

На правах рукописи

Моисеева Юлия Павловна

**ПРЕДИКТОРЫ В ФОРМИРОВАНИИ КЛИНИЧЕСКИХ  
ФЕНОТИПОВ ПОЛИПОЗНОГО РИНОСИНУСИТА**

3.1.3. – Оториноларингология (медицинские науки)

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание учёной степени  
кандидата медицинских наук

Москва – 2021

Работа выполнена в ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор **Пискунов Геннадий Захарович**

**Научный консультант:** доктор биологических наук, доцент **Гришина Елена Анатольевна**, директор НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России

**Официальные оппоненты:**

**Лопатин Андрей Станиславович** - доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Поликлиника № 1» Управления делами Президента Российской Федерации, врач-оториноларинголог.

**Шиленкова Виктория Викторовна** - доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, профессор кафедры оториноларингологии.

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «05» октября 2021 года в 10.00 часов на заседании Диссертационного совета 21.3.054.03 на базе ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России по адресу: 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2, стр. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России по адресу: 125445, г. Москва, ул. Беломорская, д. 19/38 и на сайте ФГБОУ ДПО РМАНПО <http://www.rmapo.ru>.

Автореферат разослан « » \_\_\_\_\_ 2021 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Карпова Елена Петровна

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность темы диссертации**

Полипозный риносинусит (ПРС) - хроническое воспалительное заболевание слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух (ОНП), характеризующееся образованием и рецидивирующим ростом полипов, инфильтрированных различными клетками иммунной системы [Г.З. Пискунов, 2016]. Распространенность патологии в мире составляет около 5% взрослого населения [W.J. Fokkens, et al., 2012]. Сложность лечения заболевания обусловлена его склонностью к рецидивированию, которая по некоторым данным достигает 60% [W.J. Fokkens, et al., 2016], что значительно ухудшает качество жизни пациентов и несет значительную нагрузку на систему здравоохранения [J.R. Pleis, et al., 2009; K.A. Smith, et al., 2015].

Разнообразие форм ПРС привело к необходимости разделения их на фенотипы и эндотипы для подбора более эффективной тактики в отношении прогноза и рекомендуемой терапии [Г.З. Пискунов, 2019; W.J. Fokkens, et al., 2012; S.H. Cho, et al., 2016]. Тем не менее, проблема раннего выявления пациентов, склонных к тяжелому течению патологии с развитием бронхиальной астмы (БА) или аспирииндуцированного респираторного заболевания (Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease - AERD), остаётся нерешенной. Определение и внедрение генетических предикторов, связанных с развитием ПРС, а также их сопоставление с определенными клиническими фенотипами ПРС, открывает большие перспективы не только в выборе лечебной тактики, но и профилактической направленности, что делает данный вопрос актуальным для изучения.

Таким образом, проблема оценки предикторов, прогнозирующих развитие клинических фенотипов ПРС на ранних этапах развития заболевания, остается до настоящего времени чрезвычайно важной и сложной. Она требует разработки персонализированного подхода к диагностике пациентов с впервые выявленным ПРС.

### **Степень разработанности темы диссертации**

Анализ работ, посвященных поиску оптимальной тактики прогнозирования развития ПРС и формирования его определенных клинических фенотипов, показал, что не существует единого мнения по данному вопросу. Широкой популярностью для этих целей в

клинической практике по всему миру пользуется классификация, основанная на гистологической картине - азиатский (нейтрофильный) и европейский (эозинофильный) типы [Mygind N., 1978; Fokkens, et al., 2012]. Но в связи с тем, что инфильтрация тканей различными клетками иммунной системы может варьировать со временем и изменением определенных условий, например, под действием медикаментозной терапии, а также имеет более сложный состав, чем два вида клеток [H. Lou et al., 2018], проводились новые исследования по эндотипированию ПРС. Определенным прорывом в понимании иммунологии хронического риносинусита стало его кластерное разделение на основе иммуногистохимического анализа биомаркеров в ткани полипа или слизистой оболочки полости носа [P. Tomassen, et al., 2016]. Эта классификация имеет большую научную значимость и отражает разнообразие цитокинов, вовлекаемых в развитие патологии, но методика оказалась достаточно сложной, дорогостоящей и невоспроизводимой в клинической практике.

В отечественных рекомендациях для определения оптимальной тактики ведения пациентов с ПРС приводится классификация клинических фенотипов, предложенная Пискуновым Г.З. (2003 г.) и основанная на этиопатогенетическом факторе. Рациональность и эффективность такого разделения больных на группы подтверждена более чем двадцатилетними клиническими наблюдениями. Более того, именно в этой классификации отражаются роль воздействия воздушной струи на слизистую оболочку полости носа и возможность турбулентного потока создавать предпосылки для формирования назальных полипов. Тем не менее, за это время представление о патогенетических механизмах развития ПРС, вовлеченных в него иммунных реакций и молекулярных взаимодействиях, шагнуло далеко вперед. Всё это создает предпосылки для поиска научных данных, подтверждающих опыт клинических наблюдений.

Основываясь на опыте пульмонологов по изучению предикторов БА, оториноларингологи начали поиск генетических маркеров ПРС. Исследовались гены-кандидаты, субстраты которых активно поддерживают иммунный ответ через Т-хелперы 2 типа (Th2). Позднее, спектр генов, рассматриваемых в качестве предикторов развития ПРС, расширился, и туда вошли гены врожденного

иммунитета; гены главного комплекса гистосовместимости HLA; гены, отвечающие за ремоделирование тканей околоносовых пазух; гены, вовлеченные в метаболизм арахидоновой кислоты; гены трансформации ксенобиотиков; гены, ассоциированные с носительством *S. aureus*, а также другие гены [А.С. Левченко, и др. 2018; J. Hsu, et al., 2013; W.J. Fokkens, 2020]. Несмотря на то, что начальное представление о генетических предикторах, участвующих в формировании этой патологии, было получено, до сих пор нет исследований по их сопоставлению с разными клиническими фенотипами ПРС.

Таким образом, анализ и сопоставление по значимости фенотипических, эндотипических и генетических предикторов, направленных на прогнозирование тяжелого течения ПРС, очень важны для улучшения диагностики и своевременной профилактики рецидивирующего роста назальных полипов.

