

ВЕСТНИК РОССИЙСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

НАУЧНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ РНИМУ ИМ. Н. И. ПИРОГОВА

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР Денис Ребриков, д. б. н., профессор

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА Александр Эттингер, д. м. н., профессор

РЕДАКТОРЫ Валентина Гейдебрект, к. б. н.; Надежда Тихомирова

ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕДАКТОР Евгений Лукьянов

ПЕРЕВОДЧИКИ Надежда Тихомирова, Вячеслав Витюк

ДИЗАЙН И ВЕРСТКА Марины Дорониной

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

В. И. Аверин, д. м. н., профессор (Минск, Белоруссия)
Н. Н. Алипов, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. В. Белоусов, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
М. Р. Богомильский, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. К. Боженко, д. м. н., к. б. н., профессор (Москва, Россия)
Н. А. Былова, к. м. н., доцент (Москва, Россия)
Р. Р. Гайнетдинов, к. м. н. (Санкт-Петербург, Россия)
Г. Е. Гендлин, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Е. К. Гинтер, академик РАН, д. б. н. (Москва, Россия)
Л. Р. Горбачева, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
И. Г. Гордеев, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
А. В. Гудков, PhD, DSc (Буффало, США)
Н. В. Гуляева, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
Е. И. Гусев, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. Н. Даниленко, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
Т. В. Зарубина, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
И. И. Затевахин, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. Е. Каган, профессор (Питтсбург, США)
Ю. Г. Кжышковска, д. б. н., профессор (Гейдельберг, Германия)
Б. А. Кобринский, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
А. В. Козлов, MD PhD (Вена, Австрия)
Ю. В. Котелевцев, к. х. н. (Москва, Россия)
М. А. Лебедев, PhD (Дарем, США)
Н. Е. Мантурова, д. м. н. (Москва, Россия)
О. Ю. Милушкина, д. м. н., доцент (Москва, Россия)
З. Б. Митупов, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
С. А. Мошковский, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
Д. Б. Мунблит, MSc, PhD (Лондон, Великобритания)

В. В. Негребецкий, д. х. н., профессор (Москва, Россия)
А. А. Новиков, д. б. н. (Москва, Россия)
Ю. П. Пивоваров, д. м. н., академик РАН, профессор (Москва, Россия)
Н. В. Полунина, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Г. В. Порядин, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
А. Ю. Разумовский, член-корр., профессор (Москва, Россия)
О. Ю. Реброва, д. м. н. (Москва, Россия)
А. С. Рудой, д. м. н., профессор (Минск, Белоруссия)
А. К. Рылова, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Г. М. Савельева, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. Ф. Семиглазов, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)
Н. А. Скоблина, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Т. А. Славянская, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. М. Смирнов, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
А. Спаллоне, д. м. н., профессор (Рим, Италия)
В. И. Стародубов, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. А. Степанов, член-корр. РАН, д. б. н., профессор (Томск, Россия)
С. В. Сучков, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Х. П. Тахчиди, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Г. Е. Труфанов, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)
О. О. Фаворова, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
М. Л. Филипенко, к. б. н. (Новосибирск, Россия)
Р. Н. Хазипов, д. м. н. (Марсель, Франция)
М. А. Чундокова, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Н. Л. Шимановский, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Л. Н. Шишкина, д. б. н. (Новосибирск, Россия)
Р. И. Якубовская, д. б. н., профессор (Москва, Россия)

ПОДАЧА РУКОПИСЕЙ <http://vestnikrgmu.ru/login>

ПЕРЕПИСКА С РЕДАКЦИЕЙ editor@vestnikrgmu.ru

СОТРУДНИЧЕСТВО manager@vestnikrgmu.ru

АДРЕС РЕДАКЦИИ ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997

Журнал включен в Scopus. CiteScore 2022: 0,5

Журнал включен в WoS. JCR 2021: 0,5

Индекс Хирша (h²) журнала по оценке Google Scholar: 8

Scopus[®]

WEB OF SCIENCE™

Google
scholar

SCImago Journal & Country Rank 2020: 0,14

Журнал включен в Перечень 31.01.2020 (№ 507)

Здесь находится открытый архив журнала

SJR
Scimago Journal & Country Rank

 ВЫСШАЯ
АТТЕСТАЦИОННАЯ
КОМИССИЯ (ВАК)

CYBERLENINKA

DOI выпуска: 10.24075/vrgmu.2023-05

Свидетельство о регистрации средства массовой информации № 012769 от 29 июля 1994 г.

Учредитель и издатель — Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова (Москва, Россия)

Журнал распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International www.creativecommons.org



Подписано в печать 31.10.2023

Тираж 100 экз. Отпечатано в типографии Print.Formula
www.print-formula.ru

BULLETIN OF RUSSIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

BIOMEDICAL JOURNAL OF PIROGOV RUSSIAN NATIONAL RESEARCH MEDICAL UNIVERSITY

EDITOR-IN-CHIEF Denis Rebrikov, DSc, professor

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF Alexander Oettinger, DSc, professor

EDITORS Valentina Geidebrekht, PhD; Nadezda Tikhomirova

TECHNICAL EDITOR Evgeny Lukyanov

TRANSLATORS Nadezda Tikhomirova, Vyacheslav Vityuk

DESIGN AND LAYOUT Marina Doronina

EDITORIAL BOARD

Averin VI, DSc, professor (Minsk, Belarus)

Alipov NN, DSc, professor (Moscow, Russia)

Belousov VV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Bogomilskiy MR, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Bozhenko VK, DSc, CSc, professor (Moscow, Russia)

Bylova NA, CSc, docent (Moscow, Russia)

Gainetdinov RR, CSc (Saint-Petersburg, Russia)

Gendlin GYe, DSc, professor (Moscow, Russia)

Ginter EK, member of RAS, DSc (Moscow, Russia)

Gorbacheva LR, DSc, professor (Moscow, Russia)

Gordeev IG, DSc, professor (Moscow, Russia)

Gudkov AV, PhD, DSc (Buffalo, USA)

Gulyaeva NV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Gusev EI, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Danilenko VN, DSc, professor (Moscow, Russia)

Zarubina TV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Zatevakhin II, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Kagan VE, professor (Pittsburgh, USA)

Kzyshkowska YuG, DSc, professor (Heidelberg, Germany)

Kobrinskii BA, DSc, professor (Moscow, Russia)

Kozlov AV, MD PhD, (Vienna, Austria)

Kotelevtsev YuV, CSc (Moscow, Russia)

Lebedev MA, PhD (Darem, USA)

Manturova NE, DSc (Moscow, Russia)

Milushkina OYu, DSc, professor (Moscow, Russia)

Mitupov ZB, DSc, professor (Moscow, Russia)

Moshkovskii SA, DSc, professor (Moscow, Russia)

Munblit DB, MSc, PhD (London, Great Britain)

Negrebetsky VV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Novikov AA, DSc (Moscow, Russia)

Pivovarov YuP, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Polunina NV, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Poryadin GV, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Razumovskii AYU, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Rebrova OYu, DSc (Moscow, Russia)

Rudoy AS, DSc, professor (Minsk, Belarus)

Rylova AK, DSc, professor (Moscow, Russia)

Savelieva GM, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Semiglazov VF, corr. member of RAS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)

Skoblina NA, DSc, professor (Moscow, Russia)

Slavyanskaya TA, DSc, professor (Moscow, Russia)

Smirnov VM, DSc, professor (Moscow, Russia)

Spallone A, DSc, professor (Rome, Italy)

Starodubov VI, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Stepanov VA, corr. member of RAS, DSc, professor (Tomsk, Russia)

Suchkov SV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Takhchidi KhP, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Trufanov GE, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)

Favorova OO, DSc, professor (Moscow, Russia)

Filipenko ML, CSc, leading researcher (Novosibirsk, Russia)

Khazipov RN, DSc (Marsel, France)

Chundukova MA, DSc, professor (Moscow, Russia)

Shimanovskii NL, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Shishkina LN, DSc, senior researcher (Novosibirsk, Russia)

Yakubovskaya RI, DSc, professor (Moscow, Russia)

SUBMISSION <http://vestnikrgmu.ru/login?lang=en>

CORRESPONDENCE editor@vestnikrgmu.ru

COLLABORATION manager@vestnikrgmu.ru

ADDRESS ul. Ostrovityanova, d. 1, Moscow, Russia, 117997

Indexed in Scopus. CiteScore 2022: 0.5

Scopus[®]

SCImago Journal & Country Rank 2020: 0.14

SJR
Scimago Journal & Country Rank

Indexed in WoS. JCR 2021: 0.5

WEB OF SCIENCE[™]

Listed in HAC 31.01.2020 (№ 507)



**ВЫСШАЯ
АТТЕСТАЦИОННАЯ
КОМИССИЯ (ВАК)**

Five-year h-index is 8

Google
scholar

Open access to archive

CYBERLENINKA

Issue DOI: 10.24075/brsmu.2023-05

The mass media registration certificate № 012769 issued on July 29, 1994

Founder and publisher is Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia)

The journal is distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License www.creativecommons.org



Approved for print 31.10.2023

Circulation: 100 copies. Printed by Print.Formula
www.print-formula.ru

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

4

Экспрессия фактора АТОН1 индуцирует быструю дифференцировку iPSC в нейронном направлении
А. И. Степанов, Л. В. Пуляева, Д. А. Дидыч, А. А. Галиакберова, Н. Г. Гурская, К. А. Лукьянов

ATON1 factor expression induces rapid differentiation of iPSCs into neurons
Stepanov AI, Putlyayeva LV, Didyich DA, Galiakberova AA, Gurskaya NG, Lukyanov KA

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

10

Особенности экспрессии CD163⁺ и HLA-DR⁺ на моноцитах крови при раке молочной железы
М. Р. Патышева, М. Н. Стахеева, Е. С. Григорьева, Н. А. Тарабановская, О. Д. Брагина, Ю. Г. Кжышковска, Н. В. Чердынцева

Features of CD163⁺ and HLA-DR⁺ expression on blood monocytes associated with breast cancer
Patyshyeva MR, Stakheyeva MN, Grigoryeva ES, Tarabanovskaya NA, Bragina OD, Kzhyskowska JG, Cherdyntseva NV

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

19

Генотипы CYP2D6*3, *4, *6 и гипертрофия эндометрия у больных раком молочной железы на фоне терапии тамоксифеном
А. Ю. Горяинова, Н. Ю. Усман, А. В. Рубанович, С. А. Боринская, А. А. Мещеряков

CYP2D6*3, *4, *6 genotypes and endometrial thickness in patients with breast cancer during tamoxifen therapy
Goryainova AYU, Usman NYU, Rubanovich AV, Borinskaya SA, Meshcheryakov AA

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

27

Геногеография фармакогенетически значимых ДНК-маркеров CYP2C19 суперсемейства цитохромов в народонаселении России и сопредельных стран

Е. В. Балановская, Ш. П. Абдулаев, И. О. Горин, Р. О. Белов, Е. А. Мукатдарова, В. Ю. Пылёв

Gene geography of pharmacogenetically significant CYP2C19 cytochrome superfamily DNA markers in the populations of Russia and neighboring countries

Balanovska EV, Abdulaev ShP, Gorin IO, Belov RO, Mukatdarova EA, Pylev VYu

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

42

Ишемический инсульт с наличием и отсутствием диссекций брахиоцефальных артерий: результаты комплексного обследования пациентов

Е. В. Орлова, А. Б. Бердалин, И. Д. Решетаров, В. Г. Лелюк

Ischemic stroke with and without brachiocephalic artery dissections: results of comprehensive examination of patients

Orlova EV, Berdalin AB, Reshetarov ID, Lelyuk VG

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

50

Нейросети головного мозга при сочетании хронической церебральной ишемии и сахарного диабета 2-го типа

В. Ф. Фокин, Н. В. Пономарева, Р. Н. Коновалов, А. А. Шабалина, Р. Б. Медведев, О. В. Лагода, А. И. Боровова, М. В. Кротенкова, М. М. Танашян

Cerebral neural networks in cases of concomitant chronic cerebral ischemia and type 2 diabetes mellitus

Fokin VF, Ponomareva NV, Kononov RN, Shabalina AA, Medvedev RB, Lagoda OV, Boravova AI, Krotenkova MV, Tanashyan MM

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

58

Статистический анализ данных по неотложной челюстно-лицевой хирургии

А. Э. Маркаров, Д. А. Еремин, А. В. Мартиросов, А. С. Хандзрацян, А. И. Оразвалиев, С. А. Бугаян, О. И. Халифаев

Statistical analysis of data on emergency maxillofacial surgery

Markarov AE, Eremin DA, Martirosov AV, Khandzratsyan AS, Orazvaliev AI, Bugayan SA, Khalifaev OI

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

65

Состояние нервно-психического здоровья школьников при различном времени использования мобильных электронных устройств

Ю. В. Соловьева, С. С. Паунова, В. Р. Семичева, Н. А. Скоблина, О. Ю. Милушкина

Effect of different mobile device screen time durations on neuropsychiatric health of schoolchildren

Solovyova YuV, Paunova SS, Semicheva VR, Skoblina NA, Milushkina OYu

ЭКСПРЕССИЯ ФАКТОРА АТОН1 ИНДУЦИРУЕТ БЫСТРУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ИПСК В НЕЙРОННОМ НАПРАВЛЕНИИ

А. И. Степанов^{1,2}, Л. В. Путляева^{1,2}, Д. А. Дидыч², А. А. Галиакберова^{3,4}, Н. Г. Гурская^{1,3}✉, К. А. Лукьянов²

¹ Сколковский институт науки и технологии, Центр молекулярной и клеточной биологии, Москва, Россия

² Институт биоорганической химии имени М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, Москва, Россия

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

⁴ Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Изучение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека (иПСК) и создание технологий их практического использования — одно из самых наукоемких направлений современных биомедицинских исследований. Несмотря на потенциал применения иПСК в персонализированной медицине и в создании клеточных моделей заболеваний различной этиологии, использование иПСК остается крайне сложным. Так, межклеточная гетерогенность иПСК при отсутствии эффективных способов определения идентичности и оценки существенно затрудняет воспроизводимость подобных исследований. Целью работы было создать линию иПСК, несущую ген транскрипционного фактора АТОН1 под контролем системы индукции экспрессии Tet-One, ген флуоресцентного белка TagBFP и ген устойчивости к пуromycin для селекции клеток. В работе использовали методы молекулярного клонирования, лентивирусную трансдукцию, культивирование клеток, иммунофлуоресцентное окрашивание и флуоресцентную микроскопию. Созданная клеточная модель позволит анализировать состояние единичных клеток и, следовательно, имеет большой практический потенциал как для лабораторных, так и для медицинских исследований.

Ключевые слова: иПСК, АТОН1, лентивирус, нейронная дифференцировка

Финансирование: работа была поддержана грантом РНФ № 22-14-00141.

Вклад авторов: А. И. Степанов — проведение эксперимента; Л. В. Путляева — планирование эксперимента, написание статьи; Д. А. Дидыч — дизайн и молекулярное клонирование элементов лентивирусной плазмиды, обработка рисунков; А. А. Галиакберова — культивирование клеток; Н. Г. Гурская — концепция и дизайн работы с иПСК; К. А. Лукьянов — общее руководство исследованием.

✉ **Для корреспонденции:** Надежда Георгиевна Гурская
ул. Островитянова, д. 1, стр. 1, г. Москва, 117997, Россия; ngurskaya@mail.ru

Статья получена: 01.08.2023 **Статья принята к печати:** 09.09.2023 **Опубликована онлайн:** 22.09.2023

DOI: 10.24075/vrgmu.2023.036

АТОН1 FACTOR EXPRESSION INDUCES RAPID DIFFERENTIATION OF iPSCs INTO NEURONS

Stepanov AI^{1,2}, Putlyaeva LV^{1,2}, Didych DA², Galiakberova AA^{3,4}, Gurskaya NG^{1,3}✉, Lukyanov KA²

¹ Skolkovo Institute of Science and Technology, Center for Molecular and Cellular Biology, Moscow, Russia

² Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russia

³ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

⁴ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

The study of human induced pluripotent stem cells (iPSCs) and developing the technology for their practical use is one of the most knowledge-intensive areas of modern biomedical research. Despite the potential of using iPSCs in personalized medicine and to build cell-based models for disorders of various etiology, iPSC utilization remains challenging. Thus, the iPSC intercellular heterogeneity and the lack of effective identity determination and assessment methods considerably hamper reproducibility of such studies. The study was aimed to generate an iPSC line carrying the gene encoding the ATOH1 transcription factor controlled by the Tet-One expression induction system, along with TagBFP2 fluorescent protein and the puromycin resistance gene for cell selection. Molecular cloning, lentiviral transduction, cell culturing, immunofluorescence staining, and fluorescence microscopy were used during the study. The created cell model will allow analyzing the state of single cells and, therefore, has great practical potential for both laboratory and medical research.

Keywords: iPSC, ATOH1, lentivirus, neural differentiation

Funding: the study was supported through the grant by RSF (№ 22-14-00141).

Author contribution: Stepanov AI — experimental procedure; Putlyaeva LV — experiment planning, manuscript writing; Didych DA — design and molecular cloning of the lentiviral plasmid components, processing of figures; Galiakberova AA — cell culture; Gurskaya NG — concept and design of iPSC study; Lukyanov KA — general management.

✉ **Correspondence should be addressed:** Nadya G. Gurskaya
Ostrovitjanova, 1, str. 1, Moscow, 117997, Russia; ngurskaya@mail.ru

Received: 01.08.2023 **Accepted:** 09.09.2023 **Published online:** 22.09.2023

DOI: 10.24075/brsmu.2023.036

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки человека (иПСК) были впервые получены в 2007 г. [1]. иПСК схожи с эмбриональными стволовыми клетками и способны дифференцироваться в самые различные типы клеток. Поскольку иПСК могут быть получены из легкодоступных соматических клеток пациентов (например, фибробластов кожи или мононуклеарных клеток периферической крови), их использование решает важные методические и этические проблемы, например, доступности нейрональных клеток. иПСК представляют

собой крайне интересную модель для фундаментальных исследований дифференцировки и де-дифференцировки клеток человека, а также имеют большой практический потенциал для медицины. Человеческие иПСК могут быть использованы для получения клеток разных типов и, потенциально, для их последующей трансплантации пациентам [2]. Многие проблемы на пути к этому (например, неполная дифференцировка человеческих иПСК и образование тератом) пока не решены и требуют дальнейшего изучения. Не менее

важным направлением использования iPСК является тестирование лекарственных средств на клетках человека, в том числе для подбора схемы лечения индивидуальных пациентов (персонализированная медицина) [3, 4]. Используя iPСК пациентов, полученные из соматических клеток, исследователи с помощью дифференцировки могут получить изогенные линии клеток, в которых воспроизводятся механизмы заболевания, и использовать их для скрининга лекарств. Так, iPСК пациентов после дифференцировки в нейроны или клетки глии используют в изучении нейродегенеративных заболеваний [5, 6].

Дифференцировка iPСК в нейроны может быть достигнута за счет использования двух групп методов: 1) химической индукции; 2) генетически опосредованной индукции [7]. В первом случае для запуска дифференцировки обычно используют смесь низкомолекулярных ингибиторов и пептидов, подавляющих экспрессию пронейрональных факторов роста, а также молекулярные пути, которые индуцируют т. е. нейрональную индукцию. Хорошо известным примером этого является процедура двойного ингибирования SMAD [8]. Целью генетически опосредованной индукции является введение в клетку кДНК, кодирующей ген транскрипционного фактора, специфичного для программы нейронной дифференцировки (например, нейрогенин-2), или регуляторные последовательности, такие как промоторы и энхансеры [9]. Однако обе стратегии позволяют дифференцировать iPСК в нейроны не менее чем за две недели.

В 2021 г. была опубликована новаторская работа, авторы которой предложили новый метод направленной дифференцировки iPСК в нейроны с использованием гиперэкспрессии транскрипционного фактора АТОН1 [10]. Новый подход превосходит ранее используемые методы по скорости и простоте работы, и позволяет достигать дифференцировки (до 99%) в течение всего нескольких дней в стандартной среде.

Целью данной работы было получение линии iPСК, несущей ген транскрипционного фактора АТОН1 под контролем системы индукции экспрессии Tet-One и флуоресцентного белка TagBFP2 в качестве селективного маркера. В задачи работы входило получение стабильной линии iPСК, в которой можно индуцировать процесс дифференцировки в нейронном направлении добавлением в ростовую среду доксициклина. Данная линия клеток может быть использована в ходе различных исследований, в том числе в анализе межклеточной гетерогенности iPСК, разработке генетически кодируемых флуоресцентных сенсоров, а также тестировании новых лекарственных средств на клетках человека и подбора схемы лечения индивидуальных пациентов (разработка протоколов персонализированной медицины).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Молекулярное клонирование

Нуклеотидную последовательность транскрипционного фактора *АТОН1* амплифицировали из плазмиды Addgene pTet-O-АТОН1-T2A-PuroR (Addgene #162342) с помощью праймеров АТОН1 для ATATGAAGACTTGATC ATGTCCCGCCTGCTGCATGCAGAGAG и АТОН1 rev AT ATGAAGACAAACCTCTAGAACCTTGCCTCATCCGAGTCAC TGTAATGGGAATG. Далее *АТОН1* был вставлен вместе с *TagBFP2* в лентивирусный вектор pRRLSIN.cPPT.EF1 по

BamH1 и EcoR1 (Thermo Scientific, Waltham, MA; USA) рестриктазным сайтам. Для амплификации *TagBFP2* использовали следующие праймеры *TagBFP2* для ATATG AAGACGGAGGTGTGAGCGAGCTGATTAAGGAGAACATGC и *TagBFP2 rev* GCATGAAGACATTTCGATCATCACTTGTGC CCCAGTTTGCTAGGGAGGTGCGAGTATCTGGCC. Фьюз АТОН1 и *TagBFP2* был осуществлен с использованием расщепляемого пептида T2A GSGEGRGSLTTCGDVEENPGP. Лентивирусный вектор pRRLSIN.cPPT.EF1 был любезно предоставлен доктором Д. Троне (Лозанна; Швейцария). Затем ДНК АТОН1-t2a-*TagBFP2* была перенесена в вектор pLVX-TetOne-Puro (Clontech, #631847; США) по сайтам рестрикции BamH1 и Age1 (Thermo Scientific, Waltham, MA; США). Для лигирования «липких» концов использовали T4 ДНК лигазу («Евроген»; Россия).

Работа с клеточными линиями

Клетки линии HEK293T культивировали при 37 °C (5% CO₂) в среде DMEM («ПанЭко»; Россия) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (BioSera, Nuaille; Франция), 100 ЕД/мл пенициллина и 100 мг/мл стрептомицина («ПанЭко»; Россия).

Клеточная линия iPСК iPS-KYOU была приобретена в банке клеток ATCC (KYOU-DXR0109B, ATCC® ACS-1023™). iPСК культивировали в среде mTeSR (StemCell Technologies; США) при 37 °C (5% CO₂) с ежедневной сменой среды для оптимального роста и Matrigel (Corning; США) в качестве матрицы для поверхностного покрытия. Accutase (StemCell Technologies; США) использовали для открепления клеток от поверхности матраса.

Создание стабильной клеточной линии

Клеточную линию iPСК TetOne-АТОН1-t2a-*TagBFP2* получали с помощью лентивирусной трансдукции. За 24 ч до трансфекции $1,5 \times 10^6$ клеток HEK293T высевали в чашку для культивирования диаметром 60 мм. Всего для трансфекции использовали 2 мкг плазмиды pR8.91, 0,6 мкг плазмиды pMD.G и 6 мкг плазмиды TetOne-АТОН1-t2a-*TagBFP2*. Для транзиентной трансфекции клеток HEK293T использовали реагент Трансфектин (ИБХ РАН; Москва, Россия) в соотношении 2,5 мкл реагента на 1 мкг плазмиды. Смесь ДНК и трансфектина инкубировали в течение 20 мин при комнатной температуре, а затем добавляли по каплям. Через 4 ч среду заменяли 2 мл свежей DMEM. На следующие сутки среду, содержащую собранные лентивирусы, фильтровали (фильтр с размером пор 0,45 мкм) и концентрировали ультрацентрифугированием при 100 000 g (Beckman; США) при 4 °C в течение 3 ч. Осадок ресуспендировали в 500 мкл mTeSR (StemCell Technologies; США) и использовали для трансдукции клеток iPСК. Для создания стабильных клеточных линий лентивирусные частицы добавляли к 1×10^5 iPСК. Затем трансдуцированные клетки селективно отбирали с помощью добавления в ростовую среду антибиотика пурамицина (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA; США) с финальной концентрацией 5 мкг/мл.

Иммунокрашивание фиксированных клеток

Клетки были посажены и выращены, как описано выше, зафиксированы в 4% формальдегиде в PBS в течение 15 мин при комнатной температуре, промыты три раза в PBS, пермеабилзация была обеспечена в течение 20 мин в

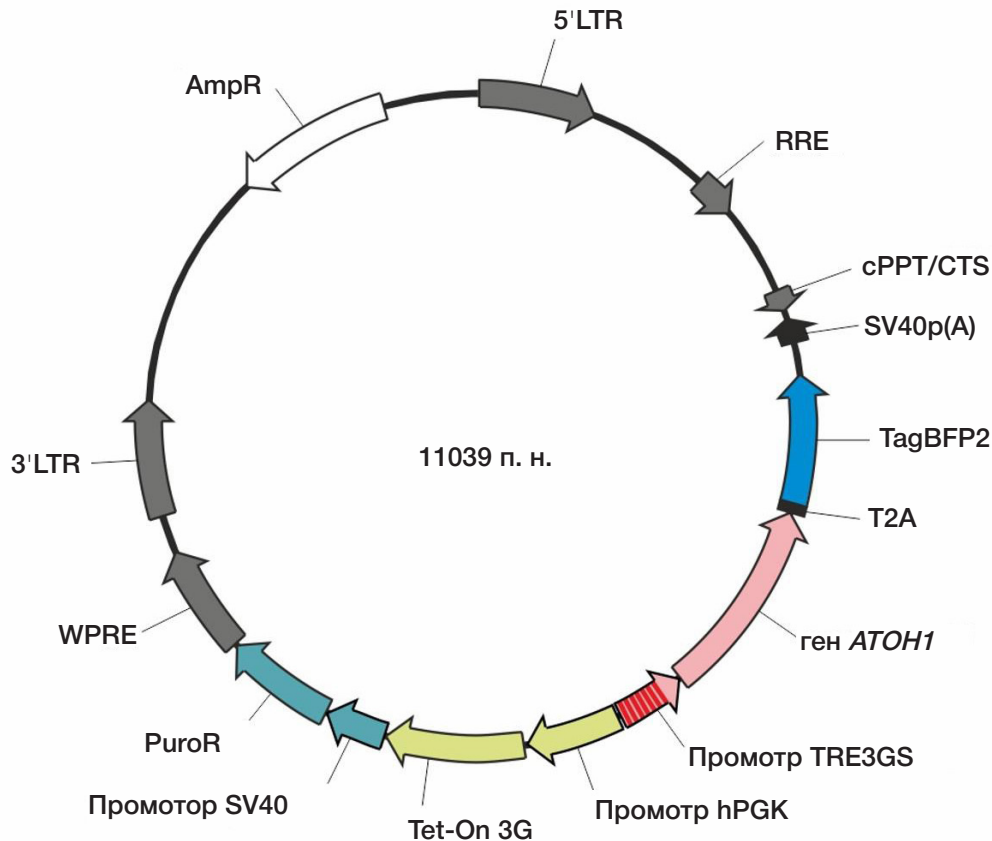


Рис. 1. Схема лентивирусной плазмиды *TetOne-ATOH1-t2a-TagBFP2*, использованной для получения стабильной клеточной линии иПСК с индуцируемой экспрессией слитого гена *ATOH1-T2A-TagBFP2*. Ген *ATOH1-T2A-TagBFP2* находится под контролем индуцибельного доксициклин-зависимого промотора TRE3GS, содержащего семь повторов последовательности оператора tetO. Дополнительно плазмида содержит гены *Tet-On 3G* (трансактиватор промотора TRE3GS) и *PuroR* (ген устойчивости к пурамицину) под контролем конститутивных промоторов hPGK (промотор гена *PGK1* человека) и SV40 соответственно. Серым обозначены стандартные элементы лентивирусных плазмид, необходимые для правильной и эффективной сборки функциональных вирусных частиц в пакующих клетках, а также обеспечивающие высокую экспрессию трансгенов (5'LTR/3'LTR — длинные концевые повторы (long terminal repeat), RRE — участок связывания вирусного белка Rev (Rev response element); cPPT/CTS — центральный полипуриновый тракт/центральная терминирующая последовательность (central polyurine tract/central termination sequence); WPRE — посттранскрипционный регуляторный элемент вируса гепатита североамериканского лесного сурка (Woodchuck hepatitis virus post-transcriptional regulatory element); SV40p(A) — терминатор транскрипции SV40 с поли(A)-сигналом; AmpR — ген устойчивости к ампициллину

0,1% Triton X-100 (Helicon; США) в PBS, и инкубированы в течение 1 ч с 1% BSA (Sigma; США) в PBS для блокировки. Инкубацию первичными антителами проводили 1 ч, инкубацию вторичными антителами проводили в течение часа при комнатной температуре. Клетки промывали PBS и изображали в среде для изображения с помощью микроскопа BZ-9000 (Keyence, Осака; Япония). Использовали следующие антитела: Rabbit anti-TUBB3 и Goat anti-Rabbit IgG Alexa Fluor 568 (ThermoFisher, Waltham, MA; США), в разведении 1 : 500 и 1 : 1000 соответственно.

Флуоресцентная микроскопия живых клеток

При проведении экспериментов по визуализации живых клеток клетки культивировали в конфокальных чашках со стеклянным дном (SPL Life Sciences; Корея). Непосредственно перед микроскопией среду mTESR заменяли на среду для визуализации MEM («ПанЭко»; Россия) с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки (BioSera, Cholet; Франция) и 20 mM HEPES (Corning, NY; США).

Для *in vivo* флуоресцентной микроскопии использовали флуоресцентный микроскоп Keyence Biorevo BZ-9000 (Keyence; Япония). Клетки снимали при увеличении $\times 60$, используя объектив CFI Plan Apo $\times 60\text{X}/\text{NA}1.40$. Съемки вели в синем канале, используя фильтр-куб DAPI (возбуждение 360/40 нм, испускание 460/50 нм) для детекции флуоресценции TagBFP.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При создании наиболее эффективной модели для запуска дифференцировки иПСК в нейронные клетки мы использовали подход, опубликованный в 2021 г. группой Дж. Чёрча [10]. В данной работе был проведен масштабный скрининг трех линий иПСК человека и показано, что транскрипционный фактор ATOH1 является наиболее эффективным драйвером индукции нейронной дифференцировки. В отличие от других путей дифференцировки иПСК в нейроны, ATOH1-индуцируемая дифференцировка не требует специальных сред и дополнительных факторов, а также данный процесс протекает в кратчайшие сроки (4 дня). Для создания наиболее биологически релевантной модели ATOH1-опосредованной нейрональной дифференцировки мы решили сконструировать стабильную линию иПСК, несущую ген *ATOH1* под индуцируемым промотором TRE3Gs. Для этого мы создали лентивирусную плазмиду с индуцируемой экспрессией ATOH1 (рис. 1). Данная плазмида включает в себя три независимые экспрессионные кассеты:

TRE3G promoter-ATOH1-t2a-TagBFP2 — ген *ATOH1* находится под тетрациклиновым промотором и в одной рамке считывания с маркером экспрессии (слит) с маркером экспрессии — флуоресцентным белком TagBFP2 посредством T2A-пептида. Индукция экспрессии

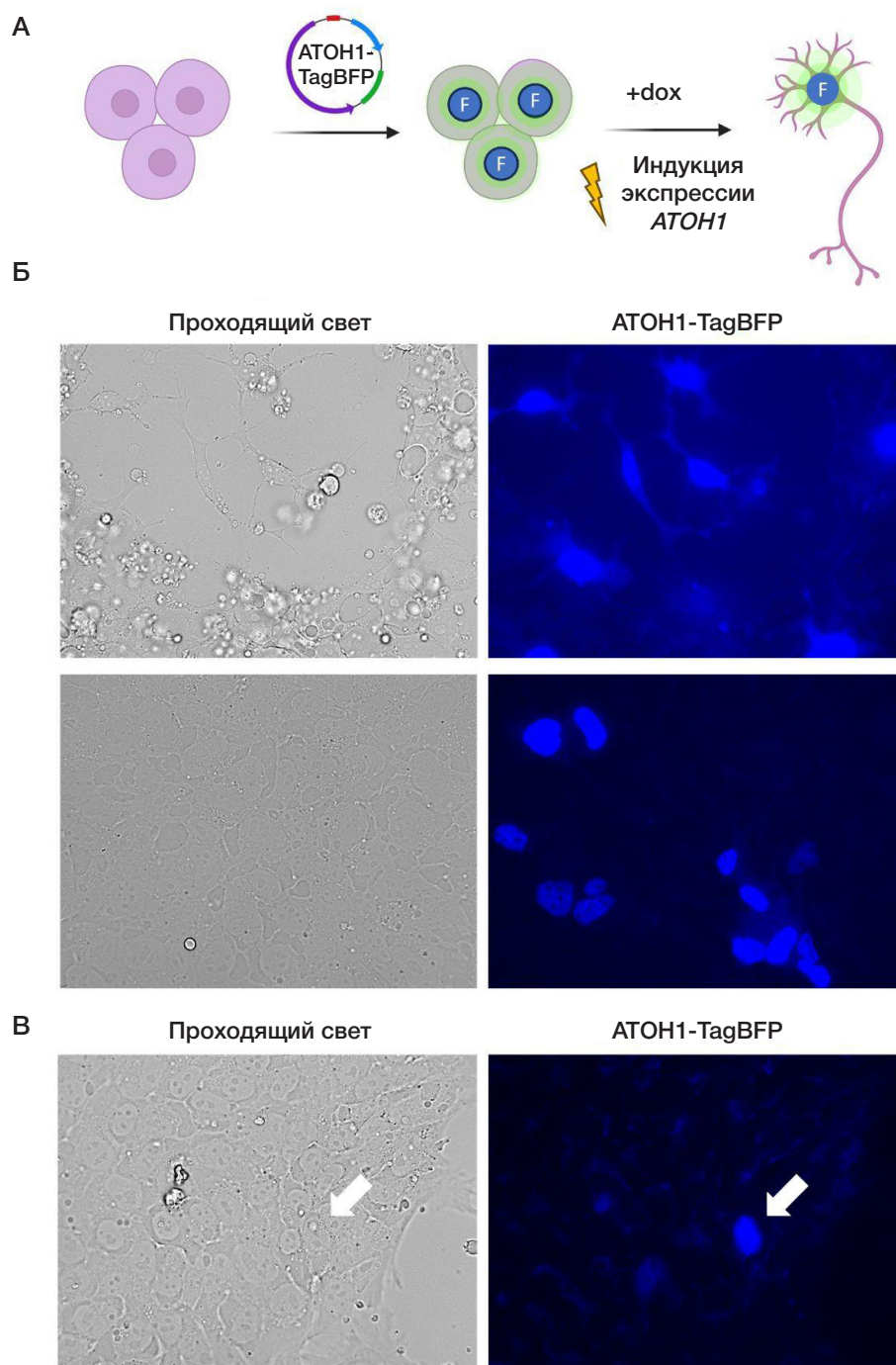


Рис. 2. Экспрессия конструкции *TetOne-ATOH1-TagBFP2* в иПСК. **А.** Схема создания стабильной клеточной линии иПСК, несущей ген *АТОН1* под индуцируемым промотором TRE3G. F — флуоресцентный белок TagBFP. **Б.** Клетки через 24 ч после индукции экспрессии доксициклином. **В.** После замораживания и размораживания клеточной линии большинство клеток теряют способность к доксициклин-зависимой экспрессии (стрелкой показана единственная клетка в поле зрения, экспрессирующая яркий сигнал TagBFP2 после добавления доксициклина)

АТОН1-t2a-TagBFP2 осуществляется при добавлении в ростовую среду доксициклина;

hPGK promoter-TetOn3G — *TetOn3G*, ген активатора тетрациклинового промотора TetOn находится под контролем промотора hPGK;

SV40 promoter-PuroR — обеспечивает экспрессию пурамицина, необходимую для селективного отбора иПСК, несущих только целевую конструкцию.

Данную генетическую конструкцию, получившую название *TetOne-ATOH1-t2a-TagBFP2*, использовали для создания лентивирусных частиц и заражения клеточной линии iPS-KYOU (рис. 2А). Далее клетки подвергали селекции на среде с пурамицином, после чего

добавляли доксициклин для активации тетрациклинового промотора. Спустя 24 ч после добавления доксициклина мы зафиксировали слабую флуоресценцию синего белка TagBFP2, что свидетельствует о начальной стадии экспрессии фактора АТОН1. На вторые сутки сигнал был сильным и хорошо детектируемым на флуоресцентном микроскопе, отмечено изменение морфологии клеток на нейроноподобную (рис. 2Б; *вверху*).

Эффективность дифференцировки оценивали с помощью иммунохимической окраски на наличие экспрессии маркера нейральных стволовых клеток — β III-тубулина (TUBB3) (рис. 3А). Мы показали гетерогенность полученной при дифференцировке культуры клеток по

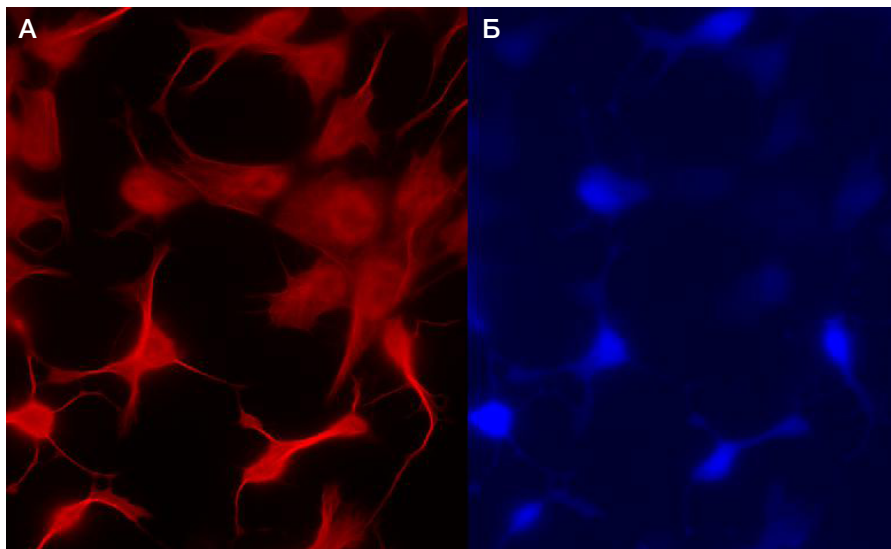


Рис. 3. Иммунофлуоресцентный анализ экспрессии β III-тубулина (TUBB3) и одновременно TagBFP2 в клетках на 4-й день дифференцировки после индукции *TetOne-ATOH1-t2a-TagBFP2*. **А.** Красный сигнал — использовали антитела к TUBB3 Rabbit anti-TUBB3 (Affinity), вторичные антитела Goat anti-Rabbit IgG Alexa Fluor 568 (ThermoFisher). **Б.** Синий сигнал — флуоресценция TagBFP2

экспрессии TUBB3: часть клеток с флуоресценцией TagBFP2 не экспрессировала TUBB3 и не имела морфологических признаков, специфичных для нейронного направления (рис. 3Б).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Созданная клеточная линия *TetOne-ATOH1-t2a-TagBFP2* демонстрировала успешную возможность индуцируемого запуска экспрессии на 1–2 сутки после начала эксперимента. Однако экспрессия синего белка, отражающая количество белка ATOH1 в клетке, была неоднородной (рис. 2Б, *внизу*; рис. 3Б). Возможно, данный феномен мы наблюдали ввиду гетерогенности исходной клеточной линии иПСК, а также ввиду отсутствия клональной селекции трансдуцированных клеток в данном эксперименте. Мы также предполагаем, что в клетках иПСК может происходить со временем метилирование тетрациклинового промотора и/или hPGK промотора, что ведет к снижению белка активатора тетрациклинового

промотора, а суммарным эффектом данных процессов является снижение экспрессии ATOH1-t2a-TagBFP2. Действительно, после разморозки новой аликвоты линии *TetOne-ATOH1-t2a-TagBFP2* и повтора эксперимента мы обнаружили, что количество клеток, экспрессирующих TagBFP2, снизилось (рис. 1В).

ВЫВОДЫ

Применение нового метода направленной дифференцировки иПСК в нейронном направлении позволяет быстро (за 4 дня) получать популяции обогащенных дифференцированными в нейронном направлении клетками. Созданная клеточная линия с экспрессией *ATOH1* под контролем индуцируемого промотора TRE3Gs пригодна к использованию в экспериментах, требующих быстрой дифференцировки иПСК, однако предполагается проведение непрерывного эксперимента (отсутствия циклов замораживания и выведения из заморозки клеток), что является ограничением данного метода при получении экспериментальных данных.

Литература

1. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007; 131: 861–72.
2. Chang C-Y, Ting H-C, Su H-L, Jeng J-R. Combining Induced Pluripotent Stem Cells and Genome Editing Technologies for Clinical Applications. *Cell Transplant*. 2018; 27: 379–92.
3. Kleiman RJ, Engle SJ. Human inducible pluripotent stem cells: Realization of initial promise in drug discovery. *Cell Stem Cell*. 2021; 28: 1507–15.
4. Madrid M, Sumen C, Aivio S, Saklayen N. Autologous Induced Pluripotent Stem Cell-Based Cell Therapies: Promise, Progress, and Challenges. *Curr Protoc*. 2021; 1: e88.
5. Zhang N, Bailus BJ, Ring KL, Ellerby LM. iPSC-based drug screening for Huntington's disease. *Brain Res*. 2016; 1638: 42–56.
6. Chang C-Y, Ting H-C, Liu C-A, Su H-L, Chiou T-W, Lin S-Z, et al. Induced Pluripotent Stem Cell (iPSC)-Based Neurodegenerative Disease Models for Phenotype Recapitulation and Drug Screening. *Molecules*. 2020; 25. DOI: 10.3390/molecules25082000.
7. Telias M. Neural differentiation protocols: how to choose the correct approach. *Neural Regeneration Res*. 2023; 18: 1273–4.
8. Chambers SM, Fasano CA, Papapetrou EP, Tomishima M, Sadelain M, Studer L. Highly efficient neural conversion of human ES and iPS cells by dual inhibition of SMAD signaling. *Nat Biotechnol*. 2009; 27: 275–80.
9. Zhang Y, Pak C, Han Y, Ahlenius H, Zhang Z, Chanda S, et al. Rapid single-step induction of functional neurons from human pluripotent stem cells. *Neuron*. 2013; 78: 785–98.
10. Ng AHM, Khoshakhlagh P, Rojo Arias JE, Pasquini G, Wang K, Swiersy A, et al. A comprehensive library of human transcription factors for cell fate engineering. *Nat Biotechnol*. 2021; 39: 510–9.

References

1. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007; 131: 861–72.
2. Chang C-Y, Ting H-C, Su H-L, Jeng J-R. Combining Induced Pluripotent Stem Cells and Genome Editing Technologies for Clinical Applications. *Cell Transplant*. 2018; 27: 379–92.
3. Kleiman RJ, Engle SJ. Human inducible pluripotent stem cells: Realization of initial promise in drug discovery. *Cell Stem Cell*. 2021; 28: 1507–15.
4. Madrid M, Sumen C, Aivio S, Saklayen N. Autologous Induced Pluripotent Stem Cell-Based Cell Therapies: Promise, Progress, and Challenges. *Curr Protoc*. 2021; 1: e88.
5. Zhang N, Bailus BJ, Ring KL, Ellerby LM. iPSC-based drug screening for Huntington's disease. *Brain Res*. 2016; 1638: 42–56.
6. Chang C-Y, Ting H-C, Liu C-A, Su H-L, Chiou T-W, Lin S-Z, et al. Induced Pluripotent Stem Cell (iPSC)-Based Neurodegenerative Disease Models for Phenotype Recapitulation and Drug Screening. *Molecules*. 2020; 25. DOI: 10.3390/molecules25082000.
7. Telias M. Neural differentiation protocols: how to choose the correct approach. *Neural Regeneration Res*. 2023; 18: 1273–4.
8. Chambers SM, Fasano CA, Papapetrou EP, Tomishima M, Sadelain M, Studer L. Highly efficient neural conversion of human ES and iPS cells by dual inhibition of SMAD signaling. *Nat Biotechnol*. 2009; 27: 275–80.
9. Zhang Y, Pak C, Han Y, Ahlenius H, Zhang Z, Chanda S, et al. Rapid single-step induction of functional neurons from human pluripotent stem cells. *Neuron*. 2013; 78: 785–98.
10. Ng AHM, Khoshakhlagh P, Rojo Arias JE, Pasquini G, Wang K, Swiersy A, et al. A comprehensive library of human transcription factors for cell fate engineering. *Nat Biotechnol*. 2021; 39: 510–9.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ CD163⁺ И HLA-DR⁺ НА МОНОЦИТАХ КРОВИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

М. Р. Патышева^{1,2}✉, М. Н. Стахеева^{1,2}, Е. С. Григорьева², Н. А. Тарабановская¹, О. Д. Брагина¹, Ю. Г. Кжышковска^{2,3}, Н. В. Чердынцева^{1,2}

¹ Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

³ Университет Гейдельберга, Мангейм, Германия

Циркулирующие моноциты — значимые участники патогенеза опухолевого роста. Показано, что в крови больных раком молочной железы наблюдаются особенности популяций моноцитов, экспрессирующих рецепторы эндозитоза, либо компонентов главного комплекса гистосовместимости. Целью данной работы было проведение анализа взаимосвязи параметров опухоли и цитокинового профиля крови с популяционным составом циркулирующих моноцитов больных локализованными и местно-распространенными формами рака молочной железы. В исследовании было показано, что фенотипические характеристики циркулирующих моноцитов взаимосвязаны с клинико-морфологическими особенностями опухолевого процесса. Содержание популяций с фенотипом CD14⁺CD16⁺⁺CD163⁺ и CD14⁺CD16⁺CD163⁺ имело положительную корреляцию со стадией заболевания, в то время как больший размер первичного опухолевого узла ассоциирован с более низким содержанием CD14⁺CD16⁺⁺-моноцитов. У больных РМЖ увеличено содержание IL8 и MCP-1 в сыворотке крови. Высокий уровень содержания IL6 у больных РМЖ ассоциирован со снижением доли CD14⁺CD16⁺⁺HLA-DR⁺-моноцитов, CD14⁺CD16⁺⁺HLA-DR⁺-моноцитов и CD14⁺CD16⁺CD163⁺-моноцитов. Таким образом, CD163⁺ и HLA-DR⁺-моноциты связаны с клинико-морфологическими параметрами и уровнем цитокинов крови, что свидетельствует о вовлечении данных популяций в прогрессию рака молочной железы и говорит о целесообразности дальнейших исследований для трансляции полученных результатов в клиническую практику.

Ключевые слова: моноциты, CD163, HLA-DR, рак молочной железы, интерлейкин 8, интерлейкин 6, фактор миграции моноцитов

Финансирование: работа выполнена при поддержке гранта РНФ №22-25-00435.

Благодарности: благодарим ведущего научного сотрудника института персонализированной психиатрии и неврологии НИМИЦ ПН имени В. М. Бехтерева (г. Санкт-Петербург) О. Е. Савельеву за помощь в проведении проточной цитометрии.

Вклад авторов: М. Р. Патышева — дизайн исследования, проточная цитометрия, анализ данных, написание статьи; М. Н. Стахеева — разработка концепции работы, дизайн исследования, анализ данных, написание статьи; Е. С. Григорьева — проточная цитометрия; Н. А. Тарабановская — подбор пациентов, сбор клинических данных о пациентах; О. Д. Брагина — подбор пациентов, сбор клинических данных о пациентах; Ю. Г. Кжышковска — разработка концепции работы, поиск грантовой поддержки работы, обсуждение результатов; Н. В. Чердынцева — дизайн исследования, обсуждение результатов.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ (протокол № 10 от 05 декабря 2019 г.). Все участники подписали информированное согласие об участии в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Марина Ринатовна Патышева
пер. Кооперативный, д. 7/1, г. Томск, 634009, Россия; patysheva_mr@onco.tnimg.ru

Статья получена: 14.09.2023 **Статья принята к печати:** 10.10.2023 **Опубликована онлайн:** 31.10.2023

DOI: 10.24075/vrgmu.2023.043

FEATURES OF CD163⁺ AND HLA-DR⁺ EXPRESSION ON BLOOD MONOCYTES ASSOCIATED WITH BREAST CANCER

Patysheva MR^{1,2}✉, Stakheyeva MN^{1,2}, Grigoryeva ES², Tarabanovskaya NA¹, Bragina OD¹, Kzhyshkowska JG^{2,3}, Cherdyntseva NV^{1,2}

¹ Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

² National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

³ University of Heidelberg, Mannheim, Germany

Circulating monocytes are important actors of the tumor growth pathogenesis. It has been shown that some features of the monocyte populations expressing endocytosis receptors or the major histocompatibility complex components are observed in blood of patients with breast cancer. The study was aimed to assess the relationship of tumor parameters and blood cytokine profile with the composition of circulating monocyte populations in patients with localized and locally advanced breast cancer. The study has shown that the circulating monocytes' phenotypic characteristics are correlated to the clinical and morphological features of the neoplastic process. The content of populations with the CD14⁺CD16⁺⁺CD163⁺ and CD14⁺CD16⁺CD163⁺ phenotypes positively correlates with the disease stage, while larger primary tumor size is associated with lower CD14⁺CD16⁺⁺ monocyte levels. Elevated serum levels of IL8 and MCP-1 are observed in breast cancer patients. High IL6 levels in patients with breast cancer are associated with the reduced percentage of CD14⁺CD16⁺⁺HLA-DR⁺, CD14⁺CD16⁺⁺HLA-DR⁺ and CD14⁺CD16⁺CD163⁺ monocytes. Thus, CD163⁺ and HLA-DR⁺ monocytes are associated with the clinical and morphological parameters and blood levels of cytokines, which suggests that these populations are involved in breast cancer progression and indicates that further research is advisable for translation of the findings into clinical practice.

Keywords: monocytes, CD163, HLA-DR, breast cancer, IL6, IL8, MCP-1

Funding: the study was supported by the RSF grant (№ 22-25-00435).

Acknowledgements: we would like to express our gratitude to O. E. Savelieva, the lead researcher at the Institute of Personalized Psychiatry and Neurology, Bekhterev National Research Medical Center for Psychiatry and Neurology (Saint Petersburg), for assistance in conducting flow cytometry.

