестью заболевания путем подсчета количества мутаций, обнаружено, что количество несинонимичных мутаций (особенно Pro108Ser в 3 химо-трипсиноподобной протеазе (3CLpro) и Pro151Leu в N-белке нуклеокапсида) обратно коррелирует (OR = 0,24; 95% CI = 0,07–0,88; $p = 0,032$) со степенью тяжести инфекции COVID-19 и потребностью в кислородной терапии [14].

Нами также оценены частоты и OR SNP для степени тяжести инфекции COVID-19. При этом OR мутаций рассчитывали, когда мутация присутствовала в 2 и более образцах (частота > 5%) в обоих группах пациентов (выписанные и умершие) (см. табл. 3). Интересно, что 75,8% образцов наших пациентов были инфицированы IV генотипом (241C>T, Nsp3: 3037C>T; Nsp12, РНК полимеразы: 14408C>T, Pro323Leu; S-белок: 23403A>G, Asp614Gly) SARS-CoV-2, установленным Чанчуань Инем [6]. Гаплотип 3037C>T, 14408C>T, 23403A>G и SNP 241C>T наиболее часто встречаются в образцах из Европы, отражая европейское происхождение вируса. Например, в исследовании, проведенном международным коллективом авторов из Вьетнама, Австралии, Великобритании и США, данный мутантный гаплотип обнаружен в 90% (40 из 44) образцов пациентов из Великобритании ($n = 15$), России ($n = 6$), Германии ($n = 5$), Франции ($n = 4$), Италии ($n = 2$), Испании ($n = 2$), Нидерландов ($n = 1$), Вьетнама ($n = 6$) и стран Азии ($n = 3$). Также у данных пациентов вместе с этой группой мутаций в 75% (33 из 44) геномов наблюдались SNP в N-белке 28881G>A, 28882G>A, 28883G>C [16].

В наших образцах SNP 28881G>A, 28882G>A, 28883G>C присутствовали в 100% образцов, что указывает на их нейтральный характер и на происхождение вируса, относящегося в кладе 20В линии В1.1 [14]. Данные мутации локализованы в небольшом участке (194–204) аминокислотной последовательности N-белка. Поскольку N-белок участвует в упаковке вирусной РНК в спиральный рибонуклеокапсид, мутации 28881G>A, 28882G>A, 28883G>C могут повышать эффективность транскрипции субгеномных РНК, способствуя выживанию клеток, репликации и персистенции вируса [15].

В 47 из 50 (94%) наших образцов также наблюдался SNP 241C>T, локализованный в 5'-нетранслируемой области (5'UTR) вирусной РНК. Эта замена имеет одни из самых высоких частот 0,758 (9673/12754) и 0,809 (36786/45494) соответственно в США и мире, влияет на регуляцию транскрипции и экспрессии генов вируса и его репликацию [16]. SNP 14408C>T (Pro323Leu) и мутация 13554C>T, ассоциированные с тяжелым течением и летальным исходом, также обнаружены в РНК-зависимой РНК-полимеразе (белок RdRp или Nsp12) с частотами 0,940 (47 из 50) и 0,06 (3 из 50) в образцах наших пациентов. Первая из этих мутаций также является наиболее распространенной в образцах из США (AF 0,464, 5918/12754) [16]. О биологической роли этой мутации до сих пор ведется дискуссия. R. Wang и соавт. считают, что поскольку обе аминокислоты пролин (Pro) и лейцин (Leu) являются неполярными и алифатическими, в связи с этим Pro323Leu может не оказывать влияния на функцию белка Nsp12 [16].

В 94% (47/50) образцов пациентов встречается SNP 23403A>G (Asp614Gly) в гене S-белка, связанный с замедленной аспарагиновой кислотой в положении 614 на глицин и повышенным риском тяжелого течения или летального исхода пациентов. Как уже упоминалось, этот SNP часто сочетается с тремя другими SNP (241C>T, 3037C>T и 14408C>T) и наследуется как гаплотип [17]. Исследователи из Гарвардского, Вашингтонского (США) и Шеффилдского университетов (Великобритания), изучив клинические данные и генетические последовательности SARS-CoV-2 у 999 пациентов с COVID-19, установили, что вариант Arg614Gly коррелирует с высоким уровнем вирусной РНК в верхних дыхательных путях и скоростью трансмиссии у пациентов по сравнению с диким типом. Это указывает на более высокую инфицированность Gly614. Однако В. Korber и соавт. не смогли установить ассоциации между D614G и продолжительностью госпитализации, т. е. степенью тяжести заболевания, что свидетельствует о повышенной инфекционности D614G и об отсутствии его влияния на тяжесть клинического исхода болезни [17].

Поскольку нами показано (см. табл. 1), что среднее количество SNP имеет тенденцию к увеличению при повышении степени тяжести инфекции COVID-19, а сумма баллов по шкале NEWS используется для определения степени тяжести состояния пациентов, то между данными показателями может наблюдаться положительная корреляция.

Ученые из госпиталя Королевского колледжа (Лондон, Великобритания) исследовали маркеры крови и физиологические параметры у 1276 пациентов с тяжелым исходом инфекции COVID-19 через 14 сут после госпитализации для улучшения применения шкалы NEWS2. Разработанная авторами модель NEWS2 и возраст для тяжелой инфекции COVID-19 имела площадь под кривой 0,700. Эти данные мы использовали при своей оценке риска [18]. В исследовании норвежских ученых, проведенном на 66 пациентах, 23% из которых имели тяжелую и крайне тяжелую степень заболевания, показано, что оценка NEWS2 ≥ 6 при поступлении характеризует тяжелое течение инфекции COVID-19 с чувствительностью 80,0% и специфичностью 84,3% [19]. В нашей выборке вследствие большого разброса не было статистически значимых различий по среднему индексу NEWS при поступлении у пациентов, инфицированных линиями коронавируса нероссийского генеза, – 4,7 (диапазон 0–12) и у пациентов, инфицированных линиями российского происхождения, – 4,2 (диапазон 0–9). Средний индекс NEWS при поступлении у пациентов, в дальнейшем имевших тяжелое течение заболевания, составил $5,35 \pm 0,39$ баллов, против $2,23 \pm 0,50$ баллов у пациентов легкого и среднетяжелого течения.

Нами выявлены корреляции среднего количества SNP в линиях вируса российского генеза со степенью дыхательной недостаточности при выписке и продолжительностью пребывания пациента на ИВЛ (см. табл. 5). В силу того, что патогенез коронавируса SARS-CoV-2 включает инфицирование бронхолегочного древа и развитие острой респираторной недостаточности, степень дыхательной недостаточности и длительность нахождения пациента на ИВЛ может отражать тяжесть заболевания. Например, американские ученые из больницы Инова Фэйрфакса (Вирджиния, США) изучили клиниче-

ские параметры и исходы 1023 пациентов с инфекцией COVID-19, из которых 164 (16,0%) проводилась инвазивная ИВЛ. У 70 из 164 (42,7%) пациентов терапия закончилась летальным исходом. Умершие пациенты были старше, чем выписанные (средний возраст – 66 против 55 лет, $p < 0,0001$) [20].

В настоящем исследовании нами также установлены корреляционные зависимости между общим количеством, несинонимичных и SNP в S-белке линий SARS-CoV-2 и одышкой, риском летального исхода, уровнем ферритина, Д-димера и глюкозы (см. табл. 5). Американские исследователи из Темплавского университета (Филадельфия, США), оценив биохимические показатели (уровень лейкоцитов, АЛТ, АСТ, билирубин, креатинин, СРБ, ЛДГ, Д-димер, тропонин I) у 513 пациентов с инфекцией COVID-19, из которых 64 были с ЦШ, установили зависимость тяжести заболевания от снижения количества лимфоцитов ($p < 0,001$), увеличения нейтрофилов ($p < 0,001$), СРБ ($p = 0,016$), Д-димера ($p = 0,002$), ЛДГ ($p < 0,001$), тропонина I ($p = 0,045$) и АСТ ($p = 0,028$) [21]. В другой работе на 164 пациентах также установлена зависимость тяжести инфекции с повышенными уровнями Д-димера ($p = 0,005$) и ферритина ($p = 0,016$) [20].

Нами также установлены положительные корреляции между средним количеством SNP в образцах и формой заболевания по КТ к началу терапии и при выписке (см. табл. 5). Поскольку наблюдается увеличение среднего количества SNP по мере тяжести инфекции COVID-19 (см. табл. 1), а форма заболевания по КТ отражает степень поражения легких при данном заболевании, то могут существовать корреляции между количеством SNP и формой заболевания по КТ и степенью тяжести инфекции COVID-19. Например, в исследовании, проведенном турецкими авторами на 130 пациентах с инфекцией COVID-19, выявлена положительная корреляция между степенью поражения легких на КТ и уровнем ферритина в сыворотке ($p = 0,530$; $p = 0,0001$), Д-димера ($p = 0,375$; $p = 0,0001$). Таким образом, в группе КТ-положительных пациентов установлена положительная корреляция уровней ферритина и Д-димера в сыворотке с тяжестью и генерализацией заболевания по данным КТ [22]. Эти данные также согласуются с нашими результатами, свидетельствующими об увеличении уровней Д-димера и ферритина у пациентов с III степенью тяжести инфекции.

Литература / References

1. Reported Cases and Deaths by Country or Territory. URL: <https://www.worldometers.info/coronavirus/#countries>.
2. Nguyen T.T., Pathirana P.N., Nguyen T., Nguyen Q.V.H., Bhatti A., Nguyen D.C. et al. Genomic mutations and changes in protein secondary structure and solvent accessibility of SARS-CoV-2 (COVID-19 virus). *Sci. Rep.* 2021;11(1):3487. DOI: 10.1038/s41598-021-83105-3.
3. Yin C. Genotyping coronavirus SARS-CoV-2: Methods and implications. *Genomics.* 2020;112(5):3588–3596. DOI: 10.1016/j.ygeno.2020.04.016.
4. Toovey O.T.R., Harvey K.N., Bird P.W., Tang J.W.W. Introduction of Brazilian SARS-CoV-2 484K.V2 related variants into the UK. *J. Infect.* 2021;82(5):e23–e24. DOI: 10.1016/j.jinf.2021.01.025.
5. World Health Organization. SARS-CoV-2 Variants. URL: <https://www.who.int/csr/don/31-december-2020-sars-cov-2-variants/en/>
6. Zhang W., Davis B.D., Chen S.S., Sincuir Martinez J.M., Plummer J.T., Vail E. Emergence of a novel SARS-CoV-2 variant in southern California. *JAMA.* 2021;325(13):1324–1326. DOI: 10.1001/jama.2021.1612.
7. Sabino E.C., Buss L.F., Carvalho M.P.S., Prete C.A. Jr., Crispim M.A.E., Fraiji N.A. et al. Resurgence of COVID-19 in Manaus, Brazil, despite

Выводы

В нашем исследовании образцы пациентов из Санкт-Петербурга были инфицированы 14 линиями SARS-CoV-2, из которых 5 имели российское происхождение. Выявлено, что мутации в линиях SARS-CoV-2 нероссийского генеза ассоциированы с повышенным риском летального исхода в группе российских пациентов.

Количество SNP в S-белке в образцах пациентов с III степенью тяжести было выше ($p < 0,001$), чем число SNP в образцах пациентов со II степенью тяжести инфекции COVID-19.

Сравнительный анализ частот для каждого SNP в группах образцов пациентов с риском летального исхода позволил сгруппировать SNP в 3 кластера: I) инфекции, ассоциированные с тяжестью COVID-19 и риском летального исхода ($OR > 1$), локализованные в 5'-концевой сар-области и генах, кодирующих Nsp1, Nsp2, Nsp3, Nsp4 белки, РНК-зависимую-РНК-полимеразу (Nsp12), геликазу (Nsp13), S, Orf3a белки и 3'-концевую poly-A-последовательность. II) нейтральные SNP ($OR = 1$), локализованные в генах, кодирующих Nsp3 и N-белки. III) потенциально протекторные SNP ($OR < 1$), локализованные в генах, кодирующих Nsp2, Nsp3, Nsp7 белки, эндонуклеазу (Nsp14), эндоРНКазу (Nsp15), S- и N-белки.

Установлены положительные корреляционные зависимости между средним количеством SNP линий SARS-CoV-2 российского происхождения со слабостью, степенью дыхательной недостаточности при выписке, суммой баллов NEWS при выписке, формой заболевания по КТ к началу терапии и при выписке, количеством суток на ИВЛ, исходом заболевания и уровнем ЛДГ. Среднее количество несинонимичных SNP и SNP в S-белке положительно коррелируют с уровнем глюкозы и отрицательно с уровнем лейкоцитов и нейтрофилов. Среднее количество несинонимичных SNP также положительно коррелирует со слабостью и формой заболевания по КТ к началу терапии и при выписке.

Среднее количество SNP, несинонимичных и SNP в S-белке линий SARS-CoV-2 нероссийского происхождения положительно коррелируют со слабостью ($p = 0,02$). Среднее количество SNP и несинонимичных SNP положительно коррелирует с уровнем Д-димера ($p = 0,05$). Среднее количество SNP коррелирует с применением кортикостероидов и количеством койко-дней. Среднее количество несинонимичных SNP отрицательно коррелирует с одышкой. Число SNP в S-белке коррелирует с количеством РНК и уровнем ферритина.

- high seroprevalence. *Lancet.* 2021;397(10273):452–455. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00183-5.
8. PANGO lineages. URL: https://cov-lineages.org/lineage_designation.html
9. Carr E., Bendayan R., Bean D., Stammers M., Wang W., Zhang H. et al. Evaluation and improvement of the National Early Warning Score (NEWS2) for COVID-19: A multi-hospital study. *BMC Med.* 2021;19(1):23. DOI: 10.1186/s12916-020-01893-3.
10. Gene JET RNA Purification Kit. URL: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/K0731>
11. Illumina DNA Prep with Enrichment. Reference Guide. URL: https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/illumina_prep/illumina-dna-prep-with-enrichment-reference-1000000048041-06.pdf
12. Patel H., Varona S., Monzón S., Espinosa-Carrasco J., Heuer M.L., Gabernet G. et al. nf-core/viralrecon: nf-core/viralrecon. *Zenodo.* 2021. DOI: 10.5281/zenodo.514625.
13. Медицинская статистика. URL: <https://medstatistic.ru/calculators/calccods.html>
14. Abe K., Kabe Y., Uchiyama S., Iwasaki Y.W., Ishizu H., Uwamino Y. et al. Pro108Ser mutant of SARS-CoV-2 3CLpro reduces the enzy-

- matic activity and ameliorates COVID-19 severity in Japan. *medRxiv*. 2020;11(24):20235952. DOI: 10.1101/2020.11.24.20235952.
15. Caccuri F., Zani A., Messali S., Giovanetti M., Bugatti A., Campisi G. et al. A persistently replicating SARS-CoV-2 variant derived from an asymptomatic individual. *J. Transl. Med.* 2020;18(1):362. DOI: 10.1186/s12967-020-02535-1.
 16. Wang R., Chen J., Gao K., Hozumi Y., Yin C., Wei G.W. Analysis of SARS-CoV-2 mutations in the United States suggests presence of four substrains and novel variants. *Commun. Biol.* 2021;4(1):228. DOI: 10.1038/s42003-021-01754-6.
 17. Korber B., Fischer W.M., Gnanakaran S., Yoon H., Theiler J., Abfalterer W. et al. Tracking changes in SARS-CoV-2 spike: Evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus. *Cell*. 2020;182(4):812–827.e19.
 18. Shcherbak S.G., Anisenkova A.Y., Mosenko S.V., Glotov O.S., Chernov A.N., Apalko S.V. et al. Basic predictive risk factors for cytokine storms in COVID-19 patients. *Front. Immunol.* 2021;12:745515. DOI: 10.3389/fimmu.2021.745515.
 19. Myrstad M., Ihle-Hansen H., Tveita A.A., Andersen E.L., Nygård S., Tveit A. et al. National Early Warning Score 2 (NEWS2) on admission predicts severe disease and in-hospital mortality from Covid-19 – a prospective cohort study. *Scand. J. Trauma Resusc. Emerg. Med.* 2020;28(1):66. DOI: 10.1186/s13049-020-00764-3.
 20. King C.S., Sahjwani D., Brown A.W., Feroz S., Cameron P., Osborn E. et al. Outcomes of mechanically ventilated patients with COVID-19 associated respiratory failure. *PLoS One*. 2020;15(11):e0242651. DOI: 10.1371/journal.pone.0242651.
 21. Caricchio R., Gallucci M., Dass C., Zhang X., Gallucci S., Fleece D. et al. Preliminary predictive criteria for COVID-19 cytokine storm. *Ann. Rheum. Dis.* 2020;0:1–8. DOI: 10.1136/annrheumdis-2020-218323.
 22. Yilmaz A., Sabirli R., Seyit M., Ozen M., Oskay A., Cakmak V. et al. Association between laboratory parameters and CT severity in patients infected with Covid-19: A retrospective, observational study. *Am. J. Emerg. Med.* 2021;42:110–114. DOI: 10.1016/j.ajem.2021.01.040.

Информация о вкладе авторов

Щербак С.Г., Анисенкова А.Ю., Глотов О.С. предложили концепцию исследования и разработали его протокол, участвовали в заключительной редакции рукописи.

Глотов О.С., Чернов А. Н., Мосенко С.В. написали рукопись статьи, провели статистический анализ, анализировали и интерпретировали данные исследований.

Калинин Р.С., Цай В.В. провели выделение РНК, ДНК из образцов, ПЦР, секвенирование и биоинформатический анализ данных, а также участвовали в обсуждении результатов.

Анисенкова А.Ю. осуществляла лечение и обследование пациентов, составляла клиническую базу пациентов, проводила клиническую интерпретацию результатов.

Мосенко С.В., Уразов С.П. проводили литературный поиск, составляли клиническую базу пациентов, проводили лечение пациентов.

Коробейников А.И., Липидус А.Л. провели биоинформатический анализ данных, предложили алгоритмы анализа данных секвенирования, а также участвовали в обсуждении результатов.

Все авторы дали окончательное согласие на подачу рукописи и согласились нести ответственность за все аспекты работы, ручаясь за их точность и безупречность.

Information on author contributions

Shcherbak S.G., Anisenkova A.Yu., and Glotov O.S. proposed a research concept and developed its protocol, participated in the final edition of the manuscript.

Glotov O.S., Chernov A.N., and Mosenko S.V. wrote the manuscript, conducted statistical analysis, analyzed and interpreted the research data.

Kalinin R.S. and Tsai V.V. performed the extraction of RNA, DNA from the samples, PCR and sequencing and bioinformatics analysis of the data, and also participated in the discussion of the results.

Anisenkova A.Yu. performed treatment and examination of patients, contributed to compilation of clinical database, and provided clinical interpretation of results.

Mosenko S.V. and Urazov S.P. contributed to literature search, compilation of clinical database, and treatment of patients.

Korobeynikov A.I. and Lapidus A.L. conducted bioinformatic data analysis, proposed sequencing data analysis algorithms, and participated in the discussion of the results.

All authors have given their final consent to the submission of the manuscript and agreed to be responsible for all aspects of the work, vouching for their accuracy and flawlessness.

Сведения об авторах

Глотов Олег Сергеевич, канд. биол. наук, заведующий отделом вирусологических и молекулярно-генетических методов диагностики, Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства. ORCID 0000-0002-0091-2224.

E-mail: olglotov@mail.ru.

Чернов Александр Николаевич, научный сотрудник отдела Института экспериментальной медицины. ORCID 0000-0003-2464-7370.

E-mail: al.chernov@mail.ru.

Коробейников Антон Иванович, канд. физ.-мат. наук, доцент кафедры статистического моделирования, Санкт-Петербургский государственный университет. ORCID 0000-0002-2937-9259.

E-mail: a.korobeynikov@spbu.ru.

Калинин Роман Сергеевич, младший научный сотрудник отдела вирусологических и молекулярно-генетических методов диагностики, Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства. ORCID 0000-0003-1791-7045.

E-mail: pancu43@gmail.com.

Цай Виктория Викторовна, младший научный сотрудник отдела вирусологических и молекулярно-генетических методов диагностики, Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства. ORCID 0000-0001-6488-8369.

E-mail: viktoriya14054@gmail.com.

Анисенкова Анна Юрьевна, канд. мед. наук, доцент, врач-терапевт, кардиолог, заведующий терапевтическим отделением, Городская боль-

Information about the authors

Oleg S. Glotov, Cand. Sci. (Biol.), Head of Department of Virological and Molecular Genetic Methods of Diagnostics, Children's Scientific and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical and Biological Agency. ORCID 0000-0002-7465-4504.

E-mail: olglotov@mail.ru.

Alexander N. Chernov, Research Scientist, Institute of Experimental Medicine. ORCID 0000-0003-2464-7370.

E-mail: al.chernov@mail.ru.

Anton I. Korobeynikov, Cand. Sci. (Phys.-Math.), Associate Professor, Department of Statistical Modelling, Saint Petersburg State University. ORCID 0000-0002-2937-9259.

E-mail: a.korobeynikov@spbu.ru.