### **Цель исследования**

Определить предикторы прогнозирования развития и выявления склонности к рецидивирующему росту назальных полипов на ранних этапах формирования полипозного риносинусита при его различных клинических фенотипах.

### **Задачи исследования**

1. Выявить гены-кандидаты, которые могут быть предикторами развития полипозного риносинусита, а также его определенных клинических фенотипов.
2. Определить наиболее значимые предикторы рецидивирования назальных полипов среди фенотипических, эндотипических и генотипических показателей.
3. Составить модель, позволяющую рассчитать вероятность рецидивирующего роста назальных полипов.
4. Разработать рекомендации по определению прогноза течения полипозного риносинусита у пациентов с впервые выявленными назальными полипами.

### **Научная новизна исследования**

Полученные результаты сопоставимы с работами, проведенными зарубежными авторами. Было подтверждено, что А-аллель rs3939286 в гене *IL-33* [I.D. Buyschaert, et. al., 2010] статистически значимо предрасполагает к развитию ПРС у здоровых лиц (OR=2,484 (95% CI, 1,184-5,212, p-value = 0,0235)). А также

установлена взаимосвязь rs1342326 в гене *IL-33* с риском формирования БА [M.F. Moffatt, et al., 2010; K.W. Kim, et al, 2019]. Но в отличие от этих исследований соискателем проведено сопоставление возможных генетических предикторов с клиническими фенотипами ПРС для разработки нового диагностического метода выявления пациентов с риском отягощенного течения ПРС.

Установлена взаимосвязью А-аллеля rs3939286 в гене *IL-33* с развитием клинического фенотипа ПРС в результате хронического гнойного воспаления слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух (OR=2,250 (95% CI, 1,019-4,967, p-value = 0,044)). Кроме того, обнаружено, что этот полиморфизм является предиктором круглогодичного аллергического ринита (кАР) (OR=4,348 (95% CI, 1,821-10,380, p-value = 0,001377)).

Исследована встречаемость и роль трех SNPs (rs1342326 в гене *IL-33*, rs730012 в гене *LTC4S* и rs7572857 в гене *CEP68*), ассоциированных по данным литературы с БА и AERD. Из них только носительство G-аллеля rs1342326 в гене *IL-33* статистически значимо предрасполагало к развитию БА среди больных ПРС (OR=3,048 (95% CI, 1,136-8,179, p-value = 0,04574)), а также к рецидивирующему росту назальных полипов (OR=2,788 (95% CI, 1,068-7,276, p-value = 0,04848)) и склонности к кАР (OR=3,627 (95% CI, 1,404-9,370, p-value = 0,01247)).

В ходе работы обнаружено, что rs7572857 в гене *CEP68* является предиктором сезонного аллергического ринита в группе больных с ПРС (OR=4,896 (95% CI, 2,081-11,516, p-value = 0,000396)).

На основании ряда фенотипических, эндотипических и генотипических параметров построена модель, определяющая вероятность повторного развития назальных полипов, а также переход из одного фенотипа в другой, более неблагоприятный по течению.

Впервые как фактор, вносящий вклад в рецидивирующий рост назальных полипов, представлена патология эндокринной системы (OR=2,787 (95% CI, 1,138-6,823, p-value = 0,0249)).

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

В ходе диссертационного исследования разработана концепция персонализированного подхода к раннему выявлению формирующегося клинического фенотипа ПРС у пациентов с

впервые установленным диагнозом. Сформулирована научная идея диагностики течения этого заболевания на основании не только фенотипических и эндотипических предикторов, но и с включением генетических маркеров, что позволило создать прогностическую модель логистической регрессии, оценивающую склонность к рецидивирующему росту назальных полипов в начале болезни. Наличие нарушения аэродинамики полости носа; БА; ХОБЛ; кАР; эндокринных заболеваний; мутантного G-аллеля rs1342326; а также длительность симптомов; сумму симптомов по ВАШ; количество баллов Lund-Maskey; эозинофилию крови  $>5\%$  можно рекомендовать в качестве предикторов в вопросах прогноза течения ПРС, в частности риска рецидивирующего роста назальных полипов. Все параметры, изучаемые в этом исследовании, являются доступными по уровню сложности выполнения, что может стать основанием для включения их в клинические рекомендации и стандарты.

Практическая значимость результатов диссертационной работы подтверждается патентом РФ на изобретение №2741930 (29 января 2021 г.) «Способ выявления генотипов, предрасполагающих к рецидивированию назальных полипов, у пациентов с полипозным синуситом». Получен грант «Умник-Хелснет-НТИ» (договор №15838ГУ/2020) на реализацию проекта «Разработка генетического скрининга в прогнозировании развития полипозного риносинусита и профилактике формирования его клинических фенотипов, склонных к тяжелому течению» и внедрение этого проекта в клиническую практику.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Доказано, что наиболее точный прогноз возможного рецидивирующего роста назальных полипов у пациентов с дебютом ПРС достигается при использовании в качестве предикторов совокупности фенотипических (наличие БА; кАР; ХОБЛ; эндокринных заболеваний; баллы по шкале Lund-Maskey; сумма баллов ВАШ всех симптомов; длительность симптомов; нарушение аэродинамики полости носа), эндотипических (относительная эозинофилия крови) и генотипических признаков (G-аллель rs1342326).

2. Установлено, что однонуклеотидные полиморфизмы гена *IL-33* являются наиболее вероятными предикторами развития клинических фенотипов полипозного риносинусита: выявление

мутантного А-аллеля rs3939286 увеличивает риск развития ПРС у здоровых лиц, а также предрасполагает к формированию хронического гнойного воспаления слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух; наличие мутантного G-аллеля rs1342326 ассоциировано с ПРС, сочетающимся с БА.

### **Степень достоверности и обоснованности результатов**

Проведение диссертационной работы по данной теме рассмотрено и одобрено Комитетом по этике научных исследований (Протокол №9 от 17 октября 2018 года) и Научной проблемной комиссией (Протокол №15 от 16 ноября 2018 года) ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. Тема диссертации утверждена Ученым советом хирургического факультета ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (Протокол № 12 от 11 декабря 2018 года). Количество пациентов (103) и группы контроля (50), включенных в исследование, является достаточным для получения достоверных результатов. При проведении диссертационной работы использовались современные и актуальные методы диагностики (эндоскопический осмотр полости носа, компьютерная томография околоносовых пазух, гистологическое исследование ткани полипа). Статистическая обработка данных выполнялась в свободной среде разработки программного обеспечения Rstudio с применением обоснованных методов (расчет отношения шансов, корреляционный анализ Спирмена, логистическая регрессия).