Author contribution: Patysheva MR — study design, flow cytometry, data analysis, manuscript writing; Stakheyeva MN — study concept, study design, data analysis, manuscript writing; Grigoryeva ES — flow cytometry; Tarabanovskaya NA — selection of patients, patient clinical data acquisition; Bragina OD — selection of patients, patient clinical data acquisition; Kzhyshkowska JG — study concept, search for funding, discussion; Cherdyntseva NV — study design, discussion.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (protocol № 10 dated 05 December 2019). All subjects submitted the informed consent to study participation.

✉ **Correspondence should be addressed:** Marina R. Patysheva
per. Kooperativnyi, 7/1, Tomsk, 634009, Russia; patysheva_mr@onco.tnimg.ru

Received: 14.09.2023 **Accepted:** 10.10.2023 **Published online:** 31.10.2023

DOI: 10.24075/brsmu.2023.043

Моноциты — важнейшие эффекторы неспецифического иммунитета, которые задействованы во множестве патологических процессов, сопровождающихся хроническим воспалением. Появление и развитие злокачественного новообразования представляют собой один из таких процессов и характеризуются вовлечением моноцитов на всех этапах патогенеза опухоли. К настоящему моменту известно, что пул моноцитов составлен тремя основными популяциями: классической с фенотипом CD14⁺CD16⁻, неклассической с фенотипом CD14⁺CD16⁺ и промежуточной CD14⁺CD16⁺ [1]. При этом CD14⁺CD16⁻-моноциты — источник для пополнения пула опухолеассоциированных макрофагов, дендритных клеток и миелоидных клеток-супрессоров в ткани опухоли [2]. Для CD14⁺CD16⁺-клеток характерна способность поддерживать целостность эндотелия и поглощать чужеродные частицы [2, 3]. Роль промежуточной популяции исследована недостаточно, но предполагают, что она занимает переходное положение между двумя другими [4].

Помимо деления на три основные популяции, моноциты отличаются по экспрессии белковых рецепторов, связанных с определенной функцией клетки. Так, способность моноцитов к эндоцитозу гемоглибин-гаптоглобинового комплекса посредством рецептора CD163 отражает способность к поглощению частиц и повышается при воздействии на моноциты медиаторов, снижающих провоспалительную активность этих клеток [5]. Также известно, что клетки моноцитарно-макрофагального ряда обладают функциональной пластичностью и экспрессируют рецепторы, связанные с антиген-презентирующей функцией моноцитов и макрофагов [6]. Повышение количества моноцитов с низкой степенью экспрессии HLA-DR связывают с иммуносупрессией при онкологических и инфекционных заболеваниях [7]. Таким образом, целесообразно исследовать популяционную структуру моноцитов не только на основании маркеров классической, промежуточной и неклассической популяций, но и с учетом дополнительных функциональных маркеров.

Динамику развития злокачественного новообразования тесно связывают с двумя основными факторами: индивидуальными особенностями организма и биологическими свойствами опухоли. В частности, показано, что возраст пациента, в котором манифестируется РМЖ, наследственная предрасположенность и наличие герминальных мутаций могут определять клиническое течение заболевания [8]. Поскольку биологические процессы в ткани молочной железы в значительной степени зависят от гормонального здоровья женщины, РМЖ часто ассоциирован с нарушением регуляции половых гормонов, следовательно, коррелирует с состоянием менструальной функции [9]. Кроме того, гормональные нарушения и метаболический статус организма находятся в доказанной взаимосвязи с продукцией опухолю биологических факторов, цитокинов и хемокинов, регулирующих функциональную активность иммунных клеток [10]. Индекс массы тела (ИМТ), один из критериев состояния метаболического статуса, также может быть связан с течением РМЖ [11]. Показана связь повышения массы тела с развитием РМЖ в зрелом возрасте, когда увеличение на каждые 5 кг/м² соответствует увеличению риска развития рака молочной железы у женщин на 2% [11, 12].

Помимо индивидуальных особенностей пациентки, значимыми факторами, связанными с клиническим

течением РМЖ, являются клинико-морфологические параметры, такие как размер первичного опухолевого узла, регионарная распространенность опухолевого процесса и молекулярно-биологический подтип опухоли [13, 14].

Цитокины — основные регуляторы иммунного ответа [15]. Цитокиновый профиль циркулирующей крови отражает системный гомеостаз организма [15]. При злокачественных новообразованиях сама опухоль способна вносить вклад в формирование патологического гомеостаза организма, оказывая влияние на компоненты иммунной системы [15]. Установлено, что программирование моноцитов под действием интерлейкина 6 (IL6) и интерлейкина 8 (IL8) — необходимый этап индукции их воспалительного фенотипа [16]. Миграция моноцитов из костного мозга или селезенки, которая является для них депонирующим органом, происходит под контролем основного фактора миграции моноцитов (MCP-1 или CCL2). Установление связи популяционного состава моноцитов со стадией заболевания и индивидуальными особенностями пациенток позволяет охарактеризовать вовлеченность моноцитов в патогенез РМЖ.

В связи с тем что клетки моноцитарно-макрофагального ряда имеют важное значение в развитии РМЖ, целью исследования стало изучение ассоциаций между содержанием CD163⁺ и HLA-DR⁺-моноцитов с клинико-морфологическими характеристиками заболевания и профилем цитокинов крови при РМЖ.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 50 больных первичным раком молочной железы I–III стадии, T1-3N0-3M0, возраст которых составил 52,0 [46,0–63,0] лет. Диагноз был верифицирован морфологически. Во всех случаях гистологический тип опухоли соответствовал инвазивной карциноме неспецифического типа. Для классификации опухолей молочной железы согласно молекулярно-биологическим подтипам использована классическая панель из иммуногистохимических маркеров ER α , PR и HER2. Клинико-анамнестические данные были получены при анализе историй болезни и амбулаторных карт пациентов. Характеристика больных, вошедших в исследование, представлена в табл. 1. Для каждой пациентки вычисляли ИМТ по формуле: соотношение показателя массы тела в кг к показателю роста в метрах в квадрате. Критерии исключения: наличие у больных первично-множественных злокачественных опухолей, онкологические заболевания других локализаций в анамнезе, операционные вмешательства в зоне молочной железы, проводимые ранее.

В качестве контроля выступила группа здоровых женщин (средний возраст 61,0 [50,0–69,0] лет). Критерии исключения: наличие онкологического заболевания в анамнезе и состояние обострения хронических заболеваний.

Определение молекулярно-биологического подтипа опухоли

Для определения молекулярно-биологического подтипа РМЖ с помощью иммуногистохимического метода выполняли оценку экспрессии рецепторов к эстрогенам (ER), прогестерону (PR), HER2/neu статуса (HER2) и пролиферативной активности (экспрессия Ki-67).

Таблица 1. Клинико-морфологические параметры больных раком молочной железы

Клинико-патологические параметры	N (%) (n = 50)
Возраст ИМТ	59,3 ± 10,4 27,2 ± 5,54
Состояние менструальной функции: сохранена менопауза	24 (48,2) 26 (51,8)
Стадия I II III	7 (14,0) 23 (46) 20 (40)
Молекулярно-биологический подтип Люминальный В Трижды негативный подтип HER2-позитивный	25 (50,0) 19 (38,0) 6 (12)
Лимфогенное метастазирование есть нет	22 (46,5) 28 (53,5)

Иммуногистохимическое исследование осуществляли по стандартной методике. Использовали антитела (Dako; Дания) к рецепторам эстрогена (клон 1D5, RTU, мышинные), к рецепторам прогестерона (клон PgR636, RTU, мышинные), к онкопротеину c-erbB-2 (HER2/neu, рабочее разведение 1 : 500, кроличьи), к Ki-67 (клон MIB-1, RTU, мышинные). Оценку экспрессии рецепторов к половым гормонам производили количественным методом гисто-счета (Histo-Score). Экспрессию Ki-67 оценивали в процентном содержании положительно окрашенных опухолевых клеток инвазивной карциномы неспецифического типа молочной железы (в 10 полях зрения на 1000 клеток при увеличении $\times 400$). На основании сочетания экспрессии рецепторов к эстрогенам, прогестерону, HER2/neu статуса и Ki-67 определяли молекулярно-биологические подтипы PMЖ: люминальный В HER2⁻ (ER⁺ и/или PR⁺, HER2⁻ и Ki-67 \geq 20%), люминальный В HER2⁺ (ER⁺ и/или PR⁺, HER2⁺), трижды-негативный (ER⁻, PR⁻ и HER2⁻), а также подтип с гиперэкспрессией HER2/neu (ER⁻, PR⁻, HER2⁺).

Фенотипирование моноцитов периферической крови

В крови группы PMЖ была оценена экспрессия CD163⁺ (скавенджер рецептор) и HLA-DR⁺ на моноцитах классической CD14⁺⁺CD16⁻, неклассической CD14⁺CD16⁺⁺ и промежуточной CD14⁺⁺CD16⁺ популяций. Для этого у пациенток и доноров была взята венозная кровь в вакуумные системы сбора с КЗ-ЭДТА. Для определения популяционного состава моноцитов крови было отобрано 100 мкл фракции лейкоцитов. Далее клетки ресуспендировали в 150 мкл буфера для окрашивания (Cell Staining Buffer, Sony; Япония). Подсчет клеток производили с помощью автоматического счетчика Luna II (Logos Biosystems, Inc.; Корея). Затем к клеточному концентрату добавляли 5 мкл Human TruStain FcX[™] (Biolegend; США) для блокирования неспецифического связывания, инкубировали в течение 10 мин. Далее окрашивали набором меченных моноклональных антител против маркеров CD45, CD14, CD16, CD163 и HLA-DR. В работе использовали следующие антитела: CD45-APC-Cy7 (BD Bioscience, кат. 557833; США), CD56-PE-Cy7 (eBioscience, Thermo Fisher Scientific; США), CD14-FITC (BD Bioscience, кат. 345784; США), CD16 -APC (BD Bioscience, США; кат. 561248), CD163-PE (BD Bioscience, США; кат. 556018), HLA-DR-PE-Cy5 (BD Bioscience, кат. 555813; США), Isotype PE-Cy[™]5 (BD Bioscience, кат. 555750; США), Isotype PE

(BD Bioscience, кат. 556018; США). Жизнеспособность клеток оценивали с помощью ядерного красителя 7-AAD (BD Bioscience; США). Окраску проводили путем внесения антител в соотношении 5 мкл на 10⁶ клеток. В качестве отрицательного контроля использовали образцы с добавлением соответствующего изотопического контроля в аналогичной концентрации. Их инкубировали при комнатной температуре в темноте 20 мин. Затем в каждую неокрашенную и окрашенную пробу добавляли 900 мкл лизирующего буфера VersaLyse Lysing Solution (Beckman Coulter; США). Образцы анализировали на проточном цитофлуориметре NovoCyte (ACEA Bioscience; США). Тактика гейтирования приведена на рис. 1. Обработку полученных данных проводили с помощью программного пакета NovoExpress SoftWare (Acea; США).

Исследование содержания цитокинов в сыворотке крови

Содержание цитокинов сыворотки оценивали с помощью мультиплексных наборов на основе магнитных шариков Bio-Plex (Bio-Rad, Hercules, CA; США). Панель Human Milliplex MAG использовали для анализа трех аналитов: IL6, IL8 и MCP-1; 50 мкл сыворотки из каждого случая и контроля анализировали с использованием анализатора Luminex 200 с программным обеспечением для контроля MasterPlex CT и для анализа — MasterPlex QT (MiraiBio; США). Стандартные кривые были построены с использованием стандартов производителя. Перед анализом образцы сыворотки больных PMЖ и здоровых людей были инактивированы нагреванием. В работе оценивали влияние тепловой инактивации на стабильность цитокинов, критерием для исключения из анализа была невозможность нормализации.

Методы статистической обработки данных

Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 8.0 for Windows (StatSoft Inc.; США). Проверку закона распределения исследуемых переменных на нормальность проводили по критерию Колмогорова-Смирнова. По результатам проверки полученные числовые данные были представлены в формате Me [LQu-UQu]. Для определения статистически значимых различий в независимых группах использовали критерии

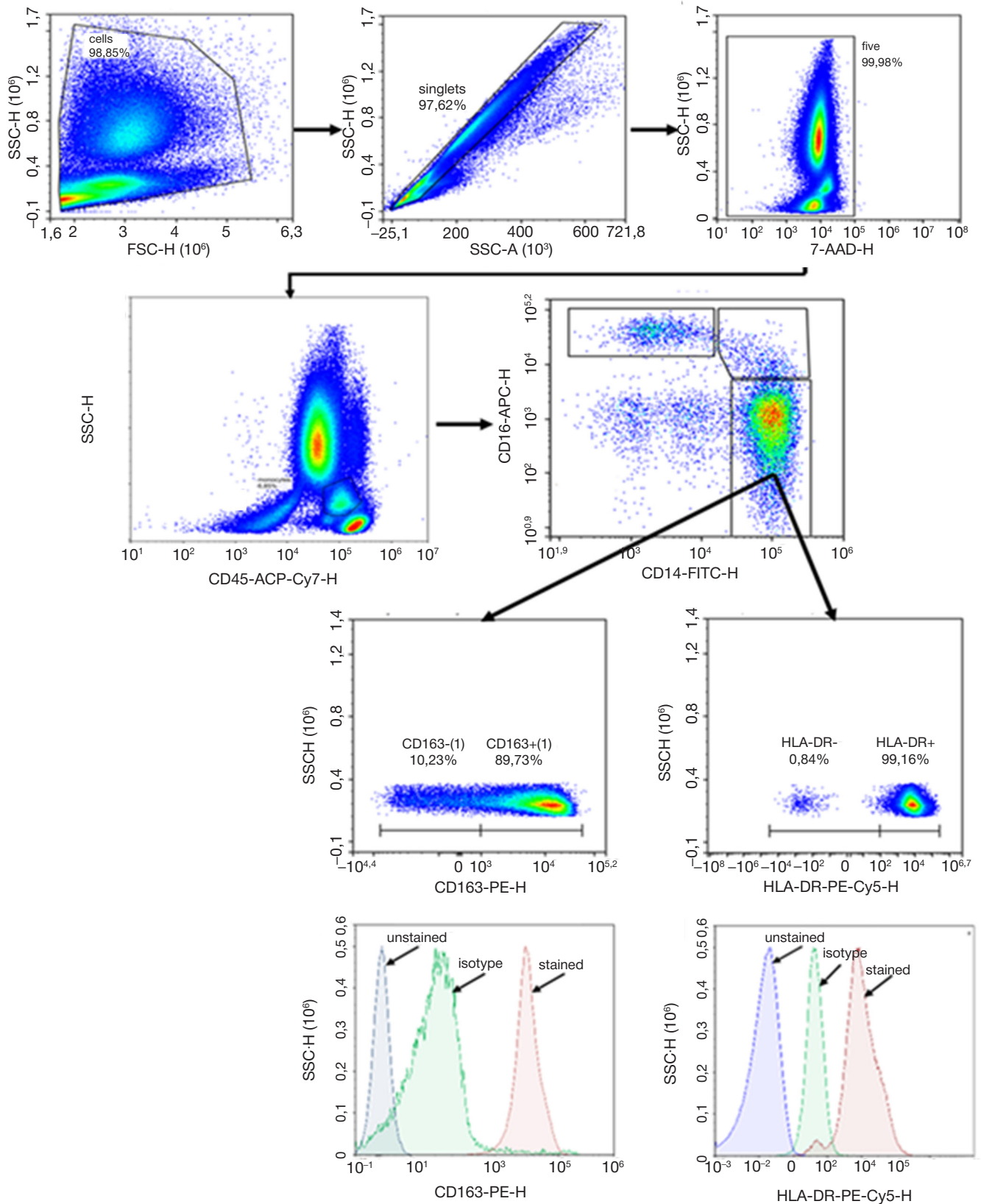


Рис. 1. Возможный продукт межмолекулярной циклизации — тетрамер диоксииндола как основа циклической структуры нейромеланина

Манна-Уитни. Корреляционный анализ проводили с расчетом ранговой корреляции Спирмена. Результаты концентрации цитокинов сыворотки крови представлены с использованием программы GraphPad Prism 8 SoftWare (GraphPad Soft Inc; США). Для всех исследований указывали статистически значимые различия при следующих уровнях значимости: $p < 0,001$, $p < 0,01$ и $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследуемой группе возраст пациенток не был связан с популяционной структурой моноцитов крови. В то же время для ИМТ была отмечена отрицательная корреляция средней силы с процентным содержанием $CD14^{++}CD16^{+}HLA-DR^{+}$ -клеток с коэффициентом корреляции, равным 0,409 и $p \leq 0,05$ (табл. 2).

Таблица 2. Взаимосвязь индивидуальных особенностей и клинико-морфологических параметров опухоли с субпопуляционной структурой моноцитов у пациенток с РМЖ

	Возраст	ИМТ	Стадия	T	N
CD14 ⁺ 16 ⁻ , %	$r = 0,135$ $p \geq 0,05$	$r = -0,073$ $p \geq 0,05$	$r = 0,228$ $p \geq 0,05$	$r = 0,206$ $p \geq 0,05$	$r = 0,149$ $p \geq 0,05$
CD14 ⁺ 16 ⁺ , %	$r = -0,123$ $p \geq 0,05$	$r = 0,120$ $p \geq 0,05$	$r = -0,087$ $p \geq 0,05$	$r = -0,389$ $p \leq 0,05$	$r = -0,129$ $p \geq 0,05$
CD14 ⁺ 16 ⁺ , %	$r = -0,122$ $p \geq 0,05$	$r = -0,043$ $p \geq 0,05$	$r = -0,028$ $p \geq 0,05$	$r = -0,026$ $p \geq 0,05$	$r = -0,036$ $p \geq 0,05$
CD14 ⁺ 16 ⁻ 163 ⁺ , %	$r = 0,038$ $p \geq 0,05$	$r = -0,017$ $p \geq 0,05$	$r = 0,521$ $p \leq 0,05$	$r = -0,082$ $p \geq 0,05$	$r = 0,198$ $p \geq 0,05$
CD14 ⁺ 16 ⁻ HLA-DR ⁺ , %	$r = -0,127$ $p \geq 0,05$	$r = 0,211$ $p \geq 0,05$	$r = 0,301$ $p \geq 0,05$	$r = -0,114$ $p \geq 0,05$	$r = -0,196$ $p \geq 0,05$
CD14 ⁺ 16 ⁺ 163 ⁺ , %	$r = 0,027$ $p \geq 0,05$	$r = -0,061$ $p \geq 0,05$	$r = 0,153$ $p \geq 0,05$	$r = -0,272$ $p \geq 0,05$	$r = -0,021$ $p \geq 0,05$
CD14 ⁺ 16 ⁻ HLA-DR ⁺ , %	$r = 0,069$ $p \geq 0,05$	$r = 0,082$ $p \geq 0,05$	$r = 0,093$ $p \geq 0,05$	$r = 0,159$ $p \geq 0,05$	$r = -0,085$ $p \geq 0,05$
CD14 ⁺ 16 ⁺ 163 ⁺ , %	$r = -0,250$ $p \geq 0,05$	$r = 0,195$ $p \geq 0,05$	$r = 0,356$ $p \leq 0,05$	$r = -0,171$ $p \geq 0,05$	$r = 0,217$ $p \geq 0,05$
CD14 ⁺ 16 ⁻ HLA-DR ⁺ , %	$r = 0,082$ $p \geq 0,05$	$r = -0,409$ $p \leq 0,05$	$r = 0,091$ $p \geq 0,05$	$r = 0,106$ $p \geq 0,05$	$r = 0,079$ $p \geq 0,05$

Примечания: ИМТ — индекс массы тела.

Известно, что сохранность либо угасание менструальной функции при РМЖ напрямую связаны с гормональным статусом и гомеостазом организма больных. Содержание CD14⁺CD16⁺CD163⁺-моноцитов было незначительно снижено у женщин с сохранной менструальной функцией по сравнению с группой в менопаузе/постменопаузе с 96,01 [83,29–98,46]% против 99,49 [89,79–100,00]% на уровне статистической тенденции $p = 0,056$.

Популяционная структура моноцитов у больных была взаимосвязана с клинико-морфологическими характеристиками опухоли. Увеличение клинической стадии опухолевого процесса находилось в положительной корреляционной связи с содержанием клеток классической CD14⁺CD16⁻CD163⁺ со средней силой корреляции, в то время как для промежуточной CD14⁺CD16⁺CD163⁺-популяции — со слабой силой корреляции ($r = 0,52$ и $0,356$ соответственно, $p < 0,05$). Напротив, T, размер опухолевого

узла, был слабо связан обратной корреляционной связью с содержанием клеток неклассической CD14⁺CD16⁺-популяции ($r = -0,389$ и $p < 0,05$). Для параметра N, отображающего метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов, не выявлено статистически значимых корреляций с показателями фенотипического состава моноцитов крови (табл. 2).

При сравнении двух групп больных с размером опухолевого узла T1–2 и T3–4 было обнаружено, что по мере увеличения размера опухоли достоверно уменьшалось количество CD14⁺CD16⁻-моноцитов (табл. 3). В то же время количество CD14⁺CD16⁺CD163⁺-моноцитов снижалось на уровне статистической тенденции с 98,77 [77,94–99,97]% при T1–2 до 69,81 [41,36–99,1]% при T3–4 ($p = 0,09$). Популяционная структура моноцитов также была ассоциирована со степенью вовлечения регионарных лимфатических узлов. Содержание

Таблица 3. Ассоциация стадии заболевания с фенотипическими особенностями моноцитов у больных РМЖ

	T1–2 (n = 29)	T3–4 (n = 21)	N0–1	N2–3	Стадия I–IIA	Стадия IIB–IIIC
CD14 ⁺ 16 ⁻ , %	92,2 [83,7–94,58]	94,2 [92,1–96,88]	92,85 [83,7–96,69]	93,21 [89,28–96,13]	89,4 [83,48–94,18]	94,2 [92,4–96,69]
	$p = 0,15$		$p = 0,55$		$p = 0,05$	
CD14 ⁺ 16 ⁺ , %	4,63 [1,3–10,23]	2,01 [1,24–2,41]	2,56 [1,3–9,13]	4,1 [1,51–5,8]	4,7 [2,56–11,41]	2,01 [1,44–2,44]
	$p = 0,04$		$p = 0,6$		$p = 0,01$	
CD14 ⁺ 16 ⁺ , %	2,42 [1,3–10,23]	1,5 [1,24–5,49]	2,01 [1,24–5,16]	2,05 [0,48–5,6]	2,42 [1,13–5,6]	2,01 [1,28–3,42]
	$p = 0,63$		$p = 0,79$		$p = 0,54$	
CD14 ⁺ 16 ⁻ 163 ⁺ , %	94,63 [89,23–99,67]	96,74 [76,9–99,73]	94,63 [89,23–99,85]	96,74 [55,35–99,67]	92,94 [89,12–98,34]	97,98 [94,9–99,99]
	$p = 0,92$		$p = 0,65$		$p = 0,03$	
CD14 ⁺ 16 ⁻ HLA-DR ⁺ , %	99,26 [97,34–99,9]	99,01 [96,65–99,81]	99,6 [98,08–99,9]	95,09 [87,7–99,01]	99,26 [97,34–99,99]	99,26 [98,09–99,93]
	$p = 0,48$		$p = 0,02$		$p = 0,93$	
CD14 ⁺ 16 ⁺ 163 ⁺ , %	98,77 [77,94–99,97]	69,81 [41,36–99,1]	99,6 [98,08–99,9]	50,0 [25,6–99,21]	89,89 [65,41–99,29]	98,08 [50,0–99,86]
	$p = 0,09$		$p = 0,15$		$p = 0,64$	
CD14 ⁺ 16 ⁻ HLA-DR ⁺ , %	68,92 [54,06–87,73]	79,32 [55,08–93,31]	96,87 [69,81–99,97]	60,03 [37,0–79,32]	69,58 [54,06–85,91]	76,15 [60,03–93,13]
	$p = 0,37$		$p = 0,55$		$p = 0,36$	
CD14 ⁺ 16 ⁺ 163 ⁺ , %	98,0 [89,79–99,9]	98,7 [77,86–99,81]	76,15 [55,12–93,31]	98,7 [31,27–99,81]	96,19 [83,79–99,9]	99,18 [94,58–99,9]
	$p = 0,44$		$p = 0,16$		$p = 0,23$	
CD14 ⁺ 16 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	93,04 [80,43–98,44]	96,88 [89,85–98,47]	95,24 [88–98,47]	84,51 [55,0–97,5]	93,04 [86,99–98,28]	96,88 [84,51–98,44]
	$p = 0,48$		$p = 0,74$		$p = 0,86$	

Таблица 4. Фенотипические особенности моноцитов крови в зависимости от молекулярно-биологического подтипа опухоли

	ТНPMЖ	Люм В/Her2 ⁺	<i>p</i>
CD14 ⁺ 16 ⁻ , %	89,28 [79,79–96,13]	93,21 [92,1–96,69]	0,09
CD14 ⁺ 16 ⁺ , %	4,1 [1,04–11,41]	2,41 [1,44–5,45]	0,1
CD14 ⁺ 16 ⁺ , %	2,05 [1,39–6,43]	2,01 [1,13–3,89]	0,31
CD14 ⁺ 16 ⁺ 163 ⁺ , %	94,63 [89,15–99,67]	95,34 [90,87–99,85]	0,76
CD14 ⁺ 16 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	99,26 [90,5–100,00]	99,26 [98,08–99,9]	0,23
CD14 ⁺ 16 ⁺ 163 ⁺ , %	84,28 [50,00–99,29]	98,77 [53,47–100,0]	0,15
CD14 ⁺ 16 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	62,6 [53,4–84,06]	84,51 [60,03–96,33]	0,02
CD14 ⁺ 16 ⁺ 163 ⁺ , %	98,06 [87,6–100,0]	98,00 [83,79–99,97]	0,19
CD14 ⁺ 16 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	95,67 [80,43–99,03]	93,14 [84,51–98,28]	0,54
	Her2 ⁺	Люм В/ ТНPMЖ	
CD14 ⁺ 16 ⁻ , %	94,2 [92,1–96,88]	92,4 [83,7–96,13]	0,63
CD14 ⁺ 16 ⁺ , %	2,01 [0,15–4,7]	3,8 [1,51–9,13]	0,09
CD14 ⁺ 16 ⁺ , %	1,28 [1,00–5,49]	2,05 [1,33–5,16]	0,08
CD14 ⁺ 16 ⁺ 163 ⁺ , %	99,67 [99,48–100,00]	94,3 [89,12–98,34]	0,04
CD14 ⁺ 16 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	99,6 [99,26–99,00]	99,01 [96,65–99,99]	0,33
CD14 ⁺ 16 ⁺ 163 ⁺ , %	99,86 [69,81–100,00]	91,28 [50,00–99,29]	0,62
CD14 ⁺ 16 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	93,31 [60,03–98,81]	68,92 [54,06–85,91]	0,03
CD14 ⁺ 16 ⁺ 163 ⁺ , %	100,00 [98,86–100,00]	96,19 [82,79–99,81]	0,02
CD14 ⁺ 16 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	96,88 [80,43–99,71]	93,14 [84,51–98,44]	0,08
	Люм В	ТНPMЖ/Her2 ⁺	
CD14 ⁺ 16 ⁻ , %	93,09 [88,64–94,58]	92,1 [86,7–96,13]	0,24
CD14 ⁺ 16 ⁺ , %	2,56 [1,69–5,8]	3,65 [1,04–8,3]	0,55
CD14 ⁺ 16 ⁺ , %	2,01 [1,24–3,3]	2,05 [1,28–5,6]	0,86
CD14 ⁺ 16 ⁺ 163 ⁺ , %	94,3 [89,08–96,74]	98,34 [90,74–99,73]	0,09
CD14 ⁺ 16 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	99,01 [97,34–99,93]	99,6 [98,09–99,99]	0,71
CD14 ⁺ 16 ⁺ 163 ⁺ , %	98,08 [53,47–99,78]	89,89 [65,4–99,86]	0,65
CD14 ⁺ 16 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	76,15 [55,12–93,01]	69,58 [55,08–90,5]	0,09
CD14 ⁺ 16 ⁺ 163 ⁺ , %	95,83 [82,79–98,1]	99,81 [92,79–100,00]	0,04
CD14 ⁺ 16 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	93,04 [84,51–98,06]	96,79 [86,99–99,03]	0,35

Примечания: Т — размер опухоли согласно системе TNM, N — метастатическое поражение лимфатических узлов согласно TNM.

CD14⁺CD16⁻HLA-DR⁻-клеток для группы больных с N0-1 превышало показатель для группы с N2-3 более чем на 4%. Стадия заболевания как интегральный показатель распространенности опухолевого процесса была связана с распределением моноцитов среди основных популяций. Нами было проведено сравнение группы больных без распространения опухолевого процесса в регионарные лимфатические узлы (стадия заболевания I-IIA) против группы с распространением опухоли в регионарные лимфатические узлы (стадия IIB-IIIС). Так, для группы больных в стадии I-IIA доля клеток CD14⁺CD16⁻ составила 89,4 [83,48–94,18]%, а для группы с IIB-IIIС была равна 94,2 [92,4–96,69]%, $p = 0,05$. Для моноцитов с фенотипом CD14⁺CD16⁺ эти показатели были выше в стадии I-IIA по сравнению с IIB-IIIС. Содержание CD14⁺CD16⁺CD163⁺-клеток при стадии I-IIA также было выше показателя группы больных с IIB-IIIС с $p = 0,03$.

Параметры экспрессии CD163⁺ и HLA-DR⁺ на разных популяциях моноцитов были связаны с молекулярно-биологическими подтипами опухоли (табл. 4). Так, больные

с трижды негативным подтипом (ТНPMЖ) отличались от группы больных с люминальным В и Her2⁺ подтипом сниженным содержанием CD14⁺CD16⁺HLA-DR⁺-клеток. В свою очередь, Her2⁺ подтип характеризовался повышенным уровнем CD14⁺CD16⁻CD163⁺ и CD14⁺CD16⁺CD163⁺-клеток по сравнению с аналогичными показателями объединенной группы люминальный В/ТНPMЖ ($p < 0,05$). Содержание CD14⁺CD16⁺HLA-DR⁺ также было статистически достоверно выше у больных с Her2⁺ опухолью против показателя больных с люминальным В и ТНPMЖ ($p < 0,05$). Группа больных с люминальным В подтипом опухоли отличалась только сниженным содержанием CD14⁺CD16⁺CD163⁺-моноцитов при люминальном В против группы больных с люминальным В и Her2⁺ подтипами ($p < 0,05$).

Одна из важных характеристик организма, определяющих его системный уровень функционирования, — цитокиновый профиль циркулирующей крови. Первоначально была проведена оценка содержания цитокинов IL6, IL8 и MCP-1 в сыворотке крови больных и здоровых женщин. При анализе содержания MCP-1, IL6 и

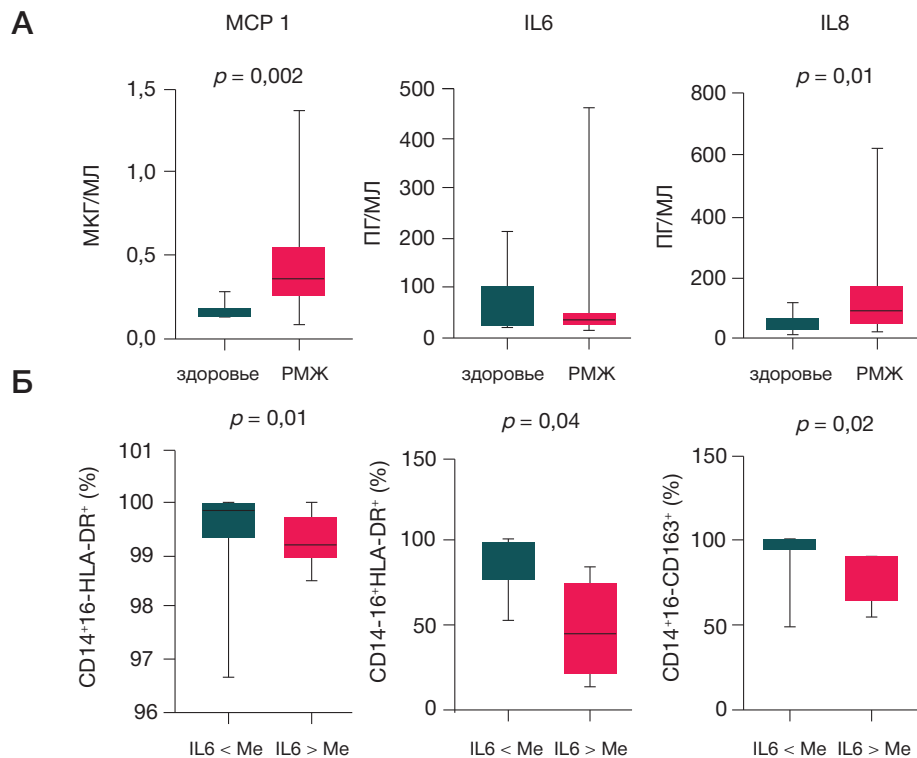


Рис. 2. Ассоциация содержания цитокинов крови с фенотипом моноцитов при раке молочной железы. **А.** Содержание цитокинов в сыворотке крови больных раком молочной железы и здоровых женщин. **Б.** Взаимосвязь содержания IL6 в сыворотке крови с содержанием CD163⁺ и HLA-DR⁺-моноцитов при раке молочной железы

IL8 в сыворотке крови было обнаружено, что группа с РМЖ отличалась повышенным содержанием MCP-1, а именно 0,32 [0,07–0,41] мкг/мл, по сравнению с показателем здоровых женщин, составляющим 0,14 [0,12–0,27] мкг/мл, $p = 0,002$ (рис. 2).

Содержание IL8 в сыворотке крови больных РМЖ составляло 70,1 [25,6–300,0] пг/мл и также превышало показатель группы здоровых женщин, равный 46,0 [16,3–113,0] пг/мл, $p = 0,01$. Количество IL6 в крови больных, напротив, было снижено по сравнению с показателем у здоровых лиц, а именно 23,3 [17,2–30,4] против 28,3 [24,3–33,4] пг/мл, но лишь на уровне статистической тенденции с $p = 0,06$.

Для оценки характера взаимосвязи содержания сывороточного MCP-1, IL8 и IL6 с фенотипическими особенностями моноцитов при РМЖ группа пациентов была разделена на две подгруппы с низким (< Me) и высоким содержанием биологического фактора (\geq Me). Если в отношении MCP-1 и IL8 достоверных различий обнаружено не было, то содержание IL6 сыворотки было связано с фенотипом моноцитов. Высокий уровень содержания IL6 был ассоциирован со снижением доли CD14⁺CD16⁻CD163⁺, CD14⁺CD16⁻HLA-DR⁺ и CD14⁺CD16⁺HLA-DR⁺-моноцитов и составил 91,29 [75,03–97,89]% против 99,12 [94,3–100,0]%, 98,09 [95,65–99,43]% против 99,93 [99,34–100,0]% и 48,06 [32,1–78,3]% против 93,01 [75,41–98,81]% соответственно. Таким образом, сниженная экспрессия HLA-DR на моноцитах была характерна при понижении уровня IL6 в сыворотке (рис. 2Б).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Распространение опухолевого процесса (увеличение размера опухолевого узла, метастазирование в региональные лимфатические узлы и другие органы) —

критерий прогрессирования онкологического заболевания. В нашей работе количество CD14⁺CD16⁺-моноцитов, принадлежащих к неклассической популяции, имело обратную корреляцию с размером опухоли (табл. 2). При оценке ассоциации популяционной структуры со стадией нами отмечено, что более поздняя стадия развития заболевания характеризуется меньшим содержанием CD14⁺CD16⁺-клеток. В отношении популяции CD14⁺CD16⁻, представленной в крови в подавляющем количестве, наблюдали противоположную тенденцию — по мере увеличения стадии заболевания содержание CD14⁺CD16⁻увеличивается (табл. 3). Таким образом, содержание CD163⁺ и HLA-DR⁺-моноцитов связано с рядом ключевых факторов прогрессии РМЖ, а именно со стадией заболевания и наличием метастазов в регионарных лимфатических узлах. Обращает на себя внимание тот факт, что снижается содержание CD14⁺CD16⁺-клеток, которые могут иметь противоопухолевую активность. Так, моноциты неклассической популяции в мышиных моделях рака легкого демонстрируют способность подавлять метастазирование [17]. В то же время увеличивается количество CD14⁺CD16⁻-клеток, служащих источником для пополнения пула опухолеассоциированных макрофагов [2, 4].

Популяция CD14⁺CD16⁻HLA-DR⁺-моноцитов была связана с вовлечением в опухолевый процесс регионарных лимфатических узлов (табл. 3). Известно, что CD14⁺CD16⁻-популяция рекрутируется для выполнения функции антигенпрезентирующих клеток во время воспалительного ответа [18]. По-видимому, при РМЖ поражение регионарных лимфатических узлов может стимулировать образование CD14⁺CD16⁻HLA-DR⁺-моноцитов, способных поддерживать противоопухолевый иммунный ответ. В то же время прогрессирование заболевания, выраженное в увеличении стадии злокачественного процесса, ассоциировано

с повышением доли CD14⁺⁺CD16⁻CD163⁺ и CD14⁺⁺CD16⁺CD163⁺-клеток, в то время как количество CD14⁺CD16⁺⁺CD163⁺-моноцитов при увеличении размера опухолевого узла уменьшается (табл. 2, 3). Примечательно, что содержание моноцитов CD14⁺⁺CD16⁻-популяций также положительно коррелирует со стадией заболевания. Ранее нами было показано, что экспрессия молекулы CD163 повышена в моноцитах больных РМЖ, а в макрофагах опухоли молочной железы этот показатель увеличивается в ответ на проведение химиотерапевтического лечения [19]. Критическим моментом при этом может быть перераспределение количества моноцитов между CD14⁺⁺CD16⁻ и CD14⁺CD16⁺⁺-популяциями, что обуславливает разнонаправленное изменение количества клеток этих популяций по мере увеличения стадии заболевания и размера опухоли. Среди моноцитов классической популяции связь с клинико-морфологическими параметрами показали клетки, экспрессирующие рецептор CD163. Последнее свидетельствует о центральной роли механизмов, опосредованных рецептором CD163 в патогенезе РМЖ.

Показано, что молекулярные подтипы РМЖ отличаются по иммуногенности [20]. Так, подавляющая часть подтипов ТНРМЖ характеризуется повышенными мутационной нагрузкой и содержанием опухолевых инфильтрирующих лимфоцитов — критериями назначения иммунотерапевтических препаратов [21]. Нами было отмечено, что популяционная структура моноцитов взаимосвязана с молекулярным подтипом опухоли. Так, ТНРМЖ отличался сниженным в 1,4 раза содержанием CD14⁺⁺CD16⁻HLA-DR⁺-клеток (табл. 4). В то же время Her2⁺ подтип отличался повышенным содержанием CD14⁺⁺CD16⁻HLA-DR⁺-моноцитов. Таким образом, на уровне популяционной структуры моноцитов крови возможно детектировать различие подтипа РМЖ.

Циркулирующие в крови растворимые факторы создают определенную информационную среду, которая способна осуществлять функциональную поляризацию эффекторов и регуляторов иммунной системы [22]. С этой целью был выполнен анализ взаимосвязи содержания ряда цитокинов (IL6, IL8 и MCP-1) в сыворотке крови с показателями популяционной структуры моноцитов. Обращает на себя внимание повышение концентрации основного фактора миграции моноцитов MCP-1 у больных, что, вероятно, связано с активацией процессов рекрутирования моноцитов в ткань опухоли (рис. 2А). Хотя нами не было отмечено изменений в концентрации IL6 в крови при РМЖ, мы обнаружили связь между

содержанием IL6 и популяционным составом моноцитов (рис. 2А). Интересно, что наряду с экспрессией молекулы HLA-DR экспрессия рецептора CD163 на CD14⁺⁺CD16⁻-клетках также снижалась, что ранее не было описано для больных РМЖ и требует дальнейших исследований. Пациентки с высоким уровнем IL6 имели сниженное содержание CD14⁺⁺CD16⁻HLA-DR⁺ и CD14⁺CD16⁺⁺HLA-DR⁺-клеток (рис. 2Б). IL6 разнонаправленно воздействует на злокачественные новообразования и может как поддерживать рост опухоли, так и ингибировать его [23]. Показано, что для больных РМЖ увеличение IL6 в сыворотке — плохой прогностический фактор [23, 24]. Возможно, одно из вероятных объяснений негативного влияния IL6 на течение РМЖ — связь повышенного уровня данного цитокина со снижением количества моноцитов с противоопухолевой функциональной направленностью (рис. 2Б). Существует ряд доказательств в пользу того, что моноциты с низкой экспрессией HLA-DR обладают способностью дифференцироваться в миелоидные клетки-супрессоры, подавляющие иммунный ответ [25]. Вероятно, связь количества IL6 и содержания HLA-DR⁺ моноцитов может быть одним из механизмов развития опухоли молочной железы и требует дальнейшего исследования.

Выводы

Таким образом, проведенное исследование выявило, что прогрессирование заболевания сопровождается перераспределением основных популяций моноцитов в сторону увеличения классической. При этом повышенная экспрессия рецептора CD163 на моноцитах классической популяции характерна для поздней стадии заболевания, а повышенная экспрессия HLA-DR, напротив, наблюдается при отсутствии или минимальном метастатическом поражении регионарных лимфатических узлов. Молекулярный подтип опухоли молочной железы также связан с распределением CD163⁺ и HLA-DR⁺-моноцитов среди классической, промежуточной и неклассической популяций. Снижение экспрессии HLA-DR на CD14⁺⁺CD16⁻ и CD14⁺CD16⁺⁺, а CD163 на CD14⁺⁺CD16⁻-моноцитах связано с повышением концентрации IL6 в сыворотке крови больных. Полагаем, что определение субпопуляционной структуры моноцитов у пациенток с РМЖ может способствовать разработке дополнительных критериев для формирования тактики лечения. Целесообразны дальнейшие трансляционные исследования, направленные на возможность применения показателей популяционных характеристик моноцитов в клинической практике для больных РМЖ.

Литература

- Ziegler-Heitbrock L. Blood monocytes and their subsets: established features and open questions. *Frontiers in immunology*. 2015; 6: 423.
- Xin Fu MY. Monocytes in tumor: The perspectives of single-cell analysis. *Tumor Discovery*. 2022; 1 (1): 4.
- Mildner A, Schönheit J, Giladi A, David E, Lara-Astiaso D, Lorenzo-Vivas E, et al. Genomic Characterization of Murine Monocytes Reveals C/EBP β Transcription Factor Dependence of Ly6C(-) Cells. *Immunity*. 2017; 46 (5): 849–62.e7.
- Kapellos TS, Bonaguro L, Gemünd I, Reusch N, Saglam A, Hinkley ER, et al. Human monocyte subsets and phenotypes in major chronic inflammatory diseases. *Frontiers in immunology*. 2019; 10: 2035.
- Skytthe MK, Graversen JH, Moestrup SK. Targeting of CD163(+) Macrophages in Inflammatory and Malignant Diseases. *International journal of molecular sciences*. 2020; 21 (15).
- Joshi I, Carney WP, Rock EP. Utility of monocyte HLA-DR and rationale for therapeutic GM-CSF in sepsis immunoparalysis. *Frontiers in immunology*. 2023; 14: 1130214.
- Veglia F, Perego M, Gabrilovich D. Myeloid-derived suppressor cells coming of age. *Nature immunology*. 2018; 19 (2): 108–19.
- Wang YA, Jian JW, Hung CF, Peng HP, Yang CF, Cheng HS, et al. Germline breast cancer susceptibility gene mutations and breast cancer outcomes. *BMC cancer*. 2018; 18 (1): 315.
- Olsson HL, Olsson ML. The menstrual cycle and risk of breast cancer: a review. *Frontiers in oncology*. 2020; 10: 21.

10. Brown KA. Metabolic pathways in obesity-related breast cancer. *Nature reviews Endocrinology*. 2021; 17 (6): 350–63.
11. Byun D, Hong S, Ryu S, Nam Y, Jang H, Cho Y, et al. Early-life body mass index and risks of breast, endometrial, and ovarian cancers: a dose-response meta-analysis of prospective studies. *British journal of cancer*. 2022; 126 (4): 664–72.
12. Liu K, Zhang W, Dai Z, Wang M, Tian T, Liu X, et al. Association between body mass index and breast cancer risk: evidence based on a dose-response meta-analysis. *Cancer management and research*. 2018; 10: 143–51.
13. Koh J, Kim MJ. Introduction of a New Staging System of Breast Cancer for Radiologists: An Emphasis on the Prognostic Stage. *Korean journal of radiology*. 2019; 20 (1): 69–82.
14. Urru SAM, Gallus S, Bosetti C, Moi T, Medda R, Sollai E, et al. Clinical and pathological factors influencing survival in a large cohort of triple-negative breast cancer patients. *BMC cancer*. 2018; 18 (1): 56.
15. Morris RM, Mortimer TO, O'Neill KL. Cytokines: can cancer get the message? *Cancers*. 2022; 14 (9).
16. Niraula A, Sheridan JF. IL6 signaling in monocytes: a potential therapeutic avenue for stress-induced mood impairments. *Chronic stress (Thousand Oaks, Calif)*. 2019; 3.
17. Hanna RN, Cekic C, Sag D, Tacke R, Thomas GD, Nowyhed H, et al. Patrolling monocytes control tumor metastasis to the lung. *Science (New York, NY)*. 2015; 350 (6263): 985–90.
18. Lee J, Tam H, Adler L, Istad-Minnihan A, Macaubas C, Mellins ED. The MHC class II antigen presentation pathway in human monocytes differs by subset and is regulated by cytokines. *PloS one*. 2017; 12 (8): e0183594.
19. Patysheva M, Larionova I, Stakheyeva M, Grigoryeva E, lamshchikov P, Tarabanovskaya N, et al. Effect of early-stage human breast carcinoma on monocyte programming. *Frontiers in oncology*. 2021; 11: 800235.
20. Stenmark Tullberg A, Sjöström M, Niméus E, Killander F, Chang SL, Feng FY, et al. Integrating Tumor-Intrinsic and Immunologic Factors to Identify Immunogenic Breast Cancers from a Low-Risk Cohort: Results from the Randomized SweBCG91RT Trial. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2023; 29 (9): 1783–93.
21. Loizides S, Constantinidou A. Triple negative breast cancer: Immunogenicity, tumor microenvironment, and immunotherapy. *Frontiers in genetics*. 2022; 13: 1095839.
22. Kartikasari AER, Huertas CS, Mitchell A, Plebanski M. Tumor-Induced Inflammatory Cytokines and the Emerging Diagnostic Devices for Cancer Detection and Prognosis. *Frontiers in oncology*. 2021; 11: 692142.
23. Knüpfer H, Preiss R. Significance of interleukin-6 (IL6) in breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2007; 102 (2): 129–35.
24. Chen J, Wei Y, Yang W, Huang Q, Chen Y, Zeng K, et al. IL6: the link between inflammation, immunity and breast cancer. *Frontiers in oncology*. 2022; 12: 903800.
25. Chen J, Wei Y, Yang W, Huang Q, Chen Y, Zeng K, et al. IL6: the link between inflammation, immunity and breast cancer. *Frontiers in oncology*. 2022; 12: 903800.

References

1. Ziegler-Heitbrock L. Blood monocytes and their subsets: established features and open questions. *Frontiers in immunology*. 2015; 6: 423.
2. Xin Fu MY. Monocytes in tumor: The perspectives of single-cell analysis. *Tumor Discovery*. 2022; 1 (1): 4.
3. Mildner A, Schönheit J, Giladi A, David E, Lara-Astiaso D, Lorenzo-Vivas E, et al. Genomic Characterization of Murine Monocytes Reveals C/EBP β Transcription Factor Dependence of Ly6C(-) Cells. *Immunity*. 2017; 46 (5): 849–62.e7.
4. Kapellos TS, Bonaguro L, Gemünd I, Reusch N, Saglam A, Hinkley ER, et al. Human monocyte subsets and phenotypes in major chronic inflammatory diseases. *Frontiers in immunology*. 2019; 10: 2035.
5. Skytthe MK, Graversen JH, Moestrup SK. Targeting of CD163(+) Macrophages in Inflammatory and Malignant Diseases. *International journal of molecular sciences*. 2020; 21 (15).
6. Joshi I, Carney WP, Rock EP. Utility of monocyte HLA-DR and rationale for therapeutic GM-CSF in sepsis immunoparalysis. *Frontiers in immunology*. 2023; 14: 1130214.
7. Veglia F, Perego M, Gabrilovich D. Myeloid-derived suppressor cells coming of age. *Nature immunology*. 2018; 19 (2): 108–19.
8. Wang YA, Jian JW, Hung CF, Peng HP, Yang CF, Cheng HS, et al. Germline breast cancer susceptibility gene mutations and breast cancer outcomes. *BMC cancer*. 2018; 18 (1): 315.
9. Olsson HL, Olsson ML. The menstrual cycle and risk of breast cancer: a review. *Frontiers in oncology*. 2020; 10: 21.
10. Brown KA. Metabolic pathways in obesity-related breast cancer. *Nature reviews Endocrinology*. 2021; 17 (6): 350–63.
11. Byun D, Hong S, Ryu S, Nam Y, Jang H, Cho Y, et al. Early-life body mass index and risks of breast, endometrial, and ovarian cancers: a dose-response meta-analysis of prospective studies. *British journal of cancer*. 2022; 126 (4): 664–72.
12. Liu K, Zhang W, Dai Z, Wang M, Tian T, Liu X, et al. Association between body mass index and breast cancer risk: evidence based on a dose-response meta-analysis. *Cancer management and research*. 2018; 10: 143–51.
13. Koh J, Kim MJ. Introduction of a New Staging System of Breast Cancer for Radiologists: An Emphasis on the Prognostic Stage. *Korean journal of radiology*. 2019; 20 (1): 69–82.
14. Urru SAM, Gallus S, Bosetti C, Moi T, Medda R, Sollai E, et al. Clinical and pathological factors influencing survival in a large cohort of triple-negative breast cancer patients. *BMC cancer*. 2018; 18 (1): 56.
15. Morris RM, Mortimer TO, O'Neill KL. Cytokines: can cancer get the message? *Cancers*. 2022; 14 (9).
16. Niraula A, Sheridan JF. IL6 signaling in monocytes: a potential therapeutic avenue for stress-induced mood impairments. *Chronic stress (Thousand Oaks, Calif)*. 2019; 3.
17. Hanna RN, Cekic C, Sag D, Tacke R, Thomas GD, Nowyhed H, et al. Patrolling monocytes control tumor metastasis to the lung. *Science (New York, NY)*. 2015; 350 (6263): 985–90.
18. Lee J, Tam H, Adler L, Istad-Minnihan A, Macaubas C, Mellins ED. The MHC class II antigen presentation pathway in human monocytes differs by subset and is regulated by cytokines. *PloS one*. 2017; 12 (8): e0183594.
19. Patysheva M, Larionova I, Stakheyeva M, Grigoryeva E, lamshchikov P, Tarabanovskaya N, et al. Effect of early-stage human breast carcinoma on monocyte programming. *Frontiers in oncology*. 2021; 11: 800235.
20. Stenmark Tullberg A, Sjöström M, Niméus E, Killander F, Chang SL, Feng FY, et al. Integrating Tumor-Intrinsic and Immunologic Factors to Identify Immunogenic Breast Cancers from a Low-Risk Cohort: Results from the Randomized SweBCG91RT Trial. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2023; 29 (9): 1783–93.
21. Loizides S, Constantinidou A. Triple negative breast cancer: Immunogenicity, tumor microenvironment, and immunotherapy. *Frontiers in genetics*. 2022; 13: 1095839.
22. Kartikasari AER, Huertas CS, Mitchell A, Plebanski M. Tumor-Induced Inflammatory Cytokines and the Emerging Diagnostic Devices for Cancer Detection and Prognosis. *Frontiers in oncology*. 2021; 11: 692142.
23. Knüpfer H, Preiss R. Significance of interleukin-6 (IL6) in breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2007; 102 (2): 129–35.
24. Chen J, Wei Y, Yang W, Huang Q, Chen Y, Zeng K, et al. IL6: the link between inflammation, immunity and breast cancer. *Frontiers in oncology*. 2022; 12: 903800.
25. Chen J, Wei Y, Yang W, Huang Q, Chen Y, Zeng K, et al. IL6: the link between inflammation, immunity and breast cancer. *Frontiers in oncology*. 2022; 12: 903800.