Roman S. Kalinin, Junior Research Scientist, Department of Virological and Molecular Genetic Methods of Diagnostics, Children's Scientific and Clinical Center for Infectious Diseases, Federal Medical and Biological Agency. ORCID 0000-0003-1791-7045.

E-mail: pancu43@gmail.com.

Viktoria V. Tsai, Junior Research Scientist, Department of Virological and Molecular Genetic Methods of Diagnostics, Children's Scientific and Clinical Center for Infectious Diseases, Federal Medical and Biological Agency. ORCID 0000-0001-6488-8369.

E-mail: viktoriya14054@gmail.com.

Anna Yu. Anisenkova, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Internist, Cardiologist, Head of Internal Medicine Department, City Hospital No. 40 of

ница № 40 Курортного административного района. ORCID 0000-0001-5642-621X.

E-mail: anna_anisenkova@list.ru.

Уразов Станислав Петрович, врач-кардиолог, Городская больница № 40 Курортного административного района. ORCID 0000-0002-5441-2911.

E-mail: urasta@list.ru.

Лapidус Алла Львовна, канд. биол. наук, директор Центра биоинформатики и алгоритмической биологии, Санкт-Петербургский государственный университет. ORCID 0000-0003-0427-8731.

E-mail: a.lapidus@spbu.ru.

Мосенко Сергей Викторович, канд. мед. наук, врач-невролог высшей категории, Городская больница № 40 Курортного административного района. ORCID 0000-0002-1357-4324.

E-mail: neurologist@mail.ru.

Щербак Сергей Григорьевич, д-р мед. наук, профессор, главный врач Городской больницы № 40 Курортного административного района. ORCID 0000-0001-5047-2792.

E-mail: sgsherbak@mail.ru.

 **Глотов Олег Сергеевич**, e-mail: olglotov@mail.ru.

Kurortny Administrative District. ORCID 0000-0001-5642-621X.

E-mail: anna_anisenkova@list.ru.

Stanislav P. Urazov, Cardiologist, City Hospital No. 40 of Kurortny Administrative District. ORCID 0000-0002-5441-2911.

E-mail: urasta@list.ru.

Alla L. Lapidus, Cand. Sci. (Biol.), Director of Center for Bioinformatics and Algorithmic Biotechnology, Saint Petersburg State University. ORCID 0000-0003-0427-8731.

E-mail: a.lapidus@spbu.ru.

Sergei V. Mosenko, Cand. Sci. (Med.), City Hospital No. 40 of Kurortny Administrative District. ORCID 0000-0002-1357-4324.

E-mail: neurologist@mail.ru.

Sergei G. Shcherbak, Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Physician, City Hospital No. 40 of Kurortny Administrative District. ORCID 0000-0001-5047-2792.

E-mail: sgsherbak@mail.ru.

 **Oleg S. Glotov**, e-mail: olglotov@mail.ru.

Received September 30, 2021

Поступила 30.09.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-144-155>
УДК 577.214/.215:618.36

Анализ коэкспрессии генов плацентарного транскриптома как основа для поиска ключевых сигнальных путей и биомаркеров больших акушерских синдромов

Е.А. Трифонова^{1,2}, А.В. Марков¹, А.А. Зарубин¹, А.А. Бабовская¹,
И.Г. Куценко², Т.В. Габидулина², Е.В. Ижойкина², В.Н. Сереброва¹,
В.А. Степанов¹

¹ Научно-исследовательский институт генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук,

634050, Российская Федерация, Томск, наб. р. Ушайки, 10

² Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации,

634050, Российская Федерация, Томск, Московский тракт, 2

Аннотация

Цель: изучение молекулярных механизмов развития заболеваний группы больших акушерских синдромов (БАС) на уровне транскриптома материнской части плаценты человека.

Материал и методы. С помощью базы данных Gene Expression Omnibus (GEO) был осуществлен поиск результатов полногеномного профилирования плацентарной ткани человека для следующих фенотипов: физиологическая беременность, преэклампсия (ПЭ), невынашивание беременности и задержка роста плода (ЗРП). Было отобрано 11 наборов данных, которые были дополнены результатами собственного исследования, суммарно в интегративный анализ был включен 481 образец плацентарной ткани человека. Биоинформатическая обработка и статистический анализ данных были выполнены в программной среде R 3.6.1 с использованием пакетов Bioconductor. Итоговые наборы данных, объединенные по трем патологиям беременности, были использованы для поиска общих молекулярных мишеней БАС посредством анализа взвешенных сетей коэкспрессии генов (WGCNA). Функциональную аннотацию генов и полученных кластеров осуществляли в базе данных DAVID, сеть белок-белковых взаимодействий продуктов генов была построена с использованием программного обеспечения STRING, центральные гены для сети были идентифицированы с помощью анализа MCC плагина cytoHubba программного обеспечения Cytoscape 3.7.2.

Результаты. Получена таблица уровней экспрессии 15167 генов в 246 образцах. Иерархическая кластеризация этой сети позволила обнаружить 55 модулей коэкспрессирующихся генов в группе с ПЭ, 109 – в группе с преждевременными родами (ПР), 75 – для больных ЗРП и 56 – для контрольной группы. Результаты анализа общности набора модулей коэкспрессии для изучаемых фенотипов свидетельствуют о наличии общего кластера, состоящего из 8 генов, специфичного только для больных ПЭ и ЗРП, а также модуля коэкспрессии из 23 генов, характерного только для больных ПР и ЗРП. Для данных генов была построена сеть белок-белковых взаимодействий, в которой центральное место заняли гены *SOD1*, *TXNRD1* и *UBB*. Оценив топологию сети в cytoHubba, были идентифицированы 6 наиболее функционально активных генов ($\text{rank} < 5$): *SOD1*, *TKT*, *TXNRD1*, *GCLM*, *GOT1*, *ACO1*.

Заключение. Полученные результаты позволили идентифицировать перспективные генетические маркеры преэклампсии, задержки роста плода и невынашивания беременности, а также обозначить наиболее важные общие молекулярные механизмы данных заболеваний, протекающие в плацентарной ткани.

Ключевые слова: большие акушерские синдромы, коэкспрессия генов, плацента, интегративный анализ.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность финансовой деятельности: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Администрации Томской области в рамках научных проектов № 18-29-13045, № 18-44-70007.

Бабовская Анастасия Александровна, e-mail: anastasia.babovskaya@medgenetics.ru.

Для цитирования:

Трифонова Е.А., Марков А.В., Зарубин А.А., Бабовская А.А., Куценко И.Г., Габидулина Т.В., Ижойкина Е.В., Сереброва В.Н., Степанов В.А. Анализ коэкспрессии генов плацентарного транскриптома как основа для поиска ключевых сигнальных путей и биомаркеров больших акушерских синдромов. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2021;36(4):144–155. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-144-155>.

Co-expression analysis of placental genes in the search for key signaling pathways and biomarkers of the great obstetrical syndromes

Ekaterina A. Trifonova^{1,2}, Anton V. Markov¹, Aleksei A. Zarubin¹,
Anastasia A. Babovskaya¹, Irina G. Kutsenko², Tatyana V. Gabidulina²,
Ekaterina V. Izhoikina², Victoria N. Serebrova¹, Vadim A. Stepanov¹

¹ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 10, Nab. Ushaiki, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Siberian State Medical University, 2, Moscovsky tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

Abstract

Objective. To study the molecular mechanisms responsible for the development of diseases grouped within the great obstetrical syndromes (GOS) at the level of the transcriptome of human maternal placenta.

Material and Methods. We gathered the results of genome-wide transcriptome studies of the human placental tissue using Gene Expression Omnibus (GEO) data repository for the following phenotypes: physiological pregnancy, preeclampsia (PE), premature birth, and intrauterine growth restriction (IUGR). Eleven data sets were selected and supplemented with our experimental data; a total of 481 samples of human placental tissue were included in the integrative analysis. Bioinformatic data processing and statistical analyses were performed in the R v3.6.1 software environment using the Bioconductor packages. The pooled dataset was used to search for common molecular targets for GOS via weighted gene co-expression network analysis (WGCNA). The functional annotation of genes and the resulting clusters was carried out with the DAVID database; protein-protein interaction network was built using the STRING software; and the hub genes for the network were identified using the MCC analysis with plugin cytoHubba in Cytoscape software 3.7.2.

Results. We obtained a table of expression levels for 15,167 genes in 246 samples. Hierarchical clustering of this network allowed to find 55 modules of co-expressed genes in the group with PE, 109 modules in the group with PB, 75 modules in patients with IUGR, and 56 modules in the control group. The preservation analysis of co-expressed modules for the studied phenotypes suggested the presence of a common cluster comprising eight genes specific only for patients with PE and IUGR, as well as the module of 23 co-expressed genes typical only for patients with PB and IUGR. Protein-protein interaction network was built for these gene sets, and the *SOD1*, *TXNRD1*, and *UBB* genes were the central nodes in the network. Based on network topology evaluation with cytoHubba, six hub genes (rank < 5) were identified as follows: *SOD1*, *TKT*, *TXNRD1*, *GCLM*, *GOT1*, and *ACO1*.

Conclusion. The obtained results allowed to identify promising genetic markers for preeclampsia, intrauterine growth restriction, and miscarriage. Moreover, the study also made it possible to identify the most important overlapping molecular mechanisms of these diseases occurring in the placental tissue.

Keywords:

great obstetrical syndromes, gene co-expression, placenta, integrative analysis.

Conflict of interest:

the authors do not declare a conflict of interest.

Financial disclosure:

the research was funded by RFBR and Tomsk region, projects No. 18-29-13045 and No. 18-44-700007.

For citation:

Trifonova E.A., Markov A.V., Zarubin A.A., Babovskaya A.A., Kutsenko I.G., Gabidulina T.V., Izhoikina E.V., Serebrova V.N., Stepanov V.A. Co-expression analysis of placental genes in the search for key signaling pathways and biomarkers of the great obstetrical syndromes. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2021;36(4):144–155. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-144-155>.

Введение

Появившаяся более 10 лет назад благодаря работам G. Di Renzo и R. Romero [1, 2] концепция об общности патогенетических процессов, ассоциированных с возникновением тяжелых гестационных осложнений, задала новый вектор в изучении патологии беременности и заставила по иному взглянуть на роль провизорных органов, в частности, плаценты, в генезе так называемых больших акушерских синдромов (БАС), к которым относят преэклампсию (ПЭ), задержку роста плода (ЗРП), преждевременный разрыв плодных оболочек, преждевременные роды (ПР) и невынашивание беременности (НБ). К ключевым признакам, характеризующим заболевания из группы БАС, авторы концепции относят полиэтиологичность, длительную преклиническую стадию, частое вовлечение плода, присутствие клинических проявлений, часто являющихся адаптивными по своей природе, наличие предрасположенности к определенному синдрому, зависящей от взаимодействия генов и окружающей среды и/или комплексного ген-генного взаимодействия материнского и/или фетального генотипов [2].

Несмотря на то, что перечисленные акушерские заболевания обуславливают существенную долю перинатальных потерь, а также материнской заболеваемости и смертности в мире и России, анализ современной научной литературы свидетельствует о том, что мы все еще очень далеки от ясного понимания этиологических факторов и патогенеза данных патологических состояний беременности. Однако появившиеся и ставшие доступными в последние годы не только для теоретических изысканий, но и для прикладных научных медицинских исследований современные высокоинформативные молекулярно-генетические методы дают надежду на появление новых знаний, на основе которых будут разработаны патогенетические модели БАС, предложены методы их прогноза и профилактики.

В данном контексте особую актуальность приобретают исследования патофизиологических механизмов осложнений беременности с позиции единого генеза, детерминированного морфофункциональными нарушениями в фетоплацентарной системе, с акцентом на изучение молекулярных процессов, происходящих в плацентарной ткани.

Необходимо отметить, что в последнее десятилетие было проведено более 50 исследований транскриптома с целью поиска генетических факторов, связанных с различными акушерскими заболеваниями, в которых было выявлено достоверное повышение/снижение экспрессии нескольких сотен генов в плацентарной ткани и крови пациенток с репродуктивной патологией по сравнению с женщинами с физиологической беременностью [3–12]. Эти данные полезны для более глубокого понимания патогенеза гестационных осложнений, однако взаимосвязи между экспрессией генов и регуляцией генных сетей остаются малоизученными.

Цель нашей работы: характеристика молекулярных механизмов и поиск новых генов, определяющих развитие заболеваний группы БАС, в рамках анализа генных сетей и сетей коэкспрессии генов, построенных на основе транскриптомных данных, полученных при полномном экспрессионном профилировании плацентарной ткани.

Материал и методы

В представленной работе с целью поиска транскриптомных данных, полученных на выборках пациенток из группы БАС и женщин с физиологической беременностью (объект исследования – материнская (дистальная) часть плаценты), были использованы следующие варианты запроса в поисковой строке баз данных GEO (Gene Expression Omnibus; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds>) и ArrayExpress (<http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress>): «preeclampsia, placenta»; «preeclampsia, decidua»; «preeclampsia, basal plate»; «premature birth, premature delivery, prematurity, preterm delivery, obstetric labor, premature, preterm labor, placenta»; «premature birth, premature delivery, prematurity, preterm delivery, obstetric labor, premature, preterm labor, decidua»; «premature birth, premature delivery, prematurity, preterm delivery, obstetric labor, premature, preterm labor, basal plate»; «fetal growth retardation, intrauterine growth restriction, small gestational age, placenta»; «fetal growth retardation, Intrauterine Growth Restriction, small gestational age, decidua»; «fetal growth retardation, Intrauterine Growth Restriction, small gestational age, basal plate»; «abortion, spontaneous abortion, miscarriage, placenta»; «abortion, spontaneous abortion, miscarriage, decidua»; «abortion, spontaneous abortion, miscarriage, basal plate». Для анализа нами были выбраны следующие четыре наиболее распространенных патологии из группы больших акушерских синдромов: ПЭ, невынашивание беременности (ПР и самопроизвольный выкидыш), ЗРП. Всего было найдено 30 исследований с выгруженными наборами данных, характеризующих транскриптом плацентарной ткани человека при выбранных фенотипах (E-MTAB-5353, GSE10588, GSE12216, GSE14722, GSE22490, GSE24129, GSE25861, GSE25906, GSE25906, GSE30186, GSE35574, GSE35574, GSE44711, GSE4707, GSE47187, GSE54618, GSE60438, GSE6573, GSE73374, GSE73377, GSE73685, GSE73712, GSE74341, GSE75010, GSE91077, GSE91189, GSE93839, GSE94643, GSE94644, GSE96985), которые были дополнены результатами собственного исследования [12].

Из всего спектра опубликованных в GEO и ArrayExpress наборов данных были использованы только те, которые удовлетворяли следующим критериям: 1) оценки количества транскриптов в образцах представлены в виде сигналов свечения соответствующих ДНК-зондов (детектируемых технологией одноцветного мечения), сравнимого диапазона интенсивности; 2) не менее 30000 ДНК-зондов на микрочип для более обширного покрытия спектра возможных транскриптов; 3) ткани, в которых проводилось транскриптомное профилирование, включали материнскую (дистальную) часть плаценты; 4) забор материала на исследование проводился в третьем триместре беременности; 5) дизайн эксперимента включал группу больных и группу с нормальной (физиологической) беременностью, количество индивидов в группе сравнения было не менее 2. Согласно данным критериям, было отобрано 11 наборов данных, полученных при использовании коммерческих микрочиповых платформ Illumina и Affymetrix (табл. 1). Суммарное количество анализируемых в интегративном анализе образцов плацентарной ткани человека составило 481. Необходимо отметить, что было найдено всего 4 исследования, в которых было проведено транскриптомное профилирование плацентарной ткани при ПР и ЗРП. Основной массив данных был получен для такого фенотипа, как ПЭ (см. табл. 1).

Таблица 1. Данные, включенные в интегративный анализ (данные из БД GEO и результаты собственных исследований), описывающие результаты профилирования транскриптома плацентарной ткани человека (дистальная часть) при преэклампсии, невынашивании беременности и задержке роста плода

Table 1. Data included in the integrative analysis (datasets from the GEO database and the results of own studies) describing the results of profiling the transcriptome of human placental tissue (distal part) in preeclampsia, pregnancy loss, and intrauterine growth restriction

БАС GOS	Набор данных Datasets	Количество пациентов с БАС Number of patients with GOS	Количество человек в контрольной группе Number of people in control group	Тип тканей Type of tissue	Микроочиповая платформа Microarray platform	Число ДНК-проб Number of DNA samples	Ссылка на публикацию References
Преэклампсия Preeclampsia	GSE25906	23	37	Плацента Placenta	Illumina HumanWG-6 BeadChip v2.0	48702	[13]
	GSE30186	6	6	Плацента Placenta	Illumina HumanHT-12 BeadChip v4.0	48107	[14]
	GSE35574	19	40	Плацента Placenta	Illumina HumanWG-6 BeadChip v2.0	48702	[15]
	GSE44711	8	8	Ворсины хориона Chorionic villi	Illumina HumanHT-12 BeadChip v4.0	48107	[16]
	GSE60438	35	42	Decidua basalis	Illumina HumanHT-12 BeadChip v4.0	48107	[17]
	GSE6573	2	2	Decidua basalis	Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0	54675	[18]
	GSE73374	19	17	Плацента Placenta	Affymetrix Human Gene 2.0 ST Array	53617	[19]
	GSE94643	8	8	Decidua basalis, Decidua parietalis	Affymetrix Human Gene 2.0 ST Array	53617	[20]
Собствен-ные данные Data of own studies	22	22	Плацента Placenta	Illumina HumanHT-12 BeadChip v4.0	48107	[12]	
Задержка развития плода Intrauterine growth re- striction	GSE35574	35	40	Плацента Placenta	Illumina HumanWG-6 BeadChip v2.0	48702	[15]
	GSE24129	8	8	Плацента Placenta	Affymetrix Human Gene 1.0 ST Array	33297	[21]
Преждевременные роды Premature birth	GSE73685	20	36	Плацента Placenta, Decidua basalis	Affymetrix Human Gene 1.0 ST Array	33297	[22]
	GSE22490	4	6	Плацента Placenta	Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array	54675	[23]

Биоинформатическая обработка и статистический анализ данных были выполнены в программной среде R 3.6.1 (<http://www.R-project.org>) с использованием специализированных пакетов проекта Bioconductor (<https://www.bioconductor.org/>). Доступ к ресурсам GEO осуществлен с помощью программного пакета GEOquery [24]. Наборы данных были преобразованы с помощью log₂-трансформации и нормализации: методом квантильной нормализации для микроочипов Illumina и согласно алгоритму

RMA (Robust Multi-array Average) – в случае микроочипов Affymetrix. С помощью инструмента biomaRt [25] были получены идентификаторы генов из геномного браузера Ensembl для соответствующих ДНК-проб микроочипов. Затем для каждой патологии беременности в отдельности были найдены списки ДНК-проб, общих для разных наборов данных и разных микроочиповых платформ, согласно идентификаторам генов. Если на микроочиповой платформе на один ген приходилось несколько ДНК-проб, опреде-

ляющих разные транскрипты, отбирались только те пробы, которые имели наибольшую вариабельность сигнала в группе образцов из соответствующего исследования. Таким образом, для наборов данных по ПЭ идентифицировано 15747 общих ДНК-проб, для внутриутробной ЗРП – 17367 проб, а для ПР – 18061 проба. Итоговые наборы данных, объединенные по трем патологиям беременности (ПЭ, ЗРП, ПР), были использованы для поиска общих молекулярных мишеней БАС посредством анализа взвешенных сетей коэкспрессии генов (WGCNA) [26]. Аннотацию генов и полученных кластеров осуществляли в базе данных DAVID и с помощью ресурса Molecular Signatures Database (MSigDB), вычислительного метода «Gene Set Enrichment Analysis» сеть белок-белковых взаимодействий продуктов генов была построена с использованием онлайн-инструмента STRING [27], центральные гены (со степенью связанности узла (рангом) < 5) для сети были идентифицированы с помощью анализа MCC плагина cytoHubba в программном обеспечении Cytoscape 3.7.2. Кроме того, отдельно для каждого кластера мы выделили центральные гены (hub genes), имеющие score $\geq 0,7$, согласно результатам STRING.

Результаты и обсуждение

Благодаря быстро расширяющимся знаниям об интерактоме человека как сложной системе белок-белковых взаимодействий, на сегодняшний день подходы, основанные на построении генных сетей, являются наиболее эффективными и информативными при изучении патогенетики заболеваний. В представленной работе с целью детального изучения молекулярных механизмов

развития БАС на уровне транскриптома плацентарной ткани и идентификации ключевых взаимодействий генов был проведен анализ коэкспрессии генов, позволяющий выявлять модули генов, межмодульные хабы и узлы, основываясь на схожести профиля экспрессии. Сеть коэкспрессии была построена с помощью метода WGCNA [26], для реализации которого проводили предварительную коррекцию известного эффекта группировки по отдельным исследованиям с помощью эмпирического Байесовского алгоритма ComBat в программном пакете sva [28] и выбирали гены, детектированные во всех исследуемых группах. В результате описанных процедур была получена таблица уровней экспрессии 15167 генов в 246 образцах. Иерархическая кластеризация этой сети при выбранных параметрах позволила обнаружить 55 модулей коэкспрессирующихся генов в группе с ПЭ, 109 – в группе с ПР, 75 модулей было выявлено для больных ЗРП, 56 – для контрольной группы (рис. 1).