### **Соответствие диссертации Паспорту научной специальности**

Диссертационная работа «Предикторы в формировании клинических фенотипов полипозного риносинусита» соответствует паспорту специальности 3.1.3. – Оториноларингология (медицинские науки), и области исследования п.2 – «Разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики ЛОР-заболеваний», так как направлена на поиск предикторов развития ПРС и формирования его определенных клинических фенотипов, что позволяет не только развивать профилактическое направление, но и персонализированный подход в ведении таких больных.

### **Личный вклад автора**

Автором проведен анализ отечественных и зарубежных источников литературы по данной теме, составлен дизайн исследования, обозначена актуальность и степень разработанность вопроса, поставлены цели и задачи, сформирована анкета и выполнен



набор пациентов, а также контрольной группы в исследование. Диссертантом принималось участие в проведении хирургического лечения пациентов (эндоскопические полисинусотомии, а также подслизистые коррекции перегородок носа и турбинопластики у пациентов с первым клиническим фенотипом по классификации Пискунова Г.З.); осуществлялся забор венозной крови вакутейнером для генетического анализа; принималось участие в определении SNPs методом ПЦР в реальном времени с интерпритацией результатов; проводилось динамическое наблюдение за пациентами в течение года. Динамическое наблюдение включало в себя эндоскопический осмотр полости носа, коррекцию медикаментозного лечения согласно клиническим рекомендациям и ориентированное на персонализированный подход, малоинвазивную амбулаторную хирургию при выявлении солитарных полипов, устойчивых к консервативной терапии. Полученные в ходе работы результаты подвергнуты статистическому анализу, проведенному автором и отражены в сформулированных выводах и клинических рекомендациях, подана заявка на патент. Результаты диссертационной работы полностью отражены автором в публикациях и доложены на научных конференциях.

#### **Внедрение в практику результатов исследования**

Результаты исследования используются в работе отоларингологического отделения ФБУ «Центральной клинической больницы гражданской авиации» (Акт внедрения результатов диссертационной работы в практику от 23.10.2020). Результаты диссертационной работы включены в учебные программы циклов профессиональной переподготовки врачей-специалистов, повышения квалификации врачей-оториноларингологов, в основную профессиональную образовательную программу высшего образования – программу подготовки кадров высшей квалификации в ординатуре по специальности 31.08.58 - Оториноларингология, и используются кафедрой оториноларингологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (Акт внедрения результатов диссертационной работы в учебный процесс от 23.10.2020).

#### **Апробация результатов исследования**

Апробация результатов диссертационной работы состоялась 15.12.2020 на заседании кафедры оториноларингологии совместно с кафедрой детской оториноларингологии ФГБОУ ДПО РМАНПО

Минздрава России в присутствии сотрудников отделения оториноларингологии ФБУ «Центральной клинической больницы Гражданской авиации» (протокол №07/2020 от 15.12.2020).

Основные положения диссертационной работы были представлены на следующих научных мероприятиях: X Конференция молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное» (18-19 апреля 2019, Москва); VIII St-Petersburg Forum otorhinolaryngology Russia (23-25 апреля 2019 г., Санкт-Петербург); XIII Конгресс Российского общества ринологов (2-5 октября 2019 г., Сочи); XI Конференция молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное» (2-3 апреля 2020 г., Москва); XXV Юбилейная научно-практическая конференция «Фармакотерапия болезней уха, горла и носа с позиций доказательной медицины» (4 апреля 2020, Москва); IX Международный Петербургский Форум Оториноларингологов России (5-7 октября, 2020 г., Санкт-Петербург).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, из них 4 – в научных рецензируемых изданиях, рекомендуемых ВАК РФ, 1 – в журнале из Перечня Российских изданий, индексируемых в международных базах данных – PubMed, Scopus.

### **Объем и структура диссертационной работы**

Диссертация изложена на 131 странице машинописного текста, состоит из введения, четырех глав (обзор литературы; материалы и методы исследования; результаты собственных исследований; обзор клинических случаев), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы, включающего 163 источника (37 русскоязычных, 126 англоязычных) и приложений. Работа содержит 15 графиков, 19 таблиц и 3 рисунка.

### **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

#### **Материалы и методы исследования**

Работа представляет собой проспективное наблюдательное исследование, проводившееся на кафедре оториноларингологии ФГБОУ ДПО РМАНПО, находящейся на базе ФБУ «Центральная клиническая больница гражданской авиации».

Предметом исследования был поиск критериев прогнозирования развития полипозного риносинусита и выявления склонности к рецидивирующему росту назальных полипов в начале заболевания.

Объектом исследования являлись основная группа, состоящая из 103 пациентов с разными клиническими фенотипами ПРС, и контрольная группа из 50 относительно здоровых лиц без атопических заболеваний в анамнезе у себя и близких родственников. В исследование не включались пациенты в возрасте до 18 лет; имеющие генетические заболевания (муковисцидоз и синдром Картагенера); отказывающиеся от участия в исследовании и от динамического наблюдения; пациенты с невозможностью сбора анамнестических данных, забора венозной крови и/или ткани полипа для гистологического исследования. Критерием исключения служило выявление у пациента новообразований полости носа в ходе гистологического исследования. Основная группа были представлена пациентами от 22 до 78 лет, медиана составила 44 года ( $Q_1=36$ ,  $Q_2=56$ ,  $W = 0,97389$ ,  $p\text{-value} = 0,03903$ ), что соответствует данным, указанным в литературе. Количество мужчин (66 человек, 64%) преобладало над количеством женщин (37 человек, 36%), что также не противоречит данным по общей популяции. Пациенты с впервые выявленными назальными полипами составили 58,3% (60 человек). Группу контроля составили относительно здоровые люди от 24 до 60 лет. Критериями не включения были возраст до 18 и старше 60 лет; наличие ПРС и/или генетических (муковисцидоз и синдром Картагенера) и атопических заболеваний (БА/ АР/ атопический дерматит) и/или любых аллергических реакций в анамнезе как у участника исследования, так и у его близких родственников.

