

# ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФЕНОТИПОВ МУКОВИСЦИДОЗА

Мановицкая Н. В.

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

**Реферат.** С целью идентификации фенотипов муковисцидоза (далее — МВ) применялся метод иерархического (древовидного) кластерного анализа у 37 взрослых пациентов с МВ в возрасте 18–37 лет. В результате анализа было выделено три кластера в соответствии с тяжестью клинико-функциональных нарушений у пациентов с МВ. Идентифицировано два клинических фенотипа МВ (длительно стабильное течение бронхолегочного процесса с сохраненной легочной функцией и прогрессирующее течение с нарушением функции легких и наличием осложнений).

**Ключевые слова:** муковисцидоз, кластерный анализ, фенотипы.

**Введение.** Поражение органов дыхания — наиболее частое проявление МВ, встречающееся у 75–95 % пациентов и в наибольшей мере определяющее тяжесть течения и прогноз заболевания [2]. Бронхолегочный процесс при МВ имеет свои особенности по сравнению с другими хроническими заболеваниями органов дыхания у взрослых — это молодой возраст пациентов, ранняя манифестация с формированием бронхоэктазов и присоединением вторичной хронической бактериальной инфекции, как правило, отсутствие признаков недостаточности кровообращения, сопутствующее поражение органов пищеварительной системы, наличие осложнений. В настоящее время для идентификации фенотипов хронических заболеваний органов дыхания применяются многомерные статистические методы, которые позволяют провести комплексный анализ совокупности различных характеристик [6].

**Цель работы** — выделение клинических фенотипов МВ на основании анализа данных клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования взрослых пациентов со смешанной и преимущественно легочной формой МВ.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находились 37 пациентов со смешанной (33 пациента) и преимущественно легочной (4 пациента) формой МВ, 16 мужчин и 21 женщина, медиана возраста — 24 года [20–28 лет] (18–37 лет). Критериями включения в исследования являлись: установленный диагноз МВ, возраст 18 лет и старше. Объем диагностических мероприятий включал: сбор анамнеза; общеклиническое исследование; измерение давления кислорода артериальной крови ( $PO_2$ ) методом газометрии (мм рт. ст.), границы нормальных значений 83–108 («Анализатор ABL800 FLEX для газов крови, параметров оксиметрии, электролитов и метаболитов», Германия); измерение сатурации артериальной крови кислородом с помощью пульсоксиметра ( $SpO_2$ , %; портативный пульсоксиметр «MedanzOxi-PlusHand – Oxymeter», Германия); определение спирометрических показателей — жизненная емкость легких (далее — ЖЕЛ) и объем форсированного выдоха за 1-ю с (далее —  $ОФВ_1$ ), % должных величин (аппарат MAC-1 производства Республики Беларусь); расчет индекса массы тела (далее — ИМТ),  $кг/м^2$ . Также проводились рентгенологическое исследование органов грудной клетки и микробиологическое исследование мокроты на флору.

Статистическая обработка результатов проведена при помощи программы Statistica 6.0. Для описания переменных использовали методы непараметрической статистики, рассчитывали величины верхней (p75) и нижней квартилей (p25) и медианы (Me) в виде Me [p25; p75]. Для разделения обследованных пациентов на группы был применен метод иерархического (древовидного) кластерного анализа (метод Варда) [3]. Рассчитывался критерий Краскела–Уоллиса для обнаружения различий между кластерами по изученным количественным параметрам. При обнаружении статистически значимых различий проводилось попарное сравнение количественных параметров с помощью критерия Манна–Уитни (U). Для сравнения качественных переменных применялся точный критерий Фишера (двусторонний тест). Критическим уровнем значимости при сравнении 3-х групп считали  $p = 0,017$  (поправка Бонферрони).

**Результаты и их обсуждение.** Для кластерного анализа были отобраны следующие клинико-функциональные параметры: ОФВ<sub>1</sub>, SpO<sub>2</sub>, ИМТ, количество обострений бронхолегочного воспалительного процесса за последний год. Последовательность объединения в кластеры показана в виде горизонтальной древовидной диаграммы на рисунке. На полученной диаграмме вертикальная ось представляет наблюдения (случаи), горизонтальная — расстояние объединения.