ГЕНОТИПЫ CYP2D6*3, *4, *6 И ГИПЕРТРОФИЯ ЭНДОМЕТРИЯ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ТАМОКСИФЕНОМ

А. Ю. Горяинова^{1,2}✉, Н. Ю. Усман³, А. В. Рубанович⁴, С. А. Боринская⁴, А. А. Мещеряков⁵

¹ Клинический онкологический диспансер № 1 Министерства здравоохранения Краснодарского края, Краснодар, Россия

² Кубанский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ, Краснодар, Россия

³ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова, Москва, Россия

⁴ Институт общей генетики имени Н. И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

⁵ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю. М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Терапия тамоксифеном у части пациенток с гормоночувствительным раком молочной железы (ГР+РМЖ) приводит к увеличению толщины эндометрия. Данные о влиянии полиморфных вариантов в гене *CYP2D6*, кодирующем фермент *CYP2D6* семейства цитохрома P450, на эффективность и безопасность лечения тамоксифеном противоречивы. Целью проспективного когортного исследования было изучение ассоциации полиморфизмов *CYP2D6**3, *4, *6 с риском развития гипертрофии эндометрия в процессе адъювантной терапии тамоксифеном по поводу ГР+РМЖ. В исследование включено 145 больных операбельным ГР+РМЖ, получавших тамоксифен в дозировке 20 мг в сутки перорально. Полиморфизмы *CYP2D6**3, *4, *6 определены методом ПЦР в режиме реального времени. Проводили измерение толщины эндометрия ультразвуковым методом через 3, 6 и 9 месяцев гормонотерапии. В исследовании показано, что гипертрофию эндометрия чаще наблюдали у больных без альтернативных аллелей на этапе 3 месяцев наблюдения (40% по сравнению с 23,2% в группе «слабых метаболизаторов»; $p = 0,034$). Метаанализ всех периодов наблюдения показал, что среди «нормальных метаболизаторов» наблюдается значимо более высокая частота случаев гипертрофии эндометрия по сравнению со «слабыми метаболизаторами» (ОШ = 1,88; 95%ДИ = 1,27–2,79; $p = 0,002$). Отсутствие статистически значимых различий в показателях состояния эндометрия между группами пациенток с различным *CYP2D6*-генотипом в зависимости от менопаузального статуса требуют проведения дополнительных исследований.

Ключевые слова: рак молочной железы, тамоксифен, гипертрофия эндометрия, *CYP2D6*, гормонотерапия

Финансирование: медицинская часть исследования проведена без спонсорской поддержки в рамках межцентрового соглашения о некоммерческом научном сотрудничестве. Молекулярно-генетическая и статистическая часть исследования проведена в рамках темы бюджетного финансирования «Исследования полиморфизма на клеточном, организменном и популяционном уровне как основа создания генетических технологий» № 122022600161-3.

Вклад авторов: А. Ю. Горяинова — разработка дизайна исследования, сбор полученных данных, статистическая обработка результатов, обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи; Н. Ю. Усман — выбор методики генотипирования и проведение молекулярно-генетического анализа; А. В. Рубанович — статистическая обработка результатов; С. А. Боринская — анализ литературы, молекулярно-генетическое тестирование, интерпретация результатов, редактирование рукописи статьи; А. А. Мещеряков — разработка концепции и дизайна исследования, редактирование рукописи статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом при ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н. Н. Блохина» Минздрава России (протокол № 10 от 26 декабря 2019 г.). Информация о больных была собрана и обрабатывалась в обезличенном виде. Персональные и медицинские данные не подлежали передаче третьим лицам, а также разглашению в результатах исследования. Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Алла Юрьевна Горяинова
ул. Димитрова, д. 146, г. Краснодар, 350040, Россия; mashelueva@yandex.ru

Статья получена: 28.09.2023 **Статья принята к печати:** 20.10.2023 **Опубликована онлайн:** 29.10.2023

DOI: 10.24075/vrgmu.2023.041

CYP2D6*3, *4, *6 GENOTYPES AND ENDOMETRIAL THICKNESS IN PATIENTS WITH BREAST CANCER DURING TAMOXIFEN THERAPY

Goryainova AY^{1,2}✉, Usman NY³, Rubanovich AV⁴, Borinskaya SA⁴, Meshcheryakov AA⁵

¹ Clinical Oncologic Dispensary № 1, Krasnodar, Russia

² Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

³ Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

⁴ Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

⁵ Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Tamoxifen therapy results in endometrial thickening in some patients with hormone-sensitive breast cancer (HSBC). The data on the impact of polymorphic variants of the *CYP2D6* gene encoding the *CYP2D6* enzyme of the cytochrome P450 family on the efficacy and safety of treatment with tamoxifen are controversial. A prospective cohort study was aimed to explore the association of *CYP2D6**3, *4, *6 polymorphisms with the risk of endometrial thickness during adjuvant tamoxifen therapy for HSBC. A total of 145 patients with resectable HSBC, who received 20 mg of oral tamoxifen per day, were enrolled. The *CYP2D6**3, *4, *6 polymorphisms were identified by real-time PCR. Endometrial thickness was measured by ultrasonography after 3, 6 and 9 months of endocrine therapy. The study showed that endometrial hypertrophy was more often found in patients having no alternative alleles after 3 months of follow-up (40% against 23.2% in the group of “poor” metabolizers; $p = 0.034$). Meta-analysis of all follow-up periods has revealed that “normal” metabolizers show a significantly higher rate of endometrial thickness than “poor” metabolizers (OR = 1.88; 95% CI = 1.27–2.79; $p = 0.002$). A lack of significant differences in indicators of the state of endometrium between groups of patients with different *CYP2D6* genotypes and menopausal status requires further investigation.

Keywords: breast cancer, tamoxifen, endometrial thickness, *CYP2D6*, endocrine therapy

Funding: medical piece of research was conducted without sponsor's support as part of the Inter-organization agreement concerning non-profit scientific collaboration. Molecular genetic testing and statistical analysis were conducted as part of the publicly funded project “Study of Polymorphism at the Cellular, Organism and Population Levels as a Basis for Genetic Technology Development” (№ 122022600161-3).

Author contribution: Goryainova AY — study design, data acquisition, statistical processing of the results, review of papers on the subject, manuscript writing; Usman NY — selection of genotyping method and molecular genetic analysis; Rubanovich AV — statistical processing of the results; Borinskaya SA — literature review, molecular genetic testing, interpretation of the results, manuscript editing; Meshcheryakov AA — study concept and design, manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Blokhin National Medical Research Center of Oncology (protocol № 10 dated 26 December 2019). Anonymized patient information was acquired and processed. Personal and medical data were not subject to transfer to a third party or to disclosure in the study results. All patients submitted the informed consent to study participation.

✉ **Correspondence should be addressed:** Alla Yu. Goryainova
Dimitrov, 146, Krasnodar, 350040, Russia; mashelueva@yandex.ru

Received: 28.09.2023 **Accepted:** 20.10.2023 **Published online:** 29.10.2023

DOI: 10.24075/brsmu.2023.041

Сокращение риска рецидива гормоночувствительного рака молочной железы (ГР+РМЖ) более чем на треть, значительное снижение вероятности смерти от этой патологии, а также экономическая эффективность по-прежнему удерживают тамоксифен на позициях лидерства в адъювантной эндокринотерапии [1–3]. Однако длительное применение тамоксифена сопряжено с увеличением риска развития патологических процессов в органах репродуктивной системы [4–7].

Ряд исследований рассматривают тамоксифен в качестве самостоятельного фактора риска развития патологических процессов эндометрия, объясняя это частичным эстрогеноподобным действием самого препарата, в качестве индуцирующих факторов выделяя ожирение, при этом не до конца раскрывая биологические механизмы данного явления [8–12]. Есть мнение, что гиперэстрогения при ожирении вносит вклад в развитие патологии эндометрия, формируя состояние вялотекущего воспаления в тканях репродуктивной системы и модулируя микроокружение эндометрия, что может способствовать онкогенезу [13].

Активно обсуждают в литературе роль воздействия тамоксифена на известные на сегодняшний день рецепторы эстрогенов (ER α , ER β , GPER или 7-трансмембранный рецептор эстрогена, связанный с G-белком) и активацию или блокаду механизмов передачи сигналов эстрогеновых рецепторов, так как отсутствие селективности по отношению ко всем видам рецепторов приводит к возникновению большого количества фармакотерапевтических проблем и формированию серьезных побочных эффектов терапии [14].

Вопросу роли метаболизма тамоксифена с участием ферментов системы цитохрома P450 в развитии патологических процессов эндометрия посвящен ряд исследований с неоднозначными результатами [15, 16]. Мы предположили, что развитие патологических процессов в виде гипертрофии эндометрия на фоне терапии тамоксифеном по поводу ГР+РМЖ может быть обусловлено особенностями метаболического профиля каждой конкретной больной, связанного с различными аллельными вариантами гена *CYP2D6*. К настоящему времени описано более 40 аллелей этого гена, обуславливающих снижение или отсутствие активности фермента. Из последних в популяциях европеоидного происхождения наиболее часто встречается аллель *CYP2D6* *4 (частота — 20%), следующие по частоте встречаемости — аллели *3 и *6 (2 и 0,9% соответственно) [17].

Цель исследования — изучить ассоциацию полиморфных вариантов гена *CYP2D6* по аллелям *3, *4 *6 с развитием гипертрофии эндометрия у больных, получающих адъювантную гормонотерапию тамоксифеном по поводу ГР+РМЖ.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» с января 2020 по сентябрь 2022 г. Молекулярно-генетическая часть исследования была выполнена в лаборатории анализа генома ФГБУН «Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова» РАН.

В исследование было включено 145 больных операбельным ГР+РМЖ, получивших комбинированное или комплексное лечение с последующим назначением эндокринотерапии тамоксифеном в стандартном режиме по 20 мг в сутки перорально ежедневно. Критерии

включения: включенные в исследование пациентки ранее не получали гормонотерапию, а также не принимали сопутствующие препараты-ингибиторы *CYP2D6*. Критерии исключения: из исследования исключали пациенток, не явившихся на плановый контрольный осмотр, отменивших прием тамоксифена по любым причинам, а также отказавшихся от участия в исследовании на любом из его этапов. Клинические протоколы ведения больных соответствовали клиническим рекомендациям Министерства здравоохранения РФ по диагностике и лечению рака молочной железы [18]. Перед началом лечения по поводу рака молочной железы все больные прошли гинекологическое обследование, в том числе ультразвуковое исследование малого таза — патология органов репродуктивной системы исключена. Все пациенты были охарактеризованы с точки зрения антропометрических, анамнестических, клинических, патоморфологических и иммуногистохимических показателей. До начала терапии тамоксифеном у больных натошак производили забор образцов буккального эпителия в соответствии с общими правилами взятия биологического материала для генетических тестов, а также с обязательной маркировкой каждого образца специальным шифром, дублирующим данные учетного списка. Для выделения ДНК использовали метод фенол-хлороформной экстракции с соблюдением общих правил [19]. Генотипирование проводили по аллелям *CYP2D6**3, *4, *6 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с помощью коммерческого набора реагентов для определения аллельных вариантов в гене *CYP2D6* (каталожный номер RUO-R1-H990-N3/4, ООО «ДНК-Технология-ТС»; Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Для статистической обработки данных носители аллелей гена *CYP2D6*, ассоциированных с нормальной активностью фермента, составили группу, которую условно назвали «нормальные метаболизаторы», носители аллелей гена *CYP2D6*, ассоциированных со сниженной активностью фермента, в гомо- или гетерозиготном состоянии объединены в группу, которую условно назвали «слабые метаболизаторы», группы были относительно сбалансированы по численности.

Наблюдение за больными на фоне терапии тамоксифеном проводили в контрольные сроки 3, 6 и 9 месяцев от начала терапии. Всем больным, помимо общего объема обследований в соответствии с клиническими рекомендациями, выполняли трансвагинальное ультразвуковое исследование (ТВУЗИ) органов малого таза с измерением толщины эндометрия на 5–7 дни менструального цикла при сохранном менструальном цикле, при аменорее ультразвуковое исследование проводили в плановом порядке на исходе трехмесячного интервала. Пороговыми значениями считали 8 мм у больных в пременопаузе и 5 мм при аменорее в соответствии с рекомендованными стандартами диагностики патологии эндометрия [20, 21]. При формировании подгрупп в зависимости от статуса менструальной функции в группу пременопаузы были отнесены пациентки с наличием регулярных или нерегулярных менструальных кровотечений на фоне проводимой гормонотерапии тамоксифеном, в группу аменореи были включены больные с отсутствием менструаций на фоне проводимой терапии в течение всего периода наблюдения, в том числе пациентки в постменопаузе.

Статистический анализ и визуализацию полученных данных проводили с использованием среды для

Таблица 1. Частоты генотипов и аллелей гена *CYP2D6* в исследованной группе пациенток

Полиморфизм	Частота генотипов, % (n)			Частота аллелей (%) и статистическая ошибка ($\pm se$)		χ^2 (p)*
	A/A	A/del	del/del	A	del	
CYP2D6*3 (c.2549delA / rs35742686)	98,6 (143)	1,4% (2)	0	99,7 \pm 0,7	0,7 \pm 0,7	0,01 (0,933)
CYP2D6*4 (c.1846G > A / rs3892097)	4,8 (7)	39,3 (57)	55,9 (81)	24,5 \pm 3,6	75,5 \pm 3,6	0,58 (0,447)
CYP2D6*6 (c.1707delT / rs5030655)	97,2 (141)	2,8 (4)	0	98,6 \pm 1,0	1,4 \pm 1,0	0,03 (0,866)

Примечание: * — тест χ^2 на отклонение от равновесия Харди–Вайнберга.

статистических вычислений R 4.2.2 (R Foundation for Statistical Computing; Австрия). Описательные статистики были представлены в виде относительной частоты наблюдений для качественных переменных и среднего (стандартное отклонение) и медианы (1-й и 3-й квартили) — для количественных. Для сравнения базовых характеристик использовали тест Манна–Уитни и точный тест Фишера для количественных и качественных переменных соответственно. Для сравнительного анализа бинарных показателей использовали смешанные логистические регрессионные модели с включением термина взаимодействия между индикатором группы и периодом наблюдения, в качестве размера эффекта — отношение шансов (ОШ) с соответствующим 95% доверительным интервалом (95% ДИ). Метаанализ всех периодов наблюдения проводили согласно Mantel-Haenszel Fixed Effects model. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для включенных в исследование пациенток определены генотипы по наиболее распространенным в российской популяции полиморфизмам гена *CYP2D6*, ассоциированным со сниженным метаболизмом тамоксифена: аллелей *3, *4 и *6 (табл. 1) [22]. Установленные частоты аллелей близки к опубликованным для популяций европеоидного происхождения [17].

Генотипы, ассоциированные со снижением активности фермента, были выявлены у 8 человек (5,5%) — 7 A/A гомозигот по *CYP2D6*4* и одна компаунд-гетерозигота T/del по *CYP2D6*6* и A/G по *CYP2D6*4*. Остальные больные оказались гомозиготными по аллелям, детерминирующим нормальную активность фермента (74 человека, 51,0%) либо гетерозиготными по одному из изученных полиморфизмов (63 человека 43,5%). Для статистической обработки пациенты разделены на две сбалансированные по численности группы по принципу наличия/отсутствия нефункциональных аллелей гена *CYP2D6*.

В исследованной группе пациенток не было выявлено статистически значимой ассоциации риска развития гипертрофии эндометрия с возрастом через 3 месяца применения тамоксифена (ОШ = 1,02 [95% ДИ: 0,97; 1,06], $p = 0,51$), 6 месяцев (ОШ = 1,03 [95% ДИ: 0,98; 1,07], $p = 0,292$) и 9 месяцев (ОШ = 1,0 [95% ДИ: 0,95; 1,04], $p = 0,884$), с индексом массы тела через 3 месяца (ОШ = 1 [95% ДИ: 0,99; 1,02], $p = 0,671$), 6 месяцев (ОШ = 1 [95% ДИ: 0,99; 1,02], $p = 0,901$) и 9 месяцев терапии (ОШ = 1 [95% ДИ: 0,99; 1,01], $p = 0,99$). Статус курения, клинические характеристики (размер первичной опухоли, наличие или отсутствие химиотерапии в анамнезе, проведение овариальной супрессии), а также гистологические

и иммуногистохимические характеристики опухоли молочной железы (размер первичного узла, количество пораженных лимфатических узлов, экспрессия эстрогеновых рецепторов и рецепторов прогестерона, величина индекса пролиферативной активности, статус Her-2-neu) не были значимыми предикторами развития гипертрофии эндометрия в исследуемой когорте (табл. 2).

Во всех группах наблюдали более высокую толщину эндометрия у «нормальных метаболизаторов» по сравнению со «слабыми метаболизаторами», однако эти различия не были статистически значимыми (табл. 3).

Среди пациенток с аменореей было отмечено увеличение толщины эндометрия через 9 месяцев терапии тамоксифеном по сравнению с толщиной через 3 месяца как среди «нормальных метаболизаторов» (разности средних равны 1,64 [95% ДИ: 0,269; 1,97] см ($p = 0,011$) и 1,64 [95% ДИ: 0,683; 2,60] см ($p = 0,001$) соответственно), так и «слабых метаболизаторов» (в среднем на 0,83 [95% ДИ: 0,01; 1,65] см ($p = 0,05$) и 1,36 [95% ДИ: 0,46; 2,37] см ($p = 0,004$) соответственно).

Статистически значимых отличий в динамике частоты гипертрофии выявлено не было как в исследуемой когорте в целом ($p = 0,052$), так и среди пациенток в пременопаузе ($p = 0,532$) и при аменорее ($p = 0,366$) (табл. 4; рисунок).

В исследуемой когорте среди «нормальных метаболизаторов» неизменно отмечали более высокую частоту случаев гипертрофии эндометрия по сравнению со «слабыми метаболизаторами», однако значимыми эти превышения были лишь на отметке 3 месяца для всех пациенток (ОШ = 2,21; $p = 0,034$). Регулярность этих различий позволяет провести метаанализ трех периодов наблюдений для каждой группы пациенток (табл. 5). Проведенный анализ показал, что среди «нормальных метаболизаторов» наблюдается статистически значимое увеличение частоты случаев гипертрофии эндометрия по сравнению со «слабыми метаболизаторами» (ОШ = 1,88; 95% ДИ = 1,27–2,79; $p = 0,002$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Тамоксифен — это пролекарство, трансформация которого в его наиболее важный метаболит эндоксифен осуществляется в основном ферментом *CYP2D6* [23, 24]. Полиморфные варианты его одноименного гена, кодирующего фермент, могут приводить к изменению его ферментативной активности, с которой связана различная эффективность тамоксифена у носителей определенных аллелей [25]. Однако данные проведенных исследований неоднозначны, в литературе продолжают полемичку о клинической значимости генотипирования *CYP2D6* и интерпретации его результатов [26]. Обсуждают также влияние различий метаболизма тамоксифена на

Таблица 2. Характеристики исследованной группы пациенток с учетом CYP2D6-генотипа

Характеристика	Все пациентки n = 145	«Нормальные метаболизаторы» n = 76	«Слабые метаболизаторы» n = 69	p*
Демографические и антропометрические характеристики. В верхней строке среднее (SD), в нижней строке медиана (1-й – 3-й квартили)				
Возраст (лет)	47,4 (6,2) 47 (44–51)	47,6 (5,9) 47 (44–52)	47,1 (6,5) 47 (43–51)	0,511
Масса тела (кг)	73 (15,6) 72 (62–80)	72,9 (12,9) 72 (64–80)	73 (18,2) 72 (61–80)	0,602
Рост (см)	164,6 (7,9) 164 (162–169)	164,4 (6,1) 164 (160–168)	164,7 (9,5) 164 (162–169)	0,19
Индекс массы тела (кг/м ²)	27,6 (13,1) 25,6 (22,7–30,1)	27,1 (5,5) 25,9 (23–30,1)	28,2 (18,2) 25 (22,1–30,1)	0,576
Анамнестические характеристики				
Курение				
Никогда не курили	101 (69,7%)	56 (73,7%)	45 (65,2%)	0,396
Курили в прошлом	28 (19,3%)	11 (14,5%)	17 (24,6%)	
Курящие в настоящее время	16 (11%)	9 (11,8%)	7 (10,1%)	
Клинические, патоморфологические и иммуногистохимические характеристики				
T, размер первичного опухолевого узла				
1	82 (56,6%)	47 (61,8%)	35 (50,7%)	0,231
2	46 (31,7%)	21 (27,6%)	25 (36,2%)	
3	5 (3,4%)	2 (2,6%)	3 (4,3%)	
4	12 (8,3%)	6 (7,9%)	6 (8,7%)	
N, наличие, отсутствие и распространенность метастазов в регионарных лимфатических узлах				
0	76 (52,4%)	39 (51,3%)	37 (53,6%)	0,963
1	54 (37,2%)	30 (39,5%)	24 (34,8%)	
2	13 (9%)	6 (7,9%)	7 (10,1%)	
3	2 (1,4%)	1 (1,3%)	1 (1,4%)	
G, степень дифференцировки опухоли				
1 градация	28/143 (19,6%)	15/74 (20,3%)	13/69 (18,8%)	0,974
2 градация	88/143 (61,5%)	45/74 (60,8%)	43/69 (62,3%)	
3 градация	27/143 (18,9%)	14/74 (18,9%)	13/69 (18,8%)	
Экспрессия эстрогеновых рецепторов в опухолевой ткани, характеризующая ее чувствительность к эндокринотерапии, %				
1–20	6 (4,1%)	3 (3,9%)	3 (4,3%)	0,864
21–30	1 (0,7%)	0 (0,0%)	1 (1,4%)	
≥ 31	138 (95,2%)	73 (96,1%)	65 (94,2%)	
Экспрессия рецепторов прогестерона в опухолевой ткани, характеризующая ее чувствительность к эндокринотерапии, %				
1–20	30 (20,7%)	17 (22,4%)	13 (18,8%)	0,37
21–30	2 (1,4%)	1 (1,3%)	1 (1,4%)	
≥ 31	113 (77,9%)	58 (76,3%)	55 (79,7%)	
Статус экспрессии рецепторов эпидермального фактора роста Her-2-neu				
0	74 (51%)	36 (47,4%)	38 (55,1%)	0,069
1	52 (35,9%)	28 (36,8%)	24 (34,8%)	
2	6 (4,1%)	2 (2,6%)	4 (5,8%)	
3	13 (9%)	10 (13,2%)	3 (4,3%)	
Индекс пролиферативной активности в опухолевой ткани, характеризующий долю активно делящихся опухолевых клеток (Ki-67), %				
1–20	108 (74,5%)	57 (75,0%)	51 (73,9%)	0,629
21–30	20 (13,8%)	9 (11,8%)	11 (15,9%)	
≥ 31	17 (11,7%)	10 (13,2%)	7 (10,1%)	
Химиотерапия				
Не проводилась	68 (46,9%)	37 (48,7%)	31 (44,9%)	0,598
Проводилась	77 (53,1%)	39 (51,3%)	38 (55,1%)	
Овариеальная супрессия				
Не проводилась	104 (72,2%)	57 (76%)	47 (68,1%)	0,293
Проводилась	40 (27,8%)	18 (24%)	22 (31,9%)	
Менструальная функция до начала лечения				
Отсутствует	48 (33,1%)	26 (34,2%)	22 (31,9%)	0,854
Сохранена	97 (66,9%)	50 (65,8%)	47 (68,1%)	
Менструальная функция в процессе эндокринотерапии				
Отсутствует	112 (77,2%)	56 (73,7%)	56 (81,2%)	0,441
Сохранена	33 (22,8%)	20 (26,3%)	13 (18,8%)	

Примечание: * — сравнение групп «нормальных» и «слабых» метаболизаторов по тесту Манна–Уитни (количественные признаки) и точному критерию Фишера (номинальные признаки).

Таблица 3. Толщина эндометрия по данным ультразвукового исследования (мм) в группах больных с учетом CYP2D6-генотипа

Период	«Нормальные метаболизаторы»	«Слабые метаболизаторы»	<i>p</i> **
Все пациентки			
3 месяца	6,0 (4,0–10,0) *	5 (3,0–8,0)	0,131
6 месяцев	7,0 (5,0–11,0)	6,0 (4,0–9,5)	0,122
9 месяцев	8,0 (5,0–12,0)	6,0 (4,0–9,5)	0,088
<i>p</i> ***	0,00045	0,005	
Пременопауза			
3 месяца	6 (3,75–10,25)	5 (4,0–8,0)	0,24
6 месяцев	7 (5,0–11,25)	6 (4,0–9,0)	0,124
9 месяцев	7 (4,75–12,25)	6 (4,0–9,0)	0,159
<i>p</i> ***	0,02	0,062	
Аменорея			
3 месяца	6 (4,0–8,5)	4,5 (3,0–8,5)	0,313
6 месяцев	9 (5,0–11,0)	7 (4,0–12,25)	0,78
9 месяцев	9 (5,0–11,5)	6,5 (3,75–11,25)	0,454
<i>p</i> ***	0,005	0,021	

Примечание: * — приведены медианы и квартили (25% и 75%); ** — сравнение групп «нормальных» и «слабых» метаболизаторов по тесту Манна–Уитни; *** — сравнение групп «3 месяца» и «9 месяцев» для «нормальных» и «слабых» метаболизаторов по тесту Манна–Уитни.

приверженность лечению: раннее прекращение терапии тамоксифеном по решению самой пациентки при развитии побочных эффектов сказывается на исходах лечения рака молочной железы [27]. При этом вопросу ассоциации риска развития побочных эффектов, в том числе патологии эндометрия, со степенью ферментативной активности CYP2D6 уделено мало внимания — единичные небольшие исследования ограниченно освещают данную проблему [27–29].

В настоящей статье мы попытались проследить риск развития такого нежелательного явления при терапии тамоксифеном, как гипертрофия (увеличение толщины) эндометрия у пациенток с различными аллелями гена CYP2D6, встречающимися в популяциях европейского происхождения и ответственными за сниженный метаболизм тамоксифена [30]. В исследованной группе пациенток

отсутствовала корреляция между аллелями CYP2D6*3, *4, *6 и такими факторами, как исходный размер опухолевого узла, количество пораженных лимфатических узлов, гистологические и иммуногистохимические характеристики первичной опухоли, индекс массы тела, курение. Однако, что касается ассоциации исследуемых аллелей с толщиной эндометрия и частотой развития гипертрофии, полученные результаты указывают на более частое и интенсивное утолщение эндометрия в зависимости от длительности гормонотерапии у пациенток с аменореей, не имеющих аллелей, снижающих активность фермента. Следовательно, в постменопаузе присутствует эффект воздействия высоких концентраций эноксифена у «нормальных метаболизаторов», носящий кумулятивный характер.

Гипертрофию эндометрия чаще наблюдали у больных без аллелей, снижающих активность фермента, на этапе

Таблица 4. Частота гипертрофии эндометрия в группах больных с учетом CYP2D6-генотипа

Период	«Нормальные метаболизаторы»	«Слабые метаболизаторы»	Сравнение «нормальных» и «слабых» метаболизаторов: OR (<i>p</i>)
Все пациентки <i>n</i> = 76 <i>n</i> = 69			
3 месяца	30 (40,0%)	16 (23,2%)	2,21 (0,034)
6 месяцев	39 (52,0%)	26 (37,7%)	1,79 (0,096)
9 месяцев	37 (49,3%)	25 (36,2%)	1,71 (0,131)
Сравнение 3 и 9 месяцев: OR (<i>p</i>)	1,46 (0,324)	1,88 (0,136)	
Пременопауза <i>n</i> = 50 <i>n</i> = 47			
3 месяца	17 (34,0%)	9 (19,1%)	2,18 (0,114)
6 месяцев	21 (42,0%)	12 (25,5%)	2,11 (0,133)
9 месяцев	18 (36,0%)	12 (25,5%)	1,64 (0,282)
Сравнение 3 и 9 месяцев: OR (<i>p</i>)	1,09 (1)	1,45 (0,621)	
Аменорея <i>n</i> = 26 <i>n</i> = 22			
3 месяца	13 (52,0%)	7 (31,8%)	2,32 (0,238)
6 месяцев	18 (72,0%)	14 (63,6%)	1,47 (0,755)
9 месяцев	19 (76,0%)	13 (59,1%)	2,19 (0,347)
Сравнение 3 и 9 месяцев: OR (<i>p</i>)	2,92 (0,140)	3,1 (0,129)	

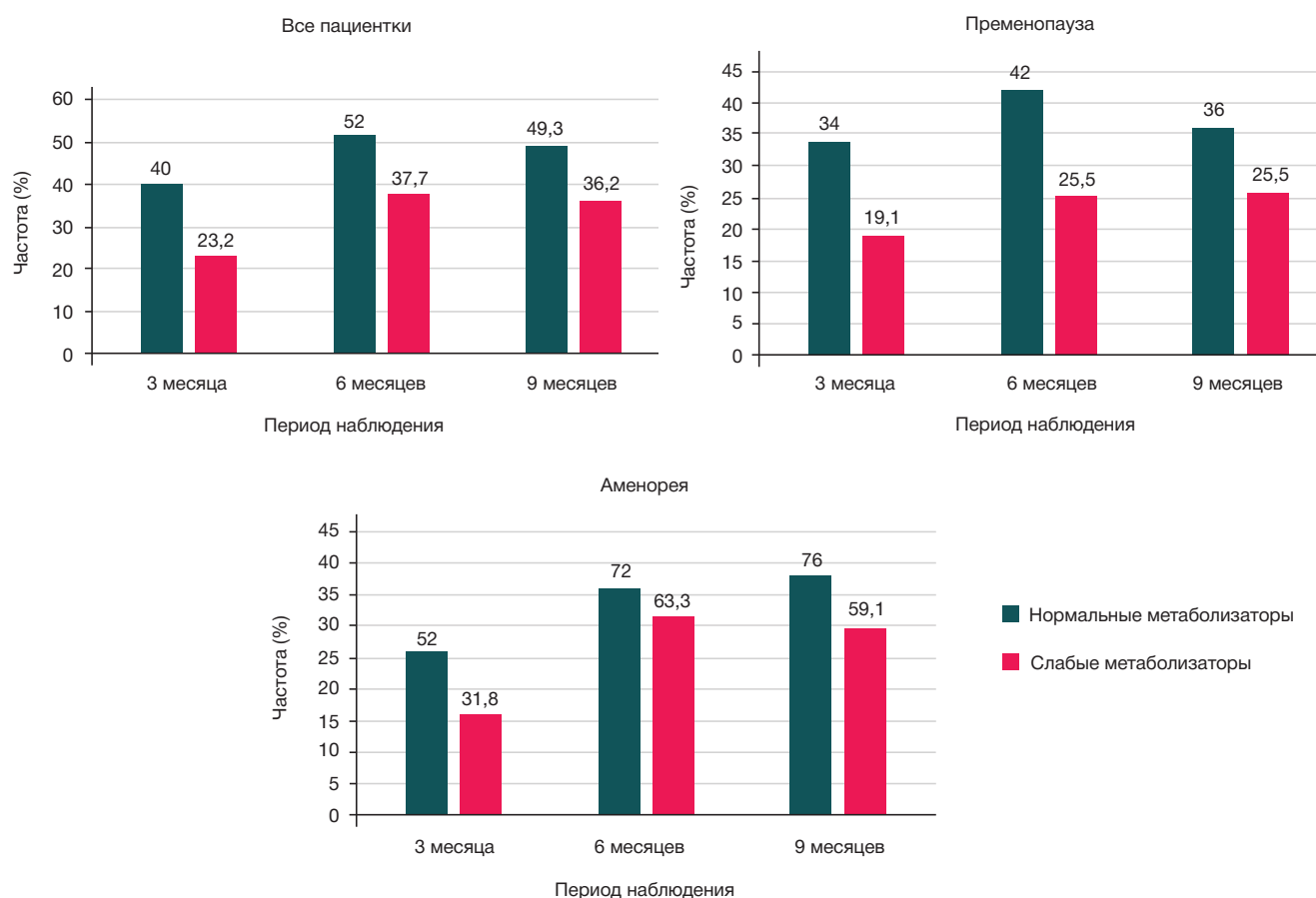


Рис. Частота гипертрофии эндометрия в общей группе и подгруппах больных в зависимости от менопаузального статуса и *CYP2D6*-генотипа

3 месяцев наблюдения (40% по сравнению с 23,2% в группе «слабых метаболизаторов»; $p = 0,034$). Возможно, что трех месяцев лечения тамоксифеном было достаточно для реализации основного эстрогеноподобного эффекта тамоксифена. Отсутствие данных о толщине эндометрия до начала лечения тамоксифеном считаем недостатком дизайна нашего исследования, в будущих исследованиях необходимо предусмотреть дополнительное ультразвуковое исследование матки до применения тамоксифена.

У больных в пременопаузе динамика толщины эндометрия оказалась незначительной, так как эндометрий отторгается каждый раз во время очередных менструаций, и при помощи ультразвукового метода возможно было визуализировать только патологический эндометрий, но для его образования, вероятнее всего, необходимо большее время. Мы проводили ультразвуковое исследование в первой фазе менструального цикла. В дальнейшем необходимо предусмотреть проведение ультразвукового исследования в середине цикла у больных в пременопаузе, в период, когда максимально реализуется действие эстрогенов и эстрогеноподобных веществ. Это позволит более точно исследовать эстрогеноподобное действие тамоксифена. Тем не менее, у больных в пременопаузе с наличием альтернативных аллелей толщина эндометрия была меньшей по сравнению с больными в пременопаузе

без сниженного метаболизма. Можно предположить, что у «нормальных метаболизаторов» проявляется временный (в пределах менструального цикла) эстрогеноподобный эффект тамоксифена.

На корреляцию генотипа *CYP2D6* с толщиной эндометрия могут воздействовать факторы эндокринного характера, однако влияние концентрации эноксифена на овариальный, тканевой стероидогенез и регуляцию гипоталамо-гипофизарной системы к настоящему времени не изучено. Отсутствие понимания эндокринных механизмов с попыткой разобщения взаимосвязанных факторов, видимо, стало ограничением в проведенных ранее исследованиях с разноречивыми результатами. Поскольку роль гиперэстрогении в развитии патологии эндометрия доказана [31], имеет смысл уточнить, является ли метаболизм тамоксифена с помощью *CYP2D6* фактором формирования гиперэстрогенной среды за счет стимуляции овариального или тканевого стероидогенеза.

Выводы

Изменение метаболической активности фермента *CYP2D6*, обусловленное полиморфизмами *CYP2D6**3, *4, *6, может модифицировать риск развития гипертрофии эндометрия на фоне терапии тамоксифеном по поводу ГР+РМЖ, однако

Таблица 5. Метаанализ различий по частоте гипертрофии эндометрия у «нормальных» и «слабых» метаболизаторов для всех периодов наблюдения

Группы	ОШ (Mantel-Haenszel odds ratio)	95% ДИ	p (точный тест Фишера)
Все пациентки	1,88	1,27–2,79	0,002
Пременопауза	1,95	1,17–3,26	0,014
Менопауза	1,96	0,97–3,97	0,089

в данном исследовании нам удалось проследить лишь некоторые тенденции. Полученные данные подчеркивают необходимость дальнейшего изучения метаболической активности фермента CYP2D6 с улучшенным дизайном исследований и большим числом больных. Перспективным

представляется поиск сторонних эффектов тамоксифена, в первую очередь, его влияния на овариальный стероидогенез, а также дополнительных факторов, в совокупности с которыми фармакогенетическое тестирование будет иметь наибольшую клиническую значимость.

Литература

1. Протасова А. Э., Солнцева И. А., Цыпурдеева А. А., Семиглазова Т. Ю., Стенина М. Б., Юренева С. В. и др. Обоснованные подходы к диагностике и лечению тамоксифен-индуцированных состояний эндометрия у больных раком молочной железы. Журнал акушерства и женских болезней. 2018; 67 (6): 69–78.
2. Krauss K, Stickeler E. Endocrine therapy in early breast cancer. *Breast Care*. 2020; 15 (4): 337–46.
3. Wijayabahu AT, Egan KM, Yaghjian L. Uterine cancer in breast cancer survivors: A systematic review. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2020; 180 (1): 1–9.
4. Шахламова М. Н., Исаева Э. А., Панкратов В. В. Этиология и патогенез гиперпластических процессов эндометрия в постменопаузе. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2011; 10 (4): 76–84.
5. Ferriss JS, Erickson BK, Shih IM, Fader AN. Uterine serous carcinoma: key advances and novel treatment approaches. *International Journal of Gynecologic Cancer*. 2021; 31 (8): 1165–74.
6. Emons G, Mustea A, Tempfer C. Tamoxifen and endometrial cancer: A janus-headed drug. *Cancers*. 2020; 12 (9): 2535.
7. Ignatov A, Ortmann O. Endocrine risk factors of endometrial cancer: polycystic ovary syndrome, oral contraceptives, infertility, tamoxifen. *Cancers*. 2020; 12 (7): 1766.
8. Bergman L, Beelen ML, Gallee MP, Hollema H, Benraadt J, van Leeuwen FE. Risk and prognosis of endometrial cancer after tamoxifen for breast cancer. *Comprehensive Cancer Centres' ALERT Group. Assessment of Liver and Endometrial cancer Risk following Tamoxifen*. *Lancet*. 2000; 356 (9233): 881–7. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02677-5.
9. Chlebowski R, Schottinger J, Shi J, Chung J, Haque, R. Aromatase inhibitor, tamoxifen and endometrial cancer in breast cancer survivors. *Cancer*. 2015; 121 (13): 2147–55. DOI: 10.1002/cncr.29332.
10. Hoogendoorn WE, Hollema H, van Boven HH, Bergman E, de Leeuw-Mantel G, Plattee I, et al. Comprehensive Cancer Centers TAMARISK-group. Prognosis of uterine corpus cancer after tamoxifen treatment for breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2008; 112 (1): 99–108. DOI: 10.1007/s10549-007-9823-1.
11. Vizzotto AO Jr, Nicolau SM, Lopes GM, Castelo Filho A. Risk factors for the development of endometrial lesions in breast cancer patients using tamoxifen: a retrospective cohort study. *Rev Col Bras Cir*. 2023; 50: e20233442. DOI: 10.1590/0100-6991e-20233442-en.
12. Fleming CA, Heneghan HM, O'Brien D, McCartan DP, McDermott EW, Prichard RS. Meta-analysis of the cumulative risk of endometrial malignancy and systematic review of endometrial surveillance in extended tamoxifen therapy. *Journal of British Surgery*. 2018; 105 (9): 1098–106.
13. Dottino JA, Zhang Q, Loose DS, Fellman B, Melendez BD, Borthwick MS, et al. Endometrial biomarkers in premenopausal women with obesity: an at-risk cohort. *Am J Obstet Gynecol*. 2021; 224 (3): 278.e1–278.e14. DOI: 10.1016/j.ajog.2020.08.053.
14. Revankar CM, Bologna CG, Pepermans RA, Sharma G, Petrie WK, Alcon SN, et al. A selective ligand for estrogen receptor proteins discriminates rapid and genomic signaling. *Cell Chem Biol*. 2019; 26 (12): 1692–1702.e5. DOI: 10.1016/j.chembiol.2019.10.009.
15. Dieudonné AS, et al. The rs1800716 variant in CYP2D6 is associated with an increased double endometrial thickness in postmenopausal women on tamoxifen. *Ann Oncol*. 2014; 25: 90–5.
16. Okishiro M, Taguchi T, Jin Kim S, Shimazu K, Tamaki Y, Noguchi S. Genetic polymorphisms of CYP2D6 10 and CYP2C19 2, 3 are not associated with prognosis, endometrial thickness, or bone mineral density in Japanese breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen. *Cancer*. 2009; 115 (5): 952–61. DOI: 10.1002/cncr.24111.
17. Bradford LD. CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. *Pharmacogenomics*. 2002; 3 (2): 229–43. DOI: 10.1517/14622416.3.2.229.
18. Рак молочной железы. Клинические рекомендации. Министерство здравоохранения РФ, 2021; 93 с.
19. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д. Молекулярное клонирование. Монография. М.: Мир, 1984; 479 с.
20. Савельева Г. М., Сухих Г. Т., Серов В. Н., Радзинский В. Е., редакторы. Акушерство: национальное руководство. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2019. 1080 с. ISBN 978-5-9704-4916-5.
21. Auclair MH, Yong PJ, Salvador S, Thurston J, Colgan TTJ, Sebastianelli A. Guideline No. 392-Classification and Management of Endometrial Hyperplasia. *J Obstet Gynaecol Can*. 2019; 41 (12): 1789–800. DOI: 10.1016/j.jogc.2019.03.025.
22. Корчагина Р. П., Осипова Л. П., Вавилова Н. А. и др. Полиморфизмы генов биотрансформации ксенобиотиков GSTM1, GSTT1 и CYP2D6, которые являются возможными маркерами риска развития рака в популяциях коренных этносов и русских Северной Сибири. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2012; 2: 7–17. DOI: 10.1134/S2079059712010091.
23. Briest S, Stearns V. Tamoxifen metabolism and its effect on endocrine treatment of breast cancer. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2009; 7 (3): 185–92. PMID: 19398943.
24. Goetz MP, Sangkuhl K, Guchelaar HJ, Schwab M, Province M, Whirl-Carrillo M, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2D6 and Tamoxifen Therapy. *Clin Pharmacol Ther*. 2018; 103 (5): 770–7. DOI: 10.1002/cpt.1007.
25. Mulder TAM, de With M, Del Re M, Danesi R, Mathijssen RHJ, van Schaik RHN. Clinical CYP2D6 genotyping to personalize adjuvant tamoxifen treatment in ER-Positive breast cancer patients: current status of a controversy. *Cancers (Basel)*. 2021; 13 (4): 771. DOI: 10.3390/cancers13040771.
26. Nardin JM, Schroth W, Almeida TA, Mürdter T, Picolotto S, Vendramini ECL, et al. The influences of adherence to tamoxifen and CYP2D6 pharmacogenetics on plasma concentrations of the active metabolite (Z)-endoxifen in breast cancer. *Clin Transl Sci*. 2020; 13: 284–92. DOI: 10.1111/cts.12707.
27. Günaldı M, Erkiş M, Afşar CU, Erçolak V, Paydas S, Kara IO, et al. Evaluation of endometrial thickness and bone mineral density based on CYP2D6 polymorphisms in Turkish breast cancer patients receiving tamoxifen treatment. *Pharmacology*. 2014; 94 (3–4): 183–9. DOI: 10.1159/000363304.
28. Dieudonné AS, Lambrechts D, Smeets D, Belmans A, Wildiers H, Paridaens R, et al. The rs1800716 variant in CYP2D6 is associated with an increased double endometrial thickness in postmenopausal women on tamoxifen. *Ann Oncol*. 2014; 25 (1): 90–5. DOI: 10.1093/annonc/mdt399.
29. Okishiro M, Taguchi T, Jin Kim S, Shimazu K, Tamaki Y, Noguchi S. Genetic polymorphisms of CYP2D6 10 and CYP2C19 2, 3 are not associated with prognosis, endometrial thickness, or bone mineral density in Japanese breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen. *Cancer*. 2009; 115 (5): 952–61. DOI: 10.1002/cncr.24111.
30. Marez D, Legrand M, Sabbagh N, Lo Guidice JM, Spire C, Lafitte JJ, et al. Polymorphism of the cytochrome P450 CYP2D6 gene in

a European population: characterization of 48 mutations and 53 alleles, their frequencies and evolution. *Pharmacogenetics*. 1997; 7 (3): 193–202. DOI: 10.1097/00008571-199706000-00004.

References

- Protasova AE, Solntseva IA, Tsyurdeyeva AA, Semiglazova TYu, Stenina MB, Yureneva SV, et al. Substantiated approaches to the diagnosis and treatment of tamoxifen-induced endometrial conditions in patients with breast cancer. *Journal of obstetrics and women s diseases*. 2018; 67 (6): 69–78. Russian.
- Krauss K, Stickeler E. Endocrine therapy in early breast cancer. *Breast Care*. 2020; 15 (4): 337–46.
- Wijayabahu AT, Egan KM, Yaghjian L. Uterine cancer in breast cancer survivors: A systematic review. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2020; 180 (1): 1–9.
- Shakhlamova MN, Isaeva EA, Pankratov VV. Etiology and pathogenesis of hyperplastic processes of the endometrium in the postmenopause. *Vopr. ginekol. akus. perinatol. (Gynecology, Obstetrics and Perinatology)*. 2011; 10 (4): 76–84. Russian.
- Ferriss JS, Erickson BK, Shih IM, Fader AN. Uterine serous carcinoma: key advances and novel treatment approaches. *International Journal of Gynecologic Cancer*. 2021; 31 (8): 1165–74.
- Emons G, Mustea A, Tempfer C. Tamoxifen and endometrial cancer: A janus-headed drug. *Cancers*. 2020; 12 (9): 2535.
- Ignatov A, Ortmann O. Endocrine risk factors of endometrial cancer: polycystic ovary syndrome, oral contraceptives, infertility, tamoxifen. *Cancers*. 2020; 12 (7): 1766.
- Bergman L, Beelen ML, Gallee MP, Hollema H, Benraadt J, van Leeuwen FE. Risk and prognosis of endometrial cancer after tamoxifen for breast cancer. *Comprehensive Cancer Centres' ALERT Group. Assessment of Liver and Endometrial cancer Risk following Tamoxifen*. *Lancet*. 2000; 356 (9233): 881–7. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02677-5.
- Chlebowski R, Schottinger J, Shi J, Chung J, Haque, R. Aromatase inhibitor, tamoxifen and endometrial cancer in breast cancer survivors. *Cancer*. 2015; 121 (13): 2147–55. DOI: 10.1002/cncr.29332.
- Hoogendoorn WE, Hollema H, van Boven HH, Bergman E, de Leeuw-Mantel G, Platteel I, et al. Comprehensive Cancer Centers TAMARISK-group. Prognosis of uterine corpus cancer after tamoxifen treatment for breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2008; 112 (1): 99–108. DOI: 10.1007/s10549-007-9823-1.
- Vizzotto AO Jr, Nicolau SM, Lopes GM, Castelo Filho A. Risk factors for the development of endometrial lesions in breast cancer patients using tamoxifen: a retrospective cohort study. *Rev Col Bras Cir*. 2023; 50: e20233442. DOI: 10.1590/0100-6991e-20233442-en.
- Fleming CA, Heneghan HM, O'Brien D, McCartan DP, McDermott EW, Prichard RS. Meta-analysis of the cumulative risk of endometrial malignancy and systematic review of endometrial surveillance in extended tamoxifen therapy. *Journal of British Surgery*. 2018; 105 (9): 1098–106.
- Dottino JA, Zhang Q, Loose DS, Fellman B, Melendez BD, Borthwick MS, et al. Endometrial biomarkers in premenopausal women with obesity: an at-risk cohort. *Am J Obstet Gynecol*. 2021; 224 (3): 278.e1–278.e14. DOI: 10.1016/j.ajog.2020.08.053.
- Revankar CM, Bologa CG, Pepermans RA, Sharma G, Petrie WK, Alcon SN, et al. A selective ligand for estrogen receptor proteins discriminates rapid and genomic signaling. *Cell Chem Biol*. 2019; 26 (12): 1692–1702.e5. DOI: 10.1016/j.chembiol.2019.10.009.
- Dieudonné AS, et al. The rs1800716 variant in CYP2D6 is associated with an increased double endometrial thickness in postmenopausal women on tamoxifen. *Ann Oncol*. 2014; 25: 90–5.
- Okishiro M, Taguchi T, Jin Kim S, Shimazu K, Tamaki Y, Noguchi S. Genetic polymorphisms of CYP2D6 10 and CYP2C19 2, 3 are not associated with prognosis, endometrial thickness, or bone mineral density in Japanese breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen. *Cancer*. 2009; 115: 952–61.
- Bradford LD. CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. *Pharmacogenomics*. 2002; 3 (2): 229–43. DOI: 10.1517/14622416.3.2.229.
- Rak molochnoy zhelezy. *Klinicheskie rekomendatsii*. Ministerstvo zdravookhraneniya RF, 2021; p. 93. Russian.
- Maniatis T, Fritsch E, Sambrook J. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*. M.: Mir, 1984; p. 479.
- Saveleva GM, Sukhikh GT, Serov VN, Radzinskiy VE, editors. *Akusherstvo: natsional'noe rukovodstvo*. 2nd ed., revised and additional. M.: GEOTAR-Media, 2019; p. 1080. ISBN 978-5-9704-4916-5. Russian.
- Auclair MH, Yong PJ, Salvador S, Thurston J, Colgan TTJ, Sebastianelli A. Guideline No. 392-Classification and Management of Endometrial Hyperplasia. *J Obstet Gynaecol Can*. 2019; 41 (12): 1789–800. DOI: 10.1016/j.jogc.2019.03.025.
- Korchagina RP, Osipova LP, Vavilova NA, et al. Polymorphisms of the GSTM1, GSTT1, and CYP2D6 xenobiotic biotransformation genes, which are possible risk markers of cancer in populations of indigenous ethnic groups and Russians of North Siberia. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2012; 2: 7–17. DOI: 10.1134/S2079059712010091. Russian.
- Briest S, Stearns V. Tamoxifen metabolism and its effect on endocrine treatment of breast cancer. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2009; 7 (3): 185–92. PMID: 19398943.
- Goetz MP, Sangkuhl K, Guchelaar HJ, Schwab M, Province M, Whirl-Carrillo M, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2D6 and Tamoxifen Therapy. *Clin Pharmacol Ther*. 2018; 103 (5): 770–7. DOI: 10.1002/cpt.1007.
- Mulder TAM, de With M, Del Re M, Danesi R, Mathijssen RHJ, van Schaik RHN. Clinical CYP2D6 genotyping to personalize adjuvant tamoxifen treatment in ER-Positive breast cancer patients: current status of a controversy. *Cancers (Basel)*. 2021; 13 (4): 771. DOI: 10.3390/cancers13040771.
- Nardin JM, Schroth W, Almeida TA, Mürdter T, Piccolotto S, Vendramini ECL, et al. The influences of adherence to tamoxifen and CYP2D6 pharmacogenetics on plasma concentrations of the active metabolite (Z)-endoxifen in breast cancer. *Clin Transl Sci*. 2020; 13: 284–92. DOI: 10.1111/cts.12707.
- Güneli M, Erkisi M, Afşar CU, Erçolak V, Paydas S, Kara IO, et al. Evaluation of endometrial thickness and bone mineral density based on CYP2D6 polymorphisms in Turkish breast cancer patients receiving tamoxifen treatment. *Pharmacology*. 2014; 94 (3–4): 183–9. DOI: 10.1159/000363304.
- Dieudonné AS, Lambrechts D, Smeets D, Belmans A, Wildiers H, Paridaens R, et al. The rs1800716 variant in CYP2D6 is associated with an increased double endometrial thickness in postmenopausal women on tamoxifen. *Ann Oncol*. 2014; 25 (1): 90–5. DOI: 10.1093/annonc/mdt399.
- Okishiro M, Taguchi T, Jin Kim S, Shimazu K, Tamaki Y, Noguchi S. Genetic polymorphisms of CYP2D6 10 and CYP2C19 2, 3 are not associated with prognosis, endometrial thickness, or bone mineral density in Japanese breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen. *Cancer*. 2009; 115 (5): 952–61. DOI: 10.1002/cncr.24111.
- Marez D, Legrand M, Sabbagh N, Lo Guidice JM, Spire C, Lafitte JJ, et al. Polymorphism of the cytochrome P450 CYP2D6 gene in a European population: characterization of 48 mutations and 53 alleles, their frequencies and evolution. *Pharmacogenetics*. 1997; 7 (3): 193–202. DOI: 10.1097/00008571-199706000-00004.
- Hecht JL, Mutter GL. Molecular and pathologic aspects of endometrial carcinogenesis. *J Clin Oncol*. 2006; 24 (29): 4783–91. DOI: 10.1200/JCO.2006.06.7173.