Результаты анализа соответствия (общности) набора специфических для изучаемых фенотипов модулей коэкспрессии, полученные в парных сравнениях взаимного обогащения модулей транскриптами при помощи точного теста Фишера, свидетельствуют о наличии общего модуля коэкспрессии, специфичного только для больных ПЭ и ЗРП, включающего 8 генов, а также модуля коэкспрессии, состоящего из 23 генов, характерного исключительно для пациенток с ПР и ЗРП (рис. 2, табл. 2). Необходимо отметить, что в представленной работе не было выявлено общего модуля коэкспрессирующихся генов, специфичного только для групп с ПР и ПЭ, а также для всех трех исследуемых фенотипов.

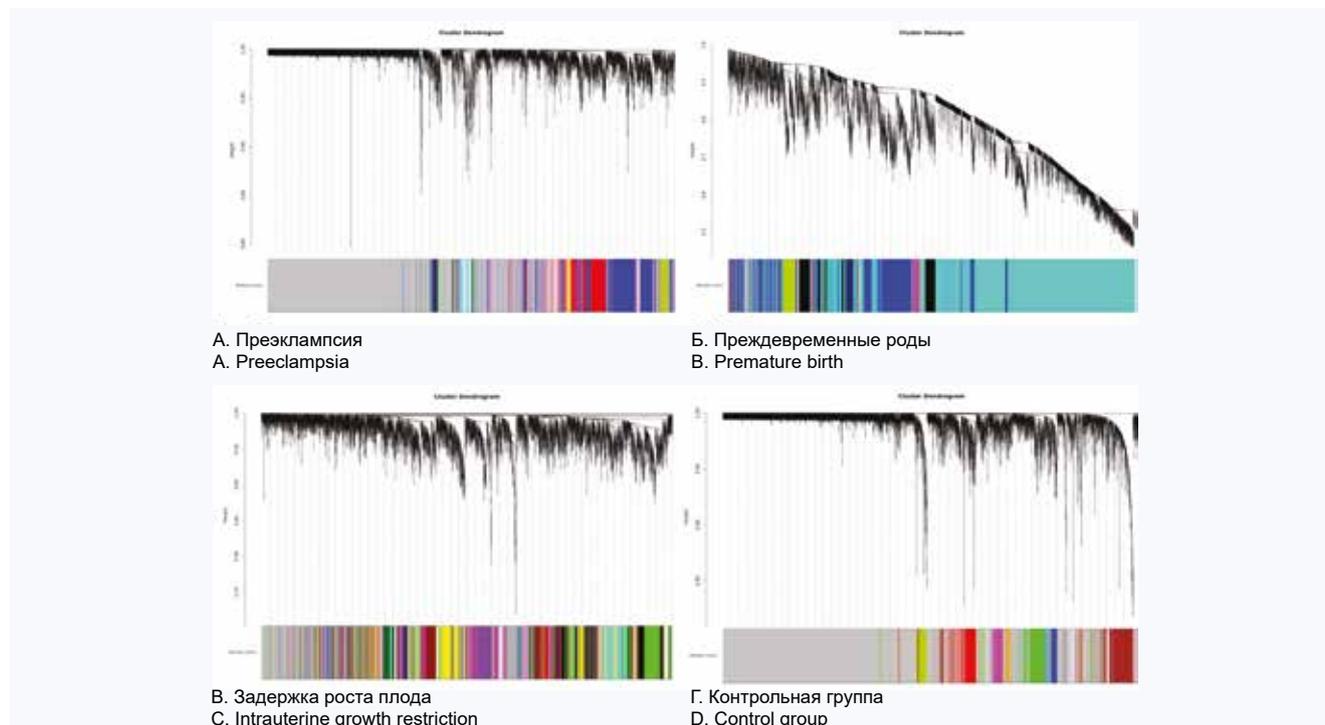
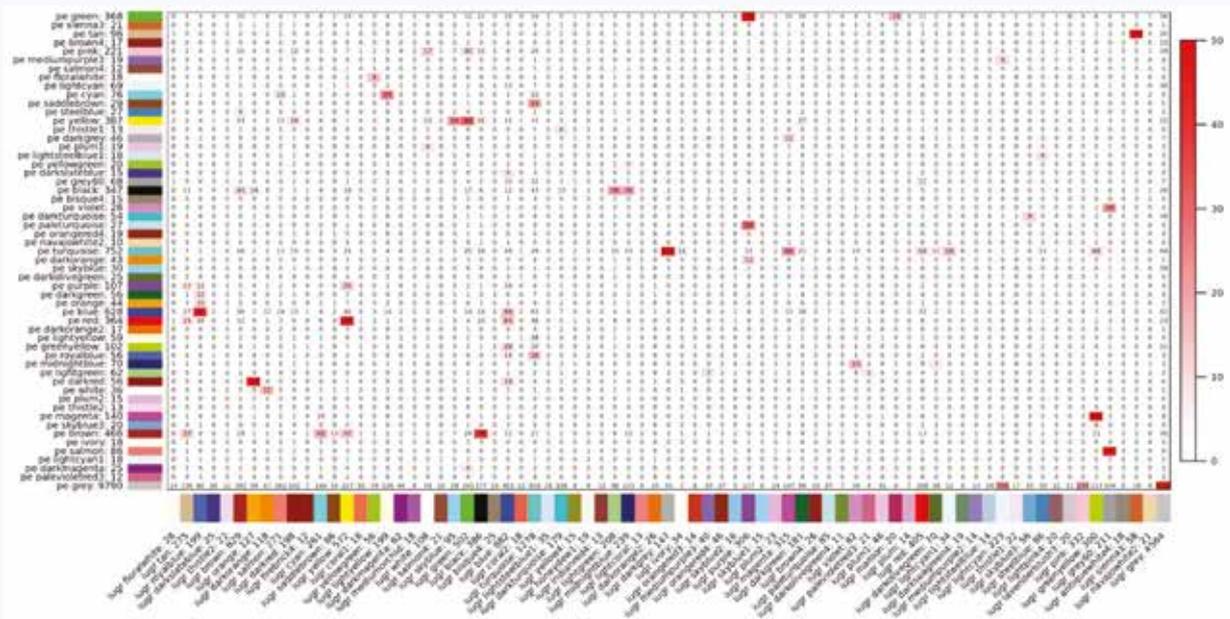


Рис. 1. Результаты кластеризации профилей экспрессии генов методом WGCNA

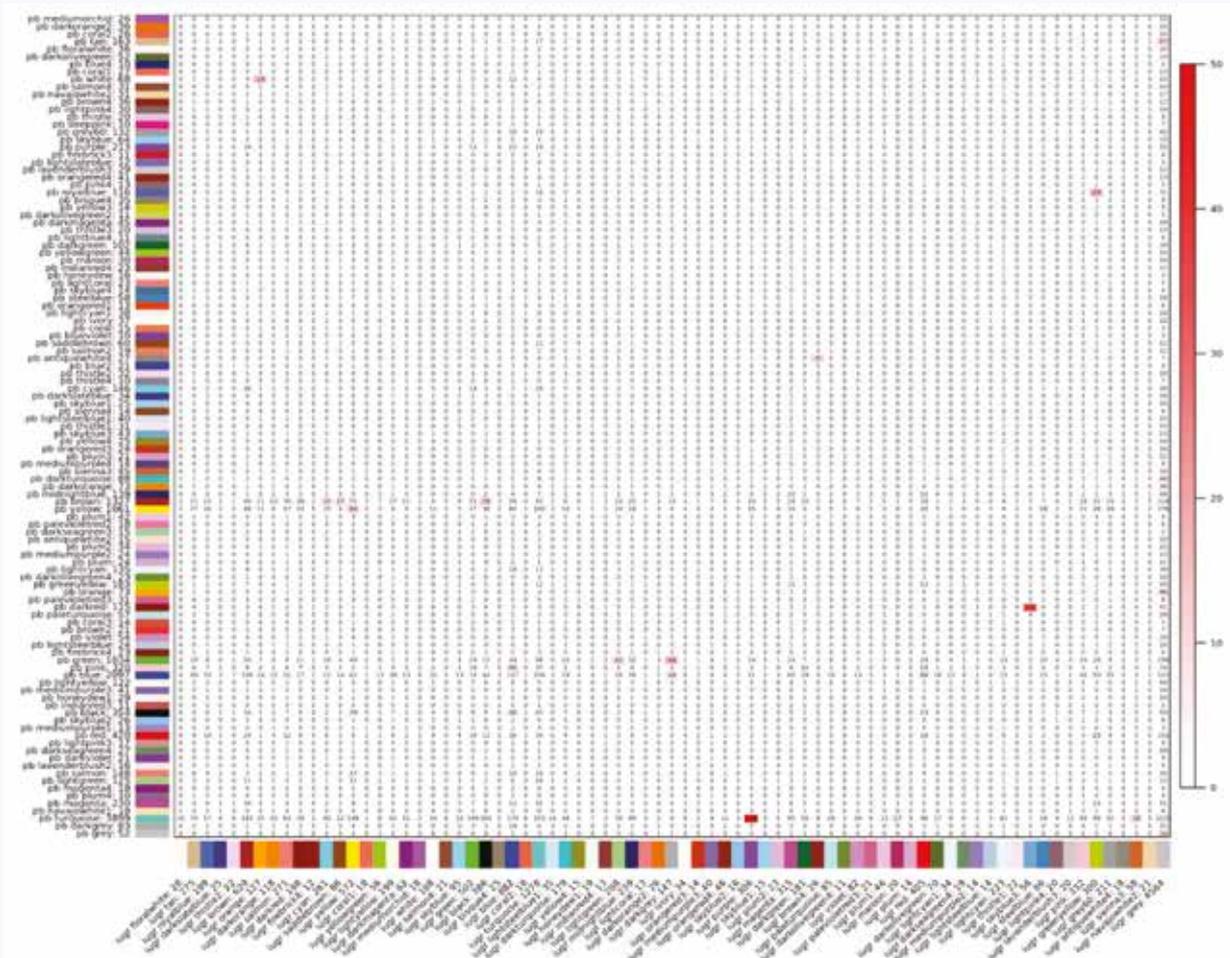
Примечание: сверху представлено дерево, каждая ветвь которого соответствует группе генов со сходными профилями экспрессии. Вертикальная ось описывает расстояния между кластерами. Внизу представлен результат автоматического выделения модулей коэкспрессии на основе полученного дерева кластеризации. Области серого цвета соответствуют группам генов, не вошедшим в состав ни одного из модулей коэкспрессии.

Fig. 1. The results of gene expression clustering using WGCNA

Note: Cluster dendrogram is presented at the top; each branch corresponds to a group of genes with similar expression profiles. The vertical axis describes the distances between clusters. Bottom colored bands is the result of automatic assignment of genes to co-expressed modules based on clustering algorithm and topological similarity of co-expressed genes. Areas of gray color correspond to gene groups not assigned to any module.



А. Результаты попарного сравнения преэклампсии и задержки роста плода
 A. Results of pairwise comparison of preeclampsia and intrauterine growth restriction



Б. Результаты попарного сравнения преэклампсии и задержки роста плода
 B. Results the pairwise comparison of preeclampsia and intrauterine growth restriction

Рис. 2. Результаты анализа соответствия набора специфических для изучаемых фенотипов модулей коэкспрессии
 Fig. 2. Results of analysis of co-expression gene modules specific for the study phenotypes

Таблица 2. Гены, входящие в состав общих модулей коэкспрессии, специфичных для больших акушерских синдромов

Table 2. Genes in the co-expression modules common for the great obstetrical syndromes

Ген Gene	Продукт гена Gene product	Изученные фенотипы/модули Studied phenotypes/modules		
		ПП Premature birth	ПЭ Preeclampsia	ЗПП IUGR
DSG3	Десмоглеин 3 Desmoglein-3	Darkred	grey	skyblue3
KRT14	Кератин 14 Keratin 14	Darkred	magenta	skyblue3
IL22RA1	Альфа-1 субъединица рецептора интерлейкина 22 Interleukin 22 receptor subunit alpha 1	Darkred	grey	skyblue3
KRT17	Кератин 17 Keratin 17	Darkred	magenta	skyblue3
KRT6B	Кератин 6B Keratin 6B	Darkred	grey	skyblue3
FAM83A	Белок FAM83A Family with sequence similarity 83 member A	Darkred	grey	skyblue3
WDR62	Белок 62, содержащий повторы WD WD repeat-containing protein 62	Darkred	grey	skyblue3
C1orf116	Специфически андроген-регулируемый белок Specifically androgen-regulated gene protein	Darkred	darkturquoise	skyblue3
LAMB3	Бета-3 субъединица ламинина Laminin subunit beta 3	Darkred	darkturquoise	skyblue3
HAND1	Белок 1, экспрессируемый производными сердца и нервного гребня Heart- and neural crest derivatives-expressed protein 1	Darkred	grey	skyblue3
ZBED2	Цинковый палец, содержащий домен BED 2 Zinc finger BED-type containing 2	Darkred	darkturquoise	skyblue3
GABRP	Субъединица pi рецептора гамма-аминомасляной кислоты Gamma-aminobutyric acid type A receptor pi subunit	Darkred	darkturquoise	skyblue3
MSLN	Мезотелин Mesothelin	Darkred	darkturquoise	skyblue3
AGR3	Белок переднего градиента-3 Anterior gradient 3, protein disulphide isomerase family member	Darkred	darkturquoise	skyblue3
EDN2	Эндотелин 2 Endothelin 2	Darkred	grey	skyblue3
KRT16	Кератин 16 Keratin 16	darkred	grey	skyblue3
A2ML1	Альфа-2-макроглобулиноподобный белок 1 alpha-2-macroglobulin like 1	Darkred	grey	skyblue3
DSG1	Десмоглеин 1 Desmoglein 1	Darkred	grey	skyblue3
KRT5	Кератин 5 Keratin 5	Darkred	grey	skyblue3
SFN	Стратифин Stratifin	Darkred	darkturquoise	skyblue3
HRASLS2	Фосфолипаза A и ацилтрансфераза 2 HRAS-like suppressor 2	Darkred	grey	skyblue3
NGEF	Эфексин-1 Neuronal guanine nucleotide exchange factor	Darkred	grey	skyblue3
SPRR3	Малый белок 3, богатый пролином Small proline-rich protein 3	Darkred	grey	skyblue3
PRPF40A	Фактор 40 пре-мРНК-процессинга, гомолог A Pre-mRNA-processing factor 40 homolog A	Salmon	floralwhite	yellowgreen
ZC3H11B	Цинковый палец CCCH-тип, содержащий белок 11B Zinc finger CCCH-type containing 11B	Yellow	floralwhite	yellowgreen
ZNF148	Белок цинковых пальцев 148 Zinc finger protein 148	Lightgreen	floralwhite	yellowgreen
AGO2	Белок-аргонавт 2 Argonaute RISC catalytic component 2	Blue	floralwhite	yellowgreen
TNPO1	Транспортин-1 Transportin 1	Salmon	floralwhite	yellowgreen

Окончание табл. 2
End of table 2

Ген Gene	Продукт гена Gene product	Изученные фенотипы/модули Studied phenotypes/modules		
		ПР Premature birth	ПЭ Preeclampsia	ЗРП IUGR
ZRANB1	Убиквитин тиоэстераза ZRANB1 Zinc finger RANBP2-type containing 1	Thistle	floralwhite	yellowgreen
TAOK1	Серин/треонин-протеинкиназа TAO1 Serine/threonine-protein kinase TAO1	Steelblue	floralwhite	yellowgreen
NUFIP2	Ядерный белок 2, взаимодействующий с FMR1 Nuclear FMR1 interacting protein 2	brown	floralwhite	yellowgreen

Результаты функциональной аннотации генов, входящих в состав общих модулей коэкспрессии, специфичных для БАС, с помощью ресурса Molecular Signatures Database (MSigDB), вычислительного ме-

тода «Gene Set Enrichment Analysis» свидетельствуют о статистически значимой принадлежности 19 генов из данного массива к девяти категориям, описанным в таблице 3.

Таблица 3. Наиболее значимые категории, полученные с помощью ресурса MSigDB, обогащенные генами, входящими в состав общих модулей коэкспрессии, специфичных для больших акушерских синдромов

Table 3. The most significant categories obtained using the MSigDB resource and enriched by the genes from the overlapping co-expressed gene modules specific for great obstetrical syndromes

Категория Category	Краткая характеристика категории Brief description of the category	Количество генов Number of genes	FDR FDR
JAEGER_METASTASIS_DN	Гены, экспрессия которых подавляется в метастазах злокачественной меланомы по сравнению с первичными опухолями Genes down-regulated in metastases from malignant melanoma compared to the primary tumors	11	1.25E-13
GOBP_KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION	Процесс дифференцировки неспециализированных клеток в кератиноциты The process in which a relatively unspecialized cell acquires specialized features of a keratinocyte	10	1.43E-10
SMID_BREAST_CANCER_BASAL_UP	Гены, экспрессия которых активируется в образцах базальноподобного рака молочной железы Genes up-regulated in samples of basal-like breast cancer	12	3.41E-11
RICKMAN_TUMOR_DIFFERENTIATED_WELL_VS_POORLY_DN	Гены, дифференциально экспрессирующиеся между группами HNSCC (плоскоклеточная карцинома головы и шеи) Genes differentially expressed between HNSCC groups (head and neck squamous cell carcinoma)	10	2.15E-10
MODULE_153	Гены, входящие в опухолевый модуль 153 Genes in the cancer module 153	6	2.34E-10
KOINUMA_TARGETS_OF_SMAD2_OR_SMAD3	Гены, промоторы которых связаны с факторами SMAD2 или SMAD3 в клетках HaCaT (кератиноциты), согласно ChIP-chip анализу Genes with promoters occupied by SMAD2 or SMAD3 [GeneID = 4087, 4088] in HaCaT cells (keratinocyte) according to a ChIP-chip analysis	12	2.34E-10
ONDER_CDH1_TARGETS_2_DN	Гены, гипоекспрессирующиеся в клетках HMLE (иммортиализованный/трансформированный эпителий молочной железы) после нокдауна с помощью RNAi гена CDH1, кодирующего E-кадгерин Genes down-regulated in HMLE cells (immortalized nontransformed mammary epithelium) after E-cadherin (CDH1) [GeneID = 999] knockdown by RNAi	10	7.44E-10
TURASHVILI_BREAST_DUCTAL_CARCINOMA_VS_DUCTAL_NORMAL_DN	Гены, гипоекспрессирующиеся в протоковой карциноме по сравнению с нормальными протоковыми клетками молочной железы Genes down-regulated in ductal carcinoma vs normal ductal breast cells	8	1.41E-9
SMID_BREAST_CANCER_LUMINAL_B_DN	Гены, гипоекспрессирующиеся при люминальном В подтипе протоковой карциномы молочной железы Genes down-regulated in the luminal B subtype of breast cancer	10	3.42E-9

Примечательно, что шесть из девяти обнаруженных категорий связаны с различными онкологическими заболеваниями. Необходимо отметить, что проблема взаимоотношений беременности и роста злокачественных новообразований занимает особое место в современной медицине. В первую очередь, интерес к данной проблеме обусловлен сходством обоих процессов по многим признакам на молекулярном, клеточно-тканевом и организменном уровнях, включая изменения нейроэндокринного, иммунного и метаболического статуса организма, сходные фенотипические свойства эмбриональных и злокачественных клеток, такие как способность к инвазивному росту, аутокринной секреции ростовых факторов, индукции микроциркуляции, «ускользанию» из-под иммунного надзора организма и другие [29].

В рамках данной проблемы особое внимание исследователей в последние годы уделяется поиску общих сигнальных путей инвазии клеток трофобласта в децидуальную ткань плаценты и процессов опухолевой инвазии. Показано, что клетки вневорсинчатого трофобласта и раковые клетки демонстрируют очень похожий молекулярный фенотип как на уровне транскрипционной активности генов, так и на уровне метилирования промоторов [30–32]. Следует отметить, что клетки трофобласта с их способностью к пролиферации и дифференцировке, апоптозу и выживанию, миграции, ангиогенезу и иммунной модуляции, использующие в процессе инвазии сход-

ные с раковыми процессами молекулярные пути, делают их привлекательной моделью для изучения рака. Таким образом, представляются чрезвычайно перспективными дальнейшие исследования, характеризующие функциональную роль идентифицированных генов в ген-генных сетях БАС и онкологических заболеваний, что может обеспечить не только новые стратегии профилактики и терапии акушерской патологии, но и лучшее понимание молекулярных механизмов развития злокачественных новообразований.

Представленная на рисунке 3 сеть белок-белковых взаимодействий продуктов генов, полученная с помощью базы данных STRING, подтверждает взаимосвязи между генами, выявленные при анализе взвешенных сетей коэкспрессии генов. Центральное место в данной сети с наибольшим числом взаимодействий занимают гены *SOD1*, *TXNRD1* и *UBB*, кодирующие соответственно супероксиддисмутазу I типа (антиоксидантный фермент, катализирующий превращение супероксид-анионов в молекулярный кислород и пероксид водорода), цитозольную форму тиоредоксинредуктазы (селеноцистеинсодержащий флавофермент, восстанавливающий тиоредоксины и играющий ключевую роль в окислительно-восстановительном гомеостазе) и убиквитин, принимающий участие в активации или ингибировании активности белков, их транспорте, процессинге, а также деградации.