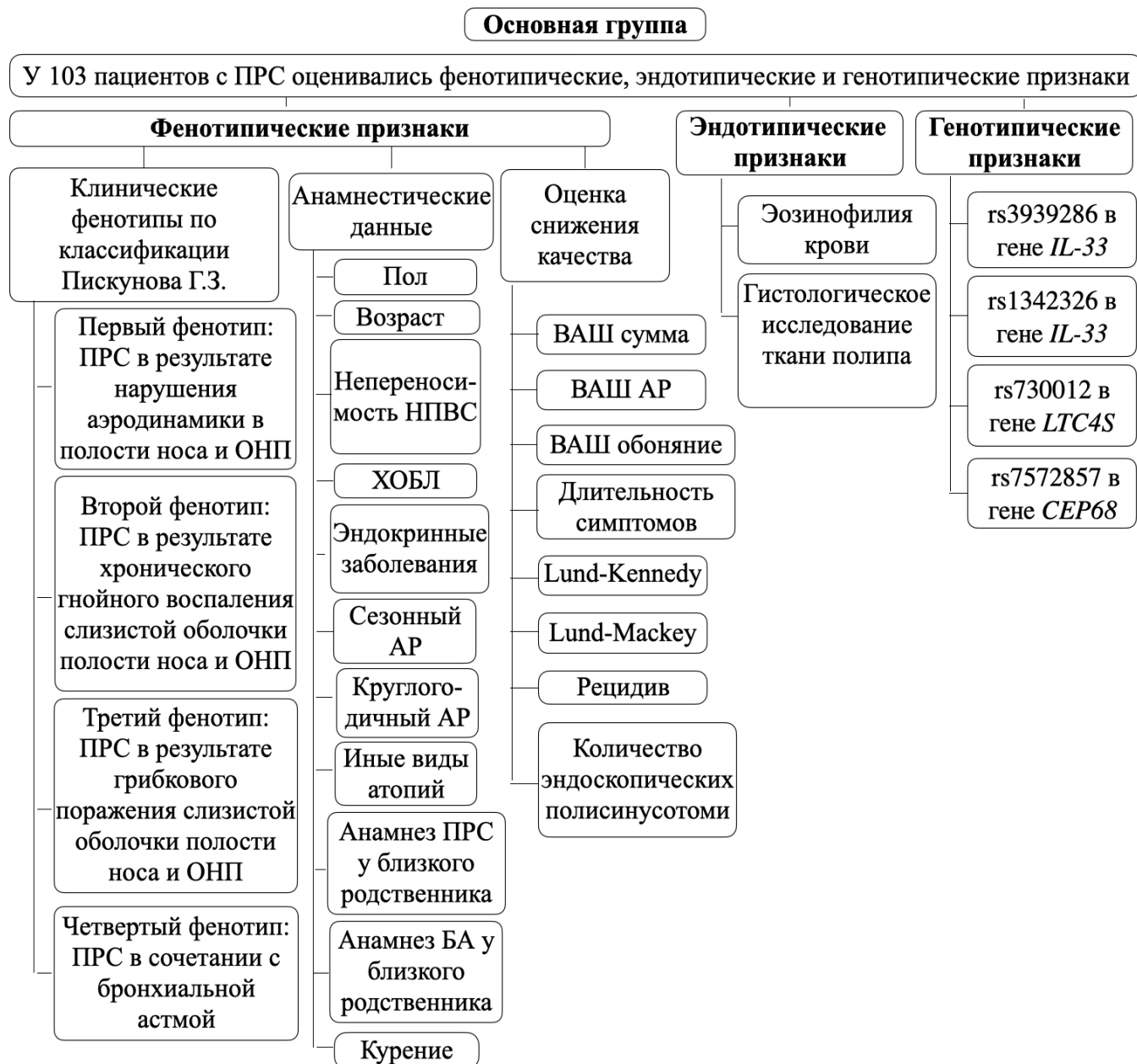
Для основной группы осуществлялся сбор 29 признаков, указанных на схеме 1. В последующем эти фенотипические, эндотипические и генотипические признаки оценивались как возможные предикторы рецидивирующего роста назальных полипов. Методы исследования контрольной группы включали в себя сбор анамнестических данных, ЛОР-осмотр, генетическое исследование.

Фенотипирование проводилось в соответствии с этиопатогенетической классификацией Пискунова Г.З. (2003 г.), в которой выделяется ведущая причина развития полипозного риносинусита: ПРС в результате нарушения аэродинамики в полости носа и околоносовых пазух; ПРС в результате хронического гнойного воспаления слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух; ПРС в результате грибкового поражения слизистой оболочки; ПРС в сочетании с бронхиальной астмой (БА). Больные с пятым фенотипом

в исследование не включались. Каждый фенотип был представлен как категориальный бинарный признак, где 0 – отсутствие, 1 – наличие, поэтому один и тот же пациент мог быть отнесен сразу к нескольким фенотипам.

Схема 1.

### Исследуемые признаки основной группы



Блок анамнестических данных включал в себя такие категориальные бинарные признаки, как пол, наличие непереносимости НПВС, сезонного и/или круглогодичного аллергического ринита, иных аллергических реакций, заболеваний эндокринной системы, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ); курение; информацию о ПРС и/или БА у близких

родственников; а также количественный признак - возраст больного. Оценка снижения качества жизни проводилась с помощью выраженности 7 симптомов (затруднение носового дыхания; снижение/отсутствие обоняния; чувство стекания по задней стенке глотки; выделения из полости носа; головная боль; повышение температуры тела; проявления аллергического ринита) по ВАШ и расчета общей суммы их баллов. Степень тяжести ПРС определялась с помощью шкал Lund-Kennedy (1995 г.) для оценки эндоскопической картины и Lund-Mackey (1993 г.) для интерпретации КТ ОНП. Эндоскопия полости носа осуществлялась с помощью ригидных эндоскопов Youshi (Y3010) 0° 2,7x175мм, Karl Storz 0° 4 мм и 30° 4 мм. КТ ОНП выполнялась на компьютерном томографе DISCOVERY CT750 HD, просмотр снимков проводился с помощью программного обеспечения RadiAnt DICOM Viewer. Отмечалось время возникновения первых симптомов, количество предшествующих операций по поводу ПРС. Если в анамнезе уже были эпизоды хирургического лечения, то заболевание у пациента расценивалось, как имеющее рецидив, для больных с впервые выявленными назальными полипами этот признак оценивался в ходе годового послеоперационного наблюдения.