ГЕНОГЕОГРАФИЯ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ДНК-МАРКЕРОВ CYP2C19 СУПЕРСЕМЕЙСТВА ЦИТОХРОМОВ В НАРОДОНАСЕЛЕНИИ РОССИИ И СОПРЕДЕЛЬНЫХ СТРАН

Е. В. Балановская¹✉, Ш. П. Абдулаев², И. О. Горин¹, Р. О. Белов¹, Е. А. Мукатдарова¹, В. Ю. Пылёв^{1,3}

¹ Медико-генетический научный центр имени Н. П. Бочкова, Москва, Россия

² Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, Москва, Россия

³ Биобанк Северной Евразии, Москва, Россия

Генетическое тестирование каждого пациента для выявления носительства фармакогенетических маркеров проблемно для системы здравоохранения. Но знание частоты встречаемости фармакогенетически важных генов позволяет принимать решение о терапии в зависимости от этнической принадлежности пациента. Одним из наиболее значимых является ген цитохрома *CYP2C19*, участвующий в биотрансформации широкого спектра лекарственных препаратов. Целью работы было выявить частоты встречаемости основных вариантов *CYP2C19* и паттерны их пространственной изменчивости в народонаселении России. На основе созданной коллективной базы данных «Фармакогенетика популяций России и сопредельных стран» получены частоты вариантов *CYP2C19* *1, *2, *3, *17 и частоты их генотипов: *1 — 53 популяции, $n = 2261$ образцов; *2 — 79 популяций, $n = 6346$; *3 — 92 популяции, $n = 7517$; *17 — 35 популяций, $n = 3313$. Создан картографический атлас, включающий карты частоты вариантов *1, *2, *3, *17, их корреляционные карты и карты частоты их генотипов. Представлены конкретные данные о частотах вариантов *CYP2C19* и их фармакогенетически значимых генотипах в основных этнических группах России. Картографический атлас дает прогноз частоты значимых вариантов *CYP2C19* и их генотипов для народов, информация о которых пока отсутствует. Геногеография *1 и *2 характеризуется схожим паттерном: совмещение долгого тренда роста частоты с запада на юго-восток и широтного роста частоты с севера на юг в азиатской части региона. Вариант *3 отличается четкостью долгого вектора роста частоты от 0 на западе до мирового максимума частоты в Приамурье. Вариант *17 имеет выразительный долготный тренд с противоположным вектором падения частоты с запада на юго-восток. Корреляционные карты указывают регионы, в которых нарушено сходство между основными паттернами.

Ключевые слова: фармакогенетика, *CYP2C19*, ДНК-маркеры, генофонд, геногеография, картографический атлас, Россия, Северная Евразия, популяции

Финансирование: РНФ №21-14-00363 (биоинформатический, статистический и картографический анализ) и Государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ для Медико-генетического научного центра имени академика Н. П. Бочкова (генеалогический анализ, интерпретация результатов).

Благодарности: авторы благодарят всех доноров образцов, принимавших участие в исследовании, и АНО «Биобанк Северной Евразии» за предоставление коллекций ДНК.

Вклад авторов: Е. В. Балановская — анализ данных, написание текста, руководство исследованием; Ш. П. Абдулаев — описание фармакогенетических маркеров; И. О. Горин — биоинформатический анализ; Р. О. Белов — оформление статьи; Е. А. Мукатдарова — работа с базой генеалогических данных; В. Ю. Пылёв — статистический анализ, картографический анализ.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени Н. П. Бочкова» (протокол № 1 от 29 июня 2020 г.); все участники подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Елена Владимировна Балановская
ул. Москворечье, д. 1, 115522, г. Москва, Россия balanovska@mail.ru

Статья получена: 18.09.2023 **Статья принята к печати:** 18.10.2023 **Опубликована онлайн:** 31.10.2023

DOI: 10.24075/vrgmu.2023.039

GENE GEOGRAPHY OF PHARMACOGENETICALLY SIGNIFICANT CYP2C19 CYTOCHROME SUPERFAMILY DNA MARKERS IN THE POPULATIONS OF RUSSIA AND NEIGHBORING COUNTRIES

Balanovska EV¹✉, Abdulaev ShP², Gorin IO¹, Belov RO¹, Mukatdarova EA¹, Pylev VYu^{1,3}

¹ Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia

² Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

³ Biobank of North Eurasia, Moscow, Russia

Genetic testing of each patient aimed at detecting the pharmacogenetic marker carrier state is challenging for healthcare system. However, knowledge about the frequencies of pharmacogenetically important genes enables making decisions about treatment based on the patient's ethnicity. The *CYP2C19* cytochrome gene involved in biotransformation of a broad spectrum of drugs is one of the most important. The study was aimed to determine the frequencies of major *CYP2C19* variants and the patterns of their spatial variability in the population of Russia. The database Pharmacogenetics of the Population of Russia and Neighboring Countries created by the research team was used to determine frequencies of the *CYP2C19* *1, *2, *3, *17 variants and their genotypes: *1 — 53 populations, $n = 2261$ samples; *2 — 79 populations, $n = 6346$; *3 — 92 populations, $n = 7517$; *17 — 35 populations, $n = 3313$. We have created a cartographic atlas that includes the *1, *2, *3, *17 frequency maps, correlation maps, and genotype frequency maps. Specific data on the frequencies of *CYP2C19* variants and their pharmacogenetically significant genotypes in the major ethnic groups of Russia are provided. The cartographic atlas enables prediction of frequencies of significant *CYP2C19* variants and their genotypes in the peoples, information about which is currently missing. The *1 and *2 variants gene geography is characterized by similar pattern: the combination of longitudinal trend of frequency increase from west to southeast and latitudinal variability of frequency increase from north to south in the Asian part of the region. Variant *3 is characterized by the clear longitudinal vector of frequency increase from 0 in the west to the world's maximum in the Amur region. Variant *17 shows a pronounced longitudinal trend with the oppositely directed vector of frequency decrease from west to southeast. The correlation maps indicate regions, where the similarity between core patterns is disrupted.

Keywords: pharmacogenetics, *CYP2C19*, DNA markers, gene pool, gene geography, cartographic atlas, Russia, North Eurasia, populations

Funding: the study was supported by the Russian Science Foundation grant № 21-14-00363 (bioinformatics, statistical and cartographic analysis), State Assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for the Research Centre for Medical Genetics (genealogical analysis, interpretation of the results).

Acknowledgements: the authors would like to thank all sample donors, who took part in the study, and Biobank of North Eurasia for access to DNA collections.

Author contribution: Balanovska EV — data analysis, manuscript writing, research management; Abdulaev ShP — descriptions of pharmacogenetic markers; Gorin IO — bioinformatics analysis; Belov RO — manuscript formatting; Mukatdarova EA — working with genealogical database; Pylev VYu — statistical analysis, cartographic analysis.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Research Centre for Medical Genetics (protocol № 1 of 29 June 2020); all subjects submitted the informed consent to study participation.

✉ **Correspondence should be addressed:** Elena V. Balanovska
Moskvorechye, 1, 115522, Moscow, Russia; balanovska@mail.ru

Received: 18.09.2023 **Accepted:** 18.10.2023 **Published online:** 31.10.2023

DOI: 10.24075/brsmu.2023.039

Эффективность и безопасность терапии с применением лекарственных препаратов (ЛП) во многом зависят от индивидуальных различий между пациентами. Это становится важной проблемой современной фармакотерапии, поскольку до 50% индивидуальной вариабельности фармакологического ответа может зависеть от генетического статуса организма. Выбор ЛП и подбор их доз с учетом молекулярно-генетических особенностей пациента составляют предмет изучения фармакогенетики [1, 2], цель которой — поиск эффективной и безопасной дозы ЛП для данного пациента [3].

Одним из фармакогенов, детально изученных с клинической точки зрения, является суперсемейство цитохромов CYP450, в котором ген CYP2C19 отличается высоким полиморфизмом. Фермент CYP2C19 участвует в биотрансформации широкого спектра ЛП, включая клопидогрел, омепразол, лансопразол, пропранолол, диазепам, имипрамин и некоторые другие антидепрессанты [4]. Показано, что CYP2C19*2 и CYP2C19*3 ассоциированы со снижением метаболической активности фермента [5], а CYP2C19*17 (rs12248560) — с ускоренным метаболизмом субстратов фермента [5]. Ярким примером ЛП с разработанными клиническими рекомендациями по коррекции схемы и дозы терапии является клопидогрел. У носителей «нормального» генотипа *1/*1 его применяют в дозах в соответствии с инструкцией. Генотипы *1/*2, *1/*3, *2/*17, *3/*17 отличаются меньшим снижением агрегации тромбоцитов, чем в норме, и более высокой остаточной агрегацией тромбоцитов, а также увеличением риска возникновения сердечно-сосудистых событий. При накоплении в генотипе «медленных» аллелей (*2/*2, *2/*3, *3/*3) обнаруживается низкая эффективность клопидогрела и высокая остаточная реактивность тромбоцитов. Для группы «ультрабыстрых» метаболизаторов (*1/*17, *17/*17) характерно усиление антиагрегантной активности и снижение остаточной агрегации тромбоцитов, что может быть связано с риском развития кровотечений [5]. Частота носительства разных SNP-маркеров CYP2C19 и ассоциированная с ними резистентность к клопидогрелу носит ярко выраженную этнорасовую гетерогенность [6]: CYP2C19*2 встречается у 15% европеоидов, у 17% негроидов и значительно чаще у монголоидов Восточной Азии (31%). Противоположный тренд выявлен для CYP2C19*17: он широко распространен у европеоидов (22%) и редок (1,5%) у монголоидов Восточной Азии [6]. Вариант CYP2C19*3 редок — в среднем 1,4% в мировой популяции [6]. В русских популяциях CYP2C19*2 составляет около 11%, CYP2C19*3 — 0,34%, CYP2C19*17 — 27% [7].

Принципы прецизионной, превентивной и персонализированной медицины предполагают использование генетической информации при принятии клинических решений. Однако широкое применение фармакогенетического тестирования (ФГТ) в клинической практике имеет ряд ограничений. ФГТ все еще остается недоступной опцией в регионах с недостаточным финансированием системы здравоохранения. Немаловажную роль играет и время получения результатов ФГТ, что может быть актуально при оказании неотложной медицинской помощи [8].

Один из путей решения проблемы дает популяционная геногеография, выявляющая закономерности в распространении биомаркеров фармакогенетики [9–13]. Ее данные могут играть важную роль при принятии клинических решений в такой многонациональной стране, как Россия. Поэтому в России изучение

частоты носительства полиморфных генов является неотъемлемым условием развития и имплементации принципов персонализированной медицины. Изучение и выявление паттернов распределения значимых фармакогенетических маркеров среди населения России позволяют выделить этнические группы и регионы, где проведение ФГТ широкому контингенту пациентов может быть клинически и клинико-экономически выгодным решением: в таких регионах решение о необходимости ФГТ для персонализации терапии может быть принято в зависимости от этнической принадлежности пациента.

Цель данной работы — определить частоты встречаемости в народонаселении России основных ДНК-маркеров суперсемейства цитохромов CYP2C19 (*1, *2, *3, *17) и выявить тренды в их геногеографической изменчивости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе проанализированы частоты вариантов CYP2C19*1, CYP2C19*2, CYP2C19*3, CYP2C19*17 (далее обозначаемых как *1, *2, *3, *17) и их генотипов в коренном народонаселении Северной Евразии и других регионов. Эти четыре варианта (*1, *2, *3, *17) относятся к разным SNP-маркерам гена CYP2C19 и не являются аллелями одного SNP, их частоты рассчитаны с помощью программного обеспечения PLINK 1.9 [14] и Python 3. Вариант *1 является суммой 11 SNP «нормальных» вариантов. Из них в базах данных с репрезентативными частотами присутствовали 7 SNP, и частота *1 рассчитана как квадратный корень из суммы частот семи гомозигот. Частоты генотипов рассчитаны по частотам вариантов *1, *2, *3, *17, исходя из равновесия Харди–Вайнберга.

Для анализа использовали созданную коллективом базу данных «Фармакогенетика популяций России и сопредельных стран» и базу данных GG-base (популяции мира) [15], организованные в соответствии с [16] и изученные по различным панелям SNP-маркеров [9–13]. Популяции с выборкой $n < 25$ образцов включены в соответствии с общностью их этногенеза или региона. Данные по народам Кавказа в масштабе Северной Евразии представлены четырьмя субрегиональными выборками. Суммарные выборки для SNP-вариантов гена CYP2C19 составили: *1 — $n = 2261$ образец; *2 — $n = 6346$; *3 — $n = 7517$; *17 — $n = 3313$. Результаты представлены в табличном виде (частоты SNP-вариантов и их генотипов в 53 метапопуляциях 13 регионов мира), и в виде геногеографического атласа, включающего карты пространственной изменчивости частот SNP-маркеров, их генотипов и корреляционные карты, показывающие связь между географической изменчивостью частот всех SNP-маркеров. Приводятся следующие показатели изменчивости SNP-вариантов: q — частота варианта или генотипа; \bar{q} — средняя частота; G_{ST} — межпопуляционные различия по данному варианту (G_{ST} является аналогом F_{ST} для двуаллельных случаев); H_s — уровень гетерозиготности.

Геногеографические карты CYP2C19 построены с помощью программного обеспечения GeneGeo [17] методом средневзвешенной интерполяции со второй степенью весовой функции, радиусом влияния 1500 км для Северной Евразии и 5000 км для мира. В таблицах каждой популяции присвоен номер, который указан на картах, что позволяет четко идентифицировать и различать все изучаемые

популяции на картах. Для метапопуляций значение частоты признака проецировалось на все географические координаты входящих локальных популяций. Карты частот генотипов рассчитаны для каждого узла карты по значениям частоты в каждом узле на картах вариантов *1, *2*, *3, *17 в соответствии с равновесием Харди–Вайнберга. В специальном окне легенды каждой карты указаны ее статистические показатели: K — число исходных популяций для построения карты; \min — минимальная частота признака; \max — максимальная частота признака; avg — средняя частота признака; G_{ST} — межпопуляционные различия по данному признаку; H_{S} — уровень гетерозиготности.

Корреляционные карты созданы методом плывущего окна размером 1100 км с применением рангового коэффициента Кэндалла. Показатель корреляции двух признаков рассчитывался для всех узлов, попадающих в заданное окно, и присваивался центральному узлу. Затем это окно сдвигалось на один узел и расчет повторялся. Таким образом проведен расчет значений корреляции для всех узлов сетчатой цифровой модели карты (81 259 узлов), на которой строится визуальное отображение корреляционных паттернов.

Ограничения исследования

Определенные ограничения исследования связаны с небольшой выборкой исследованных биообразцов в некоторых популяциях (объемы выборок указаны в табл. 1, 2).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Геногеография *CYP2C19*1* (рис. 1; табл. 1, 2)

Знание геногеографии «нормального» варианта *1 (рис. 1) полезно для выявления закономерностей в изменчивости генотипов, важных для фармакотерапии.

Основной долготный тренд — увеличение частоты *1 с запада на юго-восток — сочетается с широтной изменчивостью в азиатской части региона. Средняя частота *1 ($\bar{q} = 0,58$) намного выше, чем у вариантов *2, *3, *17 ($0,04 < \bar{q} < 0,15$). Поэтому для сопоставимости всех карт (рис. 1–4) для варианта *1 использован общий для всех карт интервал частоты (0,125), но в ином ее диапазоне ($0,41 < q < 0,75$).

Долготный тренд падения частоты с запада на юго-восток сопровождается многими нарушениями. Низкие частоты ($q < 0,44$) сосредоточены не на западе региона, а в полосе, тянущейся от русских Вологодской и Костромской областей к народам Волго-Уральского региона, далее к южным русским популяциям и затем к народам Центрального и Восточного Кавказа. Второй центр низких частот обнаруживается на севере Дальнего Востока ($0,37 < q < 0,45$). Но при движении от него к югу частота резко возрастает до максимальных значений ($0,70 < q < 0,78$) у эвенков Охотского побережья и народов Амура. Народы Сибири отличаются большим генетическим разнообразием *1: в Восточной Сибири (якуты) и на юге Западной Сибири (сибирские татары) преобладают высокие частоты ($0,61 < q < 0,66$), которые снижаются ($0,52 < q < 0,56$) на севере Западной Сибири и в Южной Сибири.

Сочетание долготной и широтной изменчивости *1 еще ярче проявляется на карте «нормального» гомозиготного генотипа *1/*1 (рис. 1Б) и «медленной» гетерозиготы *1/*2 (рис. 1В). Для «ультрабыстрой» гетерозиготы *1/*17 (рис. 1Д),

связанной с риском развития кровотечений, характерен очень четкий, но противоположный вектор: падение частоты с запада ($q = 0,40$) на восток ($q = 0$).

Геногеография *CYP2C19*2* (рис. 2; табл. 1, 2)

Геногеографическая изменчивость варианта *2 сходна с *1. При значительно меньших частотах ($0 < q < 0,43$, $\bar{q} = 0,15$; рис. 2А) вновь обнаруживается наложение двух трендов. Основной тренд вновь долготный с повышением частоты *2 с запада на юго-восток, где основной максимум приходится на Центральную Азию ($0,20 < q < 0,31$) с всплеском частоты в Приамурье ($q = 0,43$). Широтный тренд проявляется в Сибири: увеличение частоты *2 с севера к Центральной Азии. Оба тренда изобилуют нарушениями.

В европейской части анализируемого ареала на северо-западе обнаруживается дополнительный максимум частоты *2 ($0,19 < q < 0,24$) у вепсов, саамов, северных карел, финнов-ингерманландцев. Частоты выше средней ($0,17 < q < 0,18$) обнаруживаются и у народов, говорящих на индоевропейских языках: на Русском Севере и на западе европейской части региона (Балканы, Белоруссия, запад России, Молдавия, Украина).

В русских популяциях частота *2 меняется в широком диапазоне ($0,02 < q < 0,18$, $\bar{q} = 0,12$). В Приуралье при $\bar{q} = 0,11$ она варьирует в более узких пределах ($0,06 < q < 0,15$). В Зауралье у обских угров обнаружены неожиданно большие различия между хантами ($q = 0,05$) и манси ($q = 0,18$). На Северном Кавказе частоты *2 варьируют в очень широком диапазоне: от $q = 0,08$ в Дагестане до $q = 0,19$ у чеченцев и ингушей. Вполне ожидаемое повышение частоты у калмыков ($q = 0,26$) обусловлено сохранением у них генетической памяти о центральноазиатской прародине.

В азиатской части региона тренд становится широтным: частота возрастает при движении с севера на юг. Ареал популяций с низкими значениями частоты огромен — от хантов на западе ($q = 0,05$) до Камчатки ($q = 0,07$) и Чукотки ($q = 0$) на востоке. На юг он простирается до Южной Сибири ($q = 0,05$) и Прибайкалья ($q = 0,06$). Повышение частоты отмечено у бурят и якутов ($q = 0,16$). Центральноазиатский максимум на западе охватывает дунган, киргизов и уйгуров ($q = 0,25$), монголов, северных алтайцев и шорцев ($q = 0,22$), сибирских татар и узбеков ($q = 0,20$). В Приамурье у нанайцев, орочей и эвенков частота *2 ниже ($0,18 < q < 0,19$), но дает неожиданно резкий всплеск в объединенной популяции наиболее древних народов Дальнего Востока — негидальцев, нивхов и ульчей ($q = 0,43$).

Геногеография фармакогенетически значимых генотипов *2/*2 (рис. 2Б) и *2/*3 (рис. 2Г) однообразна. Гомозигота, меняясь в широких пределах ($0 < q < 0,19$), распространена по всему региону с низкой частотой ($\bar{q} = 0,03$), незначительно возрастая к Центральной Азии и достигая максимума на Дальнем Востоке. Гетерозигота *2/*3 практически отсутствует в Европе, на Урале и в Западной Сибири, достигая невысоких частот ($q = 0,07$) в Монголии и в Приамурье.

Геногеография *CYP2C19*3* (рис. 3; табл. 1, 2)

Пространственная изменчивость варианта *3 отличается от предыдущих намного более ярко выраженным трендом (рис. 3А). Поэтому уровень межпопуляционных различий у них такой же ($G_{\text{ST}} = 0,02$), несмотря на огромные различия как в показателях гетерозиготности вариантов *3 ($H_{\text{S}} = 0,04$)

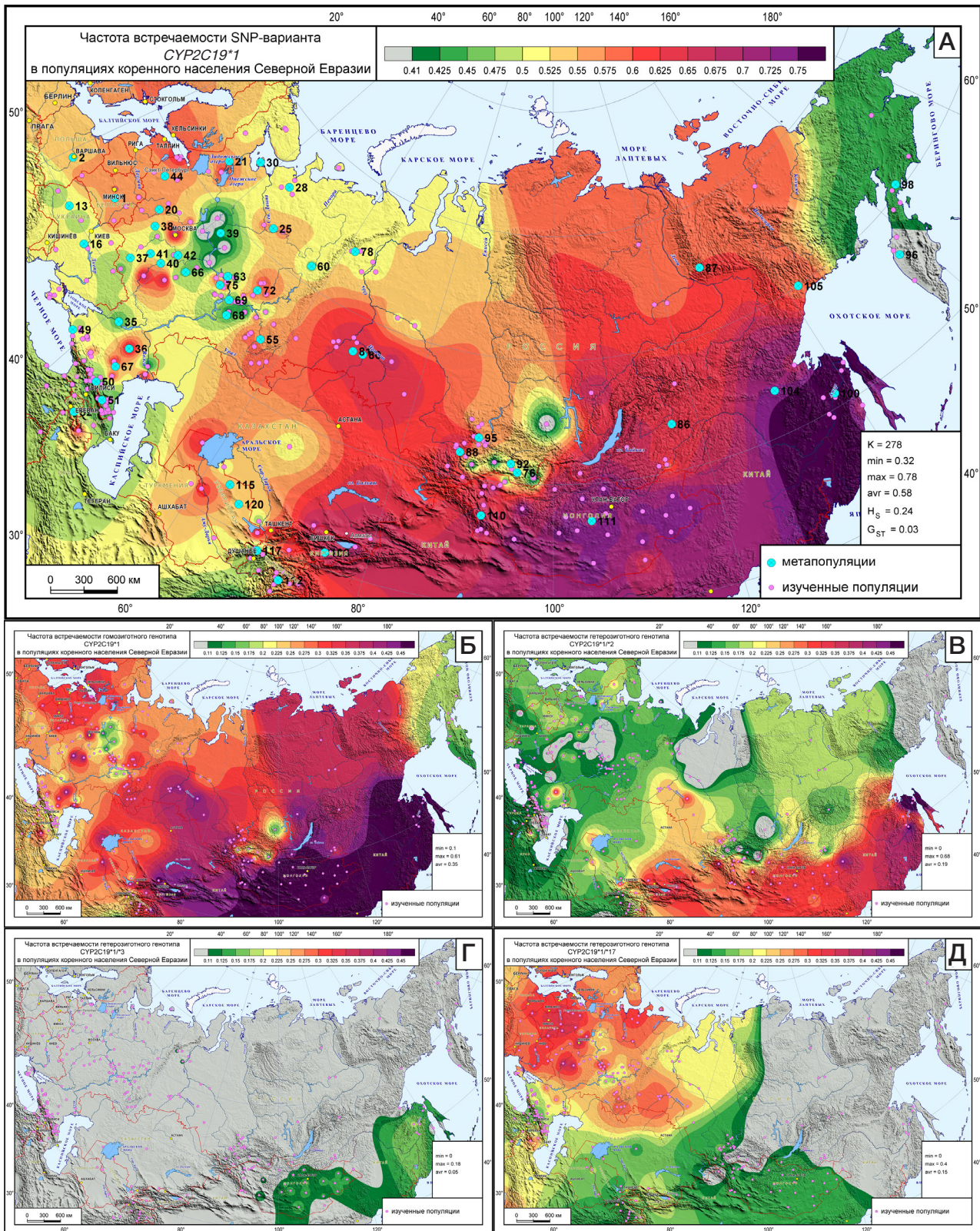


Рис. 1. Пространственная изменчивость *CYP2C19*1* в коренном народонаселении России и сопредельных стран. А. Геногеография частоты SNP-варианта *CYP2C19*1*. Б. Геногеография частоты генотипа *1/*1. В. Геногеография частоты генотипа *1/*2. Г. Геногеография частоты генотипа *1/*3. Д. Геногеография частоты генотипа *1/*17

и *2 ($H_s = 0,13$), так и в размахе их частот (для *3 — $0 < q < 0,1$; для *2 — $0 < q < 0,4$).

При этом максимальные частоты *3 вновь сосредоточены на юго-востоке региона ($0,08 < q < 0,12$) в Забайкалье, у монголов-халха и в Приамурье. Некоторое повышение частоты проявляется у охотских эвенков и

чукчей ($q = 0,06$), продолжаясь на запад до ряда народов Южной Сибири ($0,06 < q < 0,07$) и Центральной Азии ($0,05 < q < 0,06$). Исключением из этой закономерности является резкое повышение частоты у манси ($q = 0,12$).

В европейской части региона вариант *3 или отсутствует, или крайне редок. В славянских популяциях

Таблица 1. Частоты SNP-вариантов CYP2C19*1, *2, *3, 17 в коренном народонаселении России и мира

Регион	Номер на карте	Популяция	CYP2C19*1		CYP2C19*2		CYP2C19*3		CYP2C19*17	
			-		rs4244285		rs4986893		rs12248560	
			n	Частота	n	Частота	n	Частота	n	Частота
ЕВРОПА ЗАРУБЕЖНАЯ	1	Белорусы	33	0,577	50	0,170	50	0,020	19	0,290
	2	Восточная Европа (гагаузы, литовцы, македонцы)	21	0,535	-	-	-	-	-	-
	3	Народы Балкан северные (венгры, румыны, словенцы)	-	-	-	-	51	0	-	-
	4	Народы Балкан центральные (боснийцы, косовары, сербы, хорваты, черногорцы)	-	-	-	-	80	0,013	-	-
	5	Народы Балкан южные (болгары, греки, македонцы)	-	-	70	0,171	129	0	-	-
	6	Народы Европы	-	-	503	0,145	503	0	-	-
	7	Народы Молдавии (гагаузы, молдаване)	-	-	20	0,175	20	0	-	-
	8	Народы Северной Европы (латыши, литовцы, шведы)	-	-	-	-	34	0	-	-
	9	Народы Центральной Европы (немцы, поляки, словаки)	-	-	-	-	45	0	-	-
	10	Народы Южной Европы (испанцы, итальянцы)	-	-	-	-	36	0	-	-
	11	Народы Южной Европы (македонцы)	-	-	-	-	-	-	49	0,153
	12	Украинцы (восточные)	-	-	-	-	-	-	64	0,320
	13	Украинцы (западные)	31	0,475	58	0,103	58	0	-	-
	14	Украинцы (западные, центральные)	-	-	-	-	-	-	37	0,284
	15	Украинцы (северо-восточные)	-	-	65	0,154	70	0,043	-	-
	16	Украинцы (центральные, восточные)	47	0,505	-	-	-	-	-	-
	17	Украинцы (центральные, юго-восточные)	-	-	70	0,114	72	0	-	-
СЕВЕР ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ	18	Вепсы	-	-	37	0,189	38	0,013	-	-
	19	Водь, ижора	-	-	46	0,141	47	0	-	-
	20	Западные финноязычные народы (вепсы, водь, ижора, финны-ингерманландцы)	32	0,612	-	-	-	-	70	0,236
	21	Карелы (северные, тверские, южные)	26	0,519	-	-	-	-	103	0,238
	22	Карелы (тверские)	-	-	78	0,108	78	0	-	-
	23	Карелы (северные), саамы	-	-	20	0,200	21	0	-	-
	24	Карелы (южные)	-	-	50	0,100	53	0	-	-
	25	Русские Архангельской области (Красноборский, Ленский районы)	29	0,557	-	-	-	-	-	-
	26	Русские Архангельской области (Красноборский район)	-	-	57	0,114	57	0	-	-
	27	Русские Архангельской области (Лешуконский, Мезенский районы)	-	-	31	0,177	34	0	-	-
	28	Русские Архангельской области (Лешуконский, Пинежский, Мезенский районы)	36	0,500	-	-	-	-	-	-
	29	Русские Архангельской области (Пинежский район)	-	-	65	0,115	65	0	-	-
	30	Русские Архангельской области (поморы Зимнего, Летнего, Онежского берегов)	27	0,544	52	0,183	55	0,027	-	-
	31	Русские северные (Архангельская, Костромская области)	-	-	-	-	-	-	46	0,272
	32	Русские северные (Пинежский район Архангельской области)	-	-	-	-	-	-	45	0,322
	33	Русские северные (поморы, Мезенский, Лешуконский районы Архангельской области)	-	-	-	-	-	-	40	0,300
	34	Финны-ингерманландцы	-	-	29	0,207	33	0	-	-
ЦЕНТР И ЮГ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ	35	Казаки (донские, кубанские, некрасовские, терские)	37	0,435	59	0,085	59	0	-	-
	36	Калмыки	36	0,667	36	0,264	36	0,028	-	-
	37	Русские Белгородской, Курской, Орловской областей	28	0,500	59	0,093	59	0,008	-	-
	38	Русские Брянской, Смоленской, Тверской областей	42	0,577	62	0,177	62	0	-	-
	39	Русские Вологодской, Костромской областей	35	0,378	53	0,075	54	0	-	-

	40	Русские Воронежской, Тамбовской областей	24	0,677	42	0,143	42	0	-	-
	41	Русские Калужской, Рязанской областей	32	0,468	47	0,096	47	0	-	-
	42	Русские Нижегородской, Ярославской областей	29	0,322	-	-	-	-	-	-
	43	Русские Нижегородской области	-	-	28	0,018	28	0	-	-
	44	Русские Новгородской, Псковской областей	43	0,550	71	0,127	72	0	-	-
	45	Русские Ярославской области	-	-	68	0,132	68	0,015	-	-
	46	Русские северо-запада (Новгородская, Псковская области)	-	-	-	-	-	-	34	0,309
	47	Русские центральные (Нижегородская, Смоленская, Тверская, Ярославская области)	-	-	-	-	-	-	59	0,314
	48	Русские южные (Белгородская, Воронежская, Калужская, Курская, Орловская, Рязанская, Тамбовская области)	-	-	-	-	-	-	70	0,293
СЕВЕРНЫЙ КАВКАЗ, КРЫМ, ЗАКАВКАЗЬЕ	49	Западный Кавказ и Крым (Адыгея, Кабардино-Балкария, Карачаево-Черкесия, народы Крыма)	107	0,502	390	0,112	390	0,001	264	0,178
	50	Центральный Кавказ (Осетия, Ингушетия, Чечня)	78	0,464	328	0,136	328	0,020	244	0,158
	51	Восточный Кавказ (Дагестан)	129	0,452	655	0,079	1003	0,004	648	0,201
	52	Закавказье (Азербайджан, Армения, Грузия)	123	0,494	181	0,124	202	0,007	45	0,300
ВОЛГО-УРАЛЬСКИЙ РЕГИОН	53	Башкиры (северные, западные)	-	-	63	0,127	63	0,016	-	-
	54	Башкиры (юго-восточные)	-	-	37	0,135	37	0,014	-	-
	55	Башкиры (суммарно)	44	0,584	-	-	-	-	52	0,240
	56	Коми-пермяки (северные)	-	-	76	0,145	80	0,006	-	-
	57	Коми-пермяки (юго-восточные)	-	-	80	0,144	81	0	-	-
	58	Коми-пермяки (юго-западные)	-	-	51	0,137	51	0	-	-
	59	Коми-пермяки (суммарно)	-	-	-	-	-	-	141	0,252
	60	Коми (коми-пермяки, коми-зыряне)	49	0,495	-	-	-	-	-	-
	61	Марийцы (горные)	-	-	52	0,106	52	0,038	-	-
	62	Марийцы (луговые)	-	-	76	0,059	77	0,006	-	-
	63	Марийцы (суммарно)	31	0,440	-	-	-	-	83	0,313
	64	Народы Мордовии (мокша, шоқша)	-	-	72	0,125	72	0	-	-
	65	Народы Мордовии (эрзя)	-	-	86	0,099	90	0	-	-
	66	Народы Мордовии (суммарно)	56	0,463	-	-	-	-	-	-
	67	Ногайцы (астраханские, кубанские, ставропольские, караногайцы)	34	0,642	34	0,1912	35	0,043	-	-
	68	Татары Поволжья (казанские, астраханские)	26	0,392	83	0,157	84	0,054	-	-
	69	Татары Поволжья (мишари, кряшены)	29	0,455	79	0,127	79	0,006	-	-
	70	Татары Поволжья (казанские, кряшены, мишари)	-	-	-	-	-	-	95	0,221
	71	Удмурты	-	-	-	-	-	-	47	0,170
	72	Удмурты, бесермяне	51	0,594	112	0,121	113	0,018	-	-
73	Чуваши (анат енчи)	-	-	79	0,089	79	0,006	-	-	
74	Чуваши (анатри, вирьял)	-	-	55	0,109	55	0	-	-	
75	Чуваши (суммарно)	34	0,594	-	-	-	-	89	0,281	
ЗАПАДНАЯ И СРЕДНЯЯ СИБИРЬ	76	Буряты (Бурятии, Забайкальского края, Иркутской области)	32	0,661	41	0,171	41	0,061	-	-
	77	Манси	-	-	40	0,180	40	0,125	-	-
	78	Народы Западной Сибири (манси, ненцы, ханты)	59	0,521	-	-	-	-	-	-
	79	Ненцы	-	-	21	0,119	21	0	-	-
	80	Татары сибирские (барабинские, тобольские, заболотные)	48	0,661	49	0,235	49	0,051	-	-
	81	Татары сибирские (тюменско-туринские)	35	0,609	45	0,144	45	0,033	-	-
	82	Угры (манси, ханты)	-	-	-	-	-	-	40	0,200
	83	Ханты	-	-	56	0,054	56	0,009	-	-
	84	Чукчи	-	-	35	0	35	0,057	15	0,033
	85	Эвенки (байкальские)	-	-	-	-	-	-	29	0,052
	86	Эвенки (байкальские), хамнигане	25	0,566	50	0,060	51	0,088	-	-
87	Якуты	39	0,599	41	0,159	41	0,037	-	-	

ЮЖНАЯ СИБИРЬ	88	Алтайцы, шорцы	56	0,655	-	-	-	-	50	0,120
	89	Алтайцы северные, шорцы	-	-	59	0,220	59	0,068	-	-
	90	Алтайцы южные	-	-	48	0,156	48	0,042	-	-
	91	Тофалары	-	-	29	0,052	29	0	-	-
	92	Тувинцы, тофалары	62	0,381	-	-	-	-	53	0,075
	93	Тувинцы (северные)	-	-	43	0,047	43	0,047	-	-
	94	Тувинцы (центральные, южные)	-	-	41	0,049	41	0,024	-	-
	95	Хакасы	32	0,559	32	0,141	32	0,063	-	-
ДАЛЬНИЙ ВОСТОК	96	Ительмены	29	0,371	29	0,069	29	0	-	-
	97	Коряки	-	-	60	0,075	60	0,042	-	-
	98	Коряки, чукчи	35	0,447	-	-	-	-	-	-
	99	Нанайцы	-	-	73	0,185	74	0,115	47	0
	100	Народы Амура (нанайцы, нивхи, ульчи, негидальцы)	49	0,782	-	-	-	-	-	-
	101	Народы Амура (нивхи, ульчи, негидальцы)	-	-	30	0,433	30	0,083	-	-
	102	Народы Камчатки	-	-	-	-	-	-	36	0,028
	103	Эвенки, эвены (охотские)	-	-	-	-	-	-	25	0
	104	Эвенки (охотские), орочи	25	0,693	34	0,177	35	0,057	-	-
	105	Эвены (охотские, камчатские)	31	0,596	58	0,112	58	0,078	-	-
ЦЕНТРАЛЬНАЯ И ВОСТОЧНАЯ АЗИЯ	106	Дунгане, уйгуры	-	-	34	0,250	34	0,059	-	-
	107	Казахи	-	-	55	0,164	55	0,045	46	0,141
	108	Киргизы	43	0,682	51	0,245	51	0,049	-	-
	109	Народы Восточной Азии	-	-	504	0,312	504	0,056	504	0,015
	110	Народы Монголии (не халха)	70	0,655	94	0,218	94	0,032	-	-
	111	Народы Монголии (халха)	58	0,731	67	0,224	68	0,088	-	-
	112	Народы Памира (ваханцы, ринцы, горанцы, шугнанцы, рушанцы, бартангцы, ванчцы, шахдаринцы, язгулямцы)	30	0,548	-	-	-	-	45	0,133
	113	Народы Памира (северные)	-	-	44	0,159	44	0	-	-
	114	Народы Памира (южные)	-	-	33	0,106	33	0	-	-
	115	Народы Средней Азии (казахи, каракалпаки, туркмены)	30	0,516	-	-	-	-	-	-
	116	Народы Средней Азии (каракалпаки, киргизы, таджики, узбеки)	-	-	-	-	-	-	24	0,146
	117	Народы Таджикистана (таджики, ягнобцы)	41	0,469	50	0,140	50	0	-	-
	118	Народы Центральной Азии (дунгане, монголы, уйгуры)	-	-	-	-	-	-	55	0,100
	119	Туркмены, каракалпаки	-	-	30	0,133	30	0,033	-	-
120	Узбеки	38	0,628	40	0,200	40	0,038	-	-	
ЮЖНАЯ АЗИЯ	121	Народы Южной Азии (паниа, пуштуны, сакилли, северные каннади, хазарейцы)	-	-	-	-	26	0	-	-
	122	Народы Южной Азии (ладакх, тибетцы, фарси)	15	0,365	15	0,067	15	0	-	-
ЗАПАДНАЯ АЗИЯ	123	Арабы	-	-	-	-	50	0	-	-
	124	Еврей-ашкенази	-	-	-	-	29	0	-	-
	125	Евреи	-	-	-	-	176	0,003	-	-
	126	Народы Анатолии, Леванта	-	-	-	-	55	0	-	-
АФРИКА	127	Народы Африки	-	-	-	-	41	0	-	-
АМЕРИКА	128	Народы Америки	-	-	-	-	39	0	-	-
	129	Народы Гренландии	-	-	-	-	39	0	-	-

заметная частота обнаружена только у белорусов, русских Архангельской области ($q = 0,03$), русских Ярославской области, а также на Центральном Кавказе ($q = 0,02$).

Геногеография фармакогенетически значимых генотипов рассмотрена в других разделах (для *2/*3 см. рис. 2Г; для 3/*17 см. рис. 4Г).

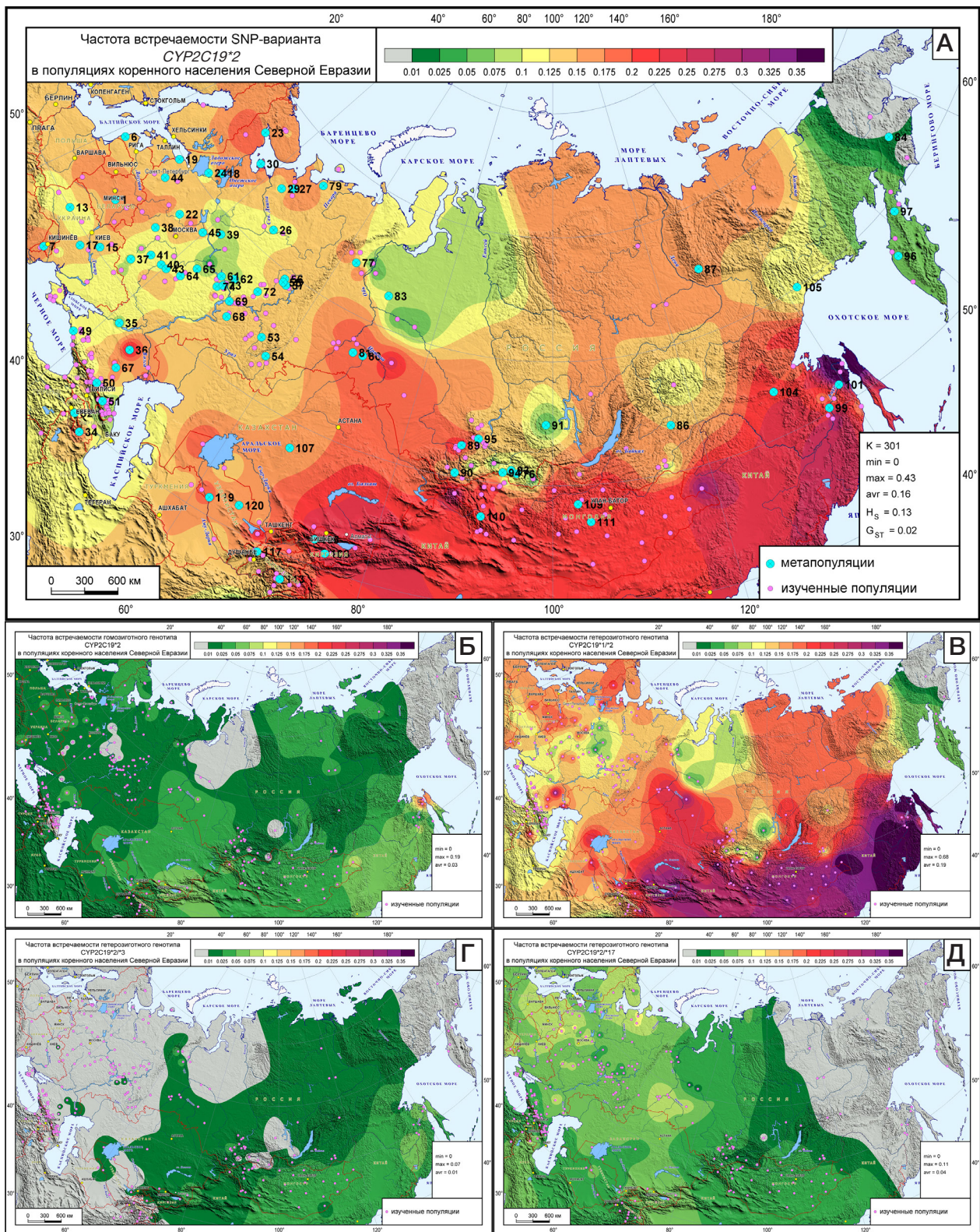


Рис. 2. Пространственная изменчивость *CYP2C19*2* в коренном народонаселении России и сопредельных стран. **А.** Геногеография частоты SNP-варианта *CYP2C19*2*. **Б.** Геногеография частоты генотипа **2/*2*. **В.** Геногеография частоты генотипа **2/*1*. **Г.** Геногеография частоты генотипа **2/*3*. **Д.** Геногеография частоты генотипа **2/*17*

В целом для варианта **3* характерно постепенное возрастание частоты от нулевых значений на западе Северной Евразии до небольшой частоты ($q = 0,12$) на востоке и юго-востоке региона. Однако эти невысокие частоты оказываются максимальными в мировом масштабе (рис. 5А): высокие мировые частоты сосредоточены в Восточной Азии с максимумом в Приамурье.

Геногеография *CYP2C19*17* (рис. 4; табл. 1, 2).

Тренд изменчивости варианта **17* выражен намного ярче и противоположен по направлению вектора: закономерное падение частоты от максимальных значений ($q = 0,32$) на западе Северной Евразии до нулевой частоты на востоке и юго-востоке региона. Столь четкая изменчивость даже

Таблица 2. Частоты генотипов CYP2C19 в коренном народонаселении России и мира

Регион	Популяция	Генотип CYP2C19																			
		*1/*1		*1/*2		*1/*3		*1/*17		*2/*2		*2/*3		*2/*17		*3/*3		*3/*17		*17/*17	
		n	Ча- стота	n	Ча- стота	n	Ча- стота	n	Ча- стота	n	Ча- стота	n	Ча- стота	n	Ча- стота	n	Ча- стота	n	Ча- стота	n	Ча- стота
ЕВРОПА ЗАРУБЕЖНАЯ	Белорусы	33	0,333	33	0,196	33	0,023	19	0,334	50	0,029	50	0,007	19	0,098	50	0	19	0,012	19	0,084
	Восточная Европа	21	0,286	21	0,184	21	0	21	0,164	90	0,030	90	0	49	0,053	149	0	49	0	49	0,023
	Народы Балкан северные	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51	0	-	-	-	-
	Народы Балкан центральные	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	80	0	-	-	-	-
	Народы Европы (суммарно)	-	-	-	-	-	-	-	-	503	0,021	503	0	-	-	503	0	-	-	-	-
	Народы Северной Европы	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	34	0	-	-	-	-
	Народы Центральной Европы	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	45	0	-	-	-	-
	Народы Южной Европы	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	36	0	-	-	-	-
Украинцы	78	0,243	78	0,123	78	0,015	78	0,303	193	0,015	193	0,004	101	0,076	200	0	101	0,009	101	0,094	
СЕВЕР ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ	Западные финноязычные народы	32	0,375	32	0,213	32	0,005	32	0,268	112	0,030	112	0,001	70	0,082	118	0	70	0,002	70	0,056
	Карелы, саамы	26	0,269	26	0,122	26	0	26	0,247	148	0,014	148	0	103	0,056	152	0	103	0	103	0,057
	Русские северные	92	0,282	92	0,150	92	0,008	92	0,316	205	0,020	205	0,002	131	0,084	211	0	131	0,004	131	0,089
ЦЕНТР И ЮГ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ	Казачи	37	0,189	37	0,074	37	0	-	-	59	0,007	59	0	-	-	59	0	-	-	-	-
	Калмыки	36	0,445	36	0,352	36	0,037	-	-	36	0,070	36	0,015	-	-	36	0,001	-	-	-	-
	Русские северо-восточные	35	0,143	35	0,057	35	0	-	-	53	0,006	53	0	-	-	54	0	-	-	-	-
	Русские северо-западные	43	0,303	43	0,139	43	0	34	0,340	71	0,016	71	0	34	0,078	72	0	34	0	34	0,095
	Русские центральные	71	0,224	71	0,123	71	0,006	59	0,297	158	0,017	158	0,002	59	0,081	158	0	59	0,004	59	0,098
	Русские южные	84	0,290	84	0,116	84	0,004	70	0,315	148	0,012	148	0,001	70	0,063	148	0	70	0,002	70	0,086
СЕВЕРНЫЙ КАВКАЗ, КРЫМ, ЗАКАВКАЗЬЕ	Западный Кавказ и Крым	107	0,252	107	0,112	107	0,001	107	0,179	390	0,012	390	0	264	0,040	390	0	264	0	264	0,032
	Центральный Кавказ	78	0,215	78	0,126	78	0,018	78	0,146	328	0,018	328	0,005	244	0,043	328	0	244	0,006	244	0,025
	Восточный Кавказ	129	0,204	129	0,072	129	0,004	129	0,181	655	0,006	655	0,001	648	0,032	1003	0	648	0,002	648	0,040
	Закавказье	123	0,244	123	0,123	123	0,007	45	0,296	181	0,015	181	0,002	45	0,075	202	0	45	0,004	45	0,090
ВОЛГО- УРАЛЬСКИЙ РЕГИОН	Башкиры	44	0,341	44	0,152	44	0,018	44	0,281	100	0,017	100	0,004	52	0,063	100	0	52	0,007	52	0,058
	Коми	49	0,245	49	0,141	49	0,002	49	0,249	207	0,020	207	0,001	141	0,072	212	0	141	0,001	141	0,063
	Марийцы	31	0,194	31	0,069	31	0,017	31	0,276	128	0,006	128	0,003	83	0,049	129	0	83	0,012	83	0,098
	Народы Мордовии	56	0,214	56	0,103	56	0	-	-	158	0,012	158	0	-	-	162	0	-	-	-	-
	Ногайцы	34	0,412	34	0,246	34	0,055	-	-	34	0,037	34	0,016	-	-	35	0,002	-	-	-	-
	Татары Поволжья	55	0,181	55	0,121	55	0,026	55	0,188	162	0,020	162	0,009	95	0,063	163	0,001	95	0,014	95	0,049
	Удмурты, бесермяне	51	0,353	51	0,143	51	0,021	47	0,202	112	0,015	112	0,004	47	0,041	113	0	47	0,006	47	0,029
	Чуваши	34	0,353	34	0,115	34	0,004	34	0,334	134	0,009	134	0,001	89	0,055	134	0	89	0,002	89	0,079
ЗАПАДНАЯ И СРЕДНЯЯ СИБИРЬ	Буряты	32	0,437	32	0,226	32	0,081	-	-	41	0,029	41	0,021	-	-	41	0,004	-	-	-	-
	Народы севера Западной Сибири	59	0,271	59	0,113	59	0,049	40	0,208	117	0,012	117	0,010	40	0,043	117	0,002	40	0,019	40	0,040
	Татары сибирские	83	0,409	83	0,254	83	0,056	-	-	94	0,039	94	0,017	-	-	94	0,002	-	-	-	-
	Якуты	39	0,359	39	0,190	39	0,044	-	-	41	0,025	41	0,012	-	-	41	0,001	-	-	-	-
ЮЖНАЯ СИБИРЬ	Алтайцы северные, шорцы	56	0,429	56	0,289	56	0,089	50	0,157	59	0,049	59	0,030	50	0,053	59	0,005	50	0,016	50	0,014
	Алтайцы южные	-	-	-	-	-	-	-	-	48	0,024	48	0,013	-	-	48	0,002	-	-	-	-
	Тувинцы, тофалары	62	0,145	62	0,037	62	0,007	53	0,058	113	0,002	113	0,001	53	0,007	113	0	53	0,001	53	0,006

	Хакасы	32	0,312	32	0,157	32	0,070	-	-	32	0,020	32	0,018	-	-	32	0,004	-	-	-	-
ДАЛЬНИЙ ВОСТОК	Ительмены	29	0,138	29	0,051	29	0	-	-	29	0,005	29	0	-	-	29	0	-	-	-	-
	Коряки, чукчи	35	0,200	35	0,042	35	0,115	35	0,026	95	0,002	95	0,012	51	0,003	95	0,017	51	0,008	51	0,001
	Народы Амура	49	0,612	49	0,402	49	0,165	47	0	103	0,066	103	0,054	47	0	104	0,011	47	0	47	0
	Эвенкийские народы	81	0,380	81	0,135	81	0,094	54	0,034	142	0,012	142	0,017	54	0,006	144	0,006	54	0,004	54	0,001
ЦЕНТРАЛЬНАЯ И ВОСТОЧНАЯ АЗИЯ	Народы Восточной Азии	-	-	-	-	-	-	-	-	504	0,097	504	0,035	504	0,009	504	0,003	504	0,002	504	0
	Народы Памира	30	0,300	30	0,149	30	0	30	0,146	77	0,019	77	0	45	0,036	77	0	45	0	45	0,018
	Народы Средней Азии	152	0,334	152	0,207	152	0,038	70	0,165	226	0,032	226	0,012	70	0,051	226	0,001	70	0,009	70	0,020
	Народы Монголии	128	0,475	128	0,311	128	0,077	55	0,138	195	0,051	195	0,025	55	0,045	196	0,003	55	0,011	55	0,010
ЮЖНАЯ АЗИЯ	Народы Южной Азии	15	0,133	15	0,049	15	0	-	-	15	0,004	15	0	-	-	41	0	-	-	-	-
ЗАПАДНАЯ АЗИЯ	Арабы	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	0	50	0	0	0
	Евреи	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	205	0	-	-	-	-
	Народы Анатолии, Леванта	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	55	0	-	-	-	-
АФРИКА	Народы Африки	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	41	0	-	-	-	-
АМЕРИКА	Народы Америки	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	39	0	-	-	-	-
	Народы Гренландии	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	39	0	-	-	-	-

при невысокой средней частоте ($\bar{q} = 0,13$) приводит к показателю межпопуляционных различий ($G_{ST} = 0,08$), в 4 раза превышающему показателю для других вариантов.