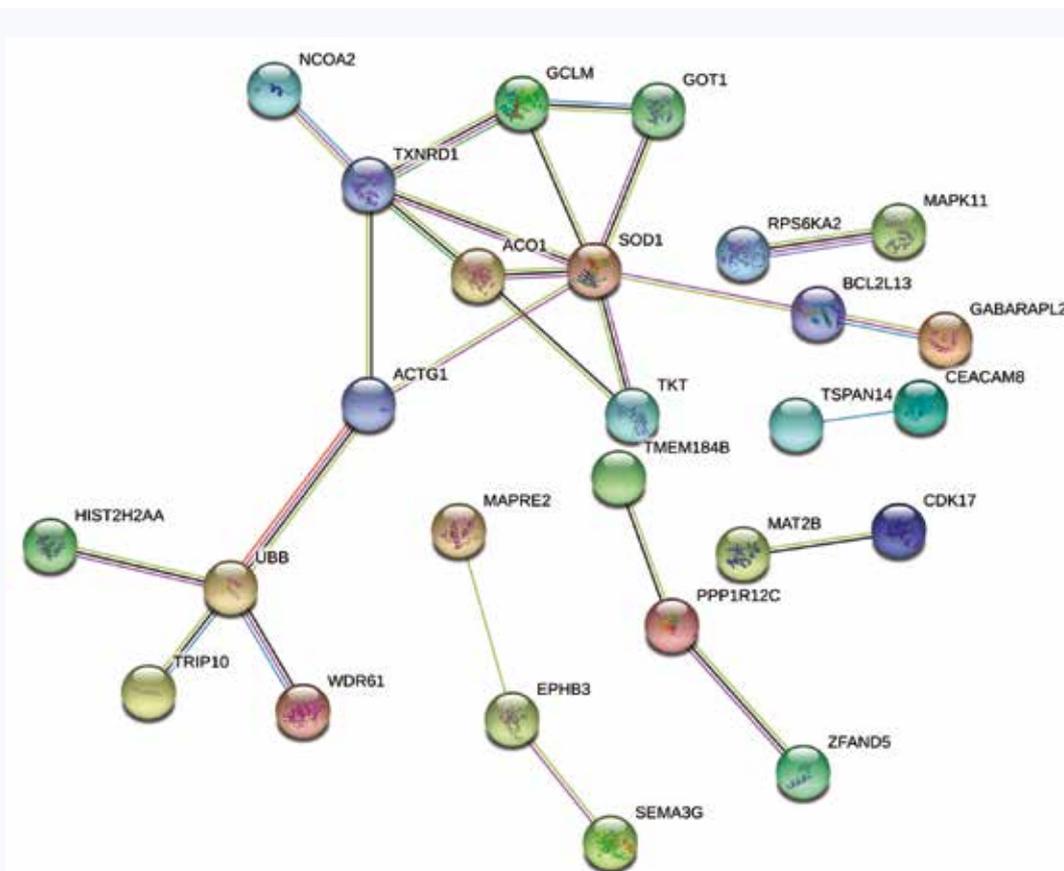


Рис. 3. Белок-белковые взаимодействия продуктов генов, ассоциированных с большими акушерскими синдромами, по данным анализа транскриптома

Fig. 3. Protein-protein interactions of great obstetrical syndrome-associated genes according to data of transcriptome analysis

При анализе данной сети, включающей 26 протеинов, кодируемых изучаемыми генами, были выявлены только 7 генов, для которых доверительный уровень взаимодействий (combined score) составляет более 0,9: *CEACAM8*, *NCOA2*, *TRIP10*, *TSPAN14*, *TXNRD1*, *UBB*, *WDR61*. Продукты некоторых из этих генов, согласно известным на сегодняшний день данным об их функциональных особенностях, вполне могут быть вовлечены в молекулярные механизмы исследуемой патологии.

В представленной работе топология сети была проанализирована также с использованием плагина cytoHubba программного обеспечения Cytoscape. Для каждого узла (белка) сети была посчитана степень, учитывающая количество взаимодействий с соседними узлами, длину связи, а также тенденцию белков к образованию кластеров. В результате были идентифицированы 6 генов, характеризующиеся наиболее высокими значениями данного показателя (rank < 5): *SOD1*, *TKT*, *TXNRD1*, *GCLM*, *GOT1*, *ACO1*. Основными центральными генами рассматриваемой сети выступают локусы *SOD1* и *TKT* (rank = 1), вовлеченные в сигнальные пути, связанные с окислительным стрессом (ген *SOD1*), пентозофосфатным циклом и циклом Кальвина (ген *TKT*).

Известно, что окислительный стресс обуславливает в плацентарной ткани важные физиологические функции, участвуя в запуске механизмов дифференцировки клеток, повреждении трофобласта и прогрессирующей дегенерации ворсинки при формировании плодных оболочек, стимуляции выработки различных трофобластических белков, таких как хорионический гонадотропин и эстрогены. Тем не менее, при невозможности регуляции свободных радикалов антиоксидантной системой в плацентарной ткани наблюдается резко повышенный уровень маркеров окислительного стресса, что может приводить к повреждению ворсинчатого дерева и патологическому течению беременности, в частности, ПЭ, плацентарной недостаточности, неразвивающейся беременности. Так, в работе F.C. Donabela и соавт. (2015) более высокая экспрессия гена *SOD1* обнаружена в кумулюсных клетках женщин, страдающих бесплодием в сочетании с эндометриозом, которые прошли контролируемую стимуляцию яичников для интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ) [33].

Гипоэкспрессия гена *SOD1* в плацентарной ткани выявлена при развитии преэклампсии по сравнению с физиологической беременностью [34], аналогичные данные были получены и для ПР [35]. Наряду с этим продемонстрировано, что ген *SOD1* гиперэкспрессируется при раке молочной железы, а сверхэкспрессия супероксиддисмутазы (белка, кодируемого этим геном) наблюдается при опухолях легких и молочной железы [36, 37].

Центральным геном рассматриваемой сети является также локус *TKT*, кодирующий транскетолазу. В литературе отсутствуют данные о вариабельности экспрессии данного гена при физиологической и патологической беременности человека, однако полногеномный анализ ассоциаций, проведенный при исследовании финской когорты новорожденных, выявил ассоциацию маркера rs4687715, являющегося eQTL гена *TKT*, с таким фенотипом, как гестационный возраст более 42 нед. [38]. Известно, что ген *TKT* кодирует белок, участвующий в основных метаболических путях углеводов, связывая пентозофосфатный путь с гликолизом. Этот процесс приводит к снижению синтеза никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН), который вовлечен в регуляцию генерации активных форм кислорода, отвечающих за формирование состояния окислительного стресса. Недостаточная экспрессия гена *TKT* у мышей способствует развитию беременности, характеризующейся меньшим количеством потомства, задержке постнатального роста и снижению уровней жировой ткани у потомства [39]. Показано также, что дисрегуляция активности транскетолазы играет важную роль в нарушении скорости роста клеток, прогрессии клеточного цикла и созревании ооцитов [38].

В контексте рассматриваемой общности молекулярных механизмов онкологических и репродуктивных заболеваний интересными представляются данные, демонстрирующие значимость *TKT* и пентозофосфатного пути в развитии окислительного стресса, этиологии и фармакогенетике рака. Так, выявлено, что *TKT* усиливает пролиферацию и миграцию клеток гепатоцеллюлярной карциномы, а также их жизнеспособность в условиях окислительного стресса *in vitro* и темп роста и метастазирования *in vivo*. Более того, нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза раковых клеток вследствие генетического нокаута гена *TKT* или фармакологического ингибирования транскетолазы повышает чувствительность раковых клеток к существующей антиоксидантной таргетной терапии [40, 41].

Таким образом, проведенный интегративный анализ транскриптомных данных, анализ сетей белок-белковых взаимодействий продуктов генов, экспрессирующихся в плацентарной ткани при патологической (БАС) и физиологической беременности и анализ коэкспрессионных сетей позволили идентифицировать перспективные генетические маркеры ПЭ, ЗРП и НБ, а также обозначить наиболее важные общие молекулярные патогенетические механизмы данных заболеваний, связанные с нарушением окислительно-восстановительного гомеостаза и патологическими процессами при инвазии трофобласта, протекающими в плацентарной ткани.

Литература / References

- Romero R. Prenatal medicine: The child is the father of the man. 1996. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2009;22(8):636–639. DOI: 10.1080/14767050902784171.
- Di Renzo G.C. The great obstetrical syndromes. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2009;22(8):633–635. DOI: 10.1080/14767050902866804.
- Eidem H.R., Ackerman W.E., McGary K.L., Abbot P., Rokas A. Gestational tissue transcriptomics in term and preterm human pregnancies: A systematic review and meta-analysis. *BMC Med. Genomics.* 2015;8:27. DOI: 10.1186/s12920-015-0099-8.
- Rajakumar A., Chu T., Handley D.E., Bunce K.D., Burke B., Hubel C.A. et al. Maternal gene expression profiling during pregnancy and pre-eclampsia in human peripheral blood mononuclear cells. *Placenta.* 2011;32(1):70–78. DOI: 10.1016/j.placenta.2010.10.004.
- Krieg S.A., Fan X., Hong Y., Sang Q.X., Giaccia A., Westphal L.M. et al. Global alteration in gene expression profiles of deciduas from women with idiopathic recurrent pregnancy loss. *Mol. Hum. Reprod.* 2012;18(9):442–450. DOI: 10.1093/molehr/gas017.
- Mayor-Lynn K., Toloubeydokhti T., Cruz A.C., Chegini N. Expression profile of microRNAs and mRNAs in human placentas from pregnancies complicated by preeclampsia and preterm labor. *Reprod. Sci.* 2011;18(1):46–56. DOI: 10.1177/1933719110374115.
- Toft J.H., Lian I.A., Tarca A.L., Erez O., Espinoza J., Eide I.P. et al. Whole-genome microarray and targeted analysis of angiogenesis-regulating gene expression (ENG, FLT1, VEGF, PIGF) in placentas from

- pre-eclamptic and small-for-gestational-age pregnancies. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2008;21(4):267–273. DOI: 10.1080/14767050801924118.
8. Buimer M., Keijsers R., Jebbink J.M., Wehkamp D., van Kampen A.H., Boer K. et al. Seven placental transcripts characterize HELLP-syndrome. *Placenta.* 2008;29(5):444–453. DOI: 10.1016/j.placenta.2008.02.007.
 9. Van Dijk M., Oudejans C.B.M. STOX1: Key player in trophoblast dysfunction underlying early onset preeclampsia with growth retardation. *J. Pregnancy.* 2010;2011:521826. DOI: 10.1155/2011/521826.
 10. Junus K., Centlow M., Wikström A.K., Larsson I., Hansson S.R., Olovsson M. Gene expression profiling of placentae from women with early- and late-onset pre-eclampsia: down-regulation of the angiogenesis-related genes ACVRL1 and EGFL7 in early-onset disease. *Mol. Hum. Reprod.* 2012;18(3):146–155. DOI: 10.1093/molehr/gar067.
 11. Lyu S.W., Song H., Yoon J.A., Chih M.U., Sung S.R., Kim Y.S. et al. Transcriptional profiling with a pathway-oriented analysis in the placental villi of unexplained miscarriage. *Placenta.* 2013;34(2):133–140. DOI: 10.1016/j.placenta.2012.12.003.
 12. Trifonova E.A., Gabidulina T.V., Ershov N.I., Serebrova V.N., Vorozhishcheva A.Y., Stepanov V.A. Analysis of the placental tissue transcriptome of normal and preeclampsia complicated pregnancies. *Acta Naturae.* 2014;6(2):71–83.
 13. Tsai S., Hardison N.E., James A.H., Motsinger-Reif A.A., Bischoff S.R., Thames B.H. et al. Transcriptional profiling of human placentas from pregnancies complicated by preeclampsia reveals dysregulation of sialic acid acetyltransferase and immune signalling pathways. *Placenta.* 2011;32(2):175–182. DOI: 10.1016/j.placenta.2010.11.014.
 14. Meng T., Chen H., Sun M., Wang H., Zhao G., Wang X. Identification of differential gene expression profiles in placentas from preeclamptic pregnancies versus normal pregnancies by DNA microarrays. *OMICs.* 2012;16(6):301–311. DOI: 10.1089/omi.2011.0066.
 15. Guo L., Tsai S.Q., Hardison N.E., James A.H., Motsinger-Reif A.A., Thames B. et al. Differentially expressed microRNAs and affected biological pathways revealed by modulated modularity clustering (MMC) analysis of human preeclamptic and IUGR placentas. *Placenta.* 2013;34(7):599–605. DOI: 10.1016/j.placenta.2013.04.007.
 16. Blair J.D., Yuen R.K., Lim B.K., McFadden D.E., von Dadelszen P., Robinson W.P. Widespread DNA hypomethylation at gene enhancer regions in placentas associated with early-onset pre-eclampsia. *Mol. Hum. Reprod.* 2013;19(10):697–708. DOI: 10.1093/molehr/gat044.
 17. Yong H.E., Melton P.E., Johnson M.P., Freed K.A., Kalionis B., Murthi P. et al. Genome-wide transcriptome directed pathway analysis of maternal pre-eclampsia susceptibility genes. *PLoS One.* 2015;10(5):e0128230. DOI: 10.1371/journal.pone.0128230.
 18. Herse F., Dechend R., Harsem N.K., Wallukat G., Janke J., Qadri F. et al. Dysregulation of the circulating and tissue-based renin-angiotensin system in preeclampsia. *Hypertension.* 2007;49(3):604–611. DOI: 10.1161/01.HYP.0000257797.49289.71.
 19. Martin E., Ray P.D., Smeester L., Grace M.R., Boggess K., Fry R.C. Epigenetics and preeclampsia: Defining functional epimutations in the preeclamptic placenta related to the TGF- β pathway. *PLoS One.* 2015;10(10):e0141294. DOI: 10.1371/journal.pone.0141294.
 20. Garrido-Gomez T., Dominguez F., Quiñero A., Diaz-Gimeno P., Kapidzic M., Gormley M. et al. Defective decidualization during and after severe preeclampsia reveals a possible maternal contribution to the etiology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017;114(40):E8468–E8477. DOI: 10.1073/pnas.1706546114.
 21. Nishizawa H., Ota S., Suzuki M., Kato T., Sekiya T., Kurahashi H. et al. Comparative gene expression profiling of placentas from patients with severe pre-eclampsia and unexplained fetal growth restriction. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2011;9:107. DOI: 10.1186/1477-7827-9-107.
 22. Bukowski R., Sadovsky Y., Goodarzi H., Zhang H., Biggio J.R., Varner M. et al. Onset of human preterm and term birth is related to unique inflammatory transcriptome profiles at the maternal fetal interface. *Peer J.* 2017;5:e3685. DOI: 10.7717/peerj.3685.
 23. Rull K., Tomberg K., Köks S., Männik J., Möls M., Sirotkina M. et al. Increased placental expression and maternal serum levels of apoptosis-inducing TRAIL in recurrent miscarriage. *Placenta.* 2013;34(2):141–148. DOI: 10.1016/j.placenta.2012.11.032.
 24. Davis S., Meltzer P.S. GEOquery: A bridge between the Gene Expression Omnibus (GEO) and BioConductor. *Bioinformatics.* 2007;23(14):1846–1847. DOI: 10.1093/bioinformatics/btm254.
 25. Durinck S., Spellman P.T., Birney E., Huber W. Mapping identifiers for the integration of genomic datasets with the R/Bioconductor package biomaRt. *Nat. Protoc.* 2009;4(8):1184–1191. DOI: 10.1038/nprot.2009.97.
 26. Zhang B., Horvath S. A general framework for weighted gene co-expression network analysis. *Stat. Appl. Genet. Mol. Biol.* 2005;4:17. DOI: 10.2202/1544-6115.1128.
 27. Szklarczyk D., Gable A.L., Nastou K.C., Lyon D., Kirsch R., Pyysalo S. et al. The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurements sets. *Nucleic Acids Res.* 2021; 49(D1):D605–D612. DOI: 10.1093/nar/gkaa1074.
 28. Leek J.T., Johnson W.E., Parker H.S., Jaffe A.E., Storey J.D. The sva package for removing batch effects and other unwanted variation in high-throughput experiments. *Bioinformatics.* 2012;28(6):882–883. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts034.
 29. Louwen F., Muschol-Steinmetz C., Reinhard J., Reitter A., Yuan J. A lesson for cancer research: Placental microarray gene analysis in preeclampsia. *Oncotarget.* 2012;3(8):759–773. DOI:10.18632/oncotarget.595.
 30. Smith Z.D., Shi J., Gu H., Donaghey J., Clement K., Cacchiarelli D. et al. Epigenetic restriction of extraembryonic lineages mirrors the somatic transition to cancer. *Nature.* 2017;549(7673):543–547. DOI: 10.1038/nature23891.
 31. Macaulay E.C., Chatterjee A., Cheng X., Baguley B.C., Eccles M.R., Morison I.M. The genes of life and death: A potential role for placental-specific genes in cancer: Active retrotransposons in the placenta encode unique functional genes that may also be used by cancer cells to promote malignancy. *Bioessays.* 2017;39(11). DOI: 10.1002/bies.201700091.
 32. Kshitiz, Afzal J., Maziarz J.D., Hamidzadeh A., Liang C., Erkenbrack E.M. et al. Evolution of placental invasion and cancer metastasis are causally linked. *Nat. Ecol. Evol.* 2019;3(12):1743–1753. DOI: 10.1038/s41559-019-1046-4.
 33. Donabela F.C., Meola J., Padovan C.C., de Paz C.C., Navarro P.A. Higher SOD1 gene expression in cumulus cells from infertile women with moderate and severe endometriosis. *Reprod. Sci.* 2015;22(11):1452–1460. DOI: 10.1177/1933719115585146.
 34. Roland L., Beauchemin D., Acteau G., Fradette C., St-Pierre I., Bilodeau J.F. Effects of labor on placental expression of superoxide dismutases in preeclampsia. *Placenta.* 2010;31(5):392–400. DOI: 10.1016/j.placenta.2010.02.007.
 35. Lin P., Lai X., Wu L., Liu W., Lin S., Ye J. Network analysis reveals important genes in human placenta. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2021;47(8):2607–2615. DOI: 10.1111/jog.14820.
 36. Gomez M.L., Shah N., Kenny T.C., Jenkins E.C. Jr., Germain D. SOD1 is essential for oncogene-driven mammary tumor formation but dispensable for normal development and proliferation. *Oncogene.* 2019;38(29):5751–5765. DOI: 10.1038/s41388-019-0839-x.
 37. Wang X., Zhang H., Sapio R., Yang J., Wong J., Zhang X. et al. SOD1 regulates ribosome biogenesis in KRAS mutant non-small cell lung cancer. *Nat. Commun.* 2021;12(1):2259. DOI: 10.1038/s41467-021-22480-x.
 38. Schierding W., Antony J., Karhunen V., Väärämäki M., Franks S., Elliott P. et al. GWAS on prolonged gestation (post-term birth): Analysis of successive Finnish birth cohorts. *J. Med. Genet.* 2018;55(1):55–63. DOI: 10.1136/jmedgenet-2017-104880.
 39. Xu Z.P., Wawrousek E.F., Piatigorsky J. Transketolase haploinsufficiency reduces adipose tissue and female fertility in mice. *Mol. Cell Biol.* 2002;22(17):6142–6147. DOI: 10.1128/MCB.22.17.6142-6147.2002.
 40. Xu I.M., Lai R.K., Lin S.H., Tse A.P., Chiu D.K., Koh H.Y. et al. Transketolase counteracts oxidative stress to drive cancer development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016;113(6):E725–734. DOI: 10.1073/pnas.1508779113.
 41. Qin Z., Xiang C., Zhong F., Liu Y., Dong Q., Li K. et al. Transketolase (TKT) activity and nuclear localization promote hepatocellular carcinoma in a metabolic and a non-metabolic manner. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2019;38(1):154. DOI: 10.1186/s13046-019-1131-1.

Информация о вкладе авторов

Трифонов Е.А., Марков А.В., Зарубин А.А., Бабовская А.А., Куценко И.Г., Габидулина Т.В., Ижойкина Е.В., Сереброва В.Н. – разработка концепции статьи, поиск информации, анализ и интерпретация полученных данных, участие в написании текста статьи.

Information on author contributions

Trifonova E.A., Markov A.V., Zarubin A.A., Babovskaya A.A., Kutsenko I.G., Gabidulina T.V., Izhoykina E.V., and Serebrova V.N. – development of review concept, information search, data analysis and interpretation, and contribution to writing the manuscript.

Марков А.В., Зарубин А.А., Бабовская А.А. – статистическая обработка результатов.

Сереброва В.Н., Бабовская А.А. – оформление статьи согласно требованиям редакции, перевод требуемых разделов на английский язык, подготовка к направлению в печать.

Трифонова Е.А., Степанов В.А. – редакционная и научная правка, руководство проектом.

Степанов В.А. – окончательное утверждение версии, которая сдается в печать, внесение принципиальных изменений, проверка критически важного интеллектуального содержания.