Эндотипирование включало в себя информацию об эозинофилии крови (относительное значение) и заключение гистологического исследования. Подсчет клеток крови производился с использованием гематологического анализатора АBBOTT Cell-Dyn 3700 (США). Гистологические препараты изготавливались по общепринятой методике на оборудовании Shendon и Leica и исследовались в микроскопе проходящего света фирмы Leica при увеличении с 4x10 до 40x10. Интерпретация гистологических препаратов была отражена в характере инфильтрации ткани полипа: 1. умеренная эозинофилия; 2. лимфоидная инфильтрация с умеренной эозинофилией; 3. преобладание эозинофилов; 4. лимфоидная инфильтрация с большим количеством эозинофилов; 5. смешанный характер инфильтрации, скопления колоний мицелия грибов рода *Aspergillus*; 6. смешанный характер инфильтрации (лимфо-плазмоцитарная, примесь нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитов).

В качестве генетических маркеров использовались SNPs генов-кандидатов, участвующих в патогенезе Th2-воспалительной реакции:

rs3939286 в гене *IL-33*, rs1342326 в гене *IL-33*, rs730012 в гене *LTC4S*, rs7572857 в гене *CEP68*. Биологическим материалом, содержащим ДНК, послужила венозная кровь, забор которой осуществляется в вакуумную пробирку ЭДТА-К2 или ЭДТА-К3. Затем биологический материал подвергался выделению ДНК из крови, которое осуществлялось вручную в несколько этапов. Манипуляции производились в ламинарном боксе биологической (микробиологической) безопасности класс II /тип А2/ БМБ-II- "Ламинар-С"-1,2 VIS-A-VIS (LAMSYSTEMS) с использованием набора для выделения ДНК на сорбенте «S-сорб» фирмы Синтол. Real-time PCR для выбранных SNPs проводилась с использованием готовых наборов реагентов ThermoFisher. Эта часть научно-исследовательской работы выполнялась в НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО при участии Гришиной Е.А. и Качановой А.А. В послеоперационном периоде пациенты наблюдались в течение года с эпизодичностью: 1, 3, 6 и 12 месяцев с момента операции. В этот период осуществлялось выявление у пациентов склонности к рецидивирующему росту назальных полипов.

Статистическая обработка полученных в ходе исследования данных осуществлялась с помощью программного обеспечения RStudio Version 1.2.5019. Для выявления определенных аллелей, изучаемых SNPs в качестве предикторов развития ПРС, использовался расчет отношения шансов (OR). В этом случае сравнение проводилось между основной группой и группой контроля. Аллели оценивались также в качестве предикторов развития конкретных клинических фенотипов ПРС, рецидивов назальных полипов и предрасполагающих фоновых состояний – сравнение проводилось с помощью OR внутри основной группы (сравнение между пациентами с наличием и отсутствием признака). Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ . Для выявления коллинеарных фенотипических, эндотипических и генетических признаков использовался коэффициент корреляции Спирмена для непараметрических величин. Оценка влияния совокупности предикторов на вероятность рецидивирующего роста назальных полипов осуществлялась с помощью моделей логистической регрессии. Наиболее удачная из них была выбрана с помощью ROC-кривых и AUC.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Распределение клинических фенотипов в основной группе

При определении клинических фенотипов для каждого больного установлено, что нарушение аэродинамики полости носа и ОНП встречалось у подавляющего большинства пациентов основной группы – 83 человека (80,6%). Причем без сочетания с другими этиопатогенетическими факторами, приведенными в классификации Г.З. Пискунова, этот фенотип был обнаружен у 42 больных (40,8%), чаще у мужчин молодого и среднего возраста (30 человек). В этом случае прогнозируется благоприятное течение при устранении анатомических дефектов, но, тем не менее, у 12 человек (в 28,6% случаев) произошло повторное формирование назальных полипов. С хроническим гнойным воспалением слизистой оболочки полости носа и ОНП было выявлено 43 пациента (41,7%), всего 3 из них не имели сочетаний с другими фенотипами. ПРС в результате грибкового поражения слизистой оболочки полости носа и ОНП зарегистрирован у 11 больных (10,7%) и только в сочетании с другими фенотипами, преимущественно первым и вторым. Пациенты с БА в анамнезе составили 25 человек (24,3%), причём у 19 из них в сочетании с другими фенотипами.

### Генотипирование основной и контрольной группы

Был проведен расчет встречаемости диких и мутантных аллелей изучаемых SNPs в основной и контрольной группах. Распределение частот аллелей соответствовало закону Харди-Вайнберга. Мутантный вариант rs3939286 (AA) в гене *IL-33* чаще встречался в группе пациентов с ПРС (9,7%), чем в группе контроля (2%) и в европейской популяции (7,1%). Мутантный тип (GG) полиморфизма rs1342326 в гене *IL-33* в исследовании не встретился. Тем не менее, гетерозиготный вариант (GT) в большей степени представлен именно среди пациентов, страдающих ПРС (23,3%), при сравнении с контрольной группой (12%). Мутантный тип (CC) rs730012 в гене *LTC4S* приблизительно в равных процентных соотношениях встречается как в группе больных (10,7%), так и среди европейской популяции (10,6%), но при сравнении пациентов с группой контроля (6%) можно сделать вывод о преобладании гомозиготной мутации среди больных ПРС. Встречаемость мутантного типа (AA) SNPs rs7572857 в гене *CEP68* в группе контроля (8%) на 2,2% превысила встречаемость среди пациентов (5,8%). В европейской популяции

(1,8%) мутантный тип этого SNPs встречается реже, чем у участников исследования. Среди пациентов была выделена группа, не имеющая мутантных аллелей в исследуемых SNPs (16, человек, 15,5%). При сопоставлении генетических предикторов с фенотипическими она разделилась на 2 части – первая с благоприятным течением патологии (9 человек), все пациенты имели нарушение аэродинамики полости носа и небольшое количество предрасполагающих к ПРС факторов; а другая с наличием БА или предпосылками к её развитию (7 человек) - очевидно, что у таких пациентов есть мутации в других SNPs, которые не вошли в исследование, что является стимулом для продолжения научного поиска и расширения генетического скрининга. После хирургической коррекции анатомического дефекта, нарушающего аэродинамику в полости носа, в группе пациентов с небольшим количеством предрасполагающих к ПРС факторов и отсутствием мутантных аллелей, наблюдалась длительная ремиссия без использования ИГКС. Это подтверждает, тот факт, что ПРС в результате нарушения аэродинамики в полости носа и околоносовых пазух является самостоятельным клиническим фенотипом с благоприятным прогнозом.