Диапазон наибольших частот ($0,27 < q < 0,32$) включил 12 популяций из 35 изученных по этому SNP-маркеру: все славянские популяции (белорусов, русских, украинцев), марийцев и чувашей Уральского региона, а также народы Закавказья.

Следующий интервал ($0,20 < q < 0,25$) объединил финноязычные народы (все западные финноязычные популяции и коми-пермяки), обских угров, тюрков Урала (башкир и поволжских татар), а также народы Дагестана.

Среди других популяций с частотами выше средней ($0,13 < q < 0,18$) обнаружены лишь две европейские популяции (удмурты и народы Южной Европы), а тренд смещается на юго-восток: наряду с популяциями Западного и Центрального Кавказа уже присутствуют народы Казахстана, Памира и Средней Азии.

Среди популяций с частотами ниже средней ($0 < q < 0,12$) уже встречаются только народы Азии: Южной Сибири (алтайцы, тофалары, тувинцы, шорцы), Байкальского региона (эвенки), Дальнего Востока (нанайцы, народы Камчатки, эвенки, эвены, чукчи), Восточной и Центральной Азии.

Оба генотипа «ультрабыстрых» метаболизаторов (*17/*17, рис. 4Б; *1/*17, рис. 4В), характеризуются тем же трендом изменчивости — четкого падения частоты с запада на восток. Но диапазон их изменчивости различен: для варианта *17/*17 он мал ($0 < q < 0,10$), а для *1/*17 в 4 раза выше ($0 < q < 0,40$).

Гетерозигота *3/*17 (рис. 4Д), кодирующая метаболизаторы промежуточной активности, обнаружена с крайне низкими частотами ($0 < q < 0,05$) и практически отсутствует как на западе, так и на востоке Северной Евразии. География ее своеобразна: ареал наличия

*3/*17 тянется непрерывной полосой от обских угров на севере до народов Средней Азии, уходя затем на восток в Монголию и Восточную Азию.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Народонаселение Северной Евразии является зоной древнейшего — со времен палеолита — взаимодействия крупнейших расовых стволов человечества: западного (европеоиды) и восточного (монголоиды). Это взаимодействие нашло убедительное отражение на картах SNP-маркеров CYP2C19 (рис. 1–4). Но при этом не менее убедительно показано, сколь жестким и неточным является сведение реальной картины изменчивости этих вариантов к прямолинейной схеме двух расовых полюсов.

Информация о том, что CYP2C19*2 встречается у европеоидов (15%) в два раза реже, чем у монголоидов Восточной Азии (31%) [5], явно недостаточна. Подлинная ситуация намного сложнее — реальная изменчивость *2 (рис. 2) является наложением на общий долготный вектор изменчивости широтного вектора в Сибири и дополнительного максимума в Европе. Поэтому для применения в фармакогенетике столь востребовано использование конкретных данных о генофондах народов России и сопредельных стран. Такие данные о частотах четырех вариантов CYP2C19 во многих этносах или их группах приведены в табл. 1: для варианта *2 эта информация охватывает 79 популяций с суммарной выборкой 6346 индивидов. И при размахе изменчивости частоты *2 от $q = 0$ до $q = 0,43$, как ее минимум (чукчи, $q = 0$), так и ее максимум (негидальцы, нивхи, ульчи; $q = 0,43$) находятся в одном регионе — на Дальнем Востоке России. Такой прецедент свидетельствует о невозможности оперировать обобщенными этнорасовыми категориями и необходимости дифференцированного подхода. В русских

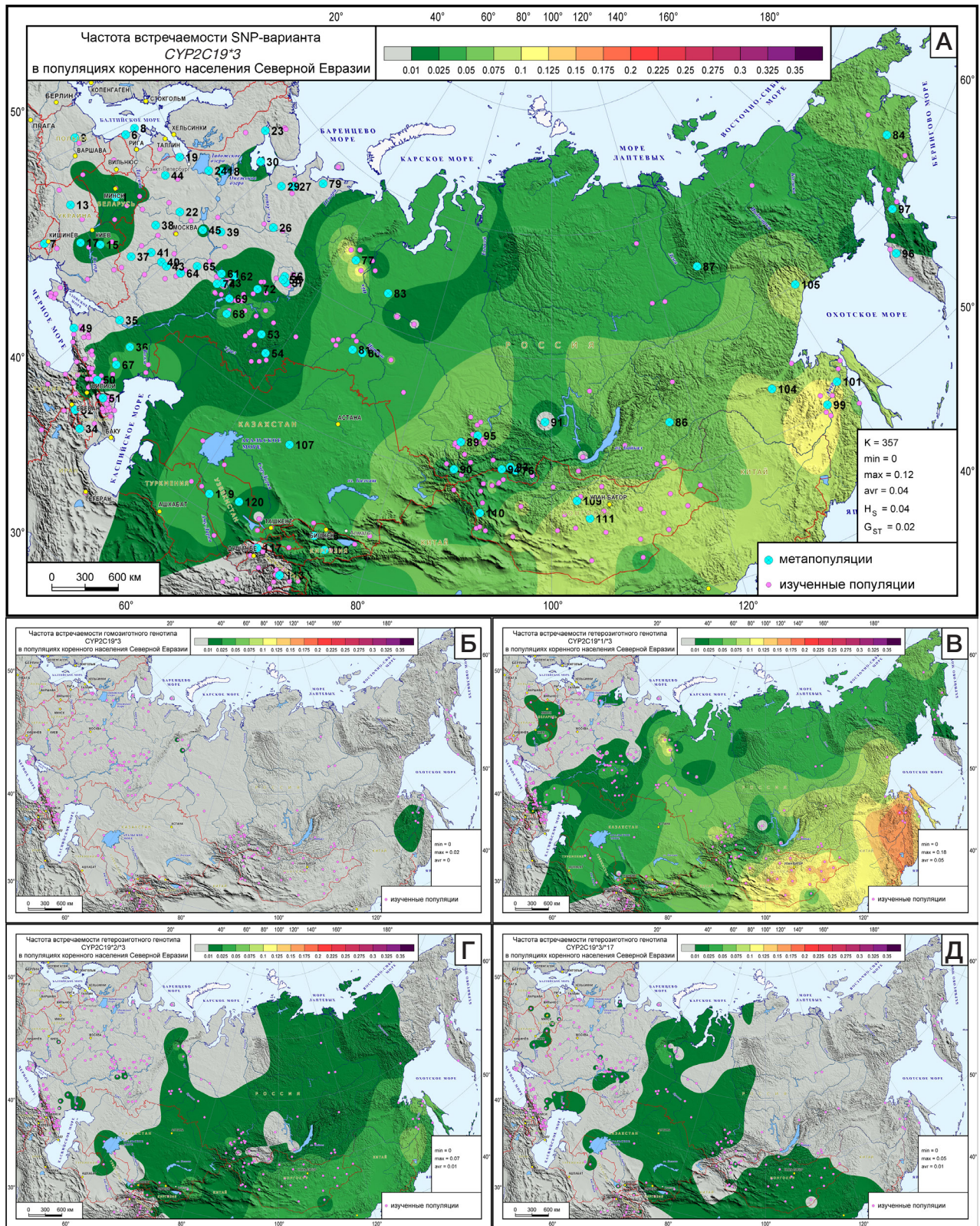


Рис. 3. Пространственная изменчивость *CYP2C19*3* в коренном народонаселении России и сопредельных стран. **А.** Геногеография частоты SNP-варианта *CYP2C19*3*. **Б.** Геногеография частоты генотипа *3/*3. **В.** Геногеография частоты генотипа *3/*2. **Г.** Геногеография частоты генотипа *3/*17

популяциях частота *CYP2C19*2* составляет около 11% [6], но при этом она варьирует в очень широких пределах: от $q = 0,02$ в Нижегородской области до $q = 0,18$ в Архангельской, Брянской и Смоленской областях.

Для варианта *17 в литературе указаны более резкие этнорасовые различия: от $q = 0,22$ у европеоидов до $q = 0,02$

у монголоидов Восточной Азии [5]. Для европейских популяций в публикациях отмечено повышение частоты *17 в Центральной и Восточной Европе ($0,25 < q < 0,33$) при ее понижении на севере ($0,19 < q < 0,22$), на юге (до $q = 0,18$) и на западе ($q = 0,17$) Европы [18, 19]. Полученные нами данные о частоте варианта *17, представленные

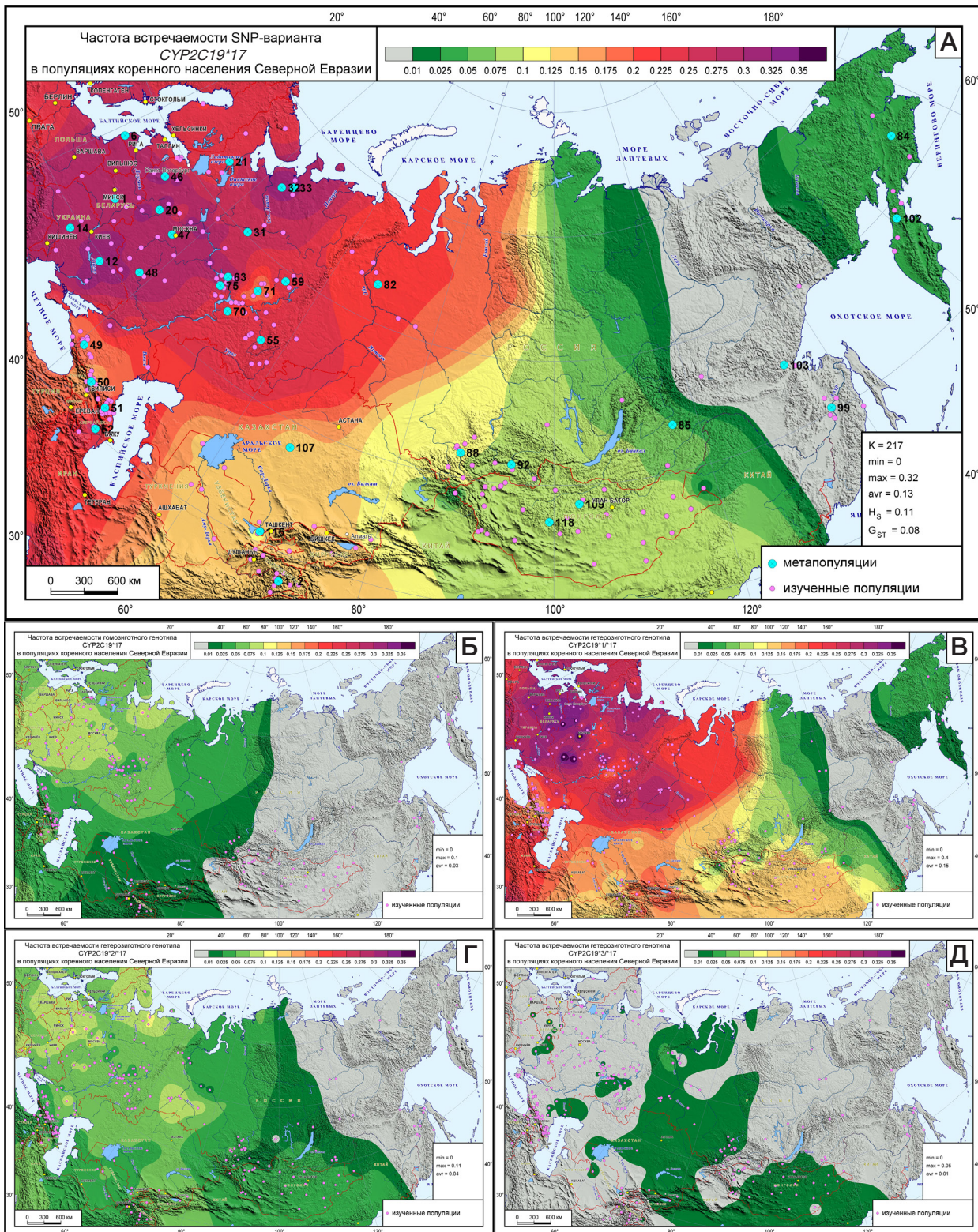


Рис. 4. Пространственная изменчивость CYP2C19*17 в коренном народонаселении России и сопредельных стран. А. Геноегеография частоты SNP-варианта CYP2C19*17. Б. Геноегеография частоты генотипа *17/17. В. Геноегеография частоты генотипа *17/*1. Г. Геноегеография частоты генотипа *17/3

в табл. 1 для 35 популяций с суммарной выборкой 3313 индивидов, демонстрируют близкий евразийский диапазон частоты *17 ($0 < q < 0,32$). При этом у европеоидов она варьирует в пределах от $q = 0,15$ у народов Южной Европы до $q = 0,32$ на севере у русских Архангельской области. У широкого круга популяций, условно относимых к монголоидам, размах изменчивости столь же велик: от

$q = 0$ на Дальнем Востоке до $q = 0,31$ у марийцев Предуралья. Поэтому столь необходим анализ реальной картины геноегеографической изменчивости вместо использования прямолинейной схемы «европеоиды-монголоиды».

Представленные в работе данные (табл. 1, 2) несут важную информацию о многих этнических группах России и сопредельных стран, население которых массово

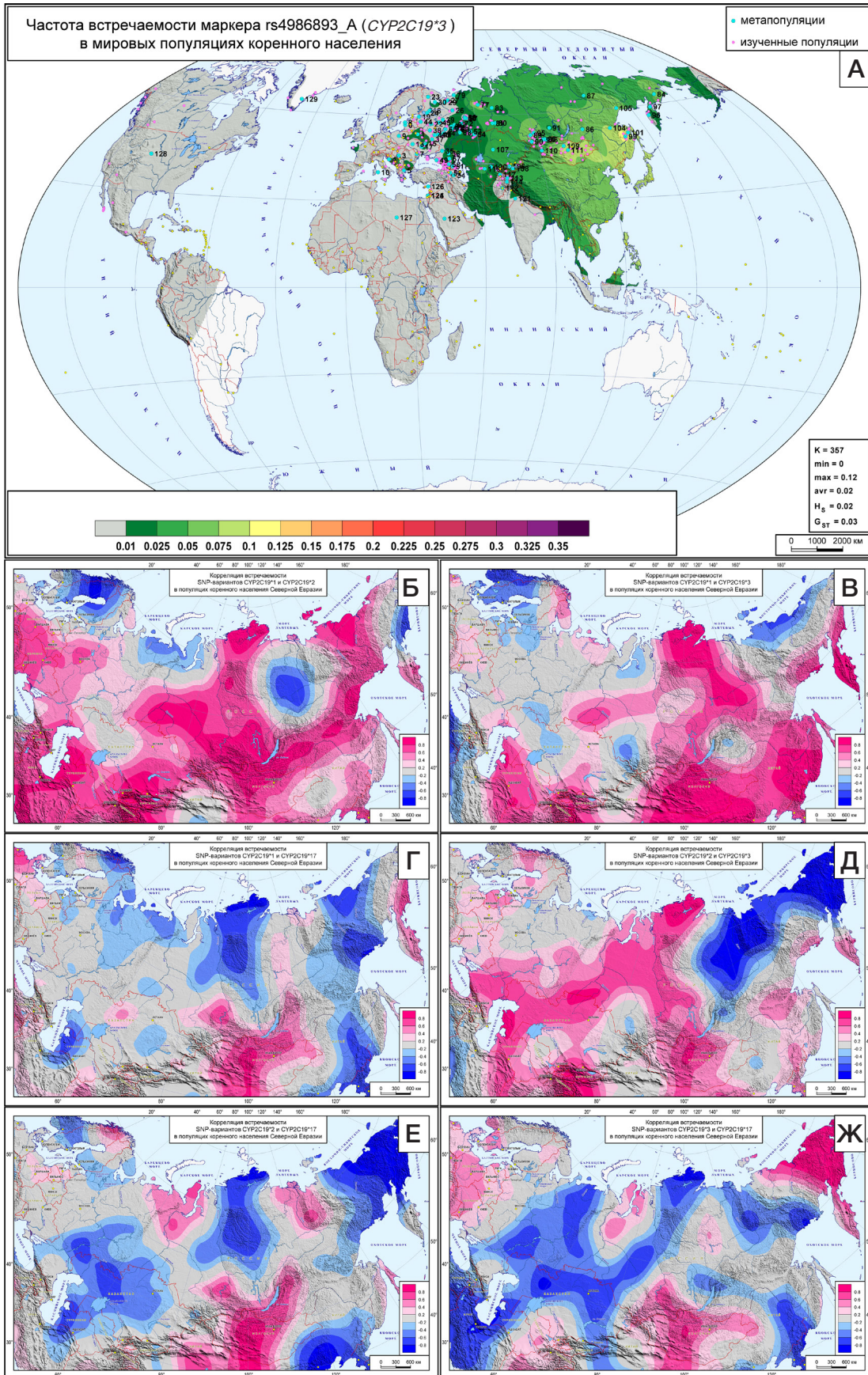


Рис. 5. Корреляционные карты между паттернами изменчивости частот вариантов *1, *2, *3, *17 и геогеография CYP2C19*3 в коренном народонаселении мира. **А.** Пространственная изменчивость CYP2C19*3 в коренном народонаселении мира. **Б.** Корреляционная карта между паттернами частот вариантов *1 и *2. **В.** Корреляционная карта между паттернами частот вариантов *1 и *3. **Г.** Корреляционная карта между паттернами частот вариантов *1 и *17. **Д.** Корреляционная карта между паттернами частот вариантов *2 и *3. **Е.** Корреляционная карта между паттернами частот вариантов *2 и *17. **Ж.** Корреляционная карта между паттернами частот вариантов *3 и *17.

мигрировало в Россию. И все же эти данные охватывают лишь часть генетического разнообразия народов нашей страны. Именно поэтому столь важно знание геногеографической изменчивости (рис. 1–5), которая дает прогноз о частоте клинически значимых вариантов *CYP2C19* для тех народов, информация о которых пока отсутствует в базах данных и публикациях.

Из общих закономерностей прежде всего подчеркнем, что четкость геногеографического тренда не зависит от частоты встречаемости того или иного варианта *CYP2C19* и размаха его изменчивости (рис. 1–4).

Для вариантов *2 и *17 характерен сходный размах изменчивости ($0 < q < 0,4$) и сходный уровень средней гетерозиготности ($0,11 < H_s < 0,12$). Но если *17 демонстрирует ярко выраженный тренд убывания частоты с запада на восток (рис. 4), то изменчивость *2 значительно сложнее (рис. 2). На это явное различие между *2 и *17 указывает и показатель межпопуляционной изменчивости G_{ST} : межпопуляционные различия *2 ($G_{ST} = 0,02$) в 4 раза меньше, чем *17 ($G_{ST} = 0,08$). При этом у более редкого ($0 < q < 0,1$) маркера *3 тренд выражен очень четко (рис. 3), что и приводит к тому же размаху межпопуляционных различий ($G_{ST} = 0,02$), что и для *2.

Корреляционные карты (рис. 5) указывают на зоны сходства в паттернах изменчивости частот *1, *2, *3, *17 (положительная корреляция отражена на корреляционных картах красными тонами) и на области противоположных векторов их изменчивости (отрицательная корреляция показана на корреляционных картах синими тонами). Совокупность шести корреляционных карт (рис. 5Б–Ж) демонстрирует, что при общем сходстве между паттернами изменчивости частот *1, *2, *3, *17 всегда присутствуют регионы, в которых общая закономерность сменяется на противоположный знак корреляции. Очевидно сходство между геногеографией *1 и *2 (рис. 5Б) по их сочетанию долготного и широтного трендов (красные тона), но на севере обнаруживается ряд исключений с отрицательной корреляцией между картами *1 и *2 (синие тона). Ярко выраженное сходство между паттернами карт *2 и *3 (рис. 5Д) нарушено на северо-востоке региона (синие тона отрицательной корреляции). Хотя в целом векторы изменения частоты *3 и *17 противоположны (отрицательная корреляция), но далеко не всегда альтернативны: в части регионов (Зарубежная Европа, обские устья, Средняя Азия, Южная Сибирь, север Дальнего Востока) наблюдается положительная

корреляция между этими двумя картами (рис. 5Ж). В целом корреляционные карты убедительно показывают, что, даже обнаружив общие тренды в изменчивости биомаркеров фармакогенетики, необходимо продолжать изучение каждого из народов многонациональной России. Сколь эта изменчивость может быть велика, будет показано для народов Кавказского региона в планируемой публикации. Именно поэтому столь необходимо приближение к реальной картине геногеографической изменчивости фармакогенетических биомаркеров и создание их картографических атласов для разных регионов России.

Выводы

В работе приведены данные о частотах SNP-маркеров *CYP2C19**1, *2, *3, *17 и их фармакогенетически значимых генотипах в основных этнических группах России и сопредельных стран. Геногеографическая изменчивость *CYP2C19**1 (по данным о 2261 индивидуе из 53 популяций) совмещает долготный тренд увеличения частоты с запада на юго-восток Северной Евразии и широтную изменчивость роста частоты с севера на юг в азиатской части региона. Пространственная изменчивость *CYP2C19**2 (6346 индивидов, 79 популяций) характеризуется сходной изменчивостью с *1, но оба тренда — и долготный, и широтный — нарушаются локальными экстремумами. Геногеография *CYP2C19**3 (7517 индивидов, 92 популяции) имеет более ярко выраженный долготный тренд закономерного возрастания частоты от 0 на западе до 12% на востоке и юго-востоке Северной Евразии. Этот максимум является мировым: область высоких частот сосредоточена в Восточной Азии с пиком частоты в Приамурье. Геногеографическая изменчивость *CYP2C19**17 (3313 индивидов, 35 популяций) отличается от предыдущих выразительным долготным трендом с противоположным направлением — падения частоты с запада на юго-восток. Корреляционные карты частот вариантов *CYP2C19**1, *2, *3, *17 указывают регионы, в которых нарушено сходство между основными паттернами изменчивости частот этих вариантов гена *CYP2C19*. Для практического использования в фармакогенетике важно, что до тех пор, пока современные данные охватывают не все народы России, карты геногеографической изменчивости впервые дают прогноз о частоте вариантов *CYP2C19**1, *2, *3, *17 и их фармакогенетически значимых генотипах для тех популяций, информация о которых отсутствует.

Литература


1. Mini E, Nobili S. Pharmacogenetics: implementing personalized medicine. *Clinical cases in mineral and bone metabolism*. 2009; 6 (1):17.
2. Samani NJ, Tomaszewski M, Schunkert H. The personal genome — the future of personalised medicine? *The Lancet*. 2010; 375 (9725): 1497–8.
3. Collins FS, Varmus H. A new initiative on precision medicine. *New England journal of medicine*. 2015; 372 (9): 793–5.
4. Sinitsina II, Boyarko AV, Temirbulatov II, Sychev DA, Akmalova KA, Sozaeva ZA, et al. *CYP2C9* gene polymorphisms influence on antihypertensive effectiveness and hypouricemic effect of losartan among patients with arterial hypertension: an observational study. *Drug Metabolism and Personalized Therapy*. 2022; 38 (2): 163–8.
5. Lee CR, Luzum JA, Sangkuhl K, Gammal RS, Sabatine MS, Stein CM, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline for *CYP2C19* genotype and clopidogrel therapy: 2022 update. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2022; 112 (5): 959–67.
6. Niu X, Mao L, Huang Y, Baral S, Li JY, Gao Y, et al. *CYP2C19* polymorphism and clinical outcomes among patients of different races treated with clopidogrel: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*. 2015; 35 (2): 147–56.
7. Gaikovitch EA, Cascorbi I, Mrozikiewicz PM, Brockmüller J, Frötschl R, Köpke K, et al. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *CYP1A1*, *NAT2* and of P-glycoprotein in a Russian population. *European journal of clinical pharmacology*. 2003; 59: 303–12.
8. Johnson JA, Caudle KE, Gong L, Whirl-Carrillo M, Stein CM, Scott SA, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium

- (CPIC) guideline for pharmacogenetics-guided warfarin dosing: 2017 update. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2017; 102 (3): 397–404.
9. Пылёв В. Ю., Агджоян А. Т., Горин И. О., Петрушенко В. С., Почешхова Э. А., Балановская Е. В., и др. Популяционный биобанк как основа для выявления пространственной изменчивости клинически значимых фармакогенетических биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022; 21 (11): 114–34.
 10. Балановская Е. В., Петрушенко В. С., Кошель С. М., Почешхова Э. А., Черневский Д. К., Балановский О. П., и др. Картографический атлас распространения 45 фармакогенетических маркеров в народонаселении России и сопредельных стран. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2020 (6): 39–52.
 11. Балановская Е. В., Горин И. О., Пономарев Г. Ю., Пылёв В. Ю., Петрушенко В. С., Агджоян А. Т., и др. Следы взаимодействия финноязычного, славянского и тюркоязычного населения в современном генофонде и их отражение в фармакогенетике. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2022; 2: 20–9.
 12. Балановская Е. В., Напольских В. В., Чураков В. С., Пислегин Н. В., Записецкая Ю. С., Балановский О. П., и др. Генофонды удмуртов и бесермян в контексте финно-угорских и других окружающих народов: полногеномные и фармакогенетические данные. *Ежегодник финно-угорских исследований*. 2022; 2: 328–46.
 13. Balanovsky O, Petrusenko V, Gorin I, Agdzhojan A, Balanovska E, Sychev D, et al. Variation of genomic sites associated with severe Covid-19 across populations: global and national patterns. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*. 2021: 1391–402.
 14. Chang CC, Chow CC, Tellier LC, Vattikuti S, Purcell SM, Lee JJ. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience*. 2015; 4 (1): s13742–015.
 15. GG-base [cited 2022 Sep 10]. Available from: <https://gg-base.org/>.
 16. Балановская Е. В., Жабагин М. К., Агджоян А. Т., Чухряева М. И., Маркина Н. В., Асылгузжин Р. Р., и др. Популяционные биобанки: принципы организации и перспективы применения в геногеографии и персонализированной медицине. *Генетика*. 2016; 52 (12): 1371–87.
 17. Кошель С. М. Геоинформационные технологии в геногеографии. *Современная географическая картография*. 2012; с. 158–8.
 18. Petrović J, Pešić V, Lauschke VM. Frequencies of clinically important CYP2C19 and CYP2D6 alleles are graded across Europe. *European journal of Human Genetics*. 2020; 28 (1): 88–94.
 19. Pedersen RS, Brasch-Andersen C, Sim SC, et al. Linkage disequilibrium between the CYP2C19*17 allele and wildtype CYP2C8 and CYP2C9 alleles: identification of CYP2C haplotypes in healthy Nordic populations. *European journal of clinical pharmacology*. 2010; 66: 1199–1205.20.

References

1. Mini E, Nobili S. Pharmacogenetics: implementing personalized medicine. *Clinical cases in mineral and bone metabolism*. 2009; 6 (1):17.
2. Samani NJ, Tomaszewski M, Schunkert H. The personal genome — the future of personalised medicine? *The Lancet*. 2010; 375 (9725): 1497–8.
3. Collins FS, Varmus H. A new initiative on precision medicine. *New England journal of medicine*. 2015; 372 (9): 793–5.
4. Sinitsina II, Boyarko AV, Temirbulatov II, Sychev DA, Akmalova KA, Sozaeva ZA, et al. CYP2C9 gene polymorphisms influence on antihypertensive effectiveness and hypouricemic effect of losartan among patients with arterial hypertension: an observational study. *Drug Metabolism and Personalized Therapy*. 2022; 38 (2): 163–8.
5. Lee CR, Luzum JA, Sangkuhl K, Gammal RS, Sabatine MS, Stein CM, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline for CYP2C19 genotype and clopidogrel therapy: 2022 update. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2022; 112 (5): 959–67.
6. Niu X, Mao L, Huang Y, Baral S, Li JY, Gao Y, et al. CYP2C19 polymorphism and clinical outcomes among patients of different races treated with clopidogrel: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*. 2015; 35 (2): 147–56.
7. Gaikovitch EA, Cascorbi I, Mrozikiewicz PM, Brockmüller J, Frötschl R, Köpke K, et al. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP1A1, NAT2 and of P-glycoprotein in a Russian population. *European journal of clinical pharmacology*. 2003; 59: 303–12.
8. Johnson JA, Caudle KE, Gong L, Whirl-Carrillo M, Stein CM, Scott SA, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for pharmacogenetics-guided warfarin dosing: 2017 update. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2017; 102 (3): 397–404.
9. Pyljov VJu, Agdzhojan AT, Gorin IO, Petrusenko VS, Pocheshhova JeA, Balanovskaja EV i dr. Populjacionnyj biobank kak osnova dlja vyjavlenija prostranstvennoj izmenchivosti klinicheski znachimyh farmakogeneticheskikh biomarkerov serdechno-sosudistyh zabolevanij. *Kardiovaskuljarnaja terapija i profilaktika*. 2022; 21 (11): 114–34. Russian.
10. Balanovska EV, Petrusenko VS, Koshel SM, Pocheshkhova EA, Chernevskiy DK, Mirzaev KB, Abdullaev ShP, Balanovsky OP, et al. Cartographic atlas of frequency variation for 45 pharmacogenetic markers in populations of Russia and its neighbor states. *Bulletin of RSMU*. 2020 (6): 38–51.
11. Balanovska EV, Gorin IO, Ponomarev GYu, Pylev VYu, Petrusenko VS, Markina NV, Mamaeva AD, Larin AK, Agdzhojan AT et al. Footprints of interaction among Finnic-speaking, Slavic, and Turkic-speaking populations in modern gene pool and their reflection in pharmacogenetics. *Bulletin of RSMU*. 2022; 2: 20–9.
12. Balanovska EV, Napolskih VV, Churakov VS, Pislegin NV, Zapiseckaja YuS, Balanovsky OP, i dr. Genofondy udmurtov i besermjan v kontekste finno-ugorskih i drugih okružhajushhih narodov: polnogenomnye i farmakogeneticheskie dannye. *Ezhegodnik finno-ugorskih issledovanij*. 2022; 2: 328–46. Russian.
13. Balanovsky O, Petrusenko V, Gorin I, Agdzhojan A, Balanovska E, Sychev D, et al. Variation of genomic sites associated with severe Covid-19 across populations: global and national patterns. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*. 2021: 1391–402.
14. Chang CC, Chow CC, Tellier LC, Vattikuti S, Purcell SM, Lee JJ. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience*. 2015; 4 (1): s13742–015.
15. GG-base [cited 2022 Sep 10]. Available from: <https://gg-base.org/>.
16. Balanovska EV, Zhabagin MK, Agdzhojan AT, Chuhryaeva MI, Markina NV, Asylguzhin RR, i dr. Populjacionnye biobanki: principy organizacii i perspektivy primeneniya v genogeografii i personalizirovannoj medicine. *Genetika*. 2016; 52 (12): 1371–87. Russian.
17. Koshel SM. Geoinformacionnye tehnologii v genogeografii. *Sovremennaja geograficheskaja kartografija*. 2012; с. 158–8. Russian.
18. Petrović J, Pešić V, Lauschke VM. Frequencies of clinically important CYP2C19 and CYP2D6 alleles are graded across Europe. *European journal of Human Genetics*. 2020; 28 (1): 88–94.
19. Pedersen RS, Brasch-Andersen C, Sim SC, et al. Linkage disequilibrium between the CYP2C19*17 allele and wildtype CYP2C8 and CYP2C9 alleles: identification of CYP2C haplotypes in healthy Nordic populations. *European journal of clinical pharmacology*. 2010; 66: 1199–1205.20.

ИШЕМИЧЕСКИЙ ИНСУЛЬТ С НАЛИЧИЕМ И ОТСУТСТВИЕМ ДИССЕКЦИЙ БРАХИОЦЕФАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ: РЕЗУЛЬТАТЫ КОМПЛЕКСНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ

Е. В. Орлова , А. Б. Бердалин, И. Д. Решетаров, В. Г. Лелюк

Федеральный центр мозга и нейротехнологий Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия


Актуальность исследования обусловлена наличием неопределенности в оптимальных диагностических стратегиях при выявлении диссекций. Целью исследования были анализ и сопоставление результатов комплексного обследования лиц, перенесших ишемический инсульт (ИИ), с диссекциями брахиоцефальных артерий (БЦА) и без них. Основная группа пациентов с наличием диссекций по данным мультиспиральной компьютерно-томографической ангиографии включала 53 пациента, группа без диссекций — 1451 человек; все пациенты обследованы с проведением дуплексного сканирования (ДС) БЦА и транскраниального ДС, трансторакальной эхокардиографии (ЭхоКГ), мсКТА и/или магнитно-резонансной томографии (МРТ). Пациенты с диссекцией были моложе ($p < 0,0005$) и имели меньший индекс массы тела ($p < 0,0005$) в сравнении с контролем. По данным ЭхоКГ, у лиц с диссекциями реже встречались расширение левого ($p = 0,014$) и правого ($p = 0,018$) предсердий и аортальный стеноз ($p = 0,017$). При наличии диссекций достоверно реже наблюдали атеросклеротические бляшки в общей сонной артерии (ОСА) ($p < 0,002$) и деформации БЦА ($p < 0,05$). По данным ДС БЦА, у лиц с диссекциями достоверно реже ($p < 0,0001$) наблюдали нарушение дифференцировки комплекса интима-медиа в ОСА и достоверно чаще отмечали наличие признаков тромбоза внутренней сонной артерии ($p = 0,021$ и $p = 0,004$), а по данным МРТ, у них были менее выражены изменения перивентрикулярного и глубокого белого вещества головного мозга ($p < 0,0005$ и $p = 0,001$) и не встречались стратегические инфаркты, затрагивающие область таламуса ($p < 0,0005$). Сравнение результатов обследования перенесших ИИ пациентов с диссекциями и без них выявило различия, вероятно, связанные с более молодым возрастом лиц с диссекциями.

Ключевые слова: диссекция, дуплексное сканирование, брахиоцефальные артерии, КТ-ангиография, ишемический инсульт

Финансирование: работа выполнена в рамках Государственного задания №388-00083-22-00 от 30.12.2021, регистрационный номер НИР 122022100113-7 от 21 февраля 2022 г.

Вклад авторов: Е. В. Орлова — планирование исследования, написание обзора статьи, анализ результатов; А. Б. Бердалин — создание базы данных, сбор информации, статистическая обработка, анализ и участие в написании обсуждения результатов; И. Д. Решетаров — написание обзора статьи, анализ и интерпретация результатов статистической обработки; В. Г. Лелюк — планирование исследования, редактирование статьи, поиск источников финансирования.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «ФЦМН» ФМБА России (протокол № 09/03-07-23 от 03 июля 2023 г.). Все пациенты, включенные в исследование, подписывали добровольное информированное согласие.

 **Для корреспонденции:** Екатерина Владимировна Орлова
ул. Островитянова, д. 1, стр. 10, г. Москва, 117513, Россия; ekaterina.shlyk@gmail.com

Статья получена: 04.08.2023 **Статья принята к печати:** 30.09.2023 **Опубликована онлайн:** 20.10.2023

DOI: 10.24075/vrgmu.2023.037

ISCHEMIC STROKE WITH AND WITHOUT BRACHIOCEPHALIC ARTERY DISSECTIONS: RESULTS OF COMPREHENSIVE EXAMINATION OF PATIENTS

Orlova EV , Berdalin AB, Reshetarov ID, Lelyuk VG

Federal Center for Brain and Neurotechnology of the Federal Medical Biological Agency of Russia, Moscow, Russia

Currently, there are no clearly defined optimal diagnostic strategies of detection of dissections. This study aimed to analyze and compare the results of comprehensive examinations of people who suffered an ischemic stroke (IS) with and without brachiocephalic artery (BCA) dissections. Dissections group, formed based on the results of multispiral computed tomography angiography that confirmed dissections, included 53 patients, and control group — patients without BCA dissections — comprised 1451 people; examination of all patients involved duplex scanning (DS) of BCA and transcranial part, transthoracic echocardiography (TTE), multispiral computed tomography angiography (msCTA) and/or magnetic resonance imaging (MRI). Patients with dissection were younger ($p < 0.0005$) and had a lower body mass index ($p < 0.0005$) than participants from the control group; according to echocardiography, they were less likely to have left ($p = 0.014$) and right ($p = 0.018$) atrial dilation and aortic stenosis ($p = 0.017$). Also, dissections were significantly less often associated with atherosclerotic plaques in the common carotid artery (CCA) ($p < 0.002$), and BCA deformations ($p < 0.05$). Duplex scanning of BCA revealed that in patients with dissections, differentiation of the intima-media complex in CCA was compromised significantly less often, and signs of thrombosis of the internal carotid artery were registered significantly more often ($p = 0.021$ and $p = 0.004$); according to MRI, such patients had less pronounced changes in the periventricular and deep white matter of the brain ($p < 0.0005$ and $p = 0.001$) and never suffered strategic infarcts affecting the thalamus area ($p < 0.0005$). Comparison of the results of examinations of IS patients with and without BCA dissections revealed differences that are probably conditioned by the younger age of those who had said dissections.

Keywords: dissection, duplex scanning, brachiocephalic arteries, CT angiography, ischemic stroke

Funding: the study was carried out as part of the State Task № 388-00083-22-00 of 30.12.2021, research project № 122022100113-7 of February 21, 2022.

Author contribution: Orlova EV — study planning, article review authoring, analysis of the results; Berdalin AB — database compilation, information collection, statistical processing, analysis and participation in recounting of the results of discussion; Reshetarov ID — article review authoring, analysis and interpretation of the results of statistical processing; Lelyuk VG — study planning, article editing, search for sources of funding.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Federal Center for Brain and Neurotechnology of FMBA of Russia (Minutes № 09/03-07-23 of July 03, 2023). All study participants signed the voluntary informed consent form.

 **Correspondence should be addressed:** Ekaterina Vladimirovna Orlova
Ostrovityanova, 1, str. 10, Moscow, 117513, Russia; ekaterina.shlyk@gmail.com

Received: 04.08.2023 **Accepted:** 30.09.2023 **Published online:** 20.10.2023

DOI: 10.24075/brsmu.2023.037

Для эффективной вторичной профилактики ишемического инсульта (ИИ) крайне важной является верификация причин его развития, что осложняется их полифакторностью и выраженной гетерогенностью и требует применения сочетания различных методов и диагностических приемов [1, 2].

Роль диссекций брахиоцефальных артерий в патогенезе ишемического инсульта установлена, но имеется ряд вопросов, требующих уточнений. Так, неясен точный механизм развития инфаркта мозга при диссекциях, их истинная распространенность неизвестна ввиду асимптомного течения в значительном количестве случаев, имеются неопределенности в оптимальных диагностических и терапевтических стратегиях при диссекциях различных локализации и генеза. Диссекция артерий на шее приводит к разрыву интимы или разрыву *vasa vasorum* с кровотечением в медию [3], что обуславливает расслоение стенки сосуда и формирование ложного просвета. Гематома может увеличиваться в сторону адвентиции, приводя к развитию субадвентициальной диссекции с псевдоаневризмой артерии, либо в сторону интимы, вызывая сужение просвета [4].

Цифровая субтракционная ангиография считается золотым стандартом в диагностике краниоцервикальных диссекций [5], однако в основном для этих целей используются МРТ (магнитно-резонансная томография) и мсКТА (мультиспиральная компьютерная томография), причем в качестве рутинных исследований [6]. Эти методы имеют преимущества в определении протяженности стеноза и интрамуральной гематомы, а также позволяют одновременно оценить сосуд на большом протяжении, демонстрируя чувствительность до 99%, однако сильно зависят от протоколов сканирования и технического оснащения аппаратной части [7–9].

Ультразвуковое дуплексное сканирование находит все более широкое применение в диагностике диссекций экстракраниальных отделов брахиоцефальных артерий из-за постоянного улучшения разрешения ультразвуковых сканеров и доступности метода в целом [10–12].

Актуальность настоящего исследования заключается в осуществлении анализа значительного массива относительно однородных клинических данных, полученных в сходных условиях при одновременном использовании комплекса диагностических ультразвуковых модальностей, взаимодополняющих и (или) уточняющих получаемые результаты, включающего относительно редко применяемые методы.

Целью исследования были анализ и сопоставление результатов комплексного обследования лиц, перенесших ишемический инсульт, с диссекциями брахиоцефальных артерий и без таковых.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Настоящее исследование включает сведения о 1451 лицах, перенесших ИИ давностью до года. Из них у 53 пациентов (3,65%) были зарегистрированы или подтверждены диссекции экстракраниальных отделов БЦА (брахиоцефальных артерий) по данным нейровизуализирующих методов.

Критерии включения: наличие в анамнезе ишемического инсульта, верифицированного при помощи КТ (компьютерной томографии) или МРТ; степень выраженности текущего неврологического дефицита по модифицированной шкале Рэнкина должна быть не более 3.

Критерии исключения: противопоказания к проведению МРТ; анамнез серьезных заболеваний центральной нервной системы.

Учитывали демографические, антропометрические и анамнестические данные: возраст, пол, рост, вес, курение, употребление алкоголя, наличие артериальной гипертензии, фибрилляции предсердий, инфаркта миокарда в анамнезе, сахарного диабета, характеристики перенесенного ишемического инсульта (кратность, сторону поражения, бассейн, патогенетический вариант); рассчитывался индекс массы тела (ИМТ).

Электрокардиографию (ЭКГ) выполняли на электрокардиографе «Нейрософт» с программным обеспечением «Поли-спектр» («Нейрософт»; Россия). В ходе исследования фиксировались данные о частоте сердечных сокращений, направлении электрической оси сердца, наличии нарушений ритма и проводимости, ишемических изменений сегмента ST.

Дуплексное сканирование брахиоцефальных артерий (ДС БЦА) и транскраниальное дуплексное сканирование (ТКДС), а также дуплексное сканирование вен нижних конечностей выполняли на сканере Philips Epiq 7G (Philips; США). Для оценки состояния экстракраниальных отделов БЦА и вен нижних конечностей использовали широкополосный мультиспектральный линейный датчик с частотой 3–12 МГц, ТКДС (транскраниальное дуплексное сканирование) и трансторакальную ЭхоКГ (эхокардиографию) — широкополосный матричный мультиспектральный датчик с частотой 1–5 МГц.

При исследовании экстракраниальных отделов БЦА в В-режиме оценивали толщину комплекса интима-медиа; наличие и выраженность образований, стенозирующих просветы, их локализацию, проводили оценку степени стеноза (для внутренней сонной артерии — по методике ECST), диаметра артерии, изучали акустическую структуру образования, его поверхность, наличие осложнений.

Исследование вен нижних конечностей проводили в горизонтальном положении. Для выявления тромбоза или посттромботических изменений в просветах вен осуществлялись компрессионные тесты с шагом 1–2 см во всех доступных сегментах поверхностных и глубоких вен обеих нижних конечностей.

Для определения эмбологенности проводили транскраниальное доплеровское мониторирование (ТКДМ) кровотока в артериях основания головного мозга через транстемпоральный доступ в режиме микроэмболодетекции (МЭД). Исследование осуществляли не менее 60 минут с использованием двухчастотных многоглубинных датчиков на сканере «Ангиодин Универсал» (АО «НПФ БИОСС»; Россия). В случаях наличия признаков эмболии оценивали ее интенсивность.

При ЭхоКГ в стандартных позициях оценивали размеры и объемы камер сердца, его сократительную способность, систолическую и диастолическую функции левого желудочка, наличие зон гипо/акинеза, дискинеза, патологических образований в камерах сердца, состояние клапанного аппарата (клапанные стенозы и регургитации, протезы клапанов сердца), наличие/отсутствие признаков шунтирования крови между камерами сердца, состояние восходящей аорты и дуги аорты.

МР-исследования головного мозга осуществляли на томографе Discovery MR750w (General Electric; США) с индукцией магнитного поля 3 Тл. Оценку и описание результатов каждого МР-исследования проводили три

Таблица 1. Основные характеристики пациентов с признаками диссекции

Характеристика	Число пациентов (человек)	Доля (%)
Курение	20	37,7
Артериальная гипертензия	38	71,7
Инфаркт миокарда в анамнезе	2	3,8
Наличие мерцательной аритмии	1	1,9
Наличие сахарного диабета	4	7,5
Наличие признаков недостаточности соединительной ткани	3	5,7
Наличие травм в анамнезе незадолго до развития диссекции	4	7,5
ОРВИ, перенесенное незадолго до развития диссекции (в том числе Covid-19)	6	11,3
Предполагаемый генез диссекции:		
– криптогенная	49	92,5
– травматическая или ятрогенная	4	7,5
Локализация диссекции		
– правая ОСА	2	3,8
– левая ОСА	4	7,5
– правая ВСА	11	20,8
– левая ВСА	16	30,2
– правая НСА	1	1,9
– правая ПА	9	17
– левая ПА	8	15,1
– правая ВСА и правая ПА	1	1,9
– левые ОСА, ВСА и ПА	1	1,9
Сторона ишемического инсульта		
– справа	24	45,3
– слева	23	43,4
– нельзя определить сторонность (с обеих сторон одновременно или в стволовых структурах медиально)	6	11,3
Бассейн ишемического инсульта		
– вертебро-базиллярный	7	13,2
– каротидный	46	86,8
Множественные очаги по данным МРТ	16	30,2
Первичный ишемический инсульт	39	73,6
Совпадение стороны диссекции и очага инсульта	35	66

Примечание: ОСА — общая сонная артерия; ВСА — внутренняя сонная артерия; НСА — наружная сонная артерия; ПА — позвоночная артерия.

врача, обладающих достаточным опытом и случайно выбранных из шести участвующих в исследовании.

Производили оценку следующих показателей: региональную атрофию серого вещества головного мозга оценивали с использованием качественной шкалы GCA (Global Cortical Atrophy). Очаги гиперинтенсивности на T2-взвешенных изображениях с подавлением сигнала от свободной жидкости анализировали с использованием качественной шкалы Fazekas в глубоком и в перивентрикулярном белом веществе. Дополнительно к этому измеряли ширину третьего желудочка, исследовали наличие обструктивной или нормотензивной гидроцефалии, микрокровоизлияний в веществе головного мозга, гемосидероза, участков глиоза/энцефаломалиции и стратегические инфаркты (в таламусе, в бассейне артерии угловой извилины, зон смежного кровоснабжения в лобной или теменной долях, в медиальной части височных долей, в бассейнах передней мозговой артерии билатерально).