Все авторы дали окончательное согласие на подачу рукописи и согласились нести ответственность за все аспекты работы, ручаясь за их точность и безупречность.

Markov A.V., Zarubin A.A., and Babovskaya A.A. – statistical processing of data.

Serebrova V.N. and Babovskaya A.A. – preparation of the manuscript according to the requirements of editorial board, translation of relevant sections into English, and preparation of manuscript for submission to publication.

Trifonova E.A. and Stepanov V.A. – editing and scientific revision of the manuscript and supervision over the project.

Stepanov V.A. – manuscript revision, verification of essential intellectual content, and final approval of the manuscript for publication.

All authors gave their final consent to submit the manuscript and agreed to be responsible for all aspects of the work, vouching for its accuracy and integrity.

Сведения об авторах

Трифонова Екатерина Александровна, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0003-1311-7403.

E-mail: ekaterina-trifonova@medgenetics.ru.

Марков Антон Владимирович, канд. мед. наук, научный сотрудник, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-5824-6439.

E-mail: anton.markov@medgenetics.ru.

Зарубин Алексей Андреевич, младший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0001-6568-6339.

E-mail: aleksei.zarubin@medgenetics.ru.

Бабовская Анастасия Александровна, лаборант-исследователь, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-1193-5579.

E-mail: anastasia.babovskaya@medgenetics.ru.

Кутценко Ирина Григорьевна, д-р мед. наук, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации.

E-mail: kutsenko.ig@ssmu.ru.

Габидулина Татьяна Васильевна, канд. мед. наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0003-2752-726X.

E-mail: helen556@yandex.ru.

Ижойкина Екатерина Владимировна, соискатель кафедры акушерства и гинекологии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0001-9857-4368.

E-mail: katushkabi@mail.ru.

Сереброва Виктория Николаевна, младший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0003-1024-2305.

E-mail: vika.serebrova@medgenetics.ru.

Степанов Вадим Анатольевич, д-р биол. наук, профессор, чл.-корр. РАН, руководитель лаборатории эволюционной генетики, директор Научно-исследовательского института медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-5166-331X.

E-mail: vadim.stepanov@medgenetics.ru.

Бабовская Анастасия Александровна, e-mail: anastasia.babovskaya@medgenetics.ru.

Information about the authors

Ekaterina A. Trifonova, Cand. Sci. (Med.), Senior Research Scientist, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0003-1311-7403.

E-mail: ekaterina-trifonova@medgenetics.ru.

Anton V. Markov, Cand. Sci. (Med.), Research Scientist, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-5824-6439.

E-mail: anton.markov@medgenetics.ru.

Aleksei A. Zarubin, Junior Research Scientist, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0001-6568-6339.

E-mail: aleksei.zarubin@medgenetics.ru.

Anastasia A. Babovskaya, Research Assistant, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-1193-5579.

E-mail: anastasia.babovskaya@medgenetics.ru.

Irina G. Kutsenko, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Siberian State Medical University.

E-mail: kutsenko.ig@ssmu.ru.

Tatyana V. Gabidulina, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Siberian State Medical University. ORCID 0000-0003-2752-726X.

E-mail: helen556@yandex.ru.

Ekaterina V. Izhoykina, Postgraduate Student, Department of Obstetrics and Gynecology, Siberian State Medical University. ORCID 0000-0001-9857-4368.

E-mail: katushkabi@mail.ru.

Victoria N. Serebrova, Junior Research Scientist, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0003-1024-2305.

E-mail: vika.serebrova@medgenetics.ru.

Vadim A. Stepanov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Evolutionary Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Director of the Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-5166-331X.

E-mail: vadim.stepanov@medgenetics.ru.

Anastasia A. Babovskaya, e-mail: anastasia.babovskaya@medgenetics.ru.

Received August 27, 2021

Поступила 27.08.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-156-163>
УДК 616.132.2-004.6:577.125.8

Анализ дифференциальной экспрессии генов липидного обмена в атеросклеротических бляшках у пациентов с коронарным атеросклерозом

Е.В. Шахтшнейдер^{1, 2}, Д.Е. Иванощук^{1, 2}, Ю.И. Рагино¹, В.С. Фишман²,
Я.В. Полонская¹, Е.В. Каштанова¹, А.М. Чернявский³, И.С. Мурашов³,
М.И. Воевода²

¹ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, 630089, Российская Федерация, Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1

² Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, 630090, Российская Федерация, Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10

³ Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина Министерства здравоохранения Российской Федерации, 630055, Российская Федерация, Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

Аннотация

Цель: выполнить анализ дифференциальной экспрессии генов липидного обмена в атеросклеротических бляшках разных типов у пациентов с коронарным атеросклерозом.

Материал и методы. Исследование выполнено на образцах атеросклеротических бляшек пациентов с коронарным атеросклерозом без острого коронарного синдрома со стабильной стенокардией напряжения II–IV функционального класса (ФК) в возрасте 45–65 лет. Коронарный атеросклероз подтвержден коронароангиографией. Забор тканей атеросклеротической бляшки проведен интраоперационно при наличии показаний. Полногеномное секвенирование рибонуклеиновой кислоты (РНК) выполнено с использованием Illumina's TruSeq RNA Sample Preparation Kit (Illumina, USA).

Результаты. Статистически значимые различия в экспрессии генов между разными типами бляшек были отмечены для *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1*, *LIPA*, *STAP1*, *ABCA1*, *APOA1*, *APOE*, *LPL*, *SCARB1* и *SREBF2*. Наблюдалось 8-кратное статистически значимое увеличение экспрессии гена *APOE* ($p < 0,0001$) в нестабильных атеросклеротических бляшках дистрофически-некротического вида. В стабильных атеросклеротических бляшках отмечалось 8-кратное статистически значимое увеличение экспрессии генов *LDLR* и *APOB* ($p < 0,0001$). Не было получено статистически значимых различий в изменении экспрессии генов *ABCG5*, *ABCG8*, *APOC3*, *CETP*, *CLPS*, *CYP7A1* и *PNPLA5*.

Заключение. Исследование показало различия в активности отдельных генов липидного обмена в атеросклеротических бляшках разных типов у пациентов с коронарным атеросклерозом. Полученные данные могут стать основой для разработки тест-систем с целью прогнозирования развития атеросклеротического процесса и его осложнений.

Ключевые слова: атеросклеротические бляшки, экспрессия генов, ген *APOE*, ген *APOC1*, ген *LDLR*, ген *APOB*, гены липидного метаболизма, транскриптом.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность финансовой деятельности: биохимические и гистологические исследования выполнены при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации по поддержке ведущих научных школ НШ-2595.2020.7, молекулярно-генетические исследования выполнены при поддержке гранта РФФИ № 19-015-00458.

Соответствие принципам этики: исследование одобрено этическим комитетом НИИТГМ – филиала ИЦиГ СО РАН (протокол № 68 от 04.06.2019 г.).

Для цитирования: Шахтшнейдер Е.В., Иванощук Д.Е., Рагино Ю.И., Фишман В.С., Полонская Я.В., Каштанова Е.В., Чернявский А.М., Мурашов И.С., Воевода М.И. Анализ дифференциальной экспрессии генов липидного обмена в атеросклеротических бляшках у пациентов с коронарным атеросклерозом. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2021;36(4):156–163. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-156-163>.

Шахтшнейдер Елена Владимировна, e-mail: 2117409@mail.ru.

Analysis of differential expression of lipid metabolism genes in atherosclerotic plaques in patients with coronary atherosclerosis

Elena V. Shakhtshneider^{1, 2}, Dinara E. Ivanoshchuk^{1, 2}, Yuliya I. Ragino¹, Veniamin S. Fishman², Yana V. Polonskaya¹, Elena V. Kashtanova¹, Alexander M. Chernyavsky^{1, 2, 3}, Ivan S. Murashov³, Michael I. Voevoda²

¹ Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, 175/1, B. Bogatkova str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation

² Institute of Cytology and Genetics, 10, Lavrentieva ave., Novosibirsk, 630090, Russian Federation

³ National Medical Research Center named after Academician E.N. Meshalkin, 15, Rechkunovskaya str., Novosibirsk, 630055, Russian Federation

Abstract

Aim. The goal of the study was to analyze the differential expression of lipid metabolism-related genes in the atherosclerotic plaques of different types in patients with coronary atherosclerosis.

Material and Methods. The study was performed on the specimens of atherosclerotic plaques in 45–65-year-old patients with coronary atherosclerosis with stable exertional angina functional class II-IV without acute coronary syndrome. Coronary atherosclerosis was verified by coronary angiography. Atherosclerotic plaque tissue was sampled intraoperatively when indicated. Whole-genome sequencing of ribonucleic acid (RNA) was performed using the TruSeq RNA Sample Preparation Kit (Illumina, USA).

Results. We analyzed the differences in the expression of 12 genes including *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1*, *LIPA*, *STAP1*, *ABCA1*, *APOA1*, *APOE*, *LPL*, *SCARB1*, and *SREBF2* depending on the type of atherosclerotic plaques. The expression level of *APOE* gene was eight times higher in unstable atherosclerotic plaques of dystrophic-necrotic type ($p < 0.0001$). The expression levels of *LDLR* and *APOB* genes were eight times higher in stable atherosclerotic plaques ($p < 0.0001$). We did not find differences in the expression levels of the *ABCG5*, *ABCG8*, *APOC3*, *CETP*, *CLPS*, *CYP7A1*, and *PNPLA5* genes.

Conclusion. The study showed the differences in the activity of individual metabolism-related genes in the atherosclerotic plaques of different types in patients with coronary atherosclerosis. Obtained data may become the basis for the development of test systems aimed at predicting the development of atherosclerotic process and its complications.

Keywords:	atherosclerotic plaques, expression of genes, gene <i>APOE</i> , gene <i>APOC1</i> , gene <i>LDLR</i> , gene <i>APOB</i> , lipid metabolism-related genes, transcriptome.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	Biochemical and histological studies were carried out with the financial support of the grant of the President of the Russian Federation for the support of leading scientific schools НШ-2595.2020.7. Molecular genetic studies were carried out with the support of the RFBR grant No. 19-015-00458.
Adherence to ethical standards:	the study protocol was approved by the local Ethics Committee of the Institute of Internal and Preventive Medicine (protocol No. 68 from 04.06.2019).
For citation:	Shakhtshneider E.V., Ivanoshchuk D.E., Ragino Y.I., Fishman V.S., Polonskaya Y.V., Kashtanova E.V., Chernyavsky A.M., Murashov I.S., Voevoda M.I. Analysis of differential expression of lipid metabolism genes in atherosclerotic plaques in patients with coronary atherosclerosis. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2021;36(4):156–163. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-156-163 .

Введение

Современные методы диагностики позволяют оценить степень распространения атеросклеротического повреждения и локализацию отдельных бляшек, но не могут прогнозировать ее развитие и прогрессирование. Острое коронарное событие часто является первым

проявлением ишемической болезни сердца с бессимптомным течением или происходит на фоне стабильного течения заболевания без клинических признаков дестабилизации состояния пациента. Для раннего определения признаков нестабильности атеросклеротической бляшки и выбора наиболее подходящего времени для оперативного вмешательства используют два основных

метода: визуализацию атеросклеротических бляшек инвазивными или неинвазивными методами и определение биологических маркеров нестабильной атеросклеротической бляшки. Комплексное изображение, полученное при использовании оптической когерентной томографии, или молекулярная визуализация с использованием целевых индикаторов, позволяет анализировать морфологию бляшки, состав и степень воспаления. Использование визуализации в кардиологии может быть предложено для оценки фенотипа бляшек высокого риска [1, 2].

Определение предшествующих белкам транскриптов является информативным показателем изменений при патологических процессах и позволяет оценить степень выраженности заболевания до возникновения его фенотипических проявлений. Изучение транскриптома разных видов атеросклеротической бляшки и выявление тканеспецифических транскриптов, маркирующих процессы деструкции, является актуальным направлением в разработке методов оценки динамики развития заболевания.

Высокая вариабельность процессов, происходящих в атеросклеротической бляшке в зависимости от стадии бляшки и ее локализации, активно влияет на дифференциальную экспрессию генов [3, 4]. В исследованиях также было показано различие в экспрессии генов в атеросклеротических бляшках, находящихся в разных артериальных руслах [5].

Ранее нами был проведен анализ дифференциальной экспрессии генов металлопротеиназ, вовлеченных в процессы стабилизации и дестабилизации атеросклеротической бляшки [6]. Определено статистически значимое 8-кратное увеличение активности гена MMP9 в нестабильной атеросклеротической бляшке дистрофически-некротического вида ($p < 0,0001$).

Цель исследования: анализ дифференциальной экспрессии генов липидного обмена в двух типах атеросклеротических бляшек: в стабильной бляшке фиброзного вида и нестабильной бляшке дистрофически-некротического вида.

Материал и методы

Исследование одобрено этическим комитетом НИИ-ТГПМ – филиала ИЦиГ СО РАН. Образцы атеросклеротических бляшек были собраны в ФГБУ НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина Минздрава России. В исследование включены мужчины с коронарным атеросклерозом без острого коронарного синдрома со стабильной стенокардией напряжения II–IV функционального класса (ФК), подтвержденной данными коронароангиографии, в возрасте 45–65 лет. Для каждого пациента заполнен протокол исследования, выполнен забор крови и тканей атеросклеротической бляшки в ходе операции при наличии интраоперационных показаний. Эндартерэктомия выполнена на коронарных артериях, от каждого пациента получено по три образца атеросклеротических бляшек. Каждый фрагмент полученного материала атеросклеротических бляшек симметрично разделен на 4 части для гистологического, биохимического (2 части) и молекулярно-генетического исследований. Исследование каждого фрагмента выполнялось отдельно.

Гистологическое исследование

Гистологическое исследование всех образцов выполнено в патоморфологической лаборатории ФГБУ НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина Минздрава России (руководи-

тель лаборатории – д-р мед. наук, проф. А.М. Волков). Выполнено макроскопическое описание образцов, включающее описание степени распространенности бляшки, стенозирования просвета артерии, наличия/отсутствия кровоизлияния в структуры бляшки, участков обызвествления, тромбов и окрашивания образцов гематоксилин-эозином и по методу Ван Гизона. Анализ фрагментов интимы/меди коронарных артерий проведен на бинокулярном микроскопе Axiostar Plus (C. Zeiss, Германия). Определены стадии формирования бляшки, подробно описано состояние покрышки бляшки, ее эндотелиальной поверхности, ядра бляшки, периферии бляшки/очага, клеточно-элементный состав всех компонентов атеросклеротического очага.

Общее количество образцов атеросклеротических бляшек составило 144 шт.:

- стадия липидных пятен/полосок – 15 образцов,
- нестабильные бляшки – 58 образцов,
- стабильные атеросклеротические бляшки – 71 образец.

Стабильные атеросклеротические бляшки были представлены в 24 случаях атероматозными стабильными молодыми бляшками, в 47 случаях – атероматозными стабильными бляшками с фиброзом/кальцинозом.

Из 58 образцов нестабильных бляшек было 12 бляшек липидного типа, 4 бляшки с воспалением/эрозией и 42 бляшки дистрофически-некротического типа.

Определены типы нестабильных бляшек [7]:

1. Липидный тип – фиброатерома с тонкой фиброзной покрышкой.
2. Воспалительно-эрозивный тип – бляшка с повышенным содержанием протеогликанов или воспалением, приводящим к эрозии и тромбозу.
3. Дистрофически-некротический тип – бляшка с кальцинированным ядром.

Нестабильная атеросклеротическая бляшка определялась как поврежденная бляшка с толщиной фиброзной покрышки менее 65 мкм, инфильтрированная макрофагами и Т-лимфоцитами (более 25 клеток в поле зрения диаметром 0,3 мм) с крупным липидным ядром (>40%).

После проведения гистологического исследования каждого из образцов и определения типов бляшек было выполнено полногеномное секвенирование рибонуклеиновой кислоты (РНК) для двух образцов атеросклеротических бляшек, полученных от неродственных пациентов, в двух технических повторах: стабильной бляшки фиброзного вида и нестабильной бляшки дистрофически-некротического вида.

Пациенты для изучения транскриптома были выбраны по следующим критериям: оба пациента мужского пола, возраст – 61–64 года, получающие лекарственную терапию одинаковыми препаратами, с диагнозом: ишемическая болезнь сердца, стенокардия напряжения III ФК, постинфарктный кардиосклероз (ПИКС), хроническая сердечная недостаточность (ХСН) IIA ст., ФК III (NYHA). Во всех трех образцах атеросклеротических бляшек каждого из пациентов тип и вид бляшек был однороден по результатам гистологического исследования.

Пациент 1 (61 год) – стабильные атеросклеротические бляшки фиброзного вида в трех образцах коронарных сосудов представлены значительно стенозирующими просвет сосуда бляшками (70–75%) из плотной соединительной ткани, содержащей пучки коллагеновых и эластических волокон, с крупным формирующимся

кальцификатом. Клеточная активность отсутствует. Определяется стадия фиброза и кальциноза.

Пациент 2 (64 года) – нестабильные атеросклеротические бляшки дистрофически-некротического вида в трех образцах коронарных сосудов представлены значительно стенозирующими просвет сосуда бляшками (70–80%), с участками рыхлой и плотной фиброзной ткани с очаговыми некрозами и отложениями солей кальция. Бляшки содержат небольшие ядра из аморфных масс и пенистых клеток с умеренной мононуклеарной инфильтрацией. Толстая покрывка с плотной фиброзной тканью с разрывами. Интима сосуда умеренно утолщена за счет плотной фиброзной ткани с инфильтрацией пенистыми клетками и плотно соединена с покрывкой бляшки.

Молекулярно-генетическое исследование

При заборе материала атеросклеротических бляшек фрагмент, предназначенный для молекулярно-генетического исследования, помещался в стабилизирующий раствор RNeasy (QIAGEN, Германия) для предотвращения деградации РНК. Затем пробы ткани атеросклеротических бляшек замораживались для последующей транскрипции.

Выделение РНК из образцов проводили с применением набора РеалБест экстракция 100 (АО Вектор Бест, Новосибирск, Россия). Подтверждение наличия РНК, качество и количество полученных проб тотальной РНК проверялось на приборе «Erosch» (BioTek, США). Качество извлеченной РНК контролировалось с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Tec. Inc., США). Подготовка библиотек для секвенирования проведена с использованием Illumina's TruSeq RNA Sample Preparation Kit (Illumina, США). Количественный анализ библиотек выполнен на флуориметре Qubit® 2.0 (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, США), качество библиотек контролировалось с использованием системы Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Tec. Inc., США). Полногеномный профиль экспрессии определен с помощью высокотехнологичного секвенирования на приборе HiSeq 2000 (Illumina, США).

Данные секвенирования картированы на геном человека версии GRCh38 с использованием программы BWA 0.7.12. Расчет RPKM (Reads Per Kilobase Million, число

чтений на миллион килобаз) осуществлялся для генов, присутствующих в аннотации используемой версии генома человека.

Результаты и обсуждение

В результате анализа дифференциальной экспрессии генов методом полногеномного секвенирования РНК определены транскрипты генов со статистически значимыми различиями экспрессии в разных типах атеросклеротических бляшек у пациентов с коронарным атеросклерозом. В результате исследования были получены данные по 208 различным транскриптам, 40% из которых были изоформами известных генов. Различия в дифференциальной экспрессии показаны для генов: аполинпротеинов, белков воспалительного цикла, металлопротеиназ, трансмембранных гликопротеинов. Определены гены с максимальной активностью в нестабильных атеросклеротических бляшках: *MAFF*, *ATF3*, *HMGB3*, *HSPA5*, *ZFP36*, *MMP9*. Определены общие патогенные пути с измененной экспрессией генов в нестабильных атеросклеротических бляшках: гипоксии, окислительного стресса, хемокинов, актинового цитоскелета, внеклеточного матрикса.

При анализе активности генов липидного метаболизма статистически значимые различия в экспрессии между типами бляшек были отмечены в генах *LDLR*, *APOB*, *LDLRAP1*, *LIPA*, *STAP1*, *ABCA1*, *APOA1*, *APOE*, *LPL*, *SCARB1* и *SREBF2*. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Наблюдалось 8-кратное статистически значимое увеличение экспрессии *APOE* ($p < 0,0001$) в нестабильных атеросклеротических бляшках дистрофически-некротического вида. Для нестабильных атеросклеротических бляшек дистрофически-некротического вида также было отмечено повышение экспрессии генов *ABCA1*, *LIPA*, *LPL*, *SCARB1* и *STAP1*. В стабильных атеросклеротических бляшках наблюдалось 8-кратное статистически значимое увеличение экспрессии генов *LDLR* и *APOB* ($p < 0,0001$), а также повышенная экспрессия генов *LDLRAP1* и *SREBF2*.

Не было получено статистически значимых различий в активности генов *ABCG5*, *ABCG8*, *APOC3*, *CETP*, *CLPS*, *CYP7A1* и *PNPLA5*.