#### **Результаты динамического годового наблюдения за пациентами в послеоперационном периоде**

В исследовании приняло участие 60 человек (58,3%) с впервые выявленным ПРС. Именно в этой группе было наиболее важно нахождение лиц, предрасположенных к рецидивированию назальных полипов с целью ранней профилактики этого процесса. Больные с длительным анамнезом заболевания и неоднократными операциями по поводу него в анамнезе составили 43 человека (41,7%). Эта группа являлась основополагающей для обнаружения наиболее значимых факторов в прогнозировании тяжелого течения ПРС. Из 103 пациентов у 25 (24,3%) рецидив назальных полипов возник в первый год после хирургического лечения, из них у 23 больных были обнаружены мутантные аллели в изучаемых SNPs. У впервые выявленных больных в течение года рецидив был зафиксирован у 8 пациентов (7,8%). Чаще всего это происходило в период 2 явки - на 3 месяц с момента эндоскопической полисинусотомии (5 случаев, 62,5%). Практически у всех больных были обнаружены мутантные аллели в исследуемых полиморфизмах. Единственный случай без мутаций по исследуемым SNPs представлен пациенткой с



аспириновой триадой и большим количеством биологических дефектов, включая поливалентную аллергию, в том числе и на лекарственные препараты; псевдомембранозный колит; язвенную болезнь желудка. В связи с этими данными, следует предположить рациональность проведения исследований по расширению генетической панели ПРС. Из пациентов с предшествующим анамнезом хирургических вмешательств по поводу ПРС рецидив назальных полипов за год был выявлен у 17 больных, в одном из случаев, несмотря на консервативное лечение, потребовалась эндоскопическая полисинусотомия. Динамическое наблюдение пациентов в течение года позволило выявить среди них группу, наиболее склонных к рецидивам назальных полипов, вовремя скорректировать терапию, улучшить качество жизни пациентов (оценивалось по сумме баллов за каждый симптом по шкале ВАШ) и в 24 из 25 случаев избежать необходимости хирургического лечения.

#### **Генетический скрининг как инструмент прогнозирования риска развития полипозного риносинусита.**

Доказательство возможности мутантных аллелей изучаемых SNPs, являться предикторами развития ПРС и его клинических фенотипов, а также рецидивирующего роста назальных полипов и атопических заболеваний, проводилось с использованием OR. С риском развития ПРС у здоровых лиц, статистически достоверно оказался ассоциирован только А-аллель rs3939286 в гене *IL-33* OR=2,484 (95% CI, 1,184-5,212, p-value = 0,0235), более того, в гетерозиготном варианте (AG) он оказался предвестником хронического гнойного воспаления слизистой оболочки полости носа и ОНП OR=3,048 (95% CI, 1,136-8,179, p-value = 0,04574). Эта связь объясняется тем, что субстрат данного гена *IL-33* является алармином и активно участвует в формировании врожденного иммунитета, представляющем собой первое звено защиты. Гомозиготный вариантный (AA) был обнаружен у 10 больных (9,7%), отягощая течение заболевания выраженным эозинофильным характером воспаления (70% носителей) и повышением вероятности присоединения БА в 4,5 раза (p-value=0,0374) по результатам логистической регрессии, что отражает способность *IL-33* индуцировать Th2-тип иммунного ответа. Второй исследуемый полиморфизм гена *IL-33* rs1342326 показал связь с развитием БА среди больных ПРС при наличии у них мутантного G-аллеля,

встречаемость которого составила 23,3%, что приблизительно соответствует встречаемости БА в основной группе исследования – 24,3%. Оба SNPs гена *IL-33* можно расценивать в качестве предикторов круглогодичного АР: А-аллель rs3939286 OR=4,348 (95% CI, 1,821-10,380, p-value = 0,001377) и G-аллель rs1342326 OR=3,627 (95% CI, 1,404-9,370, p-value = 0,01247). SNPs, ассоциированные в пульмонологических исследованиях с АЕРД (rs730012 в гене *LTC4S*, rs7572857 в гене *CEP68*), в диссертационной работе не реализовали себя в качестве предикторов риска формирования ПРС в сочетании с бронхиальной астмой и непереносимостью НПВС, что объясняется идентичной частотой встречаемости, мутантных аллелей как в группе больных (С-аллель rs730012 - 54,4%; А-аллель rs7572857 – 39,8%), так и в группе здоровых (С-аллель rs730012 – 46%; А-аллель rs7572857 – 46%), а также небольшой выборкой БА (25 человек) и непереносимостью НПВС (19 человек). Вместе с тем, А-аллель rs7572857 в гене *CEP 68* проявил себя, как предиктор сезонного АР. По результатам динамического наблюдения дальнейшее изучение С-аллеля в rs730012 с позиции фармакогенетики по применению антилейкотриеновых препаратов у пациентов с рецидивирующим ростом назальных полипов, дает определенные надежды.

#### **Линейные взаимосвязи фенотипических, эндотипических, генотипических признаков полипозного риносинусита**

В процессе выполнения работы проводился поиск линейной корреляции с помощью коэффициента Спирмена между рассматриваемыми предикторами, для выявления коллинеарных признаков, чтобы не допустить их совместное использование в последующих регрессионных моделях. Таковыми оказались: количество операций до исследования и рецидивирующий рост назальных полипов (0,7407456855); баллы ВАШ по оценке обоняния и сумма баллов ВАШ по всем симптомам (0,660198265); НПВС, имеющие высокую линейную связь с БА (0,75320688); баллы по шкале Lund-Kennedy, высоко коррелирующие с оценкой Lund-Maskey (0,721730552).

#### **Определение предикторов и построение логистических регрессионных моделей**

Следующий этап работы заключался в построении логистических регрессионных моделей для каждого признака

(Таблица 1), где зависимой переменной был рецидив назальных полипов. Фактор рассматривался как предиктор рецидивирующего роста полипов, если значения p-value его коэффициента и девианса модели оказывались  $<0,05$ .

Таблица 1.