53 пациентам из группы с диссекциями и 453 пациентам из контрольной группы мСКТ-исследования выполняли на 128-срезовом компьютерном томографе Optima (GE; США) с напряжением 120 кВ, силой тока 350 мАс. Во всех случаях вводили предварительно подогретый неионный контрастный препарат «Ультравист» с концентрацией йода 370 мг/мл в объеме 60 мл, со скоростью 5 мл/сек, с последующим введением 40 мл также подогретого физиологического раствора. Зона сканирования включала дугу аорты, все отделы экстра- и интракраниальных артерий. Анализ изображений производили с использованием

программного обеспечения AW сервер (GE; США), он включал 3D-реконструкции брахиоцефальных артерий, количественную оценку стенозов артерий: для экстракраниальных отделов артерий — на основе критериев NASCET (North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial), для интракраниальных — критериев WASID (Warfarin-Aspirin Symptomatic Intracranial Disease).

Для отбора пациентов в основную группу мСКТА и МРТ- и МРА-признаки наличия диссекции включали симптом полулуния, который соответствует интрамуральной гематоме [13], эксцентрический стеноз просвета с увеличением наружного диаметра артерии [14–16], наличие псевдоаневризмы и симптома «пламени свечи» [17].

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием программных пакетов SPSS Statistics версии 26.0 (IBM; США) и R software версии 4.0.2. (R Core Team; Австрия). Нулевую гипотезу отвергали при уровне значимости $p \leq 0,05$. Для описания количественных переменных применяли среднее арифметическое и стандартное отклонение или медиану и квартили (в случае несоответствия распределения нормальному), для качественных — частоту и долю (в процентах). Соответствие распределения количественных переменных нормальному проверяли с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Для сравнения частот качественных зависимых переменных между категориями независимых (группирующих) переменных применяли критерий χ^2 Пирсона или точный критерий Фишера. Взаимосвязь между количественными и порядковыми

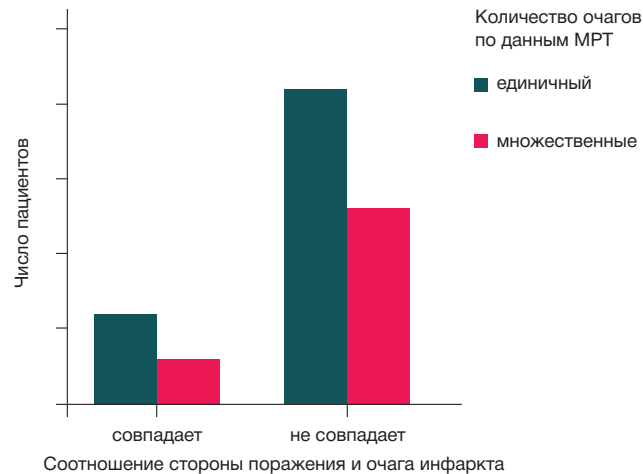


Рис. 1. Соотношение между совпадением локализации инфарктного очага и диссекции в зависимости от множественности очагов инфаркта

переменными оценивали при помощи корреляционного анализа по Пирсону. Для количественных зависимых переменных сравнения осуществляли при помощи критерия Манна–Уитни. Использовали поправку на множественность сравнений по Бонферрони.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Среди 53 пациентов с диссекциями брахиоцефальных артерий было 12 женщин (22,6%) и 41 мужчина (77,4%). Средний возраст пациентов составил $51,9 \pm 14,8$ (21–83) лет. ИМТ у лиц с диссекциями — $25,2 \pm 3,55$ (19,0–33,9 кг/м²), т. е. включенные в данную группу чаще имели нормальную массу тела (табл. 1).

Чаще всего инфаркт мозга развивался в бассейне правой (19 пациентов (35,8%)) и левой средней мозговой артерии (СМА) (15 пациентов (28,3%)). Связи между возрастом пациента и частотой совпадения локализации инфарктного очага и диссекции не прослеживалось. Так, среди пациентов моложе 50 лет совпадения локализации диссекции и очага инфаркта встречались в 64% случаев. Не было выявлено связи между множественностью очагов по данным МРТ и совпадением локализации инфарктного очага и диссекции ($p = 1,0$; рис. 1). Следовательно, паттерн поражения мозга со множественными ишемическими очагами при диссекциях встречался с той же частотой, что и без таковых.

Не было зарегистрировано связи между локализацией диссекции с полем и возрастом. При этом пациенты с криптогенными диссекциями были несколько моложе, чем с травматическими (на уровне тенденции — $p = 0,101$).

Микроэмболические сигналы, по данным ТКДМ с МЭД, были зарегистрированы только в одном случае (1,9%) из 39 (73,5%) выполненных тестов у лиц с диссекциями.

Пациенты с наличием диссекции брахиоцефальных артерий не отличались от остальных по полу ($p = 0,358$), но были статистически значимо моложе (возраст пациентов с инсультом без диссекций составил $60,73 \pm 11,95$; $p < 0,0005$; рис. 2) и имели меньший индекс массы тела (у пациентов без диссекций $27,70 \pm 4,87$; $p < 0,0005$; рис. 3).

Характеристики ишемических инсультов (патогенетический вариант, латерализация очага инфаркта, бассейн поражения, инсультовсвязанная артерия) не различались между пациентами с диссекциями и без них. Лица с диссекциями чаще курили (39,2% против 21,3%, $p = 0,005$), у них реже встречалась мерцательная аритмия (1,9% против 13,2%, $p = 0,01$), артериальная гипертензия (71,7% против 84,2%, $p = 0,022$), сахарный диабет (7,5% против 21,7%, $p = 0,01$).

На уровне тенденции ($p = 0,066$) отмечена взаимосвязь между наличием диссекции и проведением тромбозэкстракции в анамнезе. Выявлена достоверная зависимость между наличием диссекции и проведением каротидного стентирования в анамнезе ($p = 0,015$).

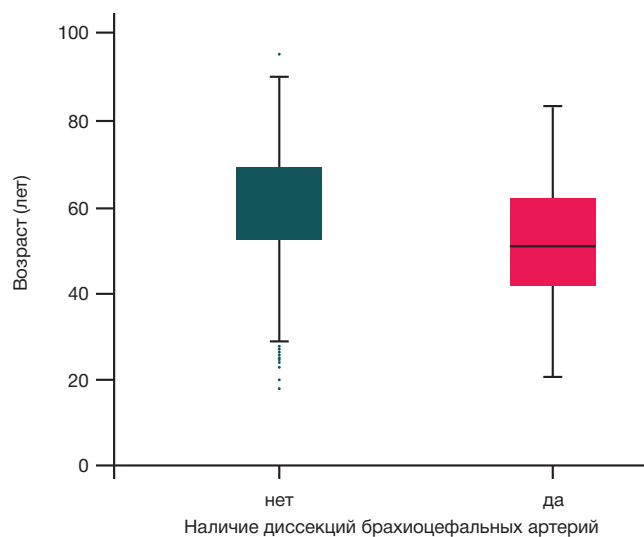


Рис. 2. Сравнение возраста пациентов с диссекциями и перенесшими ишемический инсульт без диссекций

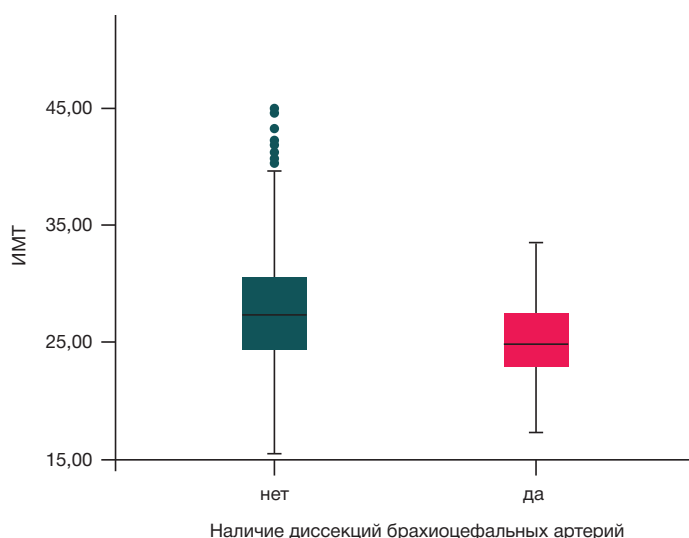


Рис. 3. Сравнение ИМТ пациентов, перенесших ишемический инсульт, с диссекциями БЦА и без таковых

По результатам ЭКГ, каких-либо особенностей у пациентов с наличием диссекций по сравнению с пациентами без них выявлено не было ($p > 0,05$).

По данным ЭхоКГ, у пациентов с наличием диссекций реже встречались расширение левого ($p = 0,014$) и правого ($p = 0,018$) предсердий, атеросклеротические изменения грудной аорты (на уровне тенденции — $p = 0,073$) (табл. 2).

По данным ЭхоКГ, у пациентов с наличием диссекций достоверно реже диагностировались признаки аортального стеноза (4,0% против 16,7%, $p = 0,017$).

В группе с наличием диссекций, по данным мскТА, достоверно реже встречались атеросклеротические бляшки (АСБ) в ОСА (30–40% против 60% в зависимости от стороны, $p < 0,002$).

По данным КТ и ДС БЦА, у пациентов с наличием диссекций реже наблюдали деформации брахицефальных артерий, в том числе ВСА ($p < 0,05$) (табл. 3).

По данным ДС БЦА, у пациентов с наличием диссекций достоверно реже отмечали наличие внутрипросветных образований в правой подключичной артерии (24,0% против 39,3%, $p = 0,037$). Для левой подключичной артерии, а также обеих ОСА и ВСА такой закономерности получено не было ($p > 0,05$). Нарушение дифференцировки комплекса интима-медиа в правой и левой ОСА при наличии диссекций встречалось достоверно реже ($p < 0,0001$).

В группе с наличием диссекций достоверно чаще диагностировались признаки тромбоза правой и левой ВСА, по данным ДС БЦА (13% против 4,6%, $p = 0,021$ и 15,2% против 4,2%, $p = 0,004$ соответственно), в сравнении с таковой без диссекций. По данным ДС БЦА, также при диссекциях чаще отмечали снижение

пиковой систолической скорости кровотока в интракраниальных отделах правой и левой ВСА ($p = 0,005$ и $p = 0,003$ соответственно), чаще фиксировали признаки функционирования глазного анастомоза слева ($p = 0,058$), а также коллатерализации в пределах Виллизиева круга — перетока по передней ($p = 0,026$) и задней соединительной артерии ($p = 0,006$).

Достоверно чаще, по данным ДС вен нижних конечностей, у лиц с диссекциями отмечали признаки тромбоза поверхностных вен ($p = 0,037$).

По данным мскТА, не было выявлено взаимосвязи между наличием диссекции и структурой АСБ (кальцинированные, мягкие, смешанные), а также признаками их изъязвлений и особенностями локализации относительно стенок артерий ($p > 0,05$).

В группе с наличием диссекций оказались менее выраженными изменения перивентрикулярного и глубокого белого вещества головного мозга по данным МРТ ($p < 0,0005$ и $p = 0,001$). Примечательно, что у пациентов с наличием диссекций, по данным МРТ, не встречались стратегические инфаркты, затрагивающие область таламуса (0% против 40,2%; $p < 0,0005$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учитывая, что выборка, анализируемая в нашем исследовании, состоит из перенесших ИИ, полученные данные демонстрируют отсутствие серьезных различий характеристик собственно инсультов при диссекциях и без таковых. Возможно, что независимо от пускового фактора внутрисосудистого тромбоза (АСБ или

Таблица 2. Данные ЭхоКГ пациентов с наличием диссекций и без таковых

Показатель	Диссекции не выявлено	Диссекции
Расширение левого предсердия, чел. (доля, %)		
– есть	716 (54,2%)	18 (36%)
– нет	606 (45,8%)	32 (64%)
Расширение правого предсердия, чел. (доля, %)		
– есть	537 (40,8%)	12 (24%)
– нет	778 (59,2%)	38 (76%)
Поражение грудной аорты, чел. (доля, %)		
– есть	272 (20,7%)	5 (10%)
– нет	1045 (79,3%)	45 (90%)

Таблица 3. Деформации ВСА по данным ДС БЦА в зависимости от наличия диссекции

Характеристика	Диссекции не выявлено	Диссекции
Деформация хода правой ВСА		
– есть	91 (7,0%)	1 (2,1%)
– нет	1211 (93%)	46 (97,9%)
Деформация хода левой ВСА		
– есть	96 (7,5%)	1 (2,1%)
– нет	1185 (92,5%)	46 (97,9%)

диссекция) дальнейшие события (артерио-артериальная эмболия) развиваются стереотипно. Аналогичное мнение преобладает и в литературе [18].

Обращает на себя внимание более молодой возраст пациентов с диссекциями в сравнении со случаями ИИ без диссекций. При этом средний возраст наших пациентов с ИИ оказался аналогичным ранее приведенному другими авторами [19–25]. Вероятно, это отражает роль наследственных особенностей, предрасполагающих к развитию диссекций БЦА.

Взаимосвязь между наличием диссекции и тромбоэкстракцией в острейшем периоде ИИ, а также проведением стентирования сонных артерий может свидетельствовать о значительной роли некоторых вмешательств в части случаев с диссекциями БЦА.

В результатах различных методов диагностики были выявлены отличия в зависимости от наличия либо отсутствия диссекций. В частности, обнаружение внутрипросветных образований в отдельных артериях, нарушение дифференцировки комплекса интима-медиа на слои, отражающие наличие атеросклеротического процесса, было более редким при наличии диссекций. В то же время признаки тромбоза ВСА встречались среди пациентов с диссекциями достоверно чаще. Нельзя исключить, что это связано с адгезией тромбоцитов в области повреждения (либо вторичном вовлечении) интимы при расслоении стенок артерии.

Данные ЭхоКГ продемонстрировали, что у пациентов с диссекциями реже встречается расширение левого и правого предсердия, а также атеросклеротические изменения грудной аорты и аортальный стеноз. Среди ранее опубликованных данных подобных сведений не встречается. Кроме того, в случаях с диссекциями при мСКТА реже выявляли АСБ в ОСА. Отсутствовала также взаимосвязь между наличием диссекции, структурой и локализацией АСБ. Очевидно, что частота перечисленных феноменов увеличивается с возрастом, поэтому вполне закономерно, что у более молодых пациентов с диссекциями атеросклеротические поражения аорты и магистральных артерий, а также проявления кардиальной патологии встречались реже. Помимо этого, имеются сведения, что при определении полиморфизма апополипротеина Е по результатам ДНК-анализа было показано, что аллель ϵ 4, по-видимому, участвует в развитии преждевременного атеросклероза сонных артерий и в то же время может оказывать защитное действие в отношении возникновения диссекций [26]. Следовательно, полностью нельзя исключить то, что помимо возрастных межгрупповых отличий в нашем исследовании могли играть роль факторы, обусловленные наследственными особенностями.

Более частое обнаружение у пациентов с диссекциями снижения линейных скоростей кровотока в интракраниальном отделе ВСА, функционирование глазного анастомоза на стороне диссекции, коллатерализации в сторону бассейна пораженной артерии по

передней и задней соединительным артериям может свидетельствовать о гемодинамической значимости ряда выявленных расслоений, но судить об их роли в генезе церебрального инсульта (при совпадении локализации инфарктного очага и диссекции) затруднительно. Частота и характер инсульта не зависят от степени стеноза при расслоении артерии, однако в случаях с окклюзирующими диссекциями инфаркты оказывались более обширными в сравнении с неокклюзирующими [27].

В соответствии с результатами мСКТА, в настоящем исследовании при выявлении диссекций реже наблюдали деформации различных БЦА, что может быть связано с более молодым возрастом или быть проявлением большей жесткости стенок сосудов (возможно, это и является одним из важных предрасполагающих к развитию расслоений факторов). Среди опубликованных результатов более ранних исследований встречаются противоположные заключения — об ассоциации слабости соединительной ткани, извитости сонных артерий и их диссекций при фиброзно-мышечной дисплазии [28], что, по всей видимости, следует относить на счет избыточной «мягкости» (недостаточной жесткости) стенок артерий в случаях недостаточности соединительной ткани. В нашей выборке таких случаев было мало, что также подтверждается отсутствием взаимосвязи между наличием диссекции и признаками варикозной болезни вен нижних конечностей. Тем не менее, у лиц с наличием диссекций достоверно чаще выявляли признаки тромбоза поверхностных вен, что, помимо состояния системы гемостаза, может быть следствием структурных особенностей стенок сосудов.

При регистрации диссекций были менее выражены изменения перивентрикулярного и глубокого белого вещества головного мозга — проявления микроангиопатии, выявляемые МРТ, что, по всей видимости, также было связано с более молодым возрастом. При этом значимых различий выраженности локальной атрофии коры головного мозга не было.

Труднообъяснимо отсутствие поражений зоны таламусов при ишемических инсультах в случаях с диагностированными диссекциями. Данный факт нуждается в проверке на более многочисленных выборках.

Известно, что, по данным МРТ, характер инфаркта при диссекции сонных артерий преимущественно корковой локализации (80%), субкортикальный (60%), в бассейне СМА (99%), в зонах смежного кровоснабжения (5%), передней (4%) и задней мозговой артерии (3%) [29, 30]. По результатам нашего исследования, инфаркт в бассейне СМА отмечали в 94% случаев среди пациентов с диссекциями сонных артерий, что согласуется с приведенными данными.

ВЫВОДЫ

По результатам настоящего исследования было установлено, что пациенты, перенесшие ИИ, с диссекциями БЦА оказались моложе таковых без диссекций, у них реже

выявляли расширение левого и правого предсердий, а также признаки атеросклеротических изменений грудной аорты и общих сонных артерий, деформации различных БЦА. В данной группе также были менее выражены изменения перивентрикулярного и глубокого белого вещества головного мозга (проявления микроангиопатии или болезни малых сосудов, зарегистрированных при МРТ).

При сопоставлении результатов комплексного обследования пациентов с диссекциями экстракраниальных отделов БЦА и без таковых, перенесших ИИ, комплекс выявленных отличий наиболее вероятно связан с возрастными особенностями (более молодым возрастом пациентов с диссекциями), а также другими факторами, в том числе наследственными.

Литература

1. Tian C, Cao X, Wang J. Recanalisation therapy in patients with acute ischaemic stroke caused by large artery occlusion: choice of therapeutic strategy according to underlying aetiological mechanism? *Stroke Vasc Neurol.* 2017; 2 (4): 244–50. DOI: 10.1136/svn-2017-000090.
2. Patil S, Rossi R, Jabrah D, Doyle K. Detection, diagnosis and treatment of acute ischemic stroke: current and future perspectives. *Front Med Technol.* 2022; 4. DOI:10.3389/fmedt.2022.748949.
3. Willey JZ, Dittrich R, Kuhlensbaeumer G, Ringelstein EB. The outer arterial wall layers are primarily affected in spontaneous cervical artery dissection. *Neurology.* 2011; 77 (20): 1859. DOI:10.1212/WNL.0b013e318239bdcc.
4. Lee VH, Brown RD, Mandrekar JN, Mokri B. Incidence and outcome of cervical artery dissection: A population-based study. *Neurology.* 2006; 67 (10): 1809–12. doi:10.1212/01.wnl.0000244486.30455.71.
5. Grossberg JA, Haussen DC, Cardoso FB, et al. Cervical carotid pseudo-occlusions and false dissections. *Stroke.* 2017; 48 (3): 774–7. DOI:10.1161/STROKEAHA.116.015427.
6. Provenzale JM, Sarikaya B. Comparison of test performance characteristics of MRI, MR angiography, and CT angiography in the diagnosis of carotid and vertebral artery dissection: a review of the medical literature. *American Journal of Roentgenology.* 2009; 193 (4): 1167–74. DOI:10.2214/AJR.08.1688.
7. Vertinsky AT, Schwartz NE, Fischbein NJ, Rosenberg J, Albers GW, Zaharchuk G. Comparison of Multidetector CT Angiography and MR Imaging of cervical artery dissection. *American Journal of Neuroradiology.* 2008; 29 (9):1753–60. DOI:10.3174/ajnr.A1189.
8. Chen CJ, Tseng YC, Lee TH, Hsu HL, See LC. Multisection CT angiography compared with catheter angiography in diagnosing vertebral artery dissection. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2004; 25 (5): 769–74.
9. Rodallec MH, Marteau V, Gerber S, Desmottes L, Zins M. Craniocervical arterial dissection: spectrum of imaging findings and differential diagnosis. *RadioGraphics.* 2008; 28 (6): 1711–28. DOI:10.1148/rg.286085512.
10. Yang L, Ran H. Extracranial vertebral artery dissection. *Medicine.* 2018; 97 (9): e0067. DOI:10.1097/MD.00000000000010067.
11. Gardner DJ, Gosink BB, Kallman CE. Internal carotid artery dissections: duplex ultrasound imaging. *Journal of Ultrasound in Medicine.* 1991; 10 (11): 607–14. DOI:10.7863/jum.1991.10.11.607.
12. Nebelsieck J, Sengelhoff C, Nassenstein I, et al. Sensitivity of neurovascular ultrasound for the detection of spontaneous cervical artery dissection. *Journal of Clinical Neuroscience.* 2009; 16 (1): 79–82. DOI:10.1016/j.jocn.2008.04.005.
13. Ben Hassen W, Machet A, Edjlali-Goujon M, et al. Imaging of cervical artery dissection. *Diagn Interv Imaging.* 2014; 95 (12): 1151–61. DOI:10.1016/j.diii.2014.10.003.
14. Petro G, Witwer G, Cacayorin E, et al. Spontaneous dissection of the cervical internal carotid artery: correlation of arteriography, CT, and pathology. *American Journal of Roentgenology.* 1987; 148 (2): 393–8. DOI:10.2214/ajr.148.2.393.
15. Zuber M, Meary E, Meder JF, Mas JL. Magnetic resonance imaging and dynamic CT scan in cervical artery dissections. *Stroke.* 1994; 25 (3): 576–81. DOI:10.1161/01.STR.25.3.576.
16. Leclerc X, Godefroy O, Salhi A, Lucas C, Leys D, Pruvo JP. Helical CT for the diagnosis of extracranial internal carotid artery dissection. *Stroke.* 1996; 27 (3): 461–6. DOI:10.1161/01.STR.27.3.461.
17. Rodallec MH, Marteau V, Gerber S, Desmottes L, Zins M. Craniocervical arterial dissection: spectrum of imaging findings and differential diagnosis. *RadioGraphics.* 2008; 28 (6): 1711–28. DOI:10.1148/rg.286085512.
18. Morel A, Naggara O, Touzé E, et al. Mechanism of ischemic infarct in spontaneous cervical artery dissection. *Stroke.* 2012; 43 (5): 1354–61. DOI:10.1161/STROKEAHA.111.643338.
19. Nedeltchev K. Ischaemic stroke in young adults: predictors of outcome and recurrence. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2005; 76 (2): 191–5. DOI:10.1136/jnnp.2004.040543.
20. Leys D, Bandu L, Henon H, et al. Clinical outcome in 287 consecutive young adults (15 to 45 years) with ischemic stroke. *Neurology.* 2002; 59 (1): 26–33. DOI:10.1212/WNL.59.1.26.
21. Redekop GJ. Extracranial carotid and vertebral artery dissection: a review. *Canadian Journal of Neurological Sciences / Journal Canadien des Sciences Neurologiques.* 2008; 35 (2): 146–52. DOI:10.1017/S0317167100008556.
22. Tepper SJ, Bigal M, Taylor FR. Abstracts and citations. *Headache: the journal of head and face pain.* 2007; 47 (3): 454–60. DOI:10.1111/j.1526-4610.2007.00744.x.
23. Raser JM, Mullen MT, Kasner SE, Cucchiara BL, Messe SR. Cervical carotid artery dissection is associated with styloid process length. *Neurology.* 2011; 77 (23): 2061–6. DOI:10.1212/WNL.0b013e31823b4729.
24. Schievink WI, Roiter V. Epidemiology of cervical artery dissection. In: *handbook on cerebral artery dissection.* KARGER; 2005: 12–5. DOI:10.1159/000088125.
25. Fusco MR, Harrigan MR. Cerebrovascular dissections — a review part I: spontaneous dissections. *Neurosurgery.* 2011; 68 (1): 242–57. DOI:10.1227/NEU.0b013e3182012323.
26. Orlandi G, Fanucchi S, Mancuso M, et al. Dissection and atherosclerosis of carotid arteries in the young: role of the apolipoprotein E polymorphism. *Eur J Neurol.* 2002; 9 (1): 19–21. DOI:10.1046/j.1468-1331.2002.00340.x.
27. Naggara O, Morel A, Touzé E, et al. Stroke occurrence and patterns are not influenced by the degree of stenosis in cervical artery dissection. *Stroke.* 2012; 43 (4): 1150–2. DOI:10.1161/STROKEAHA.111.639021.
28. Bilman V, Apruzzi L, Baccellieri D, Sanvito F, Bertoglio L, Chiesa R. Symptomatic internal carotid artery dissection and kinking in a patient with fibromuscular dysplasia. *J Vasc Bras.* 2021; 20. DOI:10.1590/1677-5449.200243.
29. Lucas C, Moulin T, Deplanque D, et al. Stroke patterns of internal carotid artery dissection in 40 patients. *Stroke.* 1998; 29 (12): 2646–8. DOI:10.1161/01.STR.29.12.2646.
30. Baumgartner RW, Arnold M, Baumgartner I, et al. Carotid dissection with and without ischemic events: Local symptoms and cerebral artery findings. *Neurology.* 2001; 57 (5): 827–32.

References

- Tian C, Cao X, Wang J. Recanalisation therapy in patients with acute ischaemic stroke caused by large artery occlusion: choice of therapeutic strategy according to underlying aetiological mechanism? *Stroke Vasc Neurol.* 2017; 2 (4): 244–50. DOI: 10.1136/svn-2017-000090.
- Patil S, Rossi R, Jabrah D, Doyle K. Detection, diagnosis and treatment of acute ischemic stroke: current and future perspectives. *Front Med Technol.* 2022; 4. DOI:10.3389/fmedt.2022.748949.
- Willey JZ, Dittrich R, Kuhlenbaeumer G, Ringelstein EB. The outer arterial wall layers are primarily affected in spontaneous cervical artery dissection. *Neurology.* 2011; 77 (20): 1859. DOI:10.1212/WNL.0b013e318239bdcc.
- Lee VH, Brown RD, Mandrekar JN, Mokri B. Incidence and outcome of cervical artery dissection: A population-based study. *Neurology.* 2006; 67 (10): 1809–12. doi:10.1212/01.wnl.0000244486.30455.71.
- Grossberg JA, Haussen DC, Cardoso FB, et al. Cervical carotid pseudo-occlusions and false dissections. *Stroke.* 2017; 48 (3): 774–7. DOI:10.1161/STROKEAHA.116.015427.
- Provenzale JM, Sarikaya B. Comparison of test performance characteristics of MRI, MR angiography, and CT angiography in the diagnosis of carotid and vertebral artery dissection: a review of the medical literature. *American Journal of Roentgenology.* 2009; 193 (4): 1167–74. DOI:10.2214/AJR.08.1688.
- Vertinsky AT, Schwartz NE, Fischbein NJ, Rosenberg J, Albers GW, Zaharchuk G. Comparison of Multidetector CT Angiography and MR Imaging of cervical artery dissection. *American Journal of Neuroradiology.* 2008; 29 (9):1753–60. DOI:10.3174/ajnr.A1189.
- Chen CJ, Tseng YC, Lee TH, Hsu HL, See LC. Multisection CT angiography compared with catheter angiography in diagnosing vertebral artery dissection. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2004; 25 (5): 769–74.
- Rodallec MH, Marteau V, Gerber S, Desmottes L, Zins M. Craniocervical arterial dissection: spectrum of imaging findings and differential diagnosis. *RadioGraphics.* 2008; 28 (6): 1711–28. DOI:10.1148/rg.286085512.
- Yang L, Ran H. Extracranial vertebral artery dissection. *Medicine.* 2018; 97 (9): e0067. DOI:10.1097/MD.00000000000010067.
- Gardner DJ, Gosink BB, Kallman CE. Internal carotid artery dissections: duplex ultrasound imaging. *Journal of Ultrasound in Medicine.* 1991; 10 (11): 607–14. DOI:10.7863/jum.1991.10.11.607.
- Nebelsieck J, Sengelhoff C, Nassenstein I, et al. Sensitivity of neurovascular ultrasound for the detection of spontaneous cervical artery dissection. *Journal of Clinical Neuroscience.* 2009; 16 (1): 79–82. DOI:10.1016/j.jocn.2008.04.005.
- Ben Hassen W, Machet A, Edjlali-Goujon M, et al. Imaging of cervical artery dissection. *Diagn Interv Imaging.* 2014; 95 (12): 1151–61. DOI:10.1016/j.diii.2014.10.003.
- Petro G, Witwer G, Cacayorin E, et al. Spontaneous dissection of the cervical internal carotid artery: correlation of arteriography, CT, and pathology. *American Journal of Roentgenology.* 1987; 148 (2): 393–8. DOI:10.2214/ajr.148.2.393.
- Zuber M, Meary E, Meder JF, Mas JL. Magnetic resonance imaging and dynamic CT scan in cervical artery dissections. *Stroke.* 1994; 25 (3): 576–81. DOI:10.1161/01.STR.25.3.576.
- Leclerc X, Godefroy O, Salhi A, Lucas C, Leys D, Pruvo JP. Helical CT for the diagnosis of extracranial internal carotid artery dissection. *Stroke.* 1996; 27 (3): 461–6. DOI:10.1161/01.STR.27.3.461.
- Rodallec MH, Marteau V, Gerber S, Desmottes L, Zins M. Craniocervical arterial dissection: spectrum of imaging findings and differential diagnosis. *RadioGraphics.* 2008; 28 (6): 1711–28. DOI:10.1148/rg.286085512.
- Morel A, Naggara O, Touzé E, et al. Mechanism of ischemic infarct in spontaneous cervical artery dissection. *Stroke.* 2012; 43 (5): 1354–61. DOI:10.1161/STROKEAHA.111.643338.
- Nedelchev K. Ischaemic stroke in young adults: predictors of outcome and recurrence. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2005; 76 (2): 191–5. DOI:10.1136/jnnp.2004.040543.
- Leys D, Bandu L, Henon H, et al. Clinical outcome in 287 consecutive young adults (15 to 45 years) with ischemic stroke. *Neurology.* 2002; 59 (1): 26–33. DOI:10.1212/WNL.59.1.26.
- Redekop GJ. Extracranial carotid and vertebral artery dissection: a review. *Canadian Journal of Neurological Sciences / Journal Canadien des Sciences Neurologiques.* 2008; 35 (2): 146–52. DOI:10.1017/S0317167100008556.
- Tepper SJ, Bigal M, Taylor FR. Abstracts and citations. *Headache: the journal of head and face pain.* 2007; 47 (3): 454–60. DOI:10.1111/j.1526-4610.2007.00744.x.
- Raser JM, Mullen MT, Kasner SE, Cucchiara BL, Messe SR. Cervical carotid artery dissection is associated with styloid process length. *Neurology.* 2011; 77 (23): 2061–6. DOI:10.1212/WNL.0b013e31823b4729.
- Schievink WI, Roiter V. Epidemiology of cervical artery dissection. In: *handbook on cerebral artery dissection.* KARGER; 2005: 12–5. DOI:10.1159/000088125.
- Fusco MR, Harrigan MR. Cerebrovascular dissections — a review part I: spontaneous dissections. *Neurosurgery.* 2011; 68 (1): 242–57. DOI:10.1227/NEU.0b013e3182012323.
- Orlandi G, Fanucchi S, Mancuso M, et al. Dissection and atherosclerosis of carotid arteries in the young: role of the apolipoprotein E polymorphism. *Eur J Neurol.* 2002; 9 (1): 19–21. DOI:10.1046/j.1468-1331.2002.00340.x.
- Naggara O, Morel A, Touzé E, et al. Stroke occurrence and patterns are not influenced by the degree of stenosis in cervical artery dissection. *Stroke.* 2012; 43 (4): 1150–2. DOI:10.1161/STROKEAHA.111.639021.
- Bilman V, Apruzzi L, Baccellieri D, Sanvito F, Bertoglio L, Chiesa R. Symptomatic internal carotid artery dissection and kinking in a patient with fibromuscular dysplasia. *J Vasc Bras.* 2021; 20. DOI:10.1590/1677-5449.200243.
- Lucas C, Moulin T, Deplanque D, et al. Stroke patterns of internal carotid artery dissection in 40 patients. *Stroke.* 1998; 29 (12): 2646–8. DOI:10.1161/01.STR.29.12.2646.
- Baumgartner RW, Arnold M, Baumgartner I, et al. Carotid dissection with and without ischemic events: Local symptoms and cerebral artery findings. *Neurology.* 2001; 57 (5): 827–32.

НЕЙРОСЕТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ СОЧЕТАНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ И САХАРНОГО ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА

В. Ф. Фокин✉, Н. В. Пономарева, Р. Н. Коновалов, А. А. Шабалина, Р. Б. Медведев, О. В. Лагода, А. И. Боровова, М. В. Кротенкова, М. М. Танашян

Научный центр неврологии, Москва, Россия

Хроническая ишемия головного мозга (ХИМ), осложненная сахарным диабетом 2-го типа (СД2), характеризуется более тяжелым течением, связанным с хронической гипергликемией. Цель работы — исследовать организацию коннективности нейросетей мозга по данным функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) покоя у пациентов с ХИМ, страдающих диабетом 2-го типа, по сравнению с больными ХИМ без диабета. В исследовании приняли участие 257 пациентов: 81 мужчина и 176 женщин в возрасте 50–85 лет с ХИМ, часть из которых болели СД2. Оценивали метаболические показатели, состояние мозгового кровообращения, а также когнитивные функции. С помощью фМРТ покоя анализировали коннективную организацию нейросетей мозга. У больных ХИМ с СД2 показатели коннективности ряда нейросетей мозга с учетом поправки на множественность сравнений FDR (False discovery rate) статистически достоверно снижены (p (FDR) < 0,05) по сравнению с больными ХИМ без СД2. Это коннективности речевой нейросети правого полушария с парагиппокампальной областью левого полушария и с угловой извилиной правого полушария, которая является составной частью сети пассивного режима работы мозга. Коннективность передней поясной извилины, входящей в салиентную нейросеть, с верхней височной извилиной была значимо ниже у больных ХИМ с СД2. Достоверные изменения затрагивают и мозжечковые сети. В целом, размер и нормированная интенсивность большинства исследованных нейросетей покоя ниже у больных ХИМ с диабетом.

Ключевые слова: хроническая ишемия мозга, сахарный диабет 2-го типа, функциональная МРТ покоя, коннективность, размер и интенсивность нейросетей

Финансирование: работа поддержана грантом РФФ 22-15-00448.

Вклад авторов: В. Ф. Фокин — написание статьи; Н. В. Пономарева — дизайн физиологических и нейропсихологических исследований, общий дизайн работы; Р. Н. Коновалов — дизайн нейровизуализационных исследований; А. А. Шабалина — биохимические исследования; Р. Б. Медведев — доплерографические исследования; О. В. Лагода — клинические исследования; А. И. Боровова — психофизиологические исследования; М. В. Кротенкова — руководство нейровизуализационными исследованиями; М. М. Танашян — руководство клиническими исследованиями, общий дизайн работы.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено локальным этическим комитетом Научного центра неврологии (протокол № 5-6/22 от 1 июня 2022 г.). Получено информированное согласие всех участников обследований.

✉ **Для корреспонденции:** Виталий Федорович Фокин
Волоколамское шоссе, д. 80, г. Москва, 125367, Россия; fvf@mail.ru

Статья получена: 14.09.2023 **Статья принята к печати:** 22.09.2023 **Опубликована онлайн:** 31.10.2023

DOI: 10.24075/vrgmu.2023.042

CEREBRAL NEURAL NETWORKS IN CASES OF CONCOMITANT CHRONIC CEREBRAL ISCHEMIA AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Fokin VF✉, Ponomareva NV, Konovalov RN, Shabalina AA, Medvedev RB, Lagoda OV, Boravova AI, Krotenkova MV, Tanashyan MM

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

With type 2 diabetes mellitus (DM2) as a concomitant disease, chronic cerebral ischemia (CCI) has a more severe course because of chronic hyperglycemia. Using resting state functional MRI (fMRI) data, this study aimed to investigate connectivity of cerebral neural networks in patients that have CCI with DM2 and without DM2. The study involved 257 CCI patients (81 male and 176 female, aged 50–85 years) some of whom had DM2. We assessed metabolic parameters, state of cerebral circulation, and cognitive functions. Resting fMRI was used for the analysis of structure of connectivity of cerebral neural networks. With false discovery rate (FDR) factored in, CCI patients with DM2 had values of some indicators of connectivity of cerebral neural networks at a level significantly lower than CCI patients without DM2 (p (FDR) < 0.05). Namely, the indicators in question were those of connectivity of right hemisphere's speech neural network, left hemisphere's parahippocampal region, and angular gyrus of the right hemisphere, which is an integral part of the brain's passive mode network. Also, CCI patients with DM2 had significantly poorer connectivity of anterior cingulate gyrus, part of the salient neural network, and superior temporal gyrus. There are significant changes in the cerebellar networks, too. Overall, the size and intensity of most of the neural networks studied in resting state are lower in CCI patients with DM2.

Keywords: chronic cerebral ischemia, type 2 diabetes mellitus, resting state functional MRI, connectivity, size and intensity of neural networks

Funding: the study was supported through the grant by RSF 22-15-00448.

Author contribution: Fokin VF — article authoring; Ponomareva NV — design of physiological and neuropsychological tests, general design of the study; Konovalov RN — design of neuroimaging evaluation; Shabalina AA — biochemical tests; Medvedev RB — dopplerography; Lagoda OV — clinical tests; Boravova AI — psychophysiological tests; Krotenkova MV — management of neuroimaging evaluation; Tanashyan MM — management of clinical tests, general design of the study.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the local Ethical Committee of the Research Center of Neurology (Minutes #5-6/22 of June 1, 2022). All participants submitted signed informed consent forms.

✉ **Correspondence should be addressed:** Vitaly Fedorovich Fokin
Volokolamskoye shosse, 80, Moscow, 125367, Russia; fvf@mail.ru

Received: 14.09.2023 **Accepted:** 22.09.2023 **Published online:** 31.10.2023

DOI: 10.24075/brsmu.2023.042

Хроническая ишемия мозга (ХИМ) — заболевание, при котором происходит снижение притока крови к мозгу по магистральным и мелким артериям головы, что приводит к различным нарушениям работы мозга. ХИМ, как правило, развивается в пожилом и старческом возрасте. Обычно

это сопровождается сужением и потерей эластичности артерий, снабжающих мозг кровью, вследствие атеросклероза, гипертонии, диабетической ангиопатии и других патологических процессов. Коморбидность ХИМ и сахарного диабета второго типа (СД2) — распространенное

явление. СД2 усугубляет ишемическое повреждение головного мозга, однако влияние этой коморбидности на коннективную организацию мозга изучено недостаточно [1].

Избыток глюкозы у больных СД2 может вызвать дегенерацию нейронов и связанные с этим неврологические заболевания и когнитивные нарушения. Высокий уровень глюкозы в крови влияет на клетки, которые имеют ограниченную способность регулировать потребление глюкозы. Это, в первую очередь, эндотелиальные клетки, как и нейроны периферической и центральной нервной системы [2]. Скачки уровня глюкозы влияют на микроглиальную активность, которая способствует развитию воспалительных процессов [3]. Хроническая гипергликемия приводит к ряду патофизиологических изменений, усиливающих ее токсическое воздействие на клетки, ткани и системы органов. Некоторые нейроны начинают избыточно выделять нейромедиаторы, например, глутамат — один из наиболее распространенных возбуждающих нейромедиаторов, способный оказывать эксайтотоксическое действие [4]. Избыток глюкозы приводит к снижению способности нейронов к обработке информации и нарушению межнейронных контактов. Отчасти это может быть связано со снижением уровня глюкозы в межклеточном пространстве, что влияет на взаимодействие между нейронами [5–7]. Существуют данные, свидетельствующие о том, что мозг играет активную роль в гомеостазе глюкозы, однако относительная важность данного фактора по сравнению с другими пока неясна [8].

Глюкоза переносится в клетки мозга с помощью транспортеров. Glut1 и Glut2 — белки-транспортеры глюкозы, участвующие в процессе переноса глюкозы через клеточные мембраны. У пациентов с диабетом 2 типа инсулинорезистентность может нарушать способность глюкозы поступать в клетки мозга, что приводит к снижению церебрального энергетического обмена. Исследования с использованием позитронно-эмиссионной томографии показали, что у таких лиц наблюдается снижение метаболизма глюкозы в определенных областях мозга, таких как префронтальная кора и гиппокамп. Эти области важны для когнитивных функций, памяти и принятия решений. Например, показано, что у пациентов с диабетом 2-го типа снижен метаболизм глюкозы в префронтальной коре головного мозга по сравнению со здоровыми людьми, с чем связаны более низкие показатели в когнитивных тестах. Есть также сведения о том, что в мозге пациентов с диабетом 2 типа возможно нарушение функции митохондрий. Было обнаружено, что у таких пациентов функция митохондрий в головном мозге снижена по сравнению со здоровыми людьми, с чем связано ухудшение когнитивных способностей [9–12].

Нарушение метаболизма глюкозы сопровождается перестройкой межнейронных связей, изучение

которых необходимо для понимания работы мозга больных ХИМ с СД2. Этому способствуют исследования, выполненные с помощью функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) — современного метода нейровизуализации, позволяющего изучать коннективность, или функциональную связанность, между различными областями мозга, без чего в настоящее время невозможен дальнейший прогресс неврологии [13]. Существует большое количество литературы об особенностях структурно-функциональной организации мозга у больных ХИМ и СД2, однако изменение функциональной коннективности мозга у таких пациентов по данным фМРТ покоя изучено недостаточно. BOLD-сигнал — это соотношение между окисленными и восстановленными формами гемоглобина. Предполагается, что синхронизация BOLD-сигналов в разных областях мозга отражает синхронизацию нейронной активности в этих областях. Данный подход доказал свою эффективность на практике, что позволяет изучать коммуникации между различными областями мозга. Информация, полученная с помощью оценки синхронизации BOLD-сигнала, дает количественную оценку силы межнейронных связей, а также указывает на знак такого взаимодействия.

При ХИМ нарушение церебрального кровообращения может иметь значительные последствия для работы центральной нервной системы, включая снижение когнитивных способностей и повышенный риск инсульта. Коморбидность с СД2 увеличивает риск микрососудистых и макрососудистых осложнений, включая ишемический инсульт, а также болезнь мелких сосудов, что значительно усиливает общий патогенный эффект васкулярной дисфункции и снижает эффективность взаимодействия между различными областями мозга [14].

Цель работы — исследовать организацию коннективности нейросетей мозга по данным фМРТ покоя у пациентов с ХИМ, страдающих диабетом 2-го типа, по сравнению с больными ХИМ без диабета. Мы стремились понять потенциальное влияние СД2 на коннективную организацию мозга в условиях хронической ишемии и оценить роль коморбидности этих заболеваний в развитии когнитивных и других нарушений, связанных с хронической церебральной ишемией, что может послужить основой для разработки новых методов лечения и профилактики этих заболеваний.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовали 257 больных (81 мужчина и 176 женщин) в возрасте 50–85 лет с ХИМ (табл. 1). Часть больных, 80 человек (31%), была больна СД2. Демографические характеристики обследуемых представлены в табл. 1. Средняя давность заболевания ХИМ: $10,1 \pm 0,7$ лет.

Таблица 1. Демографические характеристики больных ХИМ с СД2 и без СД2

	Кол-во мужчин	Кол-во женщин	ИМТ тела мужчин	ИМТ тела женщин	Возраст мужчин	Возраст женщин	Образование высшее / среднее, мужчины	Образование высшее/ среднее, женщины
Больные ХИМ без СД2 (1-я группа)	59	120	$27,1 \pm 0,5$	$27,6 \pm 0,5$	$64,7 \pm 1,4$	$67,2 \pm 0,7$	*35/23	57/52
Больные ХИМ с СД2 (2-я группа)	23	57	* $30,2 \pm 1,3$	* $30,2 \pm 0,9$	$67,2 \pm 2,1$	$68,9 \pm 1,1$	*14/8	24/25

Примечания: представлены средние значения \pm стандартные ошибки.

Таблица 2. Биохимические, психометрические и гемодинамические показатели, достоверно различающиеся в двух группах больных ХИМ (с отсутствием и наличием СД2) (анализ по ANOVA), а также средние значения и стандартные ошибки показателей в этих группах больных ХИМ

	Дисперсионный анализ (ANOVA)			Среднее ± станд. ошибка	
	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	1-я группа	2-я группа
Глюкоза, ммоль/л	257	154,9	0	5,2 ± 0,03	7,1 ± 0,22
Триглицериды, ммоль/л	247	24,4	0,000001	1,4 ± 0,005	1,9 ± 0,12
IL6, пг/мл	112	4,1	0,045333	157,03 ± 8,2	188,95 ± 14,2
СОЭ, мм/ч	248	16,2	0,000075	14,4 ± 0,7	19,5 ± 1,1
Фибриноген, г/л	236	10,9	0,001088	3,6 ± 0,06	3,9 ± 0,08
Индекс резистентности левой СМА	92	7,8	0,006389	0,52 ± 0,009	0,57 ± 0,016
Корректируемый тест БП ($K = F/A$)	242	9,4	0,002424	0,86 ± 0,0106	0,78 ± 0,0229

Примечания: *n* — количество обследованных, *F* — коэффициент Фишера, *p* — уровень значимости, СМА — средняя мозговая артерия, БП — буквенные паттерны, *K* — коэффициент успешности выполнения корректирующего теста.

Больные ХИМ были разделены на две группы: без (группа 1) и с СД2 (группа 2). Основные этиологические причины ХИМ: атеросклероз, артериальная гипертензия (включая гипертоническую болезнь), венозная недостаточность, диабетическая ангиопатия, васкулиты различной этиологии и т. д. Давность заболевания СД2: $15,8 \pm 1,1$ лет, больные без тяжелых макрососудистых осложнений и риска тяжелой гипогликемии. Критерии включения: пациенты с начальными проявлениями и субкомпенсацией ХИМ, не нуждающиеся в постоянной опеке со стороны окружающих [15–17]. Критерии исключения: деменция выраженностью 1 балл и более по клинически-рейтинговой шкале деменции [18], наличие в анамнезе острых нарушений мозгового кровообращения, черепно-мозговых травм, тяжелая кардиальная, почечная недостаточность, некомпенсированные нарушения функций щитовидной железы. Все пациенты были правшами.

Индекс массы тела (ИМТ) был выше у больных с СД2 как мужского пола, так и женского ($p = 0,006$ и $p = 0,009$ соответственно). Доля мужчин с высшим образованием была достоверно больше, чем доля женщин в обеих группах ($p < 0,01$).

Не нашли различий статистических показателей у мужчин и женщин в обеих группах по ИМТ, возрасту, доля мужчин в обеих группах статистически не различалась. Это дает основание исследовать организацию нейросетей в объединенных группах из мужчин и женщин.

Исследование фМРТ покоя

Обследуемым (83 больных ХИМ, из них — 27 с СД2) проводили фМРТ головного мозга для получения BOLD-сигнала на магнитно-резонансном томографе Magnetom Verio (Siemens; Германия) с величиной магнитной индукции 3,0 Тл. Функциональные сканы были получены в состоянии покоя с использованием T2*-взвешенной последовательности EPI: TR = 1 500 мс, TE = 30 мс, flip angle = 70°, толщина среза — 2 мм, FOV = 190 мм, фаза FoV — 100,0%. Исследуемым предлагали инструкцию: максимально расслабиться, лежать спокойно с закрытыми глазами (для исключения стимулирования зрительного анализатора) и не думать о чем-либо конкретном. МРТ-данные обрабатывали в программе SPM12 в среде MATLAB. Используя приложение CONN-18b на платформе SPM-12, анализировали связность в различных нейросетях мозга. CONN-18b представляет собой инструментарий с открытым исходным кодом на базе MATLAB [19].

Проводили сравнение связностей в двух группах больных ХИМ, отличающихся по наличию СД2, оценивая

достоверность различий по стандартизованному коэффициенту регрессии с поправкой на множественность сравнений (FDR — False Discovery Rate) в программе CONN-18b.

Для анализа нейросетей пользовались двумя основными характеристиками: размером и интенсивностью. Эти показатели — удобные и естественные инструменты для описания графов связности [20–22]. Размер нейросети — количество связностей, связывающих ее с другими образованиями. Интенсивность нейросети — сумма, без учета знака, значений T-критерия связностей конкретной нейросети. Использовали нормированную связность — отношение интенсивности к размеру изучаемой нейросети.

Когнитивные тесты

Больные выполняли корректирующую пробу для поиска буквенных паттернов, при которой в тексте без пробелов искали в течение трех минут две рядом стоящие одинаковые буквы. Подобное тестирование основано на идее n-back теста Кирчнера при $n = 1$, поскольку при $n > 1$ испытание оказывалось трудно выполнимым для большинства пациентов. Рассчитывали эффективность выполнения теста: количество найденных буквенных паттернов (двух рядом стоящих одинаковых букв) по отношению к существующему количеству таких сочетаний и к количеству просмотренных строк, а также общее количество просмотренного текста, разность между всеми буквенными паттернами и найденным числом паттернов. Кроме того, больных обследовали с помощью теста вербальной беглости, теста на вербальную память Лурия и теста MoCA. Эти когнитивные тесты были описаны ранее [23].

Дуплексное сканирование

Оценивали линейную скорость систолического и диастолического кровотока в правой и левой внутренних сонных, средних мозговых (СМА) и плечевых артериях. Цветовое дуплексное сканирование проводили на приборе Toshiba Viamo. Величину систолической линейной скорости кровотока и индекс периферического сопротивления в артериях исследовали по общепринятой методике с помощью линейного датчика с частотой 5,0–12,0 МГц.

Биохимические исследования

У больных проводили клинический анализ крови, который включал оценку глюкозы, триглицеридов, фибриногена,

СОЭ (скорость оседания эритроцитов) и другие показатели. Уровень интерлейкинов исследовали в пробах слюны. Определение цитокинов в слюне проводили твердофазным иммуноферментным методом (ELISA) сэндвич-типа. Для определения IL6 — наборы Вектор-Бест («Вектор-Бест»; Россия). Диапазон измерения: 1–2000 пг/мл. При всех исследованиях использовали калибраторы фирм-производителей реагентов с дополнительно приобретенными калибраторами.

Исследование проводили в дублях на плашечном ридере VICTOR 2 (Perkin Elmer; США) с использованием контрольных образцов с низким и высоким содержанием изучаемых параметров. У больных осуществляли сбор образцов слюны. Обследуемые не употребляли алкоголь в течение недели, а также чай или кофе за 1 ч до взятия анализа, далее сплевывали слюну в пробирку объемом не менее 1,5 мл, за 10 мин до этого прополоскав рот водой. Образцы слюны, загрязненные кровью, исключали из исследования, для определения загрязнения использовали набор иммуноферментного анализа [23]. Кроме того, регистрировали артериальное давление и частоту сердечных сокращений.