Таблица 1. Экспрессия генов липидного обмена в атеросклеротических бляшках

Table 1. Expression of lipid metabolism genes in atherosclerotic plaques

Идентификационный номер ID	Ген Gene	САБ тп1 SAP v1	САБ тп2 SAP v2	НАБ тп1 UAP v1	НАБ тп2 UAP v2	Степень количественного изменения Log2 fold change	Уровень значимости p-value Significance level p-value
NM_005502	<i>ABCA1</i>	294,5	279,0	913,6	888,9	1,647393201	3,89E-53
NM_022436	<i>ABCG5</i>	5,8	4,3	3,4	4,1	-0,312573199	0,71717578
NM_022437	<i>ABCG8</i>	1,4	1,4	0,0	0,0	-1,011003757	0,25306836
NM_000384	<i>APOB</i>	26,0	21,6	6,9	8,3	-1,514048911	0,00601312
NM_000040	<i>APOC3</i>	0,0	0,0	0,0	1,4	0,380698431	0,57326719
NM_001302689	<i>APOE</i>	365,3	368,1	6928,0	6972,9	4,238955475	0,000000001
NM_001302690	<i>APOE</i>	365,3	368,1	6927,3	6972,9	4,23888385	0,000000001
NM_000041	<i>APOE</i>	365,3	368,1	6937,6	6981,9	4,240885685	0,000000001
NM_001302691	<i>APOE</i>	365,3	368,1	6937,6	6981,9	4,240885685	0,000000001
NM_001302688	<i>APOE</i>	365,3	368,1	6937,6	6981,9	4,240885685	0,000000001
NM_000078	<i>CETP</i>	10,1	11,5	14,5	18,6	0,558494786	0,33944116
NM_001286085	<i>CETP</i>	10,1	11,5	14,5	18,6	0,558494786	0,33944116

Окончание табл. 1
End of table 1

Идентификационный номер ID	Ген Gene	САБ тп1 SAP v1	САБ тп2 SAP v2	НАБ тп1 UAP v1	НАБ тп2 UAP v2	Степень количественного изменения Log2 fold change	Уровень значимости p-value Significance level p-value
NM_001252597	CLPS	0,0	0,0	0,0	0,7	0,30093549	0,63214135
NM_001252598	CLPS	0,0	0,0	0,0	0,7	0,30093549	0,63214135
NM_001832	CLPS	0,0	0,0	0,0	0,7	0,30093549	0,63214135
NM_000780	CYP7A1	1,4	1,4	0,0	3,5	0,12098096	0,90450351
NM_001195803	LDLR	1621,4	1615,0	621,9	594,2	-1,410434648	5,04E-92
NM_000527	LDLR	1621,4	1615,0	621,9	594,2	-1,410434648	5,04E-92
NM_001195798	LDLR	1621,4	1615,0	621,9	594,2	-1,410434648	5,04E-92
NM_001195800	LDLR	1621,4	1615,0	621,9	594,2	-1,410434648	5,04E-92
NM_001195799	LDLR	1621,4	1615,0	621,9	594,2	-1,410434648	5,04E-92
NM_015627	LDLRAP1	223,8	221,5	133,8	146,3	-0,663898859	0,00013271
NM_001288979	LIPA	135,7	142,4	932,9	946,8	2,74490548	2,86E-95
NM_000235	LIPA	135,7	142,4	932,9	946,8	2,74490548	2,86E-95
NM_001127605	LIPA	135,7	142,4	932,9	946,8	2,74490548	2,86E-95
NM_000237	LPL	18,8	21,6	122,7	121,5	2,521350346	9,78E-14
NM_138814	PNPLA5	1,4	1,4	1,4	0,7	-0,210980891	0,83342672
NM_001177675	PNPLA5	1,4	1,4	1,4	0,7	-0,210980891	0,83342672
NM_005505	SCARB1	70,7	77,7	208,2	211,9	1,484062372	3,89E-12
NM_001082959	SCARB1	70,7	77,7	208,2	211,9	1,484062372	3,89E-12
NR_103834	SREBF2	616,5	589,6	417,1	407,9	-0,546434713	1,42E-07
NM_004599	SREBF2	616,5	589,6	417,1	407,9	-0,546434713	1,42E-07
NM_012108	STAP1	2,9	2,9	25,5	23,5	2,616230491	0,00019694

Примечание: НАБ – нестабильные атеросклеротические бляшки дистрофически-некротического вида, САБ – стабильные атеросклеротические бляшки фиброзного вида, тп1, тп2 – технические повторы.

Note: UAP – unstable atherosclerotic plaque of dystrophic-necrotic type, SAB – stable fibrous atherosclerotic plaque, v1 and v2 – technical repeats.

На следующем этапе был выполнен анализ дифференциальной экспрессии генов между полученными нами образцами атеросклеротических бляшек и тканями интактных коронарных сосудов из базы данных GEO (Gene Expression Omnibus, NCBI). База данных Gene Expression Omnibus (GEO) – международное общедоступное хранилище, архивирующее и свободно распространяющее высокопроизводительные наборы данных экспрессии генов (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>). Образцы для анализа были стандартизованы по полу, возрасту, этнической принадлежности (европеоиды, non-Finnish). Для выявления транскриптов

генов со статистически значимыми различиями в экспрессии между типами бляшек были использованы: FDR < 0,05 (FDR – false discovery rate, средняя доля ложных отклонений гипотез), более чем 8-кратные различия ($-3 < \log_2 \text{fold_change} < +3$), экспрессия одного и того же гена в одном из типов бляшек на уровне более 50 RPKM.

Были определены различия в экспрессии более 190 генов между тканями атеросклеротических бляшек и тканями интактных коронарных сосудов. В том числе были выявлены статистически значимые различия в активности генов аполипопротеинов С1 и Е (табл. 2).

Таблица 2. Экспрессия генов аполипопротеинов С1 и Е в атеросклеротических бляшках и в тканях интактных коронарных сосудов

Table 2. Expression of genes for apolipoproteins C1 and E in atherosclerotic plaques and in tissues of intact coronary vessels

Ген Gene	Локус Locus	Экспрессия в интактных коронарных сосудах Expression in intact coronary vessels	Экспрессия в атеросклеротических бляшках Expression in atherosclerotic plaques	Степень количественного изменения log2 fold change	Уровень значимости p-value
АРОС1	19:44905753-44919349	2,13079	568,754	8,06027	0,0015
АРОЕ	19:44905753-44919349	75,1808	870,865	3,53401	0,0007

Полученные нами данные о дифференциальной экспрессии генов аполипопротеинов С1 и Е в атеросклеротических бляшках согласуются с ранее опубликованными результатами М. Sulkava и соавт. [4]. Были показаны несколько семейств генов, связанных с транспортом липидов, с максимальными различиями экспрессии в атеро-

склеротических бляшках. Активность аполипопротеина D была снижена во всех исследованных артериальных руслах, в то время как экспрессия аполипопротеина Е и аполипопротеина С1 значительно повышалась в атеросклеротических бляшках. Аполипопротеин С1 был особенно активирован в каротидных бляшках.

Обсуждение

Полученные результаты дополняют ранее опубликованную информацию о биохимических путях, дифференциально выраженных в атеросклеротических бляшках разных типов, локализованных в коронарных сосудах. Ранее W. Liu и соавт. провели исследование экспрессии генов и молекулярных механизмов, участвующих в прогрессировании атеросклеротических бляшек сонных артерий [8]. Сообщалось о дифференциально экспрессируемых генах и патологических путях воспалительных процессов и ремоделировании внеклеточного матрикса [9]. Нами были также определены патологические пути с измененной экспрессией генов в нестабильных атеросклеротических бляшках: гипоксии, окислительного стресса, хемокинов, актинового цитоскелета, внеклеточного матрикса, что согласуется с данными предыдущих исследований.

Показаны различия в активности отдельных генов липидного обмена в атеросклеротических бляшках разных типов. Дифференциально экспрессируемые гены включали *LDLR* и аполипопротеины E, B и C1 [10–13]. Повышенная экспрессия *APOE* и *APOC1* в образцах атеросклеротических бляшек, по-видимому, подтверждает корреляции, которые были обнаружены для этих генов с накоплением липидов и формированием бляшек [4, 14, 15].

У мышей P301S было показано, что повышение экспрессии рецепторов липопротеинов низкой плотности приводит к снижению уровня белка аполипопротеина E – одного из важных факторов риска развития атеросклеротических бляшек [16, 17]. В нашем исследовании выявлено увеличение экспрессии гена *LDLR* и снижение экспрессии гена *APOE* в стабильной атеросклеротической бляшке и обратная закономерность – повышение количества матричной РНК (мРНК) аполипопротеина E и снижение количества мРНК рецептора липопротеинов

низкой плотности в нестабильной атеросклеротической бляшке. В стабильных атеросклеротических бляшках отмечена повышенная экспрессия генов *APOB*, *LDLRAP1* и *SREBF2*, функция которых тесно связана с работой рецептора липопротеинов низкой плотности [18, 19]. Возможно, отсутствие структурных перестроек в гене *LDLR* и/или его лигандов позволяет сохранять относительную стабильность атеросклеротических бляшек в коронарных сосудах.

Для бляшек дистрофически-некротического вида было отмечено повышение экспрессии генов *ABCA1*, *LIPA*, *LPL*, *SCARB1* и *STAP1* [20–23].

Ограничения исследования. При лечении обоих пациентов использовались липид-снижающие препараты группы статинов. Использование статинов может иметь влияние на экспрессию генов, но не объясняет различий в экспрессии генов между типами атеросклеротических бляшек. Несмотря на это, мы не можем отделить изменения экспрессии генов, вызванные патологическим состоянием, от тех, которые вызваны статинами или другими лекарственными препаратами.

Заключение

В заключение следует отметить, что развитие атеросклеротической бляшки значительно нарушает функцию артериальной стенки сосудов и приводит к различной экспрессии множества генов. Проведенный нами анализ экспрессии генов атеросклеротических бляшек человека подтверждает предыдущие ассоциации множества дифференциально экспрессирующихся генов семейств аполипопротеинов и рецепторов, относящиеся к метаболизму холестерина.

Полученные данные являются основой для разработки тест-систем с целью определения динамики атеросклеротического процесса и прогнозирования его осложнений.

Литература / References

- Noguchi T., Nakao K., Asaumi Y., Morita Y., Otsuka F., Kataoka Y. et al. Noninvasive coronary plaque imaging. *J. Atheroscler. Thromb.* 2018;25(4):281–293. DOI: 10.5551/jat.RV17019.
- Lu M., Peng P., Qiao H., Cui Y., Ma L., Cui B. et al. Association between age and progression of carotid artery atherosclerosis: a serial high resolution magnetic resonance imaging study. *Int. J. Cardiovasc. Imaging.* 2019;35(7):1287–1295. DOI: 10.1007/s10554-019-01538-4.
- Ahmadi A., Argulian E., Leipsic J., Newby D.E., Narula J. From subclinical atherosclerosis to plaque progression and acute coronary events: JACC state-of-the-art review. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2019;74(12):1608–1617. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.08.012.
- Sulkava M., Raitoharju E., Levula M., Seppälä I., Lyytikäinen L.P., Mennander A. et al. Differentially expressed genes and canonical pathway expression in human atherosclerotic plaques – Tampere Vascular Study. *Sci. Rep.* 2017;7(1):41483. DOI: 10.1038/srep41483.
- Levula M., Oksala N., Airla N., Zeitlin R., Salenius J-P., Järvinen O. et al. Genes involved in systemic and arterial bed dependent atherosclerosis – Tampere Vascular Study. *PLoS One.* 2012;7(4):e33787. DOI: 10.1371/journal.pone.0033787.
- Иваношук Д.Е., Рагино Ю.И., Шахтштейнер Е.В., Михайлова С.В., Фишман В.С., Полонская Я.В. и др. Анализ дифференциальной экспрессии матричных металлопротеиназ в стабильной и нестабильной атеросклеротических бляшках методом полногеномного секвенирования РНК: пилотное исследование. *Российский кардиологический журнал.* 2018;(8):52–58. DOI: 10.15829/1560-4071-2018-8-52-58.
- Ivanoschuk D.E., Ragino Yu.I., Shakhshneider E.V., Mikhailova S.V., Fishman V.S., Polonskaya Ya.V. et al. Analysis of differential expression of matrix metalloproteinases in stable and unstable atherosclerotic lesions by a method of full genome sequencing of RNA: Pilot study. *Russian Journal of Cardiology.* 2018;(8):52–58 (In Russ.). DOI: 10.15829/1560-4071-2018-8-52-58.
- Murashov I.S., Volkov A.M., Kazanskaya G.M., Kliver E.E., Chernyavsky A.M., Nikityuk D.B. et al. Immunohistochemical features of different types of unstable atherosclerotic plaques of coronary arteries. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2018;166(1):102–106. DOI: 10.1007/s10517-018-4297-1.
- Liu W., Zhao Y., Wu J. Gene expression profile analysis of the progression of carotid atherosclerotic plaques. *Mol. Med. Rep.* 2018;17(4):5789–5795. DOI: 10.3892/mmr.2018.8575.
- Назаренко М.С., Марков А.В., Слепцов А.А., Королёва Ю.А., Шарыш Д.В., Зарубин А.А. и др. Сравнительный анализ экспрессии генов в клетках сосудов у больных с клинически выраженным атеросклерозом. *Биомедицинская химия.* 2018;64(5):416–422. DOI: 10.18097/pbmc20186405416.
- Nazarenko M.S., Markov A.V., Sleptsov A.A., Koroleva I.A., Sharysh D.V., Zarubin A.A. et al. Comparative analysis of gene expression in vascular cells of patients with advanced atherosclerosis. *Biomeditsinskaya Khimiya.* 2018;64(5):416–422 (In Russ.). DOI: 10.18097/pbmc20186405416.
- Vrablik M., Tichý L., Freiburger T., Blaha V., Satny M., Hubacek J.A. Genetics of familial hypercholesterolemia: New insights. *Front. Genet.* 2020;11:574474. DOI: 10.3389/fgene.2020.574474.
- Lumsden A.L., Mulugeta A., Zhou A., Hyppönen E. Apolipoprotein E (APOE) genotype-associated disease risks: a phenotype-wide, registry-based, case-control study utilising the UK Biobank. *EBioMedicine.* 2020;59:102954. DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.102954.
- Welty F.K. Hypobetalipoproteinemia and abetalipoproteinemia: Liver disease and cardiovascular disease. *Curr. Opin. Lipidol.* 2020;31(2):49–55. DOI: 10.1097/MOL.0000000000000663.
- Fuier E.V., Gafencu A.V. Apolipoprotein C1: Its pleiotropic effects in lipid metabolism and beyond. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(23):5939. DOI: 10.3390/ijms20235939.

14. Marais A.D. Apolipoprotein E in lipoprotein metabolism, health and cardiovascular disease. *Pathology*. 2019;51(2):165–176. DOI: 10.1016/j.pathol.2018.11.002.
15. Low-Kam C., Rhoads D., Lo K.S., Barhdadi A., Boulé M., Alem S. et al. Variants at the APOE /C1/C2/C4 Locus Modulate Cholesterol Efflux Capacity Independently of High-Density Lipoprotein Cholesterol. *J. Am. Heart Assoc.* 2018;7(16):e009545. DOI: 10.1161/JAHA.118.009545.
16. Shi Y., Andhey P.S., Ising C., Wang K., Snipes L.L., Boyer K. et al. Overexpressing low-density lipoprotein receptor reduces tau-associated neurodegeneration in relation to apoE-linked mechanisms. *Neuron*. 2021;109(15):2413–2426.e7. DOI: 10.1016/j.neuron.2021.05.034.
17. Krishnan N., Chen X., Donnelly-Roberts D., Mohler E.G., Holtzman D.M., Gopalakrishnan S.M. Small molecule phenotypic screen identifies novel regulators of LDLR expression. *ACS Chem. Biol.* 2020;15(12):3262–3274. DOI: 10.1021/acscchembio.0c00851.
18. Sobati S., Shakouri A., Edalati M., Mohammadnejad D., Parvan R., Masoumi J. et al. PCSK9: A key target for the Treatment of Cardiovascular Disease (CVD). *Adv. Pharm. Bull.* 2020;10(4):502–511. DOI: 10.34172/apb.2020.062.
19. Crone B., Krause A.M., Hornsby W.E., Willer C.J., Surakka I. Translating genetic association of lipid levels for biological and clinical application. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2021;35(3):617–626. DOI: 10.1007/s10557-021-07156-4.
20. Schaefer E.J., Geller A.S., Endress G. The biochemical and genetic diagnosis of lipid disorders. *Curr. Opin. Lipidol.* 2019;30(2):56–62. DOI: 10.1097/MOL.0000000000000590.
21. Kumari A., Kristensen K.K., Ploug M., Winther A.L. The importance of lipoprotein lipase regulation in atherosclerosis. *Biomedicines*. 2021;9(7):782. DOI: 10.3390/biomedicines9070782.
22. Nakagawa Y., Shimano H. CREBH regulates systemic glucose and lipid metabolism. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(5):1396. DOI: 10.3390/ijms19051396.
23. Aryal B., Price N.L., Suarez Y., Fernández-Hernando C. ANGPTL4 in metabolic and cardiovascular disease. *Trends Mol. Med.* 2019;25(8):723–734. DOI: 10.1016/j.molmed.2019.05.010.

Информация о вкладе авторов

Все члены группы авторов отвечают всем четырем критериям авторства и дополнительно участвовали в подготовке следующих разделов:

Шахтшнейдер Е.В. – полногеномное секвенирование РНК, анализ данных, подготовка рукописи.

Иванощук Д.Е. – полногеномное секвенирование РНК, анализ данных, подготовка рукописи.

Рагино Ю.И. – анализ данных биохимических исследований.

Фишман В.С. – биоинформационный анализ.

Полонская Я.В. – иммуноферментный анализ.

Каштанова Е.В. – иммуноферментный анализ.

Чернявский А.М. – интраоперационный забор атеросклеротических бляшек, анализ клинических данных, проверка содержания рукописи.

Мурашов И.С. – гистологическое исследование атеросклеротических бляшек.

Воевода М.И. – разработка концепции и дизайна исследования, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Сведения об авторах

Шахтшнейдер Елена Владимировна, канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; ведущий научный сотрудник, сектор изучения моногенных форм распространенных заболеваний человека, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. ORCID 0000-0001-6108-1025.
E-mail: 2117409@mail.ru; shakhtshneyderev@bionet.nsc.ru.

Иванощук Динара Евгеньевна, научный сотрудник, лаборатория молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; младший научный сотрудник, лаборатория молекулярной генетики человека, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. ORCID 0000-0002-0403-545X.
E-mail: dinara2084@mail.ru.

Рагино Юлия Игоревна, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, главный научный сотрудник, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. ORCID 0000-0002-4936-8362.
E-mail: ragino@mail.ru.

Фишман Вениамин Семенович, ведущий научный сотрудник, сектор геномных механизмов онтогенеза, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. ORCID 0000-0002-5573-3100.
E-mail: minja@bionet.nsc.ru.

Полонская Яна Владимировна, канд. мед. наук, старший научный

Information on author contributions

All authors met all four criteria for authorship and, additionally, contributed to the preparation of the following sections:

Shakhtshneider E.V. – genome-wide RNA sequencing, data analysis, and manuscript preparation.

Ivanoshchuk D.E. – genome-wide RNA sequencing, data analysis, and manuscript preparation.

Ragino Yu.I. – biochemical data analysis.

Fishman V.S. – bioinformatics analysis.

Polonskaya Ya.V. – enzyme-linked immunosorbent assay.

E.V. Kashtanova – enzyme-linked immunosorbent assay.

Chernyavsky AM – intraoperative collection of atherosclerotic plaques, analysis of clinical data, and revision of the manuscript.

Murashov I.S. – histological examination of atherosclerotic plaques.

Voevoda M.I. – study concept, study design, and final approval of the manuscript for publication.

Information about the authors

Elena V. Shakhtshneider, Cand. Sci. (Med.), Leading Research Scientist, Laboratory of Molecular Genetic Study of Therapeutic Diseases, Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics; Leading Research Scientist, Laboratory of Monogenic Forms of Common Human Diseases, Institute of Cytology and Genetics. ORCID 0000-0001-6108-1025.

E-mail: 2117409@mail.ru; shakhtshneyderev@bionet.nsc.ru.

Dinara E. Ivanoshchuk, Junior Research Scientist, Laboratory of Human Molecular Genetics, Institute of Cytology and Genetics; Research Scientist, Laboratory of Molecular Genetic Study of Therapeutic Diseases, Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics. ORCID 0000-0002-0403-545X.

E-mail: dinara2084@mail.ru.

Yuliya I. Ragino, Dr. Sci. (Med.), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor, Chief Research Scientist, Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics. ORCID 0000-0002-4936-8362.

E-mail: ragino@mail.ru.

Veniamin S. Fishman, Dr. Sci. (Med.), Leading Research Scientist, Department of Genomic Mechanisms of Ontogenesis, Institute of Cytology and Genetics. ORCID 0000-0002-5573-3100.

E-mail: minja@bionet.nsc.ru.

Yana V. Polonskaya, Cand. Sci. (Med.), Senior Research Scientist, Laboratory of Clinical Biochemical and Hormonal Study of Therapeutic Diseases, Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics. ORCID 0000-0002-3538-0280;

E-mail: yana-polonskaya@yandex.ru.