Значения моделей логистической регрессии для каждого предиктора

Фактор*	Intercept (b <sub>0</sub> )	Coeff. (b <sub>1</sub> )	Std. error	p-value для b <sub>1</sub>	AIC	Deviance	p-value
ИПН(+)	1,0986	-1,464	0,5626	0,00926	138,83	-7,7155	0,005475
БА(+)	-0,6931	3,1781	0,7754	5,26e-05	117,23	-29,311	6,165e-08
НПВС(+)	-0,5046	3,3378	1,0530	0,00153	124,32	-22,229	2,42e-06
ХОБЛ(+)	0,1268	-1,014	0,5025	0,0436	142,18	-4,3703	0,03657
кАР(+)	-0,5596	1,2936	0,4345	0,00291	137,15	-9,3955	0,002175
Эндокринные заболевания(+)	-0,383	1,0248	0,4568	0,0249	141,28	-5,2616	0,0218
Предшествующие операции	-1,7571	3,7991	0,8196	3,56e-06	67,411	-79,135	2,2e-16
Длительность симптомов	-1,135	0,089	0,02593	0,000595	132,1	-14,444	0,0001444
ВАШ сумма симптомов	-2,4380	0,0814	0,01911	2,02e-05	121,39	-25,155	5,291e-07
ВАШ снижения обоняния	-1,7264	0,2775	0,06128	5,97e-06	121,4	-25,141	5,329e-07
Lund-Kennedy	-2,4029	0,3822	0,08702	1,12e-05	120,99	-25,552	4,307e-07
Lund-Mackey	-2,1680	0,4591	0,0484	8,50e-07	106,39	-40,16	2,34e-10
Эозинофилия крови	-2,1619	0,4585	0,1056	1,38e-05	116,72	-29,823	4,732e-08
GT rs1342326	-0,3321	1,0253	0,4894	0,0362	141,92	-4,6246	0,03152

*Пояснение: Intercept – свободный член подогнанной модели; Coeff. – коэффициент, показывающий число натурального логарифма при расчете отношения шансов возникновения рецидива; Std. Error – стандартная ошибка среднего значения; AIC (Akaike Information Criteria) – информационный критерий Акаике, характеризующий модель (предпочтительны модели с наименьшим AIC); Deviance – разность между девиансами моделей с предиктором и без него.*

Из разных комбинаций предикторов построены 3 модели логистической регрессии, дающие прогноз относительно вероятности рецидивирующего роста назальных полипов для каждого пациента. Сравнение этих моделей осуществлялось с помощью ROC-кривых. Наиболее оптимальной для прогнозирования рецидивирующего роста назальных полипов оказалась модель, включающая параметры: нарушение аэродинамики полости носа + БА + ХОБЛ + кАР + длительность симптомов + сумма симптомов по ВАШ + эндокринные заболевания + Lund-Mackey + эозинофилия крови + rs1342326 (число степеней свободы=10; AUC=0,9070295; AIC=98,283; Deviance=-66,282; p-value=2,323e-10). Точность модели составила 84,5%. Создание программного обеспечения, реализующего эту модель, может значительно улучшить качество прогнозирования рецидивирующего роста назальных полипов у пациентов с дебютом ПРС для своевременной профилактики необходимости хирургического лечения.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Выполнен анализ 103 случаев различных клинических фенотипов ПРС, в каждом из которых оценивались 29 признаков. Определено, что наиболее точный прогноз достигается именно при оценке совокупности фенотипических, эндотипических и генетических предикторов, а не изолированной их интерпретации, что отражено в модели логистической регрессии, в состав которой входят: наличие нарушения аэродинамики полости носа; БА; ХОБЛ; кАР; эндокринных заболеваний; мутантного G-аллеля rs1342326; а также длительность симптомов; сумма симптомов по ВАШ; количество баллов Lund-Mackey; эозинофилия крови >5% (AUC=0,9070295; AIC=98,283; Deviance=-66,282; p-value= 2,323e-10). По результатам исследования наибольший вклад в прогнозирование течения заболевания продемонстрировали фенотипические и генетические предикторы. Это обусловлено тем, что первые отражают оформившуюся на протяжении многих лет клиническую картину у пациентов с давним анамнезом ПРС, а вторые эффективны у пациентов с впервые выявленными назальными полипами, так как они предвосхищают формирование определенного фенотипа ПРС. Благоприятный прогноз ожидается у пациентов с отсутствием мутантных аллелей в исследуемых SNPs и малым количеством фенотипических и эндотипических предикторов, а также если

больной является носителем гетерозиготного варианта (AG) rs3939286. В этом случае важным условием поддержания длительной ремиссии является купирование хронического гнойного воспаления слизистой оболочки полости носа и ОНП. Напротив, гомозиготный мутантный вариант (AA) rs3939286 характеризуется неблагоприятным прогнозом в связи с формированием БА с инфекционно-зависимым компонентом. Тяжелое течение ПРС с развитием БА и рецидивирующим ростом назальных полипов также ожидается у пациентов с носительством мутантного G-аллеля rs1342326. Эндотипические признаки, изучение которых доступно в повседневной клинической практике (эозинофилия крови и гистологическое исследование ткани полипа), в исследовании показали широкую вариабельность и были наиболее информативны у пациентов с уже реализованным тяжелым течением болезни (наличие AERD, рецидивирующий рост назальных полипов). ПРС, ведущим фактором которого являются нарушения аэродинамики в полости носа и ОНП без наличия изменений со стороны эндотипических и генотипических признаков, имеет благоприятный прогноз при своевременной хирургической коррекции анатомических дефектов.

### **ВЫВОДЫ**

1. Наибольшую значимость в прогнозировании развития определенных фенотипов полипозного риносинусита, включая его тяжелые формы, из четырех исследуемых SNPs показали rs3939286 и rs1342326 в гене *IL-33*.

2. Полиморфизм rs3939286 ассоциирован не только с развитием ПРС у здоровых лиц OR= 2,484 (95% CI, 1,184-5,212, p-value = 0,0235), но и с хроническим гнойным воспалением слизистой оболочки полости носа и ОНП OR= 2,788 (95% CI, 1,068-7,276, p-value = 0,04848), отражающем суть второго клинического фенотипа полипозного риносинусита по классификации Г.З. Пискунова (2003 г.), причем при гетерозиготном варианте AG заболевание хорошо поддается хирургическому и медикаментозному лечению с достижением длительной стойкой ремиссии, а последовательность AA предрасполагает к формированию бронхиальной астмы, усугубляющегося эозинофильного воспаления с возникновением выраженной симптоматики и снижением качества жизни пациента.