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica-12 (Dell; США). Оценивали нормальность распределения по критерию Колмогорова–Смирнова. Вычисляли средние арифметические, стандартные ошибки, проводили однофакторный дисперсионный и корреляционный анализы. При анализе нейросетей вычисляли *t*-критерий по Стьюденту, использовали поправку на множественность сравнений — FDR (False Discovery Rate). Оценивали размер и нормированную интенсивность нейросетей.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Больные ХИМ двух групп (с СД2 и без) отличались по ряду биохимических, гемодинамических и когнитивных показателей, а также по характеристикам воспалительных процессов, указывающих на серьезные метаболические и иные различия в деятельности головного мозга и организма (табл. 2).

Полученные данные указывают на серьезные различия в двух группах, связанные с углеводным и липидным обменом (глюкоза, триглицериды), процессами воспаления (IL6, СОЭ), гемодинамическими показателями и когнитивными функциями. Показатели воспаления повышены в двух группах больных, однако у больных СД2 изменения более выражены. Показатели корректурного теста у больных 2-й группы (с СД2) снижены.

Таблица 3. Характеристики различий коннективностей в нейросетях, преобладающих у больных ХИМ без СД2 по сравнению с больными ХИМ с СД2

Коннективности нейросетей	<i>T</i> -критерий (71)	<i>p</i> (некорр)	<i>p</i> (FDR)
Cereb7 r — Ver45	3,99	0,0002	0,0259
AC — pSTG r	3,89	0,0002	0,0364
Language, IFG r — aPaHC	3,62	0,0006	0,0472
Language, IFG r — AG r	3,6	0,0006	0,0472

Примечания: условные обозначения те же, что на рис. 1; *T*-критерий — двухсторонний *T*-критерий Стьюдента, цифры в скобках — число степеней свободы; *p* (некорр.) — уровень значимости без поправки на множественность сравнений; *p* (FDR) — уровень значимости с поправкой на множественность сравнений (поправка на принятие ложноположительных решений).

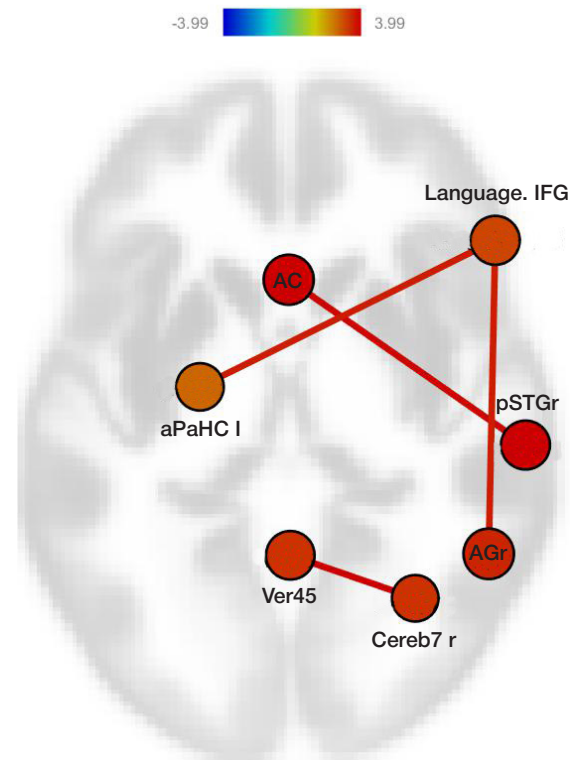


Рис. 1. Статистически значимое преобладание положительных коннективностей в группе больных ХИМ без СД2 по сравнению с больными ХИМ с СД2. Распределение коннективностей по областям мозга. Вверху — цветовая шкала *T*-критерия. Cereb — Cerebellum (мозжечок); Ver — Vermis (червь); Language — речевая нейросеть; IFG — Inferior Frontal Gyrus (нижняя лобная извилина); AC — Cingulate Gyrus, anterior division (передняя часть поясной извилины); pSTG r — Superior Temporal Gyrus, posterior division, r (верхняя височная извилина, задняя часть, правое полушарие); aPaHC I — Parahippocampal Gyrus, anterior division, Left (передняя часть парагиппокампальной извилины левого полушария); AG r — Angular Gyrus, r (угловая извилина, правое полушарие). Цифры после Cereb, Ver — области мозжечка и червя

Выявленные различия, возможно, имеют связь с организацией нейросетей. На рис. 1 и в табл. 3 приведены данные о нейросетях мозга, в которых все достоверно различающиеся коннективности были статистически значимо более высокими в группе больных ХИМ без СД2 по сравнению с группой больных ХИМ и СД2.

Таким образом, обнаружены нейросети, показатели коннективности в которых достоверно различаются с учетом поправки на множественность сравнений и уровнем значимости *p* (FDR) < 0,05 для двух групп больных. Как следует из полученных данных, измененные коннективности связаны с крупными нейронными сетями (сеть по умолчанию, салиентной, мозжечковой, речевой). Это предполагает, что потенциальные изменения организации нейросетей могут затрагивать работу этих сетей и значительные регионы мозга.

Таблица 4. Количество коннективностей (размер) и их нормированная интенсивность для нейросетей мозга, по данным фМРТ, в двух группах больных ХИМ с отсутствием СД2 и наличием диабета

Группы	Размер			Нормированная интенсивность		
	1	2	1-2	1	2	1-2
Default Mode Network, Lateral Prefrontal (L)	105	69	36	5,2	4,8	0,4
Default Mode Network, Lateral Prefrontal (R)	93	60	33	6	5,5	0,5
Sensory Motor Lateral (L)	115	90	25	7,3	6	1,3
Sensory Motor Lateral (R)	114	94	20	7,5	6,1	1,4
Visual Lateral (L)	91	72	19	5,9	5,8	0,1
Visual Lateral (R)	94	67	27	6,1	6,3	-0,2
Saliency anterior Insula (L)	95	66	29	6,9	6,7	0,2
Saliency anterior Insula (R)	108	83	25	7,1	6,7	0,4
Dorsal Attention, Frontal Eye (L)	55	32	23	5,3	3,1	2,2
Dorsal Attention, Frontal Eye (R)	86	44	42	5	4,9	0,1
Fronto Parietal, Posterior Parietal Cortex (L)	95	103	-8	6,2	4,8	1,4
Fronto Parietal, Posterior Parietal Cortex (R)	70	69	1	6,5	5,8	0,7
Language posterior, Superior Temporal Gyrus (L)	87	57	30	6,1	5,4	0,7
Language posterior, Superior Temporal Gyrus (R)	86	59	27	6,3	5,3	1
Cerebellar Anterior	97	76	21	6,5	5,1	1,4
Cerebellar Superior	112	93	19	6,5	5,5	1
Средние размеры нейросетей	93,4 ± 3,8	69,3 ± 4,5	23,7 ± 3,1	6,3 ± 0,18	5,5 ± 0,22	0,78 ± 0,16

Примечания: (L) — левое полушарие, (R) — правое полушарие; 1 и 2 — группы 1 (без СД2) и 2 (с СД2); 1-2 — разность показателей двух групп.

Поэтому можно предположить, что при СД2 перестройка связей в мозге не ограничивается только этими четырьмя коннективностями, но при данном заболевании наблюдаются и другие, возможно, менее значительные изменения в каждой сети, но характерные для большинства нейронных сетей и часто выпадающие из обсуждения. Существует два способа описания сетей — размер нейросети и ее интенсивность [24]. Второй показатель зависит от размера нейросети: чем больше размер, тем выше интенсивность. Поэтому целесообразно рассматривать нормированный показатель интенсивности нейросети (интенсивность, деленная на размер). В табл. 4 представлены эти показатели для двух групп больных.

Из полученных данных следует, что количество статистически значимых показателей коннективности, как правило, ниже у больных СД2. У этих же больных в большинстве нейросетей ниже нормированная интенсивность. Эти данные достоверны, исходя из параметрических критериев, а также непараметрических — критерия знаков, который свидетельствует о достоверном ($p < 0,01$) преобладании размера нейросетей и нормированной интенсивности у больных ХИМ без диабета по сравнению с этими же показателями у больных ХИМ с диабетом.

На рис. 2 представлено распределение коннективностей, выходящих из дорсальной сети внимания в правом полушарии.

Дорсальная сеть внимания в правом полушарии у больных ХИМ без СД2 значительно, почти в два раза, отличается по размеру от сети у группы больных ХИМ с СД2 (86 и 44). В левом полушарии она отличается несколько меньше, в 1,7 раза, однако разность нормированных интенсивностей в этой нейросети наибольшая (2,2) (табл. 4). Различия показателей коннективности этой нейросети наиболее заметны в лобной медиальной извилине левого полушария, в дорсальной сети внимания правого и левого полушария, в правой половине мозжечка, в правой теменной области и других. При этом некоторая

часть коннективностей высокой интенсивности остается стабильно высокой и у больных ХИМ с СД2. Это относится, в первую очередь, к сети дорсального внимания левого полушария, к постцентральной извилине левого полушария, к дополнительной моторной области обоих полушарий и некоторым другим образованиям.

Сопоставление данных нейросетей и значений из табл. 2 показывает, с какими изменениями в отношении углеводного, липидного обмена, воспаления, гемодинамики и когнитивных функций сопряжена реорганизация нейросетей. Дальнейшие исследования помогут выяснить, насколько сетевая реорганизация у больных СД2 может быть маркером этих изменений.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

СД2 — распространенное сопутствующее заболевание у пациентов с хронической церебральной ишемией. Согласно нашим собственным исследованиям и литературным данным, до трети пациентов с ХИМ имеют СД2 [25]. СД2 вызывает повреждение сосудистого эндотелия, который выполняет жизненно важные функции, играя паракринную, эндокринную и аутокринную роли, необходимые для поддержания нормального сосудистого баланса организма. Эндотелий регулирует целостность сосудов, их проницаемость, ангиогенез, гемостаз и иммунные реакции. Он контролирует сосудистый тонус, вазодилатацию и вазоконстрикцию, миграцию и пролиферацию гладкомышечных клеток, фибринолиз и тромбогенез. Нарушение эндотелиальной регуляции может привести к эндотелиальной дисфункции, которая часто наблюдается при СД2 [26]. При микрососудистых осложнениях она, в первую очередь, характеризуется снижением высвобождения NO, усилением окислительного стресса, повышением продукции факторов воспаления, экспрессией провоспалительных цитокинов и нарушением ангиогенеза [27]. По нашим данным, у пациентов ХИМ с СД2 наблюдается по сравнению с больными ХИМ без СД2

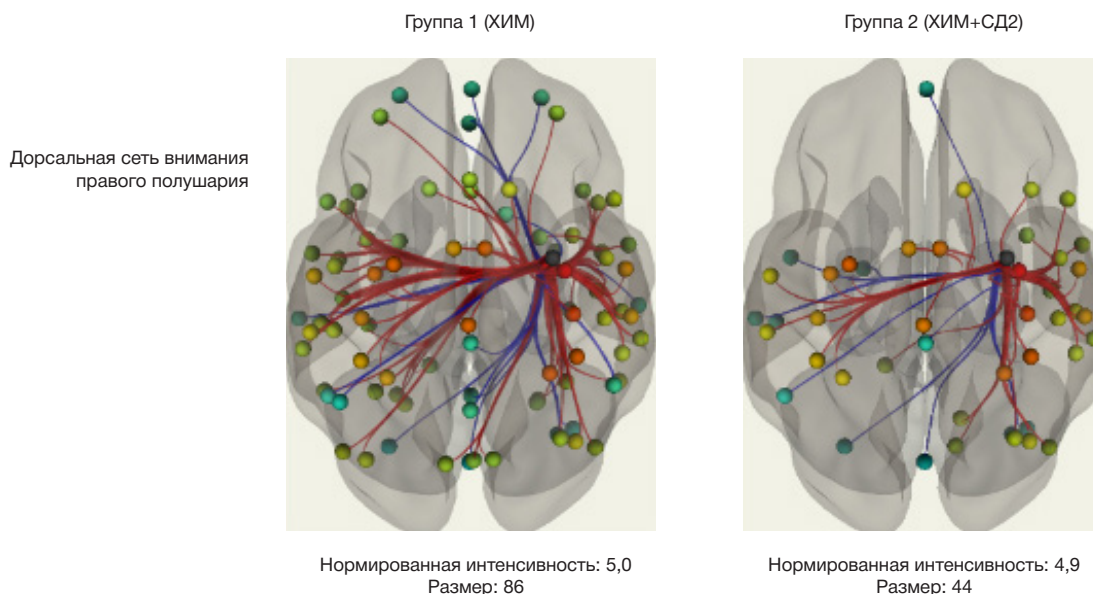


Рис. 2. Коннективности, связывающие дорсальную сеть внимания правого полушария с остальными областями мозга

повышение уровня провоспалительного интерлейкина 6 в слюне, значительное увеличение уровня СОЭ, нарушение липидного обмена, а также увеличение индекса резистентности СМА и снижение некоторых когнитивных функций [28]. Наши исследования показали, что СД2 оказывает влияние на организацию нейронных сетей, снижающую эффективность их функционирования.

По данным настоящей работы, достоверное снижение показателей коннективности у больных ХИМ с СД2 по сравнению с больными ХИМ без СД2 связано с рядом крупных нейросетей: речевая нейросеть правого полушария и ее связи с парагиппокампальной областью левого полушария и угловой извилиной правого полушария. Угловая извилина составляет часть сети пассивного режима работы мозга. Коннективность передней поясной извилины, входящей в салиентную нейросеть, с верхней височной извилиной также значимо выше у больных ХИМ без диабета. Достоверные изменения затрагивают и мозжечковые сети. Таким образом, относительно небольшое количество измененных коннективностей связано с крупными нейронными сетями: сетью по умолчанию, речевой и салиентной сетями. Это сопровождается многочисленными изменениями и в других нейронных сетях, что можно видеть по снижению нормированной интенсивности коннективных связей у больных диабетом по сравнению с больными ХИМ без СД2. У больных ХИМ, осложненной СД2, вследствие реорганизации нейросетей наблюдается почти на четверть снижение их размера. Понятно, что если скоррелированность отдельных узлов нейросети падает, то это приводит к уменьшению точности в передаче информации. Другие исследования также

показали, что СД2 может влиять на нейронные сети мозга [29, 30]. В них использовали различные методы, включая фМРТ покоя. Эти исследования позволяют предполагать, что СД2 может изменять нейронные сети, увеличивая риск значительного когнитивного снижения и деменции, что кажется вероятным из-за сокращения большого числа достоверно отличающихся от нуля показателей коннективности.

Выводы

СД2 — распространенное сопутствующее заболевание у пациентов с ХИМ, усугубляющее хроническое воспаление и эндотелиальную дисфункцию. Существенные различия наблюдали между пациентами с ХИМ, имеющими и не имеющими СД2, в отношении углеводного, липидного обмена, воспаления, гемодинамики и когнитивных функций. Маркеры воспаления повышены в двух группах больных, однако у больных ХИМ с СД2 изменения более выражены. Как и ожидалось, у пациентов с СД2 были выявлены значительные изменения в нейронных сетях, особенно в парагиппокампальной области, угловой, передней поясной и верхней височной извилинах, сетях мозжечка. Эти изменения сопровождаются уменьшением размера и интенсивности нейронных сетей, снижением их синхронизации, с чем, очевидно, связано уменьшение точности передачи информации между различными мозговыми структурами. Дальнейшие исследования могут развиваться в направлении поиска маркеров начальных изменений в организации нейросетей, обусловленных СД2 у больных ХИМ, и разработки средств их предупреждения.

Литература

1. Танашян М. М. Цереброваскулярная патология и метаболический синдром. М.: «АСТ 345», 2019; 376 с.
2. Bakker W, Eringa EC, Sipkema P, van Hinsbergh VW. Endothelial dysfunction and diabetes: roles of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity. *Cell Tissue Res.* 2009 Jan; 335 (1): 165–89. DOI: 10.1007/s00441-008-0685-6. PMID: 18941783.
3. Hsieh CF, Liu CK, Lee CT, Yu LE, Wang JY. Acute glucose fluctuation impacts microglial activity, leading to inflammatory activation or self-degradation. *Sci Rep.* 2019 Jan 29; 9 (1): 840. DOI: 10.1038/s41598-018-37215-0. PMID: 30696869; PMCID: PMC6351546.
4. Huang XT, Li C, Peng XP, Guo J, Yue SJ, Liu W, et al. An excessive increase in glutamate contributes to glucose-toxicity in β -cells via activation of pancreatic NMDA receptors in rodent diabetes. *Sci*

- Rep. 2017 Mar 17; 7: 44120. DOI: 10.1038/srep44120. PMID: 28303894. PMCID: PMC5356012.
5. Khalid M, Alkaabi J, Khan MAB, Adem A. Insulin signal transduction perturbations in insulin resistance. *Int J Mol Sci.* 2021 Aug 10; 22 (16): 8590. DOI: 10.3390/ijms22168590. PMID: 34445300. PMCID: PMC8395322.
 6. Sasaki-Hamada S, Sanai E, Kanemaru M, Kamanaka G, Oka JI. Long-term exposure to high glucose induces changes in the expression of AMPA receptor subunits and glutamate transmission in primary cultured cortical neurons. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022 Jan 22; 589: 48–54. DOI: 10.1016/j.bbrc.2021.11.108. PMID: 34891041.
 7. Giri B, Dey S, Das T, Sarkar M, Banerjee J, Dash SK. Chronic hyperglycemia mediated physiological alteration and metabolic distortion leads to organ dysfunction, infection, cancer progression and other pathophysiological consequences: An update on glucose toxicity. *Biomed Pharmacother.* 2018 Nov; 107: 306–28. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.07.157. PMID: 30098549.
 8. Roh E, Song DK, Kim MS. Emerging role of the brain in the homeostatic regulation of energy and glucose metabolism. *Exp Mol Med.* 2016 Mar 11; 48 (3): e216. DOI: 10.1038/emmm.2016.4. PMID: 26964832. PMCID: PMC4892882.
 9. Musen MA, NoyNF, ShahNH, WhetzelPL, ChuteCG, StoryMA, et al. The National Center for Biomedical Ontology: advancing biomedicine through structured organization of scientific knowledge. *Journal of the American Medical Informatics Association.* 2012; 19 (2): 190–5. DOI: 10.1136/amiajnl-2011-000523.
 10. Convit A, Wolf OT, Tarshish CY, de Leon MJ, Golomb J. Reduced glucose tolerance is associated with poor memory performance and hippocampal atrophy among normal elderly. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2003; 100 (4): 2019–22. DOI: /10.1073/pnas.0336073100.
 11. Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science.* 2005; 307 (5708): 384–7. DOI: 10.1126/science.1104343.
 12. Stiernman LJ, Grill F, Hahn A, Rischka L, Lanzenberger R, Panes Lundmark V, et al. Dissociations between glucose metabolism and blood oxygenation in the human default mode network revealed by simultaneous PET-fMRI. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021 Jul 6; 118 (27): e2021913118. DOI: 10.1073/pnas.2021913118. PMID: 34193521. PMCID: PMC8271663.
 13. Hu B, Yan LF, Sun Q, Yu Y, Zhang J, Dai YJ, et al. Disturbed neurovascular coupling in type 2 diabetes mellitus patients: Evidence from a comprehensive fMRI analysis. *Neuroimage Clin.* 2019; 22: 101802. DOI: 10.1016/j.nicl.2019.101802. PMID: 30991623. PMCID: PMC6447740.
 14. Chen R, Ovbiagele B, Feng W. Diabetes and stroke: epidemiology, pathophysiology, pharmaceuticals and outcomes. *Am J Med Sci.* 2016 Apr; 351 (4): 380–6. DOI: 10.1016/j.amjms.2016.01.011. PMID: 27079344. PMCID: PMC5298897.
 15. Танашян М. М., Максимова М. Ю., Домашенко М. А. Дисциркуляторная энцефалопатия. Путеводитель врачебных назначений. 2015; 2: 1–25.
 16. Батышева Т. Т., Артемова И. Ю., Вдовиченко Т. В. Хроническая ишемия мозга: механизмы развития и современное комплексное лечение. *Consilium medicum.* 2004; 3 (4).
 17. Захаров В. В., Локшина А. Б. Когнитивные нарушения при дисциркуляторной энцефалопатии. *PMЖ.* 2009; (20): 1325–31.
 18. Morris JC. Clinical dementia rating: a reliable and valid diagnostic and staging measure for dementia of the Alzheimer type. *Int. Psychogeriatric.* 1997; (9 Suppl 1): 173–6.
 19. Whitfield-Gabrieli S, Nieto-Castanon A. Conn: a functional connectivity toolbox for correlated and anticorrelated brain networks. *Brain Connect.* 2012; 2 (3): 125–41. DOI: 10.1089/brain.2012.0073. PMID: 22642651.
 20. Farahani FV, Karwowski W, Lighthall NR. Application of Graph Theory for Identifying Connectivity Patterns in Human Brain Networks: A Systematic Review. *Front Neurosci.* 2019 Jun 6; 13: 585. DOI: 10.3389/fnins.2019.00585. PMID: 31249501. PMCID: PMC6582769.
 21. Pedersini CA, Guàrdia-Olmos J, Montalà-Flaquer M, Cardobi N, Sanchez-Lopez J, Parisi G, et al. Functional interactions in patients with hemianopia: A graph theory-based connectivity study of resting fMRI signal. *PLoS One.* 2020 Jan 6; 15 (1): e0226816. DOI: 10.1371/journal.pone.0226816. PMID: 31905211. PMCID: PMC6944357.
 22. Xiong Y, Ye C, Chen Y, Zhong X, Chen H, Sun R, et al. Altered Functional Connectivity of Basal Ganglia in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Brain Sci.* 2022 Nov 15; 12 (11): 1555. DOI: 10.3390/brainsci12111555. PMID: 36421879. PMCID: PMC9688931.
 23. Фокин В. Ф., Шабалина А. А., Пономарева Н. В., Медведев П. Б., Лагода О. В., Танашян М. М. Изменчивость интерлейкинов при когнитивной нагрузке у больных с хронической ишемией мозга. *Вестник РГМУ.* 2020; 6: 142–8. DOI: 10.24075/vrgmu.2020.085.
 24. CONN Tutorial. Available from: <https://web.conn-toolbox.org/tutorials>.
 25. Lau LH, Lew J, Borschmann K, Thijs V, Ekinci EI. Prevalence of diabetes and its effects on stroke outcomes: A meta-analysis and literature review. *J Diabetes Investig.* 2019 May; 10 (3): 780–92. DOI: 10.1111/jdi.12932. PMID: 30220102. PMCID: PMC6497593.
 26. Kaur R, Kaur M, Singh J. Endothelial dysfunction and platelet hyperactivity in type 2 diabetes mellitus: molecular insights and therapeutic strategies. *Cardiovasc Diabetol.* 2018 Aug 31; 17 (1): 121. DOI: 10.1186/s12933-018-0763-3. PMID: 30170601. PMCID: PMC6117983.
 27. Shi Y, Vanhoutte PM. Macro- and microvascular endothelial dysfunction in diabetes. *J Diabetes.* 2017 May; 9 (5): 434–49. DOI: 10.1111/1753-0407.12521. PMID: 28044409.
 28. Фокин В. Ф., Пономарева Н. В., Медведев П. Б., Коновалов Р. Н., Кротенкова М. В., Лагода О. В. и др. Индекс резистентности внутренних сонных артерий и нейросети мозга при хронической церебральной ишемии. *Вестник РГМУ.* 2021; 6: 34–40. DOI: 10.24075/vrgmu.2021.055.
 29. Xu J, Chen F, Liu T, Wang T, Zhang J, Yuan H, et al. Brain Functional Networks in Type 2 Diabetes Mellitus Patients: A Resting-State Functional MRI Study. *Front Neurosci.* 2019 Mar 19; 13: 239. DOI: 10.3389/fnins.2019.00239. PMID: 30941007. PMCID: PMC6433793.
 30. Zhang Y, Wang J, Wei P, Zhang J, Zhang G, Pan C, et al. Interhemispheric resting-state functional connectivity abnormalities in type 2 diabetes patients. *Ann Palliat Med.* 2021 Jul; 10 (7): 8123–33. DOI: 10.21037/apm-21-1655. PMID: 34353097.

References

1. Танашян ММ. Тсереброваскуляри патология и метаболешески синдром. М.: «AST 345», 2019; p. 376. Russian.
2. Bakker W, Eringa EC, Sipkema P, van Hinsbergh WW. Endothelial dysfunction and diabetes: roles of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity. *Cell Tissue Res.* 2009 Jan; 335 (1): 165–89. DOI: 10.1007/s00441-008-0685-6. PMID: 18941783.
3. Hsieh CF, Liu CK, Lee CT, Yu LE, Wang JY. Acute glucose fluctuation impacts microglial activity, leading to inflammatory activation or self-degradation. *Sci Rep.* 2019 Jan 29; 9 (1): 840. DOI: 10.1038/s41598-018-37215-0. PMID: 30696869; PMCID: PMC6351546.
4. Huang XT, Li C, Peng XP, Guo J, Yue SJ, Liu W, et al. An excessive increase in glutamate contributes to glucose-toxicity in β -cells via activation of pancreatic NMDA receptors in rodent diabetes. *Sci Rep.* 2017 Mar 17; 7: 44120. DOI: 10.1038/srep44120. PMID: 28303894. PMCID: PMC5356012.
5. Khalid M, Alkaabi J, Khan MAB, Adem A. Insulin signal transduction perturbations in insulin resistance. *Int J Mol Sci.* 2021 Aug 10; 22 (16): 8590. DOI: 10.3390/ijms22168590. PMID: 34445300. PMCID: PMC8395322.
6. Sasaki-Hamada S, Sanai E, Kanemaru M, Kamanaka G, Oka JI. Long-term exposure to high glucose induces changes in

- the expression of AMPA receptor subunits and glutamate transmission in primary cultured cortical neurons. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022 Jan 22; 589: 48–54. DOI: 10.1016/j.bbrc.2021.11.108. PMID: 34891041.
7. Giri B, Dey S, Das T, Sarkar M, Banerjee J, Dash SK. Chronic hyperglycemia mediated physiological alteration and metabolic distortion leads to organ dysfunction, infection, cancer progression and other pathophysiological consequences: An update on glucose toxicity. *Biomed Pharmacother.* 2018 Nov; 107: 306–28. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.07.157. PMID: 30098549.
 8. Roh E, Song DK, Kim MS. Emerging role of the brain in the homeostatic regulation of energy and glucose metabolism. *Exp Mol Med.* 2016 Mar 11; 48 (3): e216. DOI: 10.1038/emm.2016.4. PMID: 26964832. PMCID: PMC4892882.
 9. Musen MA, Noy NF, Shah NH, Whetzel PL, Chute CG, Story MA, et al. The National Center for Biomedical Ontology: advancing biomedicine through structured organization of scientific knowledge. *Journal of the American Medical Informatics Association.* 2012; 19 (2): 190–5. DOI: 10.1136/amiajnl-2011-000523.
 10. Convit A, Wolf OT, Tarshish CY, de Leon MJ, Golomb J. Reduced glucose tolerance is associated with poor memory performance and hippocampal atrophy among normal elderly. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2003; 100 (4): 2019–22. DOI: /10.1073/pnas.0336073100.
 11. Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science.* 2005; 307 (5708): 384–7. DOI: 10.1126/science.1104343.
 12. Stiernman LJ, Grill F, Hahn A, Rischka L, Lanzenberger R, Panes Lundmark V, et al. Dissociations between glucose metabolism and blood oxygenation in the human default mode network revealed by simultaneous PET-fMRI. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021 Jul 6; 118 (27): e2021913118. DOI: 10.1073/pnas.2021913118. PMID: 34193521. PMCID: PMC8271663.
 13. Hu B, Yan LF, Sun Q, Yu Y, Zhang J, Dai YJ, et al. Disturbed neurovascular coupling in type 2 diabetes mellitus patients: Evidence from a comprehensive fMRI analysis. *Neuroimage Clin.* 2019; 22: 101802. DOI: 10.1016/j.nicl.2019.101802. PMID: 30991623. PMCID: PMC6447740.
 14. Chen R, Ovbiagele B, Feng W. Diabetes and stroke: epidemiology, pathophysiology, pharmaceuticals and outcomes. *Am J Med Sci.* 2016 Apr; 351 (4): 380–6. DOI: 10.1016/j.amjms.2016.01.011. PMID: 27079344. PMCID: PMC5298897.
 15. Tanashyan MM, Maksimova MYu, Domashenko MA. Distsirkulyatornaya entsefalopatiya. Putevoditel' vrachebnykh naznacheniy. 2015; 2: 1–25. Russian.
 16. Batysheva TT, Artemova IYu, Vdovichenko TV. Khronicheskaya ishemiya mozga: mekhanizmy razvitiya i sovremennoe kompleksnoe lechenie. *Consilium medicum.* 2004; 3 (4). Russian.
 17. Zakharov VV, Lokshina AB. Kognitivnye narusheniya pri distsirkulyatornoy entsefalopatii. *RMZh.* 2009; (20): 1325–31. Russian.
 18. Morris JC. Clinical dementia rating: a reliable and valid diagnostic and staging measure for dementia of the Alzheimer type. *Int Psychogeriatric.* 1997; (9 Suppl 1): 173–6.
 19. Whitfield-Gabrieli S, Nieto-Castanon A. Conn: a functional connectivity toolbox for correlated and anticorrelated brain networks. *Brain Connect.* 2012; 2 (3): 125–41. DOI: 10.1089/brain.2012.0073. PMID: 22642651.
 20. Farahani FV, Karwowski W, Lighthall NR. Application of Graph Theory for Identifying Connectivity Patterns in Human Brain Networks: A Systematic Review. *Front Neurosci.* 2019 Jun 6; 13: 585. DOI: 10.3389/fnins.2019.00585. PMID: 31249501. PMCID: PMC6582769.
 21. Pedersini CA, Guàrdia-Olmos J, Montalà-Flaquer M, Cardobi N, Sanchez-Lopez J, Parisi G, et al. Functional interactions in patients with hemianopia: A graph theory-based connectivity study of resting fMRI signal. *PLoS One.* 2020 Jan 6; 15 (1): e0226816. DOI: 10.1371/journal.pone.0226816. PMID: 31905211. PMCID: PMC6944357.
 22. Xiong Y, Ye C, Chen Y, Zhong X, Chen H, Sun R, et al. Altered Functional Connectivity of Basal Ganglia in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Brain Sci.* 2022 Nov 15; 12 (11): 1555. DOI: 10.3390/brainsci12111555. PMID: 36421879. PMCID: PMC9688931.
 23. Fokin VF, Shabalina AA, Ponomareva NV, Medvedev RB, Lagoda OV, Tanashyan MM. Interleukin dynamics during cognitive stress in patients with chronic cerebral ischemia. *Bulletin of RSMU.* 2020; 6: 142–8. DOI: 10.24075/vrgmu.2020.085. Russian.
 24. CONN Tutorial. Available from: <https://web.conn-toolbox.org/tutorials>.
 25. Lau LH, Lew J, Borschmann K, Thijs V, Ekinici EI. Prevalence of diabetes and its effects on stroke outcomes: A meta-analysis and literature review. *J Diabetes Investig.* 2019 May; 10 (3): 780–92. DOI: 10.1111/jdi.12932. PMID: 30220102. PMCID: PMC6497593.
 26. Kaur R, Kaur M, Singh J. Endothelial dysfunction and platelet hyperactivity in type 2 diabetes mellitus: molecular insights and therapeutic strategies. *Cardiovasc Diabetol.* 2018 Aug 31; 17 (1): 121. DOI: 10.1186/s12933-018-0763-3. PMID: 30170601. PMCID: PMC6117983.
 27. Shi Y, Vanhoutte PM. Macro- and microvascular endothelial dysfunction in diabetes. *J Diabetes.* 2017 May; 9 (5): 434–49. DOI: 10.1111/1753-0407.12521. PMID: 28044409.
 28. Fokin VF, Ponomareva NV, Medvedev RB, Konovalov RN, Krotenkova MV, Lagoda OV, et al. Resistive index of internal carotid artery and brain networks in patients with chronic cerebral ischemia. *Bulletin of RSMU.* 2021; 6: 34–40. DOI: 10.24075/vrgmu.2021.055. Russian.
 29. Xu J, Chen F, Liu T, Wang T, Zhang J, Yuan H, et al. Brain Functional Networks in Type 2 Diabetes Mellitus Patients: A Resting-State Functional MRI Study. *Front Neurosci.* 2019 Mar 19; 13: 239. DOI: 10.3389/fnins.2019.00239. PMID: 30941007. PMCID: PMC6433793.
 30. Zhang Y, Wang J, Wei P, Zhang J, Zhang G, Pan C, et al. Interhemispheric resting-state functional connectivity abnormalities in type 2 diabetes patients. *Ann Palliat Med.* 2021 Jul; 10 (7): 8123–33. DOI: 10.21037/apm-21-1655. PMID: 34353097.

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДАННЫХ ПО НЕОТЛОЖНОЙ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ХИРУРГИИ

А. Э. Маркаров¹, Д. А. Еремин², А. В. Мартиросов^{1,2}✉, А. С. Хандзрацян¹, А. И. Оразвалиев¹, С. А. Бугаян², О. И. Халифаев³¹ Городская клиническая больница имени Ф. И. Иноземцева, Москва, Россия² Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия³ Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова, Москва, Россия

Актуальные статистические данные по травме ЧЛО (челюстно-лицевой области) с анализом структуры заболеваемости и по госпитализируемой заболеваемости в отделении челюстно-лицевой хирургии (ЧЛХ) отсутствуют. Анализ этих данных необходим для оценки результативности мер по профилактике и лечению заболеваний и травм ЧЛО, повышения эффективности оказания неотложной помощи пациентам, выявления проблем в системе оказания медицинской помощи по профилю «Челюстно-лицевая хирургия». Целью исследования было провести статистический анализ структуры госпитализации по профилю экстренной челюстно-лицевой хирургии. Проанализирована медицинская документация 15 227 пациентов, госпитализированных с 2018 по 2022 г. Было выявлено, что число пациентов с экстренной патологией челюстно-лицевой области сохраняется на достаточно высоком уровне без тенденции к снижению. Основная часть госпитализированных — мужчины молодого, трудоспособного возраста. Из числа всех госпитализированных 28,6% составили пациенты, обратившиеся в стационар самостоятельно, а 22,9% — иногородние и иностранцы. Средняя продолжительность госпитализации составила 3,85 суток и существенно не менялась за исследуемый период. В структуре травматизма преобладали раны ЧЛО и переломы нижней челюсти. Остеосинтез применяли при переломах нижней челюсти в 29,9% случаев. До 70% всех пациентов после выписки нуждались в динамическом наблюдении челюстно-лицевого хирурга. Летальность в отделении ЧЛХ крайне низкая и обусловлена наличием у пациентов тяжелой сопутствующей патологии.

Ключевые слова: травма, раны, лицо, челюстно-лицевая хирургия, статистика**Вклад авторов:** А. Э. Маркаров, Д. А. Еремин — внесение правок, подготовка финального варианта статьи; А. В. Мартиросов, А. С. Хандзрацян, А. И. Оразвалиев — планирование исследования, интерпретация данных, подготовка черновика рукописи; С. А. Бугаян, О. И. Халифаев — сбор, анализ данных. Авторы заявляют о равнозначности вклада каждого.✉ **Для корреспонденции:** Арам Вацаганович Мартиросов
ул. Фортунатовская, д. 1, г. Москва, 105187, Россия; dr.martirosov@mail.ru**Статья получена:** 09.08.2023 **Статья принята к печати:** 06.09.2023 **Опубликована онлайн:** 23.10.2023**DOI:** 10.24075/vrgmu.2023.038

STATISTICAL ANALYSIS OF DATA ON EMERGENCY MAXILLOFACIAL SURGERY

Markarov AE¹, Eremin DA², Martirosov AV^{1,2}✉, Khandzratsyan AS¹, Orazvaliev AI¹, Bugayan SA², Khalifaev OI³¹ Inozemtsev Municipal Clinical Hospital, Moscow, Russia² Pirogov National State Medical University, Moscow, Russia³ Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

There are no actual statistical data on maxillofacial trauma, nor is there a published analysis addressing morbidity patterns, including cases requiring admission to maxillofacial surgery departments. Such data and the respective analysis could help to assess effectiveness of the maxillofacial trauma and diseases prevention and treatment measures, improve the emergency care approaches, identify problems in the medical aid system's maxillofacial surgery domain. This study aimed to analyze the aspects of emergency admission to hospitals for reasons requiring maxillofacial surgery. We processed hospital records of 15,227 patients admitted from 2018 through 2022. The analysis revealed the number of emergency maxillofacial cases to be at a fairly high level and show no downward trend. The majority of the patients are young, able-bodied men. Of all the admitted persons, 28.6% came to the hospital on their own; 22.9% were nonresidents and foreigners. The average hospital stay was 3.85 days, it did not change significantly during the studied period. The prevailing types of trauma were maxillofacial injuries and mandibular fractures. For 29.9% of patients with the latter type, the treatment method of choice was osteosynthesis. Up to 70% of all the patients needed to be followed-up by a maxillofacial surgeon after discharge. The mortality rate in maxillofacial surgery departments is extremely low; all such cases involved concomitant pathologies.

Keywords: trauma, wounds, face, maxillofacial surgery, statistics**Author contribution:** Markarov AE, Eremin DA — manuscript editing, preparation of the final version of the article; Martirosov AV, Khandzratsyan AS, Orazvaliev AI — study planning, data interpretation, manuscript drafting; Bugayan SA, Khalifaev OI — data collection, analysis. Authors claim to have contributed to the study equally.✉ **Correspondence should be addressed:** Aram V. Martirosov
Fortunatovskaya, 1, Moscow, 105187, Russia; dr.martirosov@mail.ru**Received:** 09.08.2023 **Accepted:** 06.09.2023 **Published online:** 23.10.2023**DOI:** 10.24075/brsmu.2023.038

Челюстно-лицевой травматизм — это и медицинская, и социально-экономическая проблема. Бытовая и криминальная травма, развитие средств передвижения, доступных широкому кругу населения, дорожно-транспортные происшествия обуславливают высокий процент травмы ЧЛО в структуре общего травматизма [1–4]. В то же время несмотря на совершенствование мер профилактики, внедрение новых методов диагностики и лечения заболеваний ЧЛО, количество пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями

ЧЛО не уменьшается, а процент пациентов с тяжелыми формами этих заболеваний ежегодно увеличивается [5]. Отсутствие стоматологических отделений в структуре многопрофильных стационаров г. Москвы, оказывающих специализированную помощь пациентам с сопутствующей патологией (коагулопатия, аллергия на местные анестетики, заболевания ЦНС, сердечно-сосудистые заболевания и т. д.) и беременным, а также комплекса лечебно-профилактических мероприятий, направленных на оказание квалифицированной стоматологической помощи

маломобильным гражданам [6], приводит к тому, что данные категории граждан также госпитализируются в отделения ЧЛХ.

В структуре Городской клинической больницы имени Ф. И. Иноземцева Департамента здравоохранения Москвы имеются отделение челюстно-лицевой хирургии № 1 и гнойное отделение челюстно-лицевой хирургии № 2. Прием и осмотр пациентов в приемном отделении осуществляют в двух отдельных кабинетах, согласно нормам СанПиН. Оба отделения относятся к травматологическому профилю стационара.

С 2018 г. в стационаре кратковременного пребывания Городской клинической больницы имени Ф. И. Иноземцева Департамента здравоохранения Москвы оказывают плановую медицинскую помощь по профилю челюстно-лицевой хирургии. Из сотрудников отделения челюстно-лицевой хирургии № 1 сформирована единственная в г. Москве выездная бригада челюстно-лицевых хирургов, осуществляющая в круглосуточном режиме консультации пациентов с острой патологией челюстно-лицевой области, находящихся на лечении в стационарах г. Москвы. В связи с большим количеством пациентов с гнойно-воспалительной патологией ЧЛО гнойное отделение челюстно-лицевой хирургии выделено в отдельное структурное подразделение и является единственным таковым в России.

Актуальные статистические данные по гнойно-воспалительным заболеваниям ЧЛО имеются в открытом доступе [5], однако актуальные сведения по травме ЧЛО с анализом структуры заболеваемости, а также по госпитализируемой заболеваемости в отделении ЧЛХ отсутствуют. Анализ актуальных статистических данных необходим для оценки результативности мер по профилактике и лечению заболеваний и травм ЧЛО, повышения эффективности оказания неотложной помощи пациентам, выявления проблем в системе оказания медицинской помощи по профилю «Челюстно-лицевая хирургия».

Цель работы — представить статистический анализ обращений и госпитализированной заболеваемости отделения челюстно-лицевой хирургии № 1, которое развернуто на 39 коек и представляет собой одно из ведущих отделений г. Москвы по оказанию круглосуточной экстренной помощи пациентам с травмами и заболеваниями челюстно-лицевой области.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на базе отделения челюстно-лицевой хирургии № 1 Городской клинической больницы имени Ф. И. Иноземцева г. Москвы. Произведен анализ медицинской документации (статистические карты выбывших из стационара — форма №066/у-02, универсальные выписные/посмертные эпикризы — форма

№ 027/у) 15227 госпитализированных пациентов за период с 2018 по 2022 г. В исследование были включены все пациенты, госпитализированные в отделение челюстно-лицевой хирургии № 1, в указанный период. Лица, госпитализированные в иной период или другое отделение, были исключены. При статистической обработке данных использованы методы расчета средней величины и экстенсивного показателя.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая статистика

По данным приемного отделения Городской клинической больницы имени Ф. И. Иноземцева, за исследуемый период зарегистрировано 27571 обращение в кабинет челюстно-лицевой хирургии № 1. Ежегодно рост числа обращений и госпитализаций приходится на летние месяцы, с мая по август, а также на октябрь. Данный рост происходит преимущественно за счет увеличения числа пациентов с травмами ЧЛО. В отделение челюстно-лицевой хирургии №1 за период с 2018 по 2022 г. было госпитализировано 15 227 человек (табл. 1).

Почти двукратное уменьшение количества обращений в 2020 г. связано с началом пандемии новой коронавирусной инфекции Covid-19 (введение режима самоизоляции, ограничение плановой госпитализации и т. д.). Учитывая данный факт, можно констатировать ежегодный рост числа обращений в приемное отделение пациентов с челюстно-лицевой патологией. Несмотря на это процент госпитализаций не повышается, что свидетельствует об увеличении доли пациентов с патологией, не требующей госпитализации (раны, ушибы, ссадины, гематомы).

За исследуемый период 4359 (28,6%) стационарных пациентов обратились самостоятельно. Иногородних и иностранцев было 3494, что составило 22,9% от числа всех госпитализированных. Пациенты с травмой челюстно-лицевой области преобладали в общем числе. Из них с переломами нижней челюсти — 33,7%, средней зоны лица — 16,5%, с ранами — 12,4%. Среди госпитализированных большинство было мужчин — 10 354 (68%). Из них 7665 (74%) — с травмами ЧЛО. Из года в год такая ситуация сохраняется, меняется только соотношение (1 : 2, 1 : 3) (рис. 1).

Верхнечелюстные синуситы, периодонтиты, кровотечения после удаления зуба, патологии прорезывания зубов встречаются чаще у женщин (рис. 2).

Анализ по возрастной структуре показал, что большая часть пациентов — молодого, трудоспособного возраста, 18–44 лет. Всего за исследуемый период госпитализировано 9759 (64,1%) лиц молодого, 2497 (16,4%) среднего, 1822 (12%) старшего, 995 (6,5%) пожилого и 154 (1,0%) старческого возрастов (табл. 2).

Средняя продолжительность госпитализации составила 3,85 суток. За исследуемый период отмечено

Таблица 1. Число обратившихся в приемное отделение и госпитализированных с патологией ЧЛО

	2018 г.	2019 г.	2020 г.	2021 г.	2022 г.
Число обращений в приемное отделение в кабинет ЧЛХ	5757	5886	3057	6286	6485
Число госпитализаций в отделение ЧЛХ	2757	3509	2791	3416	2754
доставленные бригадой СМП	1144	1522	1757	1726	1348
обратившиеся в стационар самостоятельно	873	1255	672	770	789
Число госпитализированных иногородние/иностранцы	632	806	696	696	664

неравномерное изменение средней продолжительности госпитализации — 4,22 к/д (койко-дня) в 2018 г., 3,33 — в 2019 г., 3,67 — в 2020 г., 3,86 — в 2021 г. и 4,38 — в 2022 г.

Самой длительной стала госпитализация при сочетанных переломах нижней челюсти и средней зоны лица (7,3 к/д), множественных переломах нижней челюсти (6,7 к/д) и переломах скуло-орбитального комплекса (5,87 к/д). Наименьшая продолжительность стационарного лечения пришлась на кровотечения после удаления зуба (1,9 к/д) и периодонтиты (1,6 к/д) (табл. 3).

Обращает на себя внимание средний койко-день при переломах верхней челюсти. Небольшой койко-день при тяжелых переломах верхней челюсти по типу Ле Фор II и III обусловлен тем, что данные пациенты поступают в стационар с сочетанной ЧМТ (черепно-мозговой травмой) и после осмотра междисциплинарной бригадой госпитализируются в отделение нейрохирургической реанимации, где им оказывают комплексное лечение, и только после стабилизации состояния переводятся в отделение ЧЛХ [7–9]. За исследуемый период в отделении умерло семь человек (пять — в 2019 г., два — в 2020 г.). Во всех случаях причиной смерти была декомпенсация тяжелой сопутствующей патологии.

В Городской клинической больнице имени Ф. И. Иноземцева организована выездная бригада ЧЛХ для оказания специализированной помощи пациентам с острой челюстно-лицевой патологией, находящимся на лечении в других стационарах г. Москвы, которые не имеют в структуре отделения челюстно-лицевой хирургии. За исследуемый период бригадой осуществлено 4729 выездов в стационары г. Москвы, в том числе 566 — в инфекционные отделения для лечения пациентов с COVID-19 (707 — в 2018 г., 994 — в 2019 г., 722 — в 2020 г., 1135 — в 2021 г. и 1171 — в 2022 г.).

В структуре отделения имеется кабинет реабилитации (кабинет долечивания) для пациентов с челюстно-лицевой патологией, в котором они наблюдаются после выписки для коррекции лечения или его продолжения в амбулаторных условиях (снятие и/или коррекция шин, резиновых тяг, снятие швов, перевязки и т. д.). За период исследования в кабинет реабилитации обратилось на повторный осмотр 10275 пациентов (2401 — в 2018 г., 2262 — в 2019 г., 1853 — в

2020 г., 2233 — в 2021 г. и 1526 — в 2022 г.), что составило 67,5% от числа госпитализированных.

Частная статистика

Пациенты с хроническим и обострившимся периодонтитом составили 12,6% от числа госпитализированных, из них женщины — 67,5%. Показаниями к госпитализации с данной патологией были:

- 1) беременность;
- 2) поливалентная аллергия на местные анестетики;
- 3) коагулопатии, в первую очередь связанные с приемом антикоагулянтов;
- 4) тяжелая общесоматическая патология (в первую очередь сердечно-сосудистая);
- 5) маломобильность пациентов.

С луночковым кровотечением после удаления зуба за исследуемый период госпитализировано 962 человека. Большая часть госпитализированных с данным диагнозом — пациенты старше 60 лет (63%). С незавершенным удалением зуба — 87, с острой перфорацией верхнечелюстного синуса, в т. ч. с инородным телом (корень зуба, имплант), — 161, с таким осложнением, как дислокация корня зуба в мягкие ткани при удалении, — 12.

Новообразованием ЧЛО стали причиной госпитализации 202 (1,3%) пациентов. Среди них мужчин 58,9%, женщин — 41,1%. В структуре преобладают лица молодого возраста (40,1% — молодого, 27,7% — среднего, 26,2% — старшего, 7,4% — пожилого и 0,5% — старческого возрастов). Данные пациенты были госпитализированы в плановом порядке.

Крайне редко встречались пациенты с огнестрельными ранениями — 8 (из них 3 — с повреждением костей лицевого скелета, 5 — с повреждениями только мягких тканей ЧЛО), травматическими вывихами зубов — 23, болевой дисфункцией ВНЧС (височно-нижнечелюстного сустава) — 11, переломами передней стенки верхнечелюстного синуса и скуло-назо-этноидального комплекса — 8 и 17 соответственно.

Большую часть в структуре госпитализации занимали пациенты с травмой ЧЛО (среди них преобладали мужчины в возрасте 18–44 лет).