Elena V. Kashtanova, Dr. Sci. (Biol.), Senior Research Scientist, Laboratory of Clinical Biochemical and Hormonal Study of Therapeutic Diseases, Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of

сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. ORCID 0000-0002-3538-0280.

E-mail: yana-polonskaya@yandex.ru.

Каштанова Елена Владимировна, д-р биол. наук, старший научный сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. ORCID 0000-0003-2268-4186.

E-mail: elekastanova@yandex.ru.

Чернявский Александр Михайлович, д-р мед. наук, профессор, руководитель Центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий, Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0001-9818-8678.

E-mail: amchern@mail.ru.

Мурашов Иван Сергеевич, научный сотрудник, лаборатория патоморфологии, Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0002-3712-1258.

E-mail: ivmurashov@gmail.com.

Воевода Михаил Иванович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заведующий отделом молекулярной генетики человека, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. ORCID 0000-0001-9425-413X.

E-mail: mvoevoda@yandex.ru.

 **Шахтшнейдер Елена Владимировна**, e-mail: 2117409@mail.ru; shakhtshneyderev@bionet.nsc.ru.

the Institute of Cytology and Genetics. ORCID 0000-0003-2268-4186.

E-mail: elekastanova@yandex.ru.

Alexander M. Chernyavsky, PhD, MD, Professor, Honorary Scientist of the Russian Federation, Head of the Center for Aortic and Coronary Artery Surgery, National Medical Research Center named after Academician E.N. Meshalkin. ORCID 0000-0001-9818-8678.

E-mail: amchern@mail.ru.

Чернявский Александр Михайлович, д-р мед. наук, профессор, руководитель Центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий, Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0001-9818-8678.

Ivan S. Murashov, junior researcher pathomorphology and electron microscopy laboratories, National Medical Research Center named after Academician E.N. Meshalkin. ORCID 0000-0002-3712-1258.

E-mail: ivmurashov@gmail.com.

Michael I. Voevoda, a member of the Russian Academy of Sciences, PhD, MD, ScD, Professor, head of the Department of Human Molecular Genetics, the Institute of Cytology and Genetics. ORCID 0000-0001-9425-413X.

E-mail: mvoevoda@ya.ru.

 **Elena V. Shakhtshneider**, e-mail: 2117409@mail.ru; shakhtshneyderev@bionet.nsc.ru.

Received July 07, 2021

Поступила 21.07.2021



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-164-167>
УДК 616.12-008.46-02:[615.277.3:615.28].099.092.06

Антрациклиновая кардиотоксичность и ее роль в развитии сердечной недостаточности

Н.Г. Ложкина¹, А.Н. Спиридонов²

¹ Новосибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 630091, Российская Федерация, Новосибирск, Красный пр., 52

² Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины Федеральное исследовательское учреждение Институт цитологии и генетики, 630089, Российская Федерация, Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1

Аннотация

Антибиотики из группы антрациклинов являются одними из самых распространенных и высокоэффективных препаратов, используемых в онкологии. Тем не менее кардиотоксичность данной группы препаратов, входящих в схемы полихимиотерапии (ПХТ), обуславливает развитие сердечно-сосудистых заболеваний как в раннем, так и в позднем реабилитационном периоде. В статье представлен клинический случай, демонстрирующий отдаленные последствия высокодозной ПХТ с формированием сердечной недостаточности и ишемической болезни сердца (ИБС).

Ключевые слова:	антрациклиновая кардиомиопатия, кардиотоксичность, сердечная недостаточность, ишемическая болезнь сердца.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.
Для цитирования:	Ложкина Н.Г., Спиридонов А.Н. Антрациклиновая кардиотоксичность и ее роль в развитии сердечной недостаточности. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2021;36(4):164–167. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-164-167 .

Anthracycline cardiotoxicity and its role in the development of heart failure

Natalya G. Lozhkina¹, Alexander N. Spiridonov²

¹ Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny ave., Novosibirsk, 630091, Russian Federation

² Institute of Internal and Preventive Medicine, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, 175/1, B. Bogatkov str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation

Abstract

Anthracycline antibiotics are an important group of widely used and highly effective antitumor drugs. However, the cardiotoxicity of anthracyclines included in the polychemotherapy regimens results in the development of cardiovascular diseases both in the early and late rehabilitation period. The article presents a clinical case demonstrating the long-term consequences of high-dose polychemotherapy with the onset of heart failure and coronary artery disease.

Keywords:	anthracycline cardiomyopathy, cardiotoxicity, heart failure, coronary artery disease.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	no author has a financial or property interest in any material or method mentioned.

Спиридонов Александр Николаевич, e-mail: Spiridonov.al16@yandex.ru.

For citation:

Lozhkina N.G., Spiridonov A.N. Anthracycline cardiotoxicity and its role in the development of heart failure. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2021;36(4):164–167. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-164-167>.

Актуальность

Онкологическая патология и полихимиотерапия (ПХТ) ассоциированы с высокой степенью кардиотоксичности и развитием сердечно-сосудистых заболеваний не только в раннем, но и в отдаленном периоде реабилитации. Лекарственно индуцированная сердечная недостаточность и ишемическая болезнь сердца (ИБС) – одни из самых частых проявлений антрациклиновой кардиомиопатии. В данном клиническом случае продемонстрирован пример отдаленных последствий проведения высокодозной ПХТ при отсутствии кардиопротекторной терапии.

Клиническое наблюдение

Пациент С., 47 лет, доставлен бригадой скорой медицинской помощи в Региональный сосудистый центр № 1 05.06.2021 г. с острым инфарктом миокарда (ОИМ) и клиникой кардиогенного шока.

Анамнез заболевания

Ишемический анамнез наблюдался в течение последнего года. Пациент отмечал наличие давящей загрудинной боли при выполнении физической нагрузки. Симптоматика купировалась самостоятельно после 5 мин отдыха. Данные симптомы не имели отрицательной динамики и не нарушали качество жизни пациента, поэтому было принято решение не обращаться за медицинской помощью. Утром 05.06.2021 г. после выполнения бытовых работ в гараже пациент почувствовал жгучую, давящую загрудинную боль, появилось ощущение головокружения и резкой слабости. В связи с большей интенсивностью приступа была вызвана бригада скорой медицинской помощи. По данным проведенного на месте электрокардиографического исследования были выявлены признаки нижнего крупноочагового инфаркта миокарда с элевацией сегмента ST. Состояние в динамике усугубилось клиникой кардиогенного шока, вследствие чего была осуществлена догоспитальная инфузия норадреналина. В дальнейшем диагноз инфаркта подтвержден маркерами некроза миокарда. Проведена коронарная ангиография (КАГ) и чрескожная транслюминальная коронарная ангиопластика (ЧТКА) со стентированием субокклюзии огибающей артерии (ОА) стентом DES через правый лучевой доступ в рамках двухсосудистого поражения (хроническая окклюзия передней нисходящей артерии – ПНА).

Вечером 05.06.2021 г. у наблюдаемого пациента был зарегистрирован подъем температуры до 38 °С. Выполненная компьютерная томограмма грудной клетки выявила признаки двусторонней полисегментарной пневмонии, после чего было принято решение о назначении антибактериальной (ампициллин + сульбактам), противовирусной (уменофивир) и противовоспалительной (дексаметазон) терапии. Контрольная компьютерная томография (КТ) грудной клетки от 10.06.2021 г. продемонстрировала отрицательную динамику воспалительного процесса, вследствие чего была произведена смена антибиотика на левофлоксацин. Принимая во внимание сложившуюся эпидемиологическую обстановку, 11.06.2021 г. был осуществлен забор образца крови с целью обнаружения

антител к вирусу SARS-cov2. По результатам исследования был обнаружен пограничный титр АТ IgM (КП-0,97) и положительный титр IgG (КП-16,8). ПЦР не выявил РНК вируса SARS-cov2.

Ситуация также отягощалась тяжелой сердечной недостаточностью с низкой фракцией выброса (ФВ), признаками митральной недостаточности и легочной гипертензии.

Анамнез жизни

Пациент имеет отягощенный онкологический анамнез. В 2004 г. был поставлен диагноз «В-крупноклеточная иммунобластная лимфома IV с поражением лимфатических узлов средостения и легких». После проведения ПХТ и трансплантации костного мозга достигнута стойкая ремиссия. С онкологического учета снят. Гипертонический анамнез в течение 5 лет с подъемами артериального давления (АД) до 160/100 мм рт. ст. Клиника сердечной недостаточности в течение 3–4 лет, проявляющаяся увеличением интенсивности одышки при физической нагрузке, которую пациент списывал на длительный стаж курения. Тем не менее из анамнеза также известно о появляющейся к вечеру отечности нижних конечностей. Медикаментозную терапию, принимаемую дома, пациент назвать затрудняется, однако отмечает, что регулярного приема не соблюдает.

Объективный статус: состояние средней степени тяжести, кожные покровы чистые. Тоны сердца приглушены, АД – 130/90 мм рт. ст., частота сердечных сокращений (ЧСС) – 70 уд./мин, ритм правильный, границы сердца расширены влево. В легких дыхание жесткое, проводится по всем отделам. Частота дыхательных движений (ЧДД) – 20 в мин. Живот мягкий безболезненный, печень – +1 см из-под края реберной дуги, пастозность нижней конечности.

Данные обследования

По результатам общего анализа крови выявляется синдром гуморального воспаления, проявляющийся наличием нейтрофильного лейкоцитоза и ускорения скорости оседания эритроцитов (СОЭ), а также признаки активации тромбоцитарного звена гемостаза с уровнем тромбоцитов 464×10^9 .

По результатам биохимического анализа крови отмечается синдром тромбинемии (Д-димер – 378,00 нг/мл), воспалительный синдром подтверждается увеличением уровня С-реактивного белка (СРБ) (146,9 мг/л) и фибриногена (8,7 г/л), отмечается увеличение уровня кардиоспецифических маркеров (МВ-КФК – 697 Ед/л), нарушение функции почек – хроническая болезнь почек (ХБП) 3А (скорость клубочковой фильтрации по формуле СКД-EPI – 58,13 мл/мин).

По данным электрокардиографии: синусовый ритм, ЧСС – 70 в мин, острая стадия крупноочагового нижнего инфаркта миокарда.

По данным коронарографии: стеноз ОА до 70%. Признаки нестабильной атеросклеротической бляшки. Хроническая окклюзия ПНА.

По данным КТ: признаки двусторонней полисегментарной пневмонии. Объем поражения справа 30%, слева 15%. Признаки метатуберкулезных изменений легких в виде кальцинатов легочной паренхимы и лимфатических

узлов. Фиброзная тяжесть гравитационно-зависимых базальных отделов легких. Панлобулярная эмфизема. Умеренная внутригрудная лимфоаденопатия.

По результатам эхокардиографии: дилатация камер сердца за счет левого предсердия. Гипо- и акинез нижней, задней и боковой стенок, верхушечного сегмента межжелудочковой перегородки (МЖП), передней стенки. Митральная и трикуспидальная регургитация 2-й степени, ФВ левого желудочка (ЛЖ) – 38%, расчетное систолическое давление в легочной артерии – 64 мм рт. ст.

Окончательный клинический диагноз: ИБС, ОИМ с подъемом сегмента ST (ОИМпST), Q-позитивный, нижний (05.06.2021 г.). КАГ, ЧТКА со стентированием ОА стентом DES от 05.06. 2021 г. Killip IV. Гипертоническая болезнь III стадии, риск 4. Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) IIA, ФК 1 (NYHA), сниженная ФВ. В-крупноклеточная иммунобластная лимфома IV с поражением лимфоузлов средостения, легких, ремиссия. ПХТ от 2004 г. Новая коронавирусная инфекция, не подтвержденная ПЦР (07.06.2021 г. и 10.06.2021 г.), волнообразно-рецидивирующее течение с поражением легких, двусторонняя пневмония средней степени тяжести, ДН2, ЛСН2.

На момент нахождения в стационаре пациент получал двойную антитромбоцитарную терапию (аспирин + клопидогрель), β-блокаторы (метопролол), антагонист рецепторов ангиотензина 2 (лозартан), антагонист минералокортикоидных рецепторов (эплеренон), аторвастатин, гастропротектор (омепразол), дексаметазон, левофлоксацин, ампициллин + сульбактам, низкомолекулярный гепарин (НМГ). В динамике рецидива коронарной симптоматики не возникало.

Обсуждение

Сердечная недостаточность – клинический синдром, проявляющийся неадекватной перфузией органов и тканей вследствие снижения систолической и/или диастолической функции сердца.

Согласно выводам эпидемиологических исследований, проведенных на территории Российской Федерации, распространенность данного синдрома составляет 7% от общей популяции страны, из которых клиническую симптоматику имеют около 4,5% [1]. Таким образом, 454 860 человек имеют клинически выраженную сердечную недостаточность, ограничивающую качество жизни и снижающую интенсивность выполняемой физической нагрузки. Подобные цифры несут огромную экономическую нагрузку на государство, а также обуславливают высокую смертность от сердечно-сосудистых причин. Распространенность данной аномалии в мире среди пациентов старше 65 лет с впервые выявленной одышкой при физической нагрузке составляет 1 : 6. Риск возникновения сердечной недостаточности в возрасте 55 лет составляет 33% для мужчин и 28% для женщин [2].

Лекарственно индуцированная сердечная недостаточность – явление, о настоящей распространенности которого неизвестно. Одними из наиболее кардиотоксичных медикаментов являются препараты, входящие в состав схем ПХТ. Сердечно-сосудистые осложнения представляются основной причиной смерти пациентов, перенесших высокодозную схему ПХТ в отдаленном периоде после окончания лечения [3]. Стандартные схемы, используемые для терапии В-крупноклеточной иммунобластной лимфомы, такие как RHyper-CVAD, R-CHOP, R-CHOP-21 и т. д., включают в себя кардиотоксичные вещества, в той или иной

мере повреждающие миокард. Известно, что наиболее опасны антибиотики антрациклинового ряда. Отдаленная кардиотоксичность доксорубицина возникает у пациентов, получивших как малую (100 г/м²), так и большую (более 500 г/м²) кумулятивную дозу препарата. Механизм поражения кардиомиоцитов и эндотелиальных клеток сосудов обусловлен прямым повреждающим действием свободных радикалов. Нарушения энергетических процессов, развивающиеся вследствие нарушения работы митохондрий, в последующем приводят к дисфункции сократительных белков миоцитов, лизосом миофибрилл и снижению сократимости миокарда, что закономерно ведет к развитию застойной сердечной недостаточности, ИБС и инфаркта миокарда. Многочисленные схемы терапии включают в себя такие препараты, как винкристин, циклофосфамид, этопозид и т. д., кардиотоксичность которых также доказана и имеет явные клинические последствия [4, 5].

Согласно данным мировой литературы, существует четкая связь между перенесенной ПХТ и отдаленным развитием сердечно-сосудистой патологии [6]. Данный клинический случай демонстрирует развитие сердечной недостаточности и инфаркта миокарда при отсутствии кардиопротекторной терапии после проведенного химиотерапевтического лечения. Первичная профилактика развития антрациклиновой кардиотоксичности включает в себя использование ряда кардиопротективных средств. Официально разрешенным препаратом для превентивной терапии кардиотоксичного эффекта ПХТ является дексразоксан [5]. Механизм действия данного препарата основан на торможении свободнорадикального окисления липидов путем вытеснения железа из комплексов с доксорубицином. Кардиопротекторная терапия также включает в себя ингибиторы ARNI, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, β-блокаторы, статины. После проведенной ПХТ необходим тщательный контроль функции сердца путем ежегодных диспансерных осмотров. К сожалению, данный клинический пример демонстрирует отсутствие контроля и кардиозащитной терапии с возникновением сердечной недостаточности и низкой ФВ.

После стабилизации в отделении кардиореанимации наблюдаемый пациент переведен в кардиологическое отделение. Ситуация была отягощена выраженным иммуновоспалительным синдромом, который проявлялся ростом маркеров воспаления, увеличением грудных лимфоузлов по данным КТ и аускультативными признаками жесткого дыхания. Принимая во внимание отрицательные результаты ПЦР к РНК вируса SARS-Cov2 и пограничный титр IgM, сохранялся контроль динамики показателей крови, КТ грудной клетки и общего состояния пациента с целью дифференциальной диагностики рецидива онкологической патологии. Анализируя полученные данные, сделан вывод о возможном вирусно-бактериальном поражении органов дыхания, исключая вероятность рецидива онкологического заболевания.

Проблема антикоагулянтной терапии также стала острым вопросом терапии пациента. Назначение НМГ в плане продленной профилактики тромбозэмболических событий возможно сроком до 45 дней, согласно методическим рекомендациям по терапии новой коронавирусной инфекции COVID-19. Сочетание двойной антитромбоцитарной и антикоагулянтной терапии НМГ, безусловно, увеличивает геморрагические риски пациента, вследствие чего рассматривался вопрос о деэскалации антитромбоцитарной терапии до монотера-

пии клопидогрелем, имеющим более мягкий профиль геморагических рисков, согласно выводам исследований TRITON, PLATO. Тем не менее, учитывая высокий риск тромбоемболических осложнений (по Шкале Padua 7 баллов), низкий риск кровотечения на фоне антитромбоцитарной терапии (22 балла по Шкале PRECISE-DAPT) и ранние сроки после инфаркта миокарда, характеризующиеся наибольшим ишемическим риском, было принято решение о сохранении терапии (аспирин + тикагрелор + НМГ) как минимум до момента выписки.

При выписке данного пациента назначена терапия ХСН, включающая один из наиболее эффективных пре-

паратов в плане коррекции ХСН «Юперо», двойная антитромбоцитарная терапия, антигипертензивная, статинная и гастропротекторная терапия.

Заключение

Онкологическая патология и проводимая ПХТ ассоциированы с высокой степенью кардиотоксичности и развитием сердечно-сосудистых заболеваний не только в раннем, но и в отдаленном периоде реабилитации. Назначение кардиопротективной терапии и мультидисциплинарный подход в терапии подобных заболеваний являются важными аспектами благоприятного прогноза.

Литература

1. Терещенко С.Н., Жиров И.В. Хроническая сердечная недостаточность: новые вызовы и новые перспективы. *Терапевтический архив*. 2017;89(9):4–9. DOI: 10.17116/terarkh20178994-9.
2. Ponikowski P., Voors A.A., Anker S.D., Bueno H., Cleland J.G.F., Coats A.J.S. et al. Рекомендации ESC по диагностике и лечению хронической и острой сердечной недостаточности 2016. *Российский кардиологический журнал*. 2017;1:7–81. DOI: 10.15829/1560-4071-2017-1-7-81.
3. André M., Mounier N., Leleu X., Sonet A., Brice P., Henry-Amar M. et al. Second cancers and late toxicities after treatment of aggressive non-Hodgkin lymphoma with the ACVBP regimen: A GELA cohort study on 2837 patients. *Blood*. 2004;103(4):1222–1228. DOI: 10.1182/blood-2003-04-1124.

References

1. Tereshchenko S.N., Zhiron I.V. Chronic heart failure: New challenges and new perspectives. *Therapeutic Archive*. 2017;89(9):4–9 (In Russ.). DOI: 10.17116/terarkh20178994-9.
2. Ponikowski P., Voors A.A., Anker S.D., Bueno H., Cleland J.G.F., Coats A.J.S. et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2016. *Russian Journal Cardiology*. 2017;1:7–81 (In Russ.). DOI: 10.15829/1560-4071-2017-1-7-81.
3. André M., Mounier N., Leleu X., Sonet A., Brice P., Henry-Amar M. et al. Second cancers and late toxicities after treatment of aggressive non-Hodgkin lymphoma with the ACVBP regimen: A GELA cohort study on 2837 patients. *Blood*. 2004;103(4):1222–1228. DOI: 10.1182/blood-2003-04-1124.

Информация о вкладе авторов

Ложкина Н.Г. – непосредственная курация больного, анализ и интерпретация данных, определение тактики ведения больного, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Спиридонов А.Н. – непосредственная курация больного, анализ и интерпретация данных, разработка концепции и дизайна статьи, написание статьи.

Сведения об авторах

Ложкина Наталья Геннадьевна, д-р мед. наук, профессор кафедры факультетской терапии, Новосибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации; кардиолог и куратор отделения для лечения больных с острым коронарным синдромом, Региональный сосудистый центр № 1. ORCID 0000-0002-4832-3197.

E-mail: lozhkina.n@mail.ru.

Спиридонов Александр Николаевич, врач-ординатор по специальности «Кардиология», Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики. ORCID 0000-0003-4892-0861.

E-mail: Spiridonov.al16@yandex.ru.

 **Спиридонов Александр Николаевич**, e-mail: Spiridonov.al16@yandex.ru.

4. Divakaran S., Biery D.W., Berman A.N., Singh A., Hainer J., Wu W.Y. et al. Long-term outcomes following myocardial infarction in young adult survivors of Hodgkin lymphoma: The YOUNG-MI Registry. *JASS CardioOncology*. 2021;3(2):319–321. DOI: 10.1016/j.jaccso.2021.04.001.
5. Дорохина Е.И. Отдаленные результаты и токсичность высокодозной химиотерапии взрослых больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой по модифицированной программе NHL-BFM-90: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2016:15.
6. Турсунова Н.В., Клиникова М.Г., Бабенко О.А., Лушникова Е.Л. Молекулярные механизмы коррекции кардиотоксических эффектов антрациклинов кардиопротекторами. *Современные проблемы науки и образования*. 2020;4. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=30035> (дата обращения: 28.08.2021).