3. Носительство G-аллеля rs1342326 является предиктором развития круглогодичного аллергического ринита OR=3,637 (95% CI,

1,404-9,370, p-value=0,01247), БА OR=3,048 (95% CI, 1,136-8,179, p-value=0,04574), а также связано с рецидивирующим ростом назальных полипов OR=2,788 (95% CI, 1,068-7,276, p-value=0,04848).

4. Фенотипические предикторы, отражающие выраженность клинической симптоматики, продемонстрировали наиболее сильные регрессионные связи с вероятностью наступления рецидивов назальных полипов, но у пациентов с впервые выявленным полипозным риносинуситом они, как правило, не реализованы в полной мере, что снижает их прогностическую ценность.

5. Среди эндотипических предикторов, используемых в клинической практике, статистически значимая связь с рецидивирующим ростом назальных полипов была получена только с относительным значением эозинофилии крови (увеличивает риск в 1,58 раза).

6. Наилучший прогноз в отношении склонности назальных полипов к рецидивирующему росту показала модель логистической регрессии с предикторами: нарушение аэродинамики полости носа; бронхиальная астма; хроническая обструктивная болезнь легких; круглогодичный аллергический ринит; длительность симптомов; сумма симптомов по ВАШ; эндокринные заболевания; Lund-Mackey; эозинофилия крови; rs1342326 (AUC=0,9070295; AIC=98,283; Deviance=-66,282; p-value= 2,323e-10).

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. У лиц с факторами риска развития ПРС (заболевания нижних дыхательных путей, включая БА и ХОБЛ; хроническое гнойное воспаление полости носа и ОНП, в особенности при наличии нарушения аэродинамики полости носа и/или большой суммы баллов симптомов по ВАШ; круглогодичный АР; заболевания эндокринной системы в сочетании с другими факторами) проводить генетический скрининг однонуклеотидного полиморфизма rs3939286 в гене *IL-33* для своевременного выявления у них А-аллеля этого полиморфизма и дальнейшего динамического наблюдения врачом-оториноларингологом с профилактической целью; при нарушении аэродинамики полости носа и ОНП таким пациентам рекомендовано хирургическое лечение для устранения дополнительного фактора риска.

2. У пациентов с дебютом ПРС для прогнозирования формирующегося у них клинического фенотипа проводить

генетический скрининг однонуклеотидных полиморфизмов rs3939286 и rs1342326 в гене *IL-33*. При выявлении у больного G-аллеля rs1342326 и/или последовательности AA rs3939286 рекомендовать ему динамическое наблюдение врачей оториноларинголога и пульмонолога, в послеоперационном периоде назначать иГКС на более длительный срок (не менее 3 месяцев). Наличие генотипа AG rs3939286 дает хороший прогноз на длительную ремиссию при адекватном уходе за полостью носа (своевременное лечение гнойного воспаления).

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Моисеева, Ю.П. Влияние половых гормонов на слизистую оболочку полости носа у больных полипозным риносинуситом // *Сб.: IX Конференция молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное»: Тез. докл.* - М.: ФГБОУ ДПО РМАНПО, 2018. - Т. II. - с. 55-56.

2. Моисеева, Ю.П. Роль гормонального фона в развитии полипозного риносинусита // *Сб.: Ежегодная конференция общества ринологов: Тез. докл.* - СПб., 2018. – с.30.

**3. Моисеева, Ю.П. Участие половых гормонов в формировании назальных полипов. История вопроса / Ю.П. Моисеева, Г.З. Пискунов // *Российская ринология.* – 2019. - Т.27, № 4. -С. 200-203.**

4. Моисеева, Ю.П. Генетические предикторы полипозного риносинусита // *Сб.: X Конференция молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное»: Тез. докл.* - М.: ФГБОУ ДПО РМАНПО, 2019. - Т. I. - с. 215-216

5. Моисеева, Ю.П. Генетические аспекты в формировании полипозного риносинусита / Ю.П. Моисеева, Г.З. Пискунов // *Сб.: VIII Петербургский форум оториноларингологов России: Тез. докл.* - СПб., 2019. - с.258.

6. Моисеева, Ю.П. Генетические предикторы в формировании полипозного риносинусита / Ю.П. Моисеева, Г.З. Пискунов // *Сб.: XIII Конгресс Российского общества ринологов: Тез. докл.* – Сочи, 2019. - с.88.

7. Моисеева, Ю.П. Динамическое наблюдение за больными полипозным риносинуситом / Ю.П. Моисеева, Г.З. Пискунов // *Вестник оториноларингологии*. – 2020. – Т. 85, № 2. –

С. 58-62.

8. Моисеева, Ю.П. Молекулярно-генетические аспекты полипозного риносинусита / Ю.П. Моисеева, Г.З. Пискунов // *Российская ринология*. -2020. – Т. 28, № 1. – С.26-31.

9. Моисеева, Ю.П. Генотипирование клинических фенотипов полипозного риносинусита // *Сб.: XI Конференция молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное»: Тез. докл.* – М.: ФГБОУ ДПО РМАНПО, 2020. - с.179-180.

10. Моисеева, Ю.П. Влияние полиморфизмов гена *ИЛ-33* на формирование клинических фенотипов полипозного риносинусита / Ю.П. Моисеева, Г.З. Пискунов // *Российская ринология*. - 2020. – Т. 28, № 4. – С. 205-210.

11. Моисеева, Ю.П. Однонуклеотидные полиморфизмы гена *ИЛ-33* в формировании полипозного риносинусита / Ю.П. Моисеева, Г.З. Пискунов // *Сб.: IX Международный Петербургский Форум Оториноларингологов России: Тез. докл.* - СПб., 2020. – с.230-231.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ПРС	полипозный риносинусит
БА	бронхиальная астма
AERD	аспирин-индуцированное респираторное заболевание
Th2	T-хелперы 2 типа
SNP	однонуклеотидный полиморфизм
иГКС	интраназальные глюкокортикостероиды
АР	аллергический ринит (кАР – круглогодичный)
НПВС	нестероидные противовоспалительные средства
ХОБЛ	хроническая обструктивная болезнь легких
КТ	компьютерная томография
ОНП	околоносовые пазухи
OR	отношения шансов