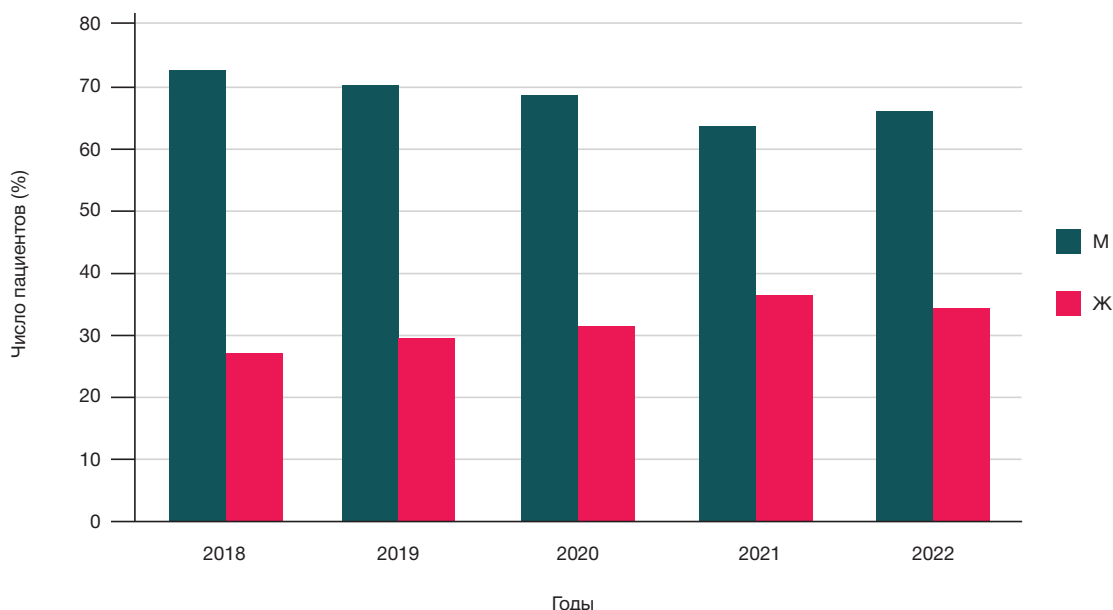


Рис. 1. Статистика распределения пациентов по половому признаку

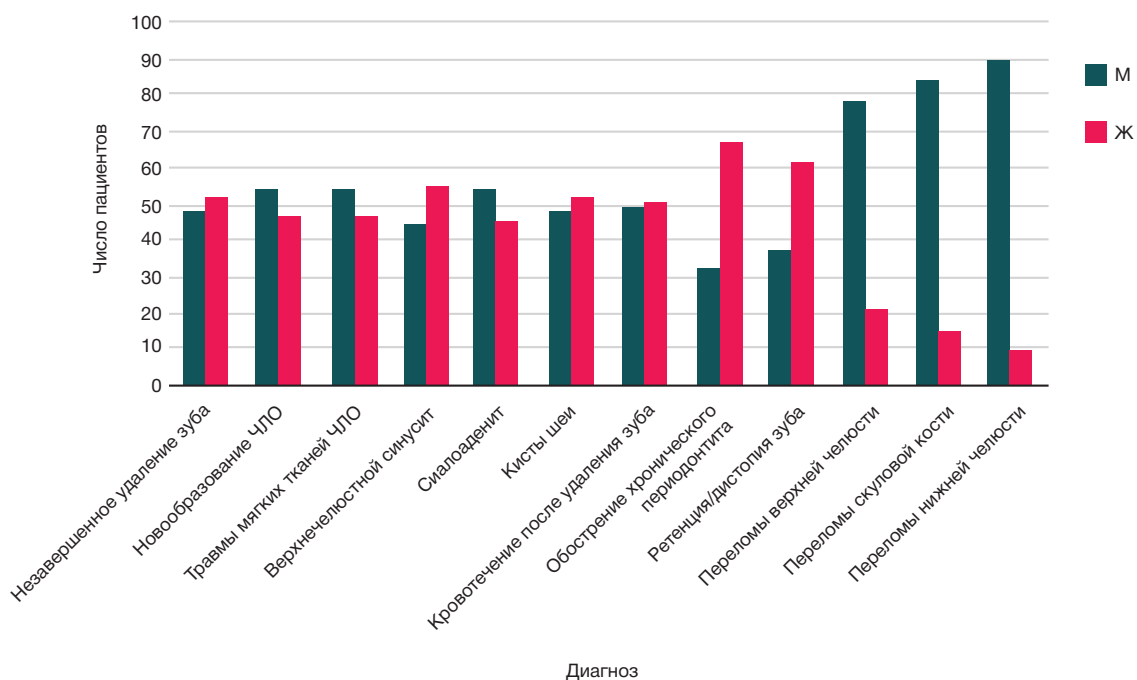


Рис. 2. Статистика распределения пациентов по нозологии и половому признаку

Госпитализированные с ЗЧМТ (закрытой черепно-мозговой травмой) и СГМ (сотрясением головного мозга) встречались в 10,85% случаев при травме ЧЛО. Наиболее часто СГМ диагностировалось при переломах верхней челюсти и комбинированных переломах нижней челюсти и средней зоны лица (88,8% и 36,15% соответственно). СГМ при переломах нижней челюсти было диагностировано в 5% случаев.

Пациенты с травмой мягких тканей ЧЛО составили 12,4% (1889) от общего числа госпитализированных лиц. В структуре травмы мягких тканей ЧЛО у пациентов преобладали раны (80,6%), гематомы (9,9%) и ушибы мягких тканей (9,5%). Всех пациентов с укушенными ранами госпитализировали для проведения антирабической и противостолбнячной вакцинации. В стационар также поступали граждане с травмой мягких тканей ЧЛО в сочетании с алкогольной интоксикацией средней и тяжелой степени, большим объемом поражения, черепно-мозговой травмой, наличием общесоматической патологии.

Переломы средней зоны лица

Пациенты с переломами скуловой кости и дуги составили 20,2% от общего числа госпитализированных с переломами костей лицевого скелета. Смещение отломков наблюдали в 72% случаев. Их репозицию производили под общей анестезией методом Лимберга в 92,3% случаев. В 8,7% случаев применяли остеосинтез, преимущественно — спицевой по Макиенко.

Таблица 2. Динамика распределения пациентов по возрасту

Возраст	2018 г.	2019 г.	2020 г.	2021 г.	2022 г.
18–44	67,6	63,5	71,4	63,5	61,7
45–59	14,6	18	15,4	17,6	15,3
60–74	10,3	12,1	8,4	12,1	14,9
75–89	6,65	6,3	4,3	6,5	7,5
90+	0,66	0,4	0,3	0,3	0,6

Переломы дна глазницы и скулоглазничного комплекса составили 6,4% и 18,0% от всех переломов средней зоны лица. Оперативное лечение пациентов с переломами дна орбиты проводили в 23,1% случаев, с переломами скулоглазничного комплекса — в 67,9% случаев.

Переломы верхней челюсти встречались в 4% случаев. Пациенты с переломами по Ле Фор I и переломами альвеолярного отростка верхней челюсти составили 2,5% от госпитализированных с травмой, Ле Фор II — 1,37%, Ле Фор III — 0,1%.

Изолированные переломы костей носа лечат оториноларингологи, однако при сочетании данной патологии с травмами мягких тканей ЧЛО пациентов направляют к челюстно-лицевому хирургу. За исследуемый период госпитализировано 90 граждан с данной патологией.

Переломы стенок придаточных пазух носа встречались крайне редко и не требовали проведения хирургического вмешательства.

Переломы нижней челюсти

Наиболее часто среди переломов костей лицевого черепа встречались переломы нижней челюсти (65,2%). Односторонние — несколько чаще (54,7% от общего числа переломов нижней челюсти). При этом среди односторонних переломов чаще наблюдались переломы угла челюсти (50,7%). Двухсторонние переломы нижней челюсти встречались реже (43,1%) (табл. 4).

Таблица 3. Средняя продолжительность госпитализации в отделение ЧЛХ по нозологии

Диагноз	Средний (койко-день)				
	2018 г.	2019 г.	2020 г.	2021 г.	2022 г.
Незавершенное удаление зуба	1,6	1,5	2,5	2	2,4
Новообразование ЧЛО	2,6	1,9	2,6	2,3	3,3
Травмы мягких тканей ЧЛО	2,87	2,1	2,3	1,75	2,4
Верхнечелюстной синусит	4,9	4,2	5	4,8	4,7
Сиалоаденит	4,8	3,5	5,4	4,9	4,56
Кисты шеи	4,5	4,75	3,6	3,6	2,5
Кровотечение после удаления зуба	1,92	1,98	1,6	1,9	1,8
Периодонтит	1,8	1,5	1,6	1,7	1,6
Ретенция/дистопия зуба	1,8	2,1	2,1	2,7	2,1
Переломы скуловой кости	5,4	5,3	4,87	4,95	4,6
Переломы н/ч односторонние	4,7	3,9	4,6	4,6	5,2
Переломы н/ч двухсторонние	5,75	4,9	5,2	5,5	6,1
Переломы н/ч множественные	6,5	5,45	5	6,9	5,1
Переломы скуло-орбитального комплекса	10,7	9,5	9,5	7	6
Комбинированные переломы (нижняя челюсть и средняя зона лица)	10,8	11	9,2	6,1	8,7
Перелом верхней челюсти Ле Фор I	3,9	2,7	3,1	3	3,2
Перелом верхней челюсти Ле Фор II	5,3	4,7	5,4	5	5,8
Перелом верхней челюсти Ле Фор III	0	9	5,7	5	4

Удаление зубов, находящихся в линии перелома, производили в 5% случаев при переломах тела и 16,5% — угла нижней челюсти.

Множественные переломы нижней челюсти составили 1,75% от общего числа переломов нижней челюсти. Чаще всего линии переломов находились в области угла, тела и суставного отростка (73%).

Сочетанная травма (перелом нижней челюсти и средней зоны лица) встречалась редко и составила 2,73% от общего числа переломов костей лицевого черепа.

Остеосинтез применяли при переломах нижней челюсти в 29,9% случаев. В остальных — проводили иммобилизацию нижней челюсти двучелюстным шинированием.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проблема массового развития средств индивидуальной мобильности описывается многими отечественными и зарубежными авторами [1–3]. Основная причина высокого травматизма при использовании данных средств передвижения — пренебрежение правилами их эксплуатации и правилами дорожного движения. Другие авторы акцентируют внимание на проблеме крайне низкой доступности амбулаторной стоматологической помощи маломобильным гражданам, которая приводит к повышению нагрузки на отделения ЧЛХ. [6]. Ежегодный рост числа пациентов с травмой челюстно-лицевой области отмечают все авторы во всех регионах [10–15], и, согласно данным наших коллег [10], он продолжается с 1970-х гг. На преобладание лиц мужского пола в выборке, а также снижение среднего койко-дня указывают все авторы [10–15].

В клиническом опыте коллег переломы нижней челюсти также преобладают над остальными переломами костей лицевого черепа, однако процентное соотношение разнится: 92% [12], 70–85% [13], 67–87% [14], 73,5–80,5% [15]. По нашим сведениям, доля переломов нижней

челюсти несколько ниже — 65,2%. Столь существенная разница может быть связана с объемом выборки, сроками исследований, регионом.

Наше исследование подтверждает преобладание односторонних переломов в области угла челюсти над остальными. Процентное соотношение односторонних и двусторонних переломов: 54,7% и 43,1% по нашим данным, 60% и 40% [14], 49% и 49% [12], 61,1 и 38,9% [13].

Авторы предыдущих исследований также приводят статистическую оценку причин переломов: причинами травм становятся дорожно-транспортные происшествия (43,9%) и нападения (26,7%). По другим данным, среди причин травм на первом месте находится бытовая травма (82,7%), а дорожно-транспортная составляет 11,8% [14]. В странах со стареющим населением преобладает бытовая травма (в т. ч. в результате падения), а с большей долей молодого населения — дорожно-транспортная [16]. Вывод косвенно подтверждают и другие зарубежные авторы [4]. Нами же данный критерий не рассматривался ввиду высокой частоты случаев укрывания истинной причины травмы пациентами.

Переломы нижней челюсти сочетаются с переломами средней зоны лица в 2,4% случаев, а переломы средней зоны лица занимают от 13,9 до 20% от общего числа переломов костей лицевого черепа, с тенденцией к ежегодному росту [14, 15]. Резкий рост относительного количества травм средней зоны лица приходился на 2000–2007 гг., после чего регистрировался равномерный рост их доли [10]. Наши данные подтверждают выводы авторов. Доля сочетанных травм возросла до 2,73%, а переломов средней зоны лица — до 25,85%.

Сведения о доли сочетанных с ЧМТ травм лица у различных авторов разнятся и составляют от 21,3 до 46% [7], 13,92% [8]. Переломы нижней челюсти значительно реже сочетаются с ЧМТ (3,2–3,83%) [7], чем переломы области средней зоны лица, что подтверждают полученные нами данные. Наличие ЧМТ и СГМ у пациентов увеличивает сроки госпитализации в среднем на 59,7% [8].

Таблица 4. Статистика переломов нижней челюсти

Перелом в области	%	Смещение (%)	ЧМТ (%)
Односторонние			
Угла	50,7	58,1	3,3
Тела	17,75	49,4	4
Суставного отростка	28,7	66	4,4
Ветви	2,7	61,2	7,5
Двухсторонние			
Тела и угла	48,7	72,4	5
Тела и суставного отр.	38,3	74,3	7,9
Угла и суставного отр.	9	75,5	6,2
Тела и ветви	4	74,4	6,4

По данным некоторых авторов, наличие в штате отделения ЧЛХ кабинета медицинской реабилитации улучшает результат лечения пациентов на 31,6–50% по разным критериям, а эффективность работы возрастает на 16,7–21,9% [17]. Полученные нами сведения подтверждают необходимость в долечивании подавляющего большинства пациентов. Проблему доступности и эффективности реабилитации наши коллеги предлагают решить в том числе при помощи телемедицинских технологий [6].

Летальность от травм ЧЛО не указана ни в одной из исследованных статей, что косвенно подтверждает наш вывод о ее отсутствии.

ВЫВОДЫ

Отмечается ежегодный рост числа экстренных обращений в приемное отделение пациентов с травмой и заболеваниями ЧЛО, при этом число госпитализаций с экстренной челюстно-лицевой патологией не увеличивается, что свидетельствует о большом количестве пациентов, помощь которым была оказана в приемном отделении. До 70% всех пациентов после выписки нуждаются в динамическом наблюдении челюстно-лицевого хирурга. При отсутствии стационарных стоматологических отделений, ведущих экстренный прием пациентов с сопутствующей общесоматической патологией, беременных и маломобильных пациентов, данные лица госпитализируются в отделение ЧЛХ. Уменьшить нагрузку на приемные отделения стационаров,

улучшить доступность реабилитации пациентов после выписки возможно при наличии челюстно-лицевого хирурга в амбулаторном звене, а открытие отделений, ведущих экстренный стоматологический прием, снизило бы нагрузку на отделение ЧЛО и улучшило качество оказания стоматологической помощи населению. Необходимо также усилить меры профилактики стоматологических заболеваний среди маломобильных пациентов. В структуре госпитализации значительно преобладают пациенты с травмой ЧЛО. Ежегодно скачки травматизма приходится на летний период. Данный факт нужно учитывать при планировании профилактических мероприятий по уменьшению бытового, уличного и дорожно-транспортного травматизма. Ежегодно до 71,4% госпитализированных составляют мужчины молодого, трудоспособного возраста, 18–44 лет. Наиболее часто среди травм встречаются переломы нижней челюсти, чаще односторонние (54,7%), в области угла (50,7%). Остеосинтез применяли при переломах нижней челюсти в 29,9% случаев. Пациенты с травмой мягких тканей ЧЛО составляют 12,4% от общего числа госпитализированных лиц. В структуре травм мягких тканей ЧЛО преобладают раны (80,6%), гематомы (9,9%) и ушибы мягких тканей (9,5%). Наличие ЧМТ у пациентов с травмами ЧЛО значительно увеличивает продолжительность госпитализации. Переломы средней зоны лица встречаются гораздо чаще, чем нижней челюсти, и сочетаются с ЧМТ различной степени тяжести. Летальность в отделениях ЧЛХ крайне низкая и обусловлена наличием у пациентов тяжелой сопутствующей патологии.

Литература

- Аксенова Е. И., Подчернина А. М. Основные тенденции в увеличении доли травматизма москвичей на основе данных медицинской статистики. Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. 2021; 2: 403–16.
- Гречухин И. В. Состояние проблемы травматизма по данным официальной статистики и научное обоснование совершенствования его учета. Менеджер здравоохранения. 2017; 7: 41–9.
- Баранчикова М. В. Лица, управляющие средствами индивидуальной мобильности как субъекты и потерпевшие в криминальных дорожно-транспортных происшествиях. Витимология. 2022; 9 (4): 408–16.
- Mohammadi H, Roochi MM, Heidar H, Garajei A, Dallband M, Sadeghi M, et al. A meta-analysis to evaluate the prevalence of maxillofacial trauma caused by various etiologies among children and adolescents. Dent Traumatol. 2023; 39 (5): 403–17. DOI: 10.1111/edt.12845. PMID: 37073864.
- Маркаров А. Э., Еремин Д. А., Оразвалиев А. И., Мартиросов А. В., Краснов Н. М., Шень П. А. и др. Статистический анализ гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области. Медицинский алфавит. 2022; 7: 40–6.
- Лебедев М. В., Керимова К. И., Захарова И. Ю., Бахтурин Н. А. Система оказания медицинской помощи населению по профилю «челюстно-лицевая хирургия» на территории Российской Федерации. Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. 2020; 1: 383–402.
- McCarty JC, Kiwanuka E, Gadkaree SK, Siu JM, Catterson EJ. Traumatic brain injury in trauma patients with isolated facial fractures. Journal of Craniofacial Surgery. 2020; 31 (5): 1182–5.
- Yuchen Y, Romero J, Diaz G, Evans R. Concurrent traumatic brain injury with craniofacial trauma: a 10-year analysis of a Single Institution's Trauma Registry. Trauma Care. 2023; 3: 108–13.
- Lucke-Wold B, Pierre K, Aghili-Mehrizi S, Murad GJA. Facial fractures: independent prediction of neurosurgical intervention. Asian Journal of Neurosurgery. 2022; 17: 17–22.

10. Копецкий И. С., Притько А. Г., Полунина Н. В., Насибуллин А. М. Травматизм челюстно-лицевой области (опыт 50-летнего наблюдения). Вестник РГМУ. 2010; 2: 31–4.
11. Дрегалкина А. А., Костина А. Н. Структура заболеваний челюстно-лицевой области среди жителей Свердловской области. Проблемы стоматологии. 2018; 14 (2): 68–73.
12. Бахтеева Г. Р., Кузьмин А. С. Статистическое исследование травм челюстно-лицевой области. Bulletin of Medical Internet Conferences. 2012; 2 (11): 930.
13. Шашков В. А., Гайворонский И. В., Гайворонская М. Г., Иорданишвили А. К., Родионов А. А., Ничипорук Г. И. Распространенность различных видов переломов нижней челюсти у взрослых. Вятский медицинский вестник. 2021; 1 (69): 41–7.
14. Чжан Ш., Петрук П. С., Медведев Ю. А. Переломы нижней челюсти в области тела и угла: структура, эпидемиология, принципы диагностики. Часть I. Российский стоматологический журнал. 2017; 21 (2): 100–3.
15. Фокас Н. Н., Левенец А. А., Горбач Н. А. Характеристика повреждений челюстно-лицевой области у взрослого населения и анализ деятельности отделения челюстно-лицевой хирургии по материалам КГБУЗ ККБ (г. Красноярск). Сибирское медицинское обозрение. 2014; 3: 44–8.
16. Romeo I, Sobrero F, Roccia F, Dolan S, Laverick S, Carlaw K, et al. A multicentric, prospective study on oral and maxillofacial trauma in the female population around the world. Dent Traumatol. 2022; 38 (3): 196–205. DOI: 10.1111/edt.12750. PMID: 35390219.
17. Гончарова А. В. Роль стационарзамещающих технологий в реабилитации больных с воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области. Вестник РГМУ, 2011; 5: 76–9.

References

1. Aksenova EI, Podchernina AM. The main trends in the increase in the share of injuries of muscovites based on medical statistics. Current problems of health care and medical statistics. 2021; 2: 403–16. Russian.
2. Grechuhin IV. The condition of traumatism problem according to data of official statistics and scientific foundation for its control. Manager of health care. 2017; 7: 41–9. Russian.
3. Baranchikova MV. Individuals driving personal mobility aids as subjects and victims in criminal road accidents. Victimology. 2022; 9 (4): 408–16. Russian.
4. Mohammadi H, Roochi MM, Heidar H, Garajei A, Dallband M, Sadeghi M, et al. A meta-analysis to evaluate the prevalence of maxillofacial trauma caused by various etiologies among children and adolescents. Dent Traumatol. 2023; 39 (5): 403–17. DOI: 10.1111/edt.12845. PMID: 37073864.
5. Markarov AE, Eremin DA, Martirosov AV, Orazvaliev AI, Krasnov NM, Shen PA, et al. The statistical analysis of purulent-inflammatory diseases of the maxillo-facial region. Medical alphabet. 2022; 7: 40–6. Russian.
6. Lebedev MV, Kerimova KI, Zakharova IYu, Bakhturin NA. System of rendering medical assistance to population in the profile "oral and maxillofacial surgery" in the territory of the Russian Federation. Current problems of health care and medical statistics. 2020; 1: 383–402. Russian.
7. McCarty JC, Kiwanuka E, Gadkaree SK, Siu JM, Catterson EJ. Traumatic brain injury in trauma patients with isolated facial fractures. Journal of Craniofacial Surgery. 2020; 31 (5): 1182–5.
8. Yuchen Y, Romero J, Diaz G, Evans R. Concurrent traumatic brain injury with craniofacial trauma: a 10-year analysis of a Single Institution's Trauma Registry. Trauma Care. 2023; 3: 108–13.
9. Lucke-Wold B, Pierre K, Aghili-Mehrzi S, Murad GJA. Facial fractures: independent prediction of neurosurgical intervention. Asian Journal of Neurosurgery. 2022; 17: 17–22.
10. Kopetski IS, Pritiko AG, Polunina NV, Nasibullin AM. Traumatism of maxillofacial region (during 50 years). Bulletin of RSMU. 2010; 2: 31–4. Russian.
11. Dregalkina AA, Kostina IN. The structure of diseases of the maxillofacial region among residents of Sverdlovsk Region. Actual problems in dentistry. 2018; 14 (2): 68–73. Russian.
12. Bakhteeva GR, Kuzmin AS. Statistical research of maxillofacial injuries. Bulletin of Medical Internet Conferences. 2012; 2 (11): 930. Russian.
13. Shashkov VA, Gaivoronsky IV, Gaivoronskaya MG, Iordanishvili AK, Rodionov AA, Nichiporuk GI. Prevalence of different types of lower jaw fractures in adults. Medical Newsletter of Vyatka. 2021; 1 (69): 41–7. Russian.
14. Chzhan Sh, Petruk PS, Medvedev YuA. Fractures of the mandible at the body and angle region: patterns, epidemiology, diagnostic principles. Part I. Russian Journal of Dentistry. 2017; 21 (2): 100–3. Russian.
15. Romeo I, Sobrero F, Roccia F, Dolan S, Laverick S, Carlaw K, et al. A multicentric, prospective study on oral and maxillofacial trauma in the female population around the world. Dent Traumatol. 2022; 38 (3): 196–205. DOI: 10.1111/edt.12750. PMID: 35390219.
16. Romeo I, Sobrero F, Roccia F, Dolan S, Laverick S, Carlaw K, et al. A multicentric, prospective study on oral and maxillofacial trauma in the female population around the world. Dent Traumatol. 2022; 38 (3): 196–205. DOI: 10.1111/edt.12750. PMID: 35390219.
17. Goncharova AV. Use of stationary substituting technologies in rehabilitation of patients with inflammatory diseases of the maxillofacial region. Bulletin of RSMU. 2011; 5: 76–9. Russian.

СОСТОЯНИЕ НЕРВНО-ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ ШКОЛЬНИКОВ ПРИ РАЗЛИЧНОМ ВРЕМЕНИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕКТРОННЫХ УСТРОЙСТВ

Ю. В. Соловьева[✉], С. С. Паунова, В. Р. Семичева, Н. А. Скоблина, О. Ю. Милушкина

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва

Мировая проблема для здоровья населения — неконтролируемое время использования электронных устройств. Состояние нервно-психического здоровья современных школьников связано с различными факторами, в том числе со временем использования мобильных электронных устройств. Цель исследования — анализ состояния нервно-психического здоровья школьников при различном времени использования мобильных электронных устройств. В 2022—2023 учебном году с помощью опросников А. М. Вейна для выявления признаков вегетативных изменений и С. К. Кулакова для выявления интернет-зависимости было опрошено 109 школьников (35 мальчиков и 74 девочек), обучающихся в образовательных организациях г. Москвы. Средний возраст составил $14,9 \pm 0,12$ лет. Школьники были разделены на две группы: соблюдающие регламент использования мобильных электронных устройств (первая группа, $n = 11$) и превышающих регламент (вторая группа, $n = 98$). Средний показатель экранного времени использования мобильных электронных устройств за месяц составил в первой группе $110,50 \pm 10,00$ мин/день, во второй — $345,00 \pm 15,00$. Средние значения баллов по опроснику А. М. Вейна в первой и второй группах имели достоверные различия ($p \leq 0,01$) и составили $12,30 \pm 1,89$ и $22,54 \pm 1,16$ баллов. Наличие признаков вегетативных изменений в первой и второй группах составило 45,9% и 63,6% ($p \leq 0,01$). Средние значения баллов по опроснику С. К. Кулакова в первой и второй группах имели достоверные различия ($p \leq 0,05$) и составили $28,7 \pm 1,88$ и $37,1 \pm 1,09$ баллов. Школьники, превышающие регламент использования мобильных электронных устройств, находятся в группе риска по формированию вегетативных нарушений и интернет-зависимости.

Ключевые слова: нервно-психическое здоровье, школьники, мобильные электронные устройства

Вклад авторов: все авторы внесли равносильный вклад в подготовку публикации.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ имени Н. И. Пирогова (протокол № 655 от 23 апреля 2019 г.), для каждого участника было получено добровольное информированное согласие.

✉ **Для корреспонденции:** Юлия Валерьевна Соловьева
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997, Россия; yula_24@mail.ru

Статья получена: 02.10.2023 **Статья принята к печати:** 20.10.2023 **Опубликована онлайн:** 29.10.2023

DOI: 10.24075/vrgmu.2023.040

EFFECT OF DIFFERENT MOBILE DEVICE SCREEN TIME DURATIONS ON NEUROPSYCHIATRIC HEALTH OF SCHOOLCHILDREN

Solovyova YuV[✉], Paunova SS, Semicheva VR, Skoblina NA, Milushkina OYu

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Uncontrolled screen time is a worldwide menace to health of the population. Today, the state of neuropsychiatric health of schoolchildren depends on various factors, including screen time, i.e., the time they spend using mobile electronic devices. This study aimed to investigate how different screen time durations affect the said neuropsychiatric health of this population group. In the 2022–2023 academic year, we surveyed 109 Moscow schoolchildren (35 boys and 74 girls) using questionnaires compiled by A.M. Vane (identification of signs of vegetative symptoms) and S.K. Kulakov (identification of internet addiction). The mean age of the participants was 14.9 ± 0.12 years. The children were divided into two groups: those staying within the regulated limit of mobile screen time (group 1, $n = 11$), and those exceeding that limit (group 2, $n = 98$). In group 1, the average mobile screen time, as measured for one month, was 110.50 ± 10.00 minutes per day, in group 2 — 345.00 ± 15.00 . The average Vane questionnaire scores differed significantly between the groups ($p \leq 0.01$): 12.30 ± 1.89 points in group 1 and 22.54 ± 1.16 points in group 2. Signs of vegetative symptoms were registered in 45.9% of group 1 participants and 63.6% of group 2 participants ($p \leq 0.01$). The average Kulakov questionnaire scores differed significantly between the groups ($p \leq 0.05$): 28.7 ± 1.88 points in group 1 and 37.1 ± 1.09 points in group 2. Schoolchildren who exceed the regulated mobile screen time limit are at risk of developing vegetative disorders and internet addiction.

Keywords: neuropsychiatric health, schoolchildren, mobile electronic devices

Author contribution: all authors contributed to the publication equally.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the local Ethics Committee of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University (Minutes № 655 of April 23, 2019); signed voluntary informed consent forms were obtained for each participant

✉ **Correspondence should be addressed:** Yulia V. Solovyova
Ostrovityanova, 1, Moscow, 117997, Russia; yula_24@mail.ru

Received: 02.10.2023 **Accepted:** 20.10.2023 **Published online:** 29.10.2023

DOI: 10.24075/brsmu.2023.040

В мировой практике в настоящее время в связи с цифровизацией всех сторон жизнедеятельности и ежедневным использованием различных электронных устройств школьниками как в школе, так и дома повышается риск развития различных заболеваний, включая и нервно-психические [1–3].

Мобильные электронные устройства (МЭУ) сегодня являются не только помощниками в обучении, но и способом получения и анализа различной информации, а также средством общения. В связи с этим наблюдается

увеличение времени использования мобильных устройств, компьютеров, планшетов не только в образовательном процессе, но и в досуговой деятельности школьников [4–6].

В связи с этим все чаще отмечаются и нарушения со стороны здоровья у школьников, использующих МЭУ в течение времени, превышающего допустимые гигиенические нормативы. Происходят не только снижение остроты зрения и нарушение осанки, но и нарушения со стороны других органов и систем, в частности нервной [7, 8].

Цель исследования — анализ состояния нервно-психического здоровья школьников при различном времени использования мобильных электронных устройств.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В период 2022–2023 учебном году проводили изучение состояния нервно-психического здоровья школьников. Методом анкетирования было опрошено 109 школьников (35 мальчиков и 74 девочек), обучающихся в образовательных организациях г. Москвы. Средний возраст школьников составил $14,9 \pm 0,12$ лет. Все обследованные на момент проведения наблюдений не имели достоверных различий в состоянии здоровья, кроме того, диагностированных заболеваний нервно-психического здоровья у мальчиков и девочек установлено не было.

Вегетативный статус школьников изучали с помощью опросника А. М. Вейна (1998), который направлен на выявление среди школьников лиц, имеющих признаки вегетативных изменений. Опросник был адаптирован и рекомендован академиком РАН А. Г. Сухаревым и апробирован авторами для возможности опроса школьников [9]. Признаки интернет-зависимости у школьников определяли с помощью стандартного опросника С. К. Кулакова (2004) [9].

Наблюдения осуществляли после заполнения добровольного информированного согласия родителями / законными представителями, включая самого школьника в возрасте 14 лет и старше. Проведенное исследование не подвергало опасности участников, соответствовало требованиям биомедицинской этики и положениям Хельсинкской декларации.

Среднее значение показателя экранного времени использования мобильных электронных устройств за месяц фиксировали по данным приложения «Экранное время».

Критерий включения: школьники общеобразовательной организации г. Москвы, наличие заполненного добровольного информированного согласия родителями / законными представителями, включая самого школьника, заполненной школьником анкеты, данных о среднем значении показателя экранного времени использования мобильных электронных устройств за месяц.

Критерий исключения: другая возрастная группа, отсутствие заполненного добровольного информированного согласия родителями / законными представителями, включая самого школьника, заполненной школьником анкеты, данных о среднем значении показателя экранного времени использования мобильных электронных устройств за месяц.

По результатам была оформлена база данных «Влияние мобильных электронных устройств и экранного времени их использования на формирование вегетативных нарушений и интернет-зависимости у школьников». Свидетельство о регистрации базы данных 2023620126, 11.01.2023. Заявка № 022623302 от 24.11.2022.

Статистическую обработку производили с использованием пакета Statistica 10.0 (StatSoft; США). При обработке результатов предварительно оценивали соответствие полученных значений закону нормального распределения вариационных рядов по критерию Колмогорова–Смирнова. Полученные количественные данные имели распределение, не отличавшееся от нормального, поэтому применяли методы параметрической

статистики с использованием выборочного среднего (M), ошибки среднего (m) и выборочного стандартного отклонения (σ). Для оценки достоверности различий средних величин использовали t -критерий Стьюдента (различия считали значимыми при $p < 0,05$). Тест на выявление наличия признаков вегетативных нарушений считали положительным у школьников при сумме баллов 25 и более, а тест на интернет-зависимость — при общем количестве баллов от 50 и более.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ времени использования мобильных электронных устройств осуществляли на основании требований СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания», которые регламентируют продолжительность использования мобильного электронного устройства (планшет) суммарно в день в образовательной организации и суммарно в день дома не более 120 мин в день. В соответствии с этим школьники были разделены на две группы: соблюдающие данный регламент использования мобильных электронных устройств (первая группа, $n = 11$) и превышающих его (вторая группа, $n = 98$). Средний показатель экранного времени использования мобильных электронных устройств за месяц составил в первой группе $110,50 \pm 10,00$ мин в день, во второй — $345,00 \pm 15,00$ мин в день ($p < 0,05$).

Среднее значение баллов по опроснику А. М. Вейна у всех обследованных школьников составило $21,69 \pm 1,02$ балла. Средние значения баллов в группе 1 и группе 2 школьников имели достоверное различие ($p < 0,01$) и составили $12,30 \pm 1,89$ баллов и $22,54 \pm 1,16$ баллов.

Наличие признаков вегетативных изменений в целом было выявлено у 55,0% школьников. В первой группе школьников у 45,9% и во второй — 63,6%, ($p < 0,01$).

Коэффициент корреляции Пирсона для наличия признаков вегетативных изменений у школьников и экранного времени использования мобильных электронных устройств составил 0,55 ($p = 0,04$).

У школьников из второй группы, превышающих регламент использования МЭУ, вегетативные изменения фиксировали в 15–40 раз чаще, чем в референтной группе. При этом преобладали такие признаки, как онемение и похолодание пальцев рук (50,0%), нарушение сна (45,0%), снижение работоспособности и быстрая утомляемость (42,0%), приступообразные головные боли (40,0%). Почти треть школьников второй группы (29,0%) жаловалась на учащенное дыхание и ощущение нехватки воздуха (рис. 1).

Среднее значение баллов по опроснику С. К. Кулакова составило $33,0 \pm 1,02$. Средние значения баллов в первой и второй группах школьников имели достоверное различие ($p < 0,05$) и составили $28,7 \pm 1,88$ и $37,1 \pm 1,09$ баллов соответственно. Хотя в данном исследовании среди школьников не было выявлено тех, кто имеет интернет-зависимость, 74,0% опрошенных регулярно с периодичностью до 20 раз в день использовали социальные сети, просматривали различные видеоматериалы, позиционировали себя как блогеры и предпочитали живому общению онлайн-общение (рис. 2).

У школьников из второй группы, превышающих регламент использования мобильных электронных устройств, симптомы интернет-зависимости фиксируются в 10–40 раз чаще, причем, как правило, сочетание данных симптомов наблюдалось у одних и тех же школьников.



Рис. 1. Наличие признаков вегетативных изменений у школьников в зависимости от экранного времени использования мобильных электронных устройств, %

У школьников из первой группы они фиксировались на уровне статистической погрешности в 1,0%.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Современные дети и подростки не представляют полноценной жизни без Интернета. Особенно данная тенденция отмечается в последние 10 лет. Помимо школьников в интернет-пространстве все больше времени проводят родители и педагоги, с целью как работы, так и досуга, кроме того, используя интернет-пространство как способ получения информации и для ответа на поставленные задачи и вопросы [10, 11].

В исследовании приняли участие школьники 15 лет, которые были активными пользователями сети Интернет, имели хорошие пользовательские навыки и достаточный пользовательский стаж.

В качестве положительного момента при использовании современными школьниками Интернета следует отметить: это доступный современный способ получения знаний, предоставляющий также возможности для отработки навыков. Школьники, их родители, а также педагоги воспринимают Интернет и как место досуга: просмотр фильмов, онлайн-экскурсии и многое другое. Более всего дети и подростки используют интернет-пространство в качестве способа общения, как со сверстниками, так и с родными, а родители и педагоги — еще и с коллегами по работе [12, 13].

В нашем исследовании данные тенденции нашли подтверждение: 74,0% опрошенных регулярно с периодичностью до 20 раз в день проводили время в социальных сетях, просматривали различные видеоматериалы, позиционировали себя как блогеры и предпочитали онлайн-общение живому.

Однако при длительном времяпрепровождении в сети Интернет возникает вероятность развития интернет-зависимости, которая характеризуется расстройством психики, а также может сопровождаться появлением

различного вида поведенческих проблем как у детей и подростков, так и у взрослых людей. Интернет-зависимость, по мнению врачей-педиатров, психиатров, психологов, семейных врачей, является такой же, как алкогольная и наркозависимость. Так, например, психиатр И. Голдберг еще в 1996 г. предложил использование термина «интернет-зависимость», под которым он подразумевал расстройство поведения, возникающее после использования Интернета или компьютера [14].

Современные ученые проводят изучение физиологических процессов, связанных с интернет-зависимостью. Существуют исследования, указывающие на то, что длительное и частое пребывание в Интернете не только у школьников, но и у взрослых становится причиной нарушения когнитивных функций [15]. Оно также способствует утрате коммуникативных навыков, а, следовательно, и связи с социумом в целом. Пропадает необходимость личной встречи при наличии возможности общения через Интернет и мобильный телефон [15].

Установлено, что каждый восьмой школьник, превышающий регламент использования мобильных электронных устройств, отдает предпочтение общению онлайн, нежели живому общению. Со стороны родителей и знакомых создается впечатление, что школьник постоянно находится в Сети.

Длительное пребывание в Интернете вызывает нарушение сна, избегание или сокращение времяпрепровождения на воздухе, снижение физической активности или ее отсутствие [15, 16].

В ходе нашего исследования были получены данные, показывающие, что каждый второй школьник, превышающий регламент использования мобильных электронных устройств, имеет проблемы со сном.

Зависимость от информации из сети Интернет, так называемая информационная интернет-зависимость, в свою очередь, способствует бесконечному и безудержному путешествию по Интернету. Так называемый веб-серфинг представляет собой бесцельный поиск информации, игры.

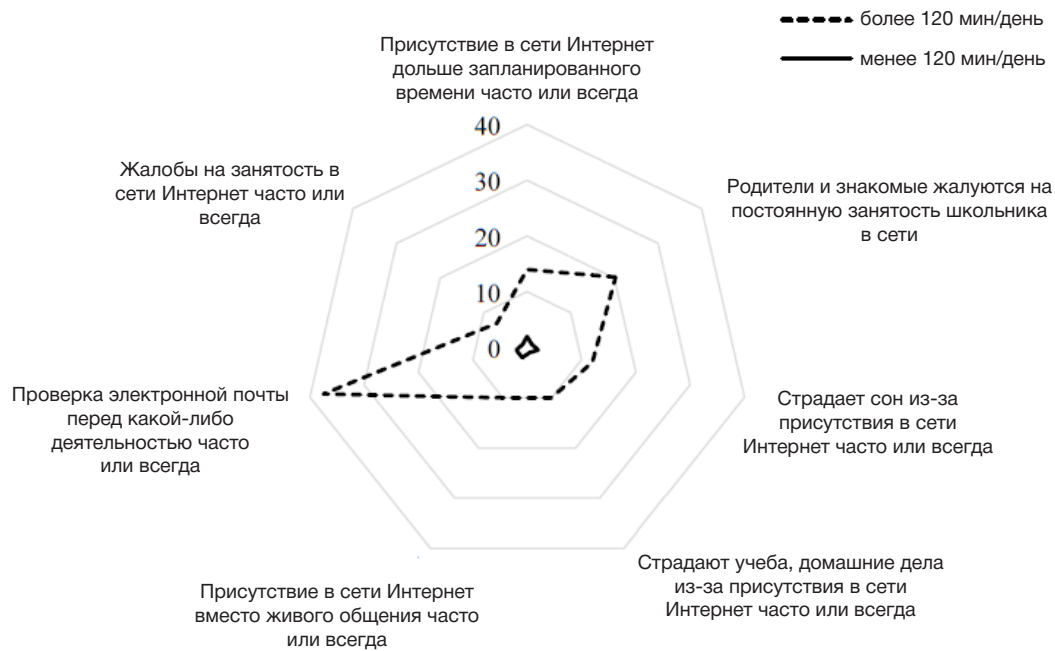


Рис. 2. Наличие симптомов интернет-зависимости у школьников в зависимости от экранного времени использования мобильных электронных устройств, %

Длительное времяпровождение и поиск информации могут приводить к снижению продуктивности и потере времени [15, 16].

Следует подчеркнуть, что каждый восьмой школьник, превышающий регламент использования мобильных электронных устройств, задерживается в сети дольше, чем планировал, и безуспешно пытается сократить время, проводимое с МЭУ, что может свидетельствовать о склонности к формированию интернет-зависимости. В ходе исследования было установлено, что такие школьники предъявляют большее количество жалоб, связанных с вегетативным статусом, причем в трети случаев — три и более жалобы одновременно.

В профилактических целях необходимо повышение грамотности школьников, педагогов и родителей по возможным рискам для здоровья в связи с ежедневным длительным использованием электронных устройств. Данные мероприятия можно осуществлять непосредственно в стенах образовательных организаций [17–20].

ВЫВОДЫ

В заключение следует отметить, что век цифровизации всех сторон жизнедеятельности, ежедневного использования

различных электронных устройств неизбежно создает условия для повышения риска развития различных заболеваний, включая и нервно-психические. Школьники особенно уязвимы в связи с продолжающимся становлением физиологических и нервно-психических процессов, возрастающей нагрузкой в школе, требующей поиска учебной информации в сетях, наличием части учебного материала только в электронном виде. Школьники, превышающие регламент использования мобильных электронных устройств, находятся в группе риска по формированию вегетативных нарушений и интернет-зависимости, что может привести к развитию хронических соматических и нервно-психических заболеваний. Следует помнить, что формирование здоровых привычек и соблюдение регламента времени использования интернет-ресурсов позволит снизить риск возникновения вегетативных и нервно-психических состояний у школьников, а следовательно, сохранить их здоровье в будущем. Результаты исследования вносят вклад в мировое проблемное поле по изучению влияния бесконтрольного времени использования мобильных устройств при обучении и в досуговой деятельности на здоровье и функциональное состояние нервно-психической сферы детей и подростков.

Литература

- Обрубов С. А., Маркелова С. В. Влияние жизнедеятельности в условиях цифровой среды на состояние органа зрения обучающихся. Российский вестник гигиены. 2021; 2: 4–9. DOI: 10.24075/rbh.2021.014.
- Терещенко С. Ю., Шубина М. В., Семенова Н. Б., Эверт Л. С., Горбачева Н. Н. Взаимосвязь интернет-зависимости и нарушений сна у подростков Центральной Сибири при разных видах потребляемого контента. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. Спецвыпуски. 2022; 122 (5–2): 58–64. DOI: 10.17116/jnevro202212205258.
- Григорьев С. Л. Психофизические эффекты активного использования технических средств экранной коммуникации. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. Социальные, гуманитарные, медико-биологические науки. 2022; 24 (86): 42–50. DOI 10.37313/2413-9645-2022-24-86-42-50.
- Милушкина О. Ю., Попов В. И., Скоблина Н. А., Маркелова С. В., Соколова Н. В. Использование электронных устройств участниками образовательного процесса при традиционной и дистанционной формах обучения. Вестник РГМУ. 2020; 3: 85–91.
- Скоблина Н. А., Милушкина О. Ю., Татаринчик А. А., Федотов Д. М. Место гаджетов в образе жизни современных школьников и студентов. ЗНиСО. 2017; 7 (292): 41–3. DOI: 10.35627/2219-5237/2017-292-7-41-43.
- Милушкина О. Ю., Скоблина Н. А., Маркелова С. В., Татаринчик А. А., Бокарева Н. А., Федотов Д. М. Оценка

- рисков здоровью школьников и студентов при воздействии обучающих и досуговых информационно-коммуникационных технологий. Анализ риска здоровью. 2019; 3: 135–43. DOI: 10.21668/health.risk/2019.3.16.
7. Гончарова Г. А. Нервно-психическое здоровье детей — активных пользователей цифровых средств. Российский вестник гигиены. 2021; 3: 33–5. DOI: 10.24075/rbh.2021.017.
 8. Коваленко С. В., Маковецкая А. Д., Тюстина Г. Г. Исследование интернет-зависимости подростков в условиях образовательной среды как фактора психологической безопасности личности. Мир науки. Педагогика и психология. 2022; 10 (5): 43.
 9. Кучма В. Р., Сухарева Л. М., Рапопорт И. К. Руководство по школьной медицине: Медицинское обеспечение детей в дошкольных, общеобразовательных учреждениях и учреждениях начального и среднего профессионального образования. М.: НЦЗД РАМН, 2012; 215 с. ISBN 5-94302-067-5.
 10. Kojima R, Sato M, Akiyama Y, Shinohara R, Mizorogi S, Suzuki K, et al. Problematic Internet use and its associations with health-related symptoms and lifestyle habits among rural Japanese adolescents. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2019 Jan; 73 (1): 20–6. DOI: 10.1111/pcn.12791.
 11. Богомолова М. А., Бузина Т. С. Интернет-зависимость: аспекты формирования и возможности психологической коррекции. *Медицинская психология в России*. 2018; 10 (2): 8. DOI: 10.24411/2219-8245-2018-12080.
 12. Авдеева Е. А., Корнилова О. А. Влияние цифровой электронной среды на когнитивные функции школьников и студентов. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022; 21 (S3): 3331. DOI 10.15829/1728-8800-2022-3331.
 13. Cimino S, Cerniglia L. A longitudinal study for the empirical validation of an etiopathogenetic model of internet addiction in adolescence based on early emotion regulation. *Biomed Res Int*. 2018 Mar 7; 2018: 4038541. DOI: 10.1155/2018/4038541.
 14. Torres-Rodríguez A, Griffiths MD, Carbonell X. The treatment of Internet gaming disorder: A brief overview of the PIPATIC program. *International Journal of Mental Health and Addiction*. 2018; 16 (4): 1000–15. DOI: 10.1007/s11469-017-9825.
 15. Крайнов А. Л. Интернет-зависимость как глобальная проблема современности. *Философия и гуманитарные науки в информационном обществе*. 2020; 4: 38–45.
 16. Кардашян Р. А. Компьютерная игровая зависимость у учащихся общеобразовательных учреждений: распространенность, способствующие и предрасполагающие факторы, диагностика, клиника, терапия, профилактика. М.: Издательство РУДН, 2018; 286 с. ISBN 978-5-209-08625-3.
 17. Кучма В. Р., Милушкина О. Ю., Бокарева Н. А., Скоблина Н. А. Современные направления профилактической работы в образовательных организациях. *Гигиена и санитария*. 2014; 93 (6): 107–11.
 18. Смирнова А. А., Захарова Т. Ю., Синогина Е. С. Киберугрозы безопасности подростков. *Научно-педагогическое обозрение*. 2017; 3 (17): 99–107. DOI 10.23951/2307-6127-2017-3-99-107.
 19. Ярыгина И. И. Тренинг как форма профилактики Интернет-зависимости подростков. *Психолого-педагогический журнал Гаудеамус*. 2019; 18 (39): 89–93.
 20. Макарова И. А., Резников С. А. Организация профилактики интернет-зависимости подростков в современной школе. *Вопросы педагогики*. 2020; 6–2: 143–6.

References

1. Obrubov SA, Markelova SV. Impact of life activity in conditions of digital environment on the students' organ of sight. *Russian Bulletin of Hygiene*. 2021; 2: 4–9. DOI: 10.24075/rbh.2021.014. Russian.
2. Tereshchenko SYu, Shubina MV, Semenova NB, Evert LS, Gorbacheva NN. The relationship between internet addiction and sleep disorders in adolescents of Central Siberia in different types of consumed content. *The Korsakov's Journal of Neurology and Psychiatry. Special issues*. 2022; 122 (5–2): 58–64. DOI: 10.17116/jnevro202212205258. Russian.
3. Grigoryev SL. Psychophysical effects of active use of technical means of on-screen communication. *Izvestiya of the Samara Science Centre of the Russian Academy of Sciences. Social, Humanitarian, Biomedical Sciences*. 2022; 24 (86): 42–50. DOI 10.37313/2413-9645-2022-24-86-42-50. Russian.
4. Milushkina OYu., Popov VI, Skoblina NA, Markelova SV, Sokolova NV. The use of electronic devices by students, parents and teachers before and after the transition to distance learning. *Bulletin of RSMU*. 2020; 3: 85–91. Russian.
5. Skoblina NA, Milushkina OYu, Tatarinchik AA, Fedotov DM. The place of gadgets in the life of modern schoolchildren and students. *Public health and life environment*. 2017; 7 (292): 41–3. DOI: 10.35627/2219-5237/2017-292-7-41-43. Russian.
6. Milushkina OYu, Skoblina NA, Markelova SV, Tatarinchik AA, Bokareva NA, Fedotov DM. Assessing health risks for schoolchildren and students caused by exposure to educational and entertaining information technologies. *Health Risk Analysis*. 2019; 3: 135–43. DOI: 10.21668/health.risk/2019.3.16. Russian.
7. Goncharova GA. Mental health of the children who are active users of digital media. *Russian Bulletin of Hygiene*. 2021; 3: 33–5. DOI: 10.24075/rbh.2021.017. Russian.
8. Kovalenko SV, Makovetskaya AD, Tyustina GG. Analysis of Internet addiction of teenagers in the educational environment as a factor of psychological safety of the personality. *World of Science. Pedagogy and psychology*. 2022; 10 (5): 43. Russian.
9. Kuchma VR, Sukhareva LM, Rapoport IK. Rukovodstvo po shkol'noy meditsine: Meditsinskoe obespechenie detey v doshkol'nykh, obshcheobrazovatel'nykh uchrezhdeniyakh i uchrezhdeniyakh nachal'nogo i srednego professional'nogo obrazovaniya. M.: NTsZD RAMN, 2012; p. 215. ISBN 5-94302-067-5. Russian.
10. Kojima R, Sato M, Akiyama Y, Shinohara R, Mizorogi S, Suzuki K, et al. Problematic Internet use and its associations with health-related symptoms and lifestyle habits among rural Japanese adolescents. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2019 Jan; 73 (1): 20–6. DOI: 10.1111/pcn.12791.
11. Bogomolova MA, Buzina TS. Internet addiction: forming aspects and psychological correction opportunities. *Med. psihol. Ross*. 2018; 10 (2): 8. DOI: 10.24411/2219-8245-2018-12080. Russian.
12. Avdeeva EA, Kornilova OA. Influence of digital environment on the cognitive function of schoolchildren and students. *Cardiovascular therapy and prevention*. 2022; 21 (S3): 3331. DOI 10.15829/1728-8800-2022-3331. Russian.
13. Cimino S, Cerniglia L. A longitudinal study for the empirical validation of an etiopathogenetic model of internet addiction in adolescence based on early emotion regulation. *Biomed Res Int*. 2018 Mar 7; 2018: 4038541. DOI: 10.1155/2018/4038541.
14. Torres-Rodríguez A, Griffiths MD, Carbonell X. The treatment of Internet gaming disorder: A brief overview of the PIPATIC program. *International Journal of Mental Health and Addiction*. 2018; 16 (4): 1000–15. DOI: 10.1007/s11469-017-9825.
15. Kraynov AL. Internet addiction as a global problem of our time. *Philosophy and Humanities in Information Society*. 2020; 4: 38–45. Russian.
16. Kardashyan RA. Komp'yuternaya igrovaya zavisimost' u uchashchikhsya obshcheobrazovatel'nykh uchrezhdeniy: rasprostranennost', sposobstvuyushchie i predraspologayushchie faktory, diagnostika, klinika, terapiya, profilaktika. M.: Izdatel'stvo RUDN, 2018; p. 286. ISBN 978-5-209-08625-3. Russian.
17. Kuchma VR, Milushkina OYu, Bokareva NA, Skoblina NA. Modern trends of preventive work in educational institutions. *Hygiene and Sanitation*. 2014; 93 (6): 107–11. Russian.
18. Smirnova AA, Zakharova TYu, Sinogina ES. Cyberthreats to security of teenagers. *Pedagogical Review*. 2017; 3 (17): 99–107. DOI 10.23951/2307-6127-2017-3-99-107. Russian.
19. Yarygina II. Training as prevention form of teenagers' internet dependence. *Psychological-Pedagogical Journal "Gaudeamus"*. 2019; 18 (39): 89–93. Russian.
20. Makarova IA, Reznikov SA. Organizatsiya profilaktiki internet-zavisimosti podrostkov v sovremennoy shkole. *Voprosy pedagogiki*. 2020; 6–2: 143–6. Russian.