4. Divakaran S., Biery D.W., Berman A.N., Singh A., Hainer J., Wu W.Y. et al. Long-term outcomes following myocardial infarction in young adult survivors of Hodgkin lymphoma: The YOUNG-MI registry. *JASS CardioOncology*. 2021;3(2):319–321. DOI: 10.1016/j.jaccso.2021.04.001.
5. Dorokhina E.I. Long-term results and toxicity of high-dose chemotherapy in adult patients with diffuse large B-cell lymphoma according to the modified NHL-BFM-90 program: Abstr. Dis. ... Cand. Sci. Med. Moscow; 2016:15 (In Russ.).
6. Tursunova N.V., Klinnikova M.G., Babenko O.A., Lushnikova E.L. Molecular mechanisms of correction of cardiotoxic effects of anthracyclines by cardioprotectors. *Modern Problems of Science and Education*. 2020;4 (In Russ.). URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=30035> (available: 28.08.2021).

Information on author contributions

Lozhkina N.G. – supervision of the patient, analysis and interpretation of data, definition of tactics for patient management, and final approval of the manuscript for publication.

Spiridonov A.N. – supervision of the patient, analysis and interpretation of data, concept development, article design, and writing the manuscript.

Information about the authors

Natalya G. Lozhkina, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Faculty Therapy, Novosibirsk State Medical University; Cardiologist and Curator, Department for Treatment of Patients with Acute Coronary Syndrome, Regional Vascular Center No. 1. ORCID 0000-0002-4832-3197.

E-mail: lozhkina.n@mail.ru.

Alexander N. Spiridonov, Resident Physician in Cardiology, Institute of Internal and Preventive Medicine, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics. ORCID 0000-0003-4892-0861.

E-mail: Spiridonov.al16@yandex.ru.

 **Alexander N. Spiridonov**, e-mail: Spiridonov.al16@yandex.ru.

Received July 18, 2021

Поступила 18.07.2021

<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-168-169>
УДК 616.1(091)(092)



Ушел из жизни Евгений Иванович Чазов, выдающийся российский врач, ученый, государственный деятель, ярчайший представитель медицины современности. Каждая эпоха славится личностями, но есть среди них и особо значимые, и мы называем их великими: это Н.И. Пирогов, С.П. Боткин, И.П. Павлов. Оценивая в эти печальные дни прощания с Евгением Ивановичем Чазовым тот колоссальный вклад, который он внес в развитие медицины XX в., здравоохранение страны и мира, мы с полным основанием можем сказать: ушел из жизни Великий Чазов. И это тот случай, когда нет необходимости перечислять все, что сделал Евгений Иванович. Это, действительно, так много, что трудно уложить в памяти одного человека.

Для нас, кардиологов и врачей в целом, Евгений Иванович Чазов, прежде всего, создатель совершенно уникальной кардиологической службы Советского Союза, во главе которой в каждом крупном регионе страны стояли научно-исследовательские институты кардиологии. Они были практически во всех союзных республиках. И мы, представители томской, сибирской медицинской науки, не можем не гордиться тем, что под руководством и при непосредственном участии Евгения Ивановича Чазова организовали институт кардиологии в Томске, который был создан как Сибирский филиал Всесоюзного кардиологического научного центра АМН СССР (ВКНЦ АМН СССР).

Сибирскому филиалу ВКНЦ АМН СССР было поручено осуществлять научно-методическое руководство формирующейся кардиологической службой огромного региона Сибири и Дальнего Востока. Понимая важность нашего региона, Евгений Иванович ежегодно бывал в Томске, выступал с блестящими докладами, лекциями, в том числе перед широкой аудиторией партийно-хозяйственных активистов области, всегда при переполненных аудиториях. Евгений Иванович в своих ярких выступле-

ниях, демонстрируя колоссальный технологический прогресс современной медицины, всегда подчеркивал особо важную роль первичной профилактики и ответственности каждого человека за состояние своего здоровья.

Создав один из лучших в мире кардиологических центров – Всесоюзный кардиологический научный центр Академии медицинских наук СССР, Евгений Иванович большое внимание уделял развитию научной и практической кардиологии на всей огромной территории СССР.

Вспоминаются ежегодные научные советы по кардиологии, которые проводились в различных городах страны. Мне выпало счастье участвовать в подобных научно-практических форумах в городах Фрунзе, Ташкенте, Киеве, Харькове, Хабаровске и ряде других. В программы научных советов включалось и знакомство с кардиологической службой региона, что, несомненно, обогащало всех участников этих незабываемых встреч.

Запомнилась и неформальная часть этих мероприятий. Они проходили в теплой дружеской обстановке за праздничным столом. И Евгений Иванович всегда был душой компании. Восхищали его высокий интеллект, всесторонняя эрудиция, знание литературы, опыт общения с крупными государственными деятелями, ведущими кардиологами мира.

И всегда, в любой обстановке, а мне посчастливилось неоднократно встречаться с ним в домашней обстановке и в Москве, и в Томске, он был совершенно простым, доступным для общения и очень интересным человеком.

Академик Евгений Иванович Чазов много сделал для разработки и внедрения в медицинскую практику страны современных диагностических и лечебных технологий. Будучи министром здравоохранения СССР всего 3 года, он добился, в частности, создания региональных диагностических центров, оснащенных самым современным оборудованием. Но при этом Евгений Иванович в своей практической деятельности свято хранил основные принципы искусства врачевания и, как его большой друг, выдающийся американский кардиолог Бернард Лаун, в своих выступлениях всегда призывал к этому врачевную аудиторию. Ему, в частности, принадлежат слова: «Врачевание – это не только наука, это еще и искусство».

Трудно в кратком сообщении, особенно находясь под впечатлением тяжелой, безвозвратной утраты, пытаться сказать все, что соответствовало бы значимости этого человека для медицины, науки и страны в целом.

Ушел дорогой Евгений Иванович Чазов, замечательный врач, ученый, гражданин России. К сожалению, с ним уходит и та эпоха, в которой он рос, учился и многие годы работал на благо страны и человечества.

Ученик и соратник академика РАН Е.И. Чазова
академик РАН Р.С. Карпов

Редакция «Сибирского журнала клинической и экспериментальной медицины» присоединяется к соболезнованиям.

Скорбим вместе с родными и близкими, коллегами, друзьями, учениками.

Добрая и светлая память о Е.И. Чазове навсегда останется в наших благодарных сердцах.



Редакция «Сибирского журнала клинической и экспериментальной медицины» с глубоким прискорбием извещает о смерти члена редакционной коллегии журнала, известного российского ученого, заслуженного деятеля науки Российской Федерации, доктора медицинских наук, профессора Вадима Анатольевича Кузнецова. Он был настоящим Мастером, который заслужил авторитет, уважение, звания и регалии всей своей жизнью! Для всех, кто работал с Вадимом Анатольевичем, сотрудничал с ним, общался, дружил, учился у него, его кончина – это невозможная утрата.

Кузнецов В.А. прошел непростой путь от участкового врача-терапевта в Новосибирской области до директора Тюменского кардиоцентра, которым он бессменно был в течение многих лет. Во многом благодаря его особой энергетике и открытости ко всему новому, Тюменский кардиологический центр сегодня – это уникальный академический научно-лечебно-образовательный комплекс, который в 2011 г. по итогам Национальной премии «Пурпурное сердце» был признан лучшим медицинским учреждением в России.

Под началом В.А. Кузнецова сформировалась научная школа по разработке и внедрению новых методов инструментальной диагностики и интервенционного лечения в кардиологии, базирующихся на изучении фундаментальных закономерностей этиологии и патогенеза

сердечно-сосудистых заболеваний. В непростые времена для страны, и для медицины в частности, Вадим Анатольевич проявил себя способным организатором – сумел обеспечить стабильную работу учреждения, сохранить коллектив и нарастить его научный потенциал.

Автор более 900 новаторских научных работ, опубликованных в высокорейтинговых российских и иностранных изданиях, 9 патентов на изобретения, научный руководитель 20 кандидатских и 5 докторских диссертаций. Приглашенный лектор на международных конференциях и конгрессах, организатор и президент более 20 ежегодных международных конференций «Актуальные вопросы кардиологии» и «Кардиология на перекрестке наук», проводимых в Тюменском кардиоцентре на высочайшем организационном и информационном уровнях. Он успел подготовить целую когорту врачей и научных сотрудников, которые успешно трудятся в российских и зарубежных клиниках. В.А. Кузнецов был крупным ученым, руководителем, наставником, человеком, которого по-настоящему волновало будущее медицинской науки.

Помимо высокого профессионализма, неиссякаемой творческой энергии и феноменальной трудоспособности Вадим Анатольевич обладал уникальным творческим потенциалом, был разносторонне одаренным человеком, блестящим эрудитом, серьезно увлекался музыкой, танцами, поэзией, был очень интересным собеседником. Умел «держать удар», несмотря на то, что имел весьма тонкую внутреннюю организацию – тяжело переживал свои ошибки, но не сдавался даже в самых сложных жизненных ситуациях.

Сложно смириться с уходом еще очень молодого и талантливого человека, высококлассного специалиста, единомышленника, с которым нас связывают не годы, а десятилетия личного и профессионального общения.

Мы потрясены этим печальным известием и низко склоняем головы перед памятью о замечательном Человеке, нашем Коллеге и Друге!

Редакция
«Сибирского журнала клинической
и экспериментальной медицины»

Рекомендации по оформлению статей, содержащих результаты оригинальных исследований

Уважаемые коллеги!

Данный материал содержит рекомендации редакционной коллегии «Сибирского журнала клинической и экспериментальной медицины» по оформлению статей, содержащих результаты оригинальных исследований. Материал разработан с учетом распространенных дизайнов научных исследований и на основе международных рекомендаций, ссылки на которые приведены в тексте. Мы рассматриваем его в качестве дополнения к правилам для авторов, опубликованным на сайте нашего журнала. Данные рекомендации при подготовке и оформлении рукописей можно использовать в качестве чек-листов для разных дизайнов оригинальных исследований.

С уважением,

редакционная коллегия издания
«Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины»

Клинические случаи (CARE <https://www.care-statement.org/checklist>)

Раздел	Рекомендации
Название	Присутствует словосочетание «клинический случай» с описанием краткого диагноза пациента и проведенной работы, например: «Сложные вопросы диагностики аутосомно-рецессивного остеопетроза (ОРТВ8): клинический случай».
Абстракт	Что уникального в этом случае, что он добавляет к уже опубликованным в литературе данным. Главные симптомы пациента и важные клинические данные. Основной диагноз, лечебные мероприятия и исходы. Какую основную мысль должен получить читатель.
Введение	Что уникального в этом случае, что он добавляет к уже опубликованным в литературе данным?
Информация о пациенте	Пациент должен быть деперсонализирован. Например: мужчина 62 лет, девочка 8 лет. Обратите внимание на подписи рентгеновских, КТ или МРТ снимков – часто на них сохраняется фамилия. На фотографиях не должно быть видно лицо пациента. Указаны основные сведения о пациенте, его симптомы, информация о сопутствующих заболеваниях, анамнезе, психосоциальном статусе, при необходимости описана наследственность. Приведено описание предыдущих релевантных лечебных мероприятий и их результатов.
Клинические данные	Описание релевантных физикальных данных и других важных клинических находок. Наиболее важная информация о пациенте должна быть изложена в хронологическом порядке.
Диагностика	Перечисление методов диагностики. Описание трудностей при диагностике (если были). Обоснования для дифференциальной диагностики, подозрения на другой диагноз. Прогностические характеристики, где это возможно.
Лечение	Типы лечебных мероприятий (фармакотерапия, хирургическое, профилактическое лечение, самопомощь и т.д.). Характеристики лечебных мероприятий (дозировка, продолжительность, периодичность, технические особенности операции и т.д.). Обоснование изменений в лечебной тактике, если были.
Наблюдение и исходы	Результаты, оцениваемые врачом и пациентом. Важные результаты обследований на этапах наблюдения. Соблюдал ли пациент рекомендации. Побочные и нежелательные явления.
Обсуждение	Сильные стороны, преимущества и ограничения (недостатки) публикуемого клинического случая. Обсуждение релевантных публикаций других авторов. Обоснование для выводов, включая оценку возможных причин. Основной вывод, заключение.

Раздел	Рекомендации
Финансирование	Источники финансирования и другая поддержка (например, лекарственное обеспечение), роль спонсоров.

Обсервационные исследования: поперечные, когортные, «случай-контроль» (STROBE <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijisu.2014.07.013>)

Раздел	Рекомендации
Название и абстракт	В названии должен быть указан его дизайн в общеупотребительных терминах; абстракт должен быть информативным, с краткими выводами о том, что было сделано или обнаружено.
Введение	Опишите имеющиеся научные данные и дайте обоснование для проведения исследования. Укажите цели и гипотезы исследования.
Дизайн исследования	Перечислите основные элементы дизайна исследования.
Условия	Место (учреждение), где производился сбор и обработка данных исследования. Условия, в которых осуществлялась работа и релевантные даты, включая временные периоды набора, применение медицинских вмешательств, наблюдения и сбора данных.
Участники	Когортные исследования: перечислите критерии включения и исключения, источники и методы отбора участников, опишите методы наблюдения. Для сопоставительных исследований дайте критерий сопоставления и число участников с событием и без него. Исследования «случай-контроль»: перечислите критерии включения и исключения; источники и методы отбора в группы. Поперечные исследования: перечислите критерии включения и исключения, источники и методы отбора участников. Для сопоставительных исследований дайте критерий сопоставления и число случаев контроля на один случай с событием.
Переменные	Дайте четкое определение всем изучаемым исходам, вмешательствам, факторам риска и другим факторам, имеющим возможное влияние. Укажите диагностические критерии (если применимо).
Источники данных/измерений	Для каждой переменной укажите источник получения и особенности оценки (измерений). Опишите сопоставимость методов оценки, если в исследовании более одной группы.
Объем выборки	Объясните, как Вы определили необходимый объем выборки для каждой группы участников.
Статистические методы	Опишите все статистические методы, включая использовавшиеся для контроля вмешивающихся факторов (конфаундеров). Опишите тактику в случае отсутствия данных. Когортные исследования: опишите тактику при выбывании из наблюдения. Исследования «случай-контроль»: опишите тактику сопоставления. Поперечные исследования: опишите аналитические методы определения окончания набора участников.
Участники	Укажите количество участников на каждой стадии исследования. Укажите причины и конкретное количество участников, выбывающих из исследования на каждой его стадии.
Описание данных	Дайте характеристику участников исследования (демографическую, клиническую, социальную и др. данные), а также информацию о медицинских вмешательствах и потенциальных вмешивающихся факторах (конфаундерах). Укажите число участников с отсутствующими данными по каждому из изучаемых исходов. Когортные исследования: укажите время наблюдения и продолжительность исследования.
Исходы	Когортные исследования: сообщите о числе событий и итоговых показателей за период наблюдения. Исследования «случай-контроль»: укажите число событий или значения показателей в каждой группе. Поперечные исследования: укажите число исходов или итоговых показателей.

Раздел	Рекомендации
Основные результаты	Дайте некорректированные результаты и, если применимо, скорректированные на конфаундеры результаты с доверительными интервалами (или др. показателями размаха). Если выполнялась коррекция, дайте пояснения, почему выбраны те или иные конфаундеры. В случае категоризированных переменных дайте критерии отнесения результатов к той или иной категории. Если применимо, приведите не только относительный, но и абсолютный риск за период времени.
Обсуждение	Подытожьте основные результаты в связи с поставленными целями исследования. Обсудите ограничения исследования, обращая внимание на источники потенциальной предвзятости с анализом ее силы и направления. Дайте тщательную интерпретацию результатов с учетом целей, ограничений, результатов аналогичных исследований и других научных данных. Обсудите возможность генерализации результатов исследования (внешнюю валидность).
Финансирование	Источники финансирования и другая поддержка (например, лекарственное обеспечение), роль спонсоров.

Рандомизированные исследования

(CONSORT <http://www.consort-statement.org>)

Блок-схема рандомизированного контролируемого исследования прилагается

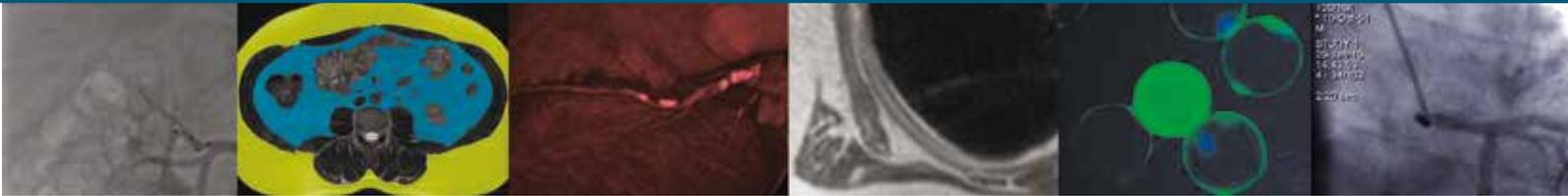
Раздел	Рекомендации
Название и абстракт	Указать в названии, что это рандомизированное исследование. Структурированное краткое описание дизайна исследования, методов, результатов и выводов.
Введение	Опишите имеющиеся предпосылки и дайте обоснование для проведения исследования. Укажите конкретные цели исследования и проверяемые гипотезы.
Дизайн исследования	Описание дизайна исследования (например, параллельный, факториальный) с указанием количества пациентов в группах. Важные изменения, сделанные после начала исследования с описанием причин.
Условия	Учреждение, где проводились сбор и обработка данных исследования. Условия, в которых осуществлялась работа и релевантные даты, включая временные периоды набора, применение медицинских вмешательств, наблюдения и сбора данных. Если необходимо, обоснование правил прекращения исследования
Участники (настоятельно рекомендуется блок-схема, прилагается ниже)	Укажите критерии включения/исключения участников. Динамика участников на каждом этапе исследования. Для каждой группы указать количество рандомизированных участников, количество получивших планируемое лечение. Для каждой группы указать количество выбывших и исключенных пациентов после рандомизации с указанием причин. Следует представлять абсолютное число участников.
Вмешательства	Точное описание вмешательств, которые были запланированы в каждой из групп, как и когда они проводились.
Исходы	Точное указание первичных и вторичных исходов, включая способы и сроки их оценки. В качестве первичной конечной точки чаще используются «жесткие» варианты исходов – инсульты, инфаркты, смерть. Любые изменения изучаемых исходов, сделанные после начала исследования с описанием причин.
Объем выборки	Каким способом определен необходимый объем выборки для каждой группы участников.
Рандомизация	Метод генерации случайной последовательности распределения участников испытания по группам, включая детальное определение любых особенностей ограниченной рандомизации (например: рандомизации внутри блоков, стратифицированной рандомизации). Кто проводил генерацию случайной последовательности распределения, кто включал участников в исследование, кто распределял участников в соответствующие группы?

Раздел	Рекомендации
Ослепление	Ослепление: применялся слепой метод или маскирование вмешательств в отношении участников, медицинского персонала, назначавшего лечение, исследователей, оценивающих клинические исходы? Как оценивалась эффективность ослепления?
Сокрытие	Способ технического обеспечения применения случайной последовательности распределения с уточнением, была ли случайная последовательность скрытой до назначения вмешательств.
Статистические методы	Статистические методы, используемые для сравнения групп по первичным и вторичным исходам. Методы дополнительных анализов (например, анализ в подгруппе, коррекция данных).
Описание данных	Таблица, в которой представлены исходные демографические и клинические характеристики в каждой группе. Описание отклонений от запланированного протокола исследования с их обоснованием.
Основные результаты	Для бинарных исходов необходимо указать как абсолютные, так и относительные значения (%). Для количественных признаков для каждой группы указываются средние значения/медиана первичных и вторичных исходов, а также отмечается величина эффекта и оценки размаха (доверительный интервал/интерквартильный размах).
Осложнения	Наличие или отсутствие всех видов осложнений или нежелательных эффектов в каждой из групп вмешательства.
Обсуждение	Ограничения исследования с описанием причин возможной необъективности, неточностей. Экстраполяция (внешняя валидность, применимость) результатов исследования. Интерпретация полученных результатов с учетом выдвинутой гипотезы исследования, источников потенциальных систематических ошибок, в связи с современными данными.
Другое	Регистрационный номер исследования и название исследования в реестре. Где можно ознакомиться с полным протоколом исследования.
Финансирование	Источники финансирования и другая поддержка (например, лекарственное обеспечение), роль спонсоров.

По поводу оформления рукописей других типов статей (систематические обзоры, мета-анализы, исследования диагностической эффективности методов) рекомендуем обратиться к статье: Середа А.П., Андрианова М.А. Рекомендации по оформлению дизайна исследования. *Травматология и ортопедия России*. 2019;25(3):165–184. DOI: 10.21823/2311-2905-2019-25-3-165-184.

Блок-схема рандомизированного контролируемого исследования (CONSORT 2010)





Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЕ РЕЦЕНЗИРУЕМОЕ ИЗДАНИЕ

4'2021
Том 36