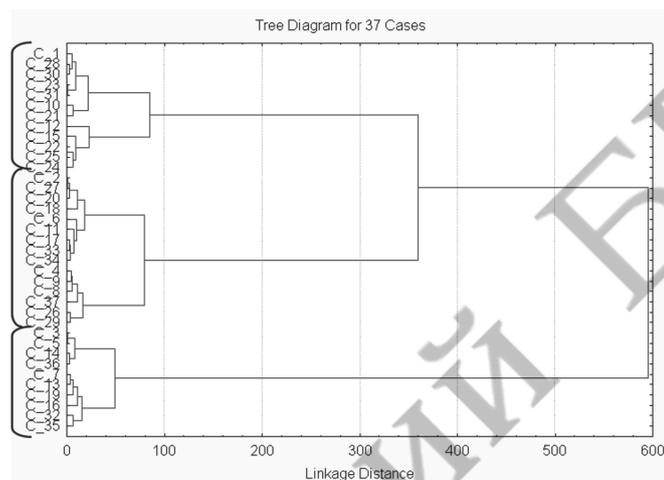


Рисунок — Древовидная диаграмма объединения 37 пациентов в кластеры

Как показано на рисунке, при анализе было получено три кластера: к кластеру 1 (сверху вниз) были отнесены 12 пациентов с ОФВ<sub>1</sub> в пределах нормальных значений или легким снижением (медиана 93 % [87 %; 109 %]; диапазон значений: минимальное (min) 75 % — максимальное (max) 111 %); SpO<sub>2</sub> в пределах нормальных значений (98 % [98 %; 99 %]; min 97 % — max 100 %); редкими обострениями бронхолегочного процесса за последний год (1 обострение [0 обострений; 1 обострение]; не более 1 обострения за последний год), нормальным ИМТ (21,2 кг/м<sup>2</sup> [19,5; 22,5], min 19,0 кг/м<sup>2</sup> — max 24,8 кг/м<sup>2</sup>).

К кластеру 2 были отнесены 15 пациентов со снижением ОФВ<sub>1</sub> (59 % [45 %; 68 %]; min 43 % — max 69 %); SpO<sub>2</sub> 96 % [95 %; 97 %], min 95 % — max 98 %; количеством обострений бронхолегочного процесса за последний год — 3 обострения [2 обострения; 3 обострения], min 2 обострения — max 4 обострения; ИМТ — 19,3 кг/м<sup>2</sup> [17,5; 21,8], min 16,3 кг/м<sup>2</sup> — max 21,2 кг/м<sup>2</sup>.

Кластер 3 составили 10 пациентов с резким снижением ОФВ<sub>1</sub> (26 % [21 %; 33 %]; min 18 % — max 36 %); снижением SpO<sub>2</sub> (92 % [89 %; 93 %]; min 89 % — max 94 %), частыми обострениями бронхолегочного процесса за последний год (5 обострений [4 обострения; 6 обострений], min 4 обострения — max 6 обострений за год), сниженным ИМТ — 17,0 кг/м<sup>2</sup> [15,0; 18,0], min 13,4 кг/м<sup>2</sup> — max 18,3 кг/м<sup>2</sup>.

У пациентов в полученных кластерах дополнительно анализировались: пол, возраст, возраст, в котором был выставлен диагноз МВ (в возрасте 10 лет и старше считали поздним установлением диагноза), ЖЕЛ, PO<sub>2</sub>, наличие хронической колонизации синегнойной палочки (*P. aeruginosa*), данные рентгенологических методов исследования, наличие осложнений, количество суток стационарного лечения за последний год.

Изученные клинико-функциональные параметры пациентов в кластерах представлены в таблице (попарное сравнение), количественные показатели представлены при наличии статистически значимых различий по критерию Краскела–Уоллиса.

Таблица — Клинико-функциональная характеристика пациентов с МВ в кластерах

Параметр	Кластер 1 n = 12	Кластер 2 n = 15	Кластер 3 n = 10	Попарное сравнение		
				P <sub>1-2</sub>	P <sub>2-3</sub>	P <sub>1-3</sub>
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> Me [25; 75]	21,2 [19,5; 22,5]	19,3 [17,5; 21,8]	17,0 [15,0; 18,0]	0,0288	0,1042	<0,0001
ОФВ <sub>1</sub> , % Me [25; 75]	93 [87; 109]	59 [45; 68]	26 [21; 33]	0,0019	<0,0001	<0,0001
ЖЕЛ, % Me [25; 75]	102 [90; 108]	70 [60; 75]	40 [34; 50]	0,0002	0,0001	<0,0001
PO <sub>2</sub> , мм рт. ст. Me [25; 75]	84,2 [83,5; 85,3]	76,5 [65,4; 84,3]	62,4 [59,3; 63,3]	0,0344	0,0014	<0,0001
SpO <sub>2</sub> , % Me [25; 75]	98 [98; 99]	96 [95; 97]	92 [89; 93]	0,0012	<0,0001	<0,0001
Количество обострений за последний год, Me [25; 75]	1 [0; 1]	3 [2; 3]	5 [4; 6]	0,0002	0,0213	<0,0001
Случаи поздней диагностики (10 лет и старше), n	2	4	2	0,6618	1,0000	1,0000
Пол мужской, n	6	5	4	0,4517	1,0000	0,6914
Хроническая колонизация <i>P. aeruginosa</i> , n	7	9	9	1,0000	0,1794	0,1619
Распространенный пневмофиброз, n	4	9	10	0,2519	0,1794	0,0017
Пневмоторакс в анамнезе, n	–	–	4	–	–	–
Осложнения со стороны органов ЖКТ, n	2	6	5	0,2357	0,6968	0,1718
Стационарное лечение за последний год, сут Me [25; 75]	0 [0; 21]	36 [24; 42]	70 [42; 105]	0,0042	0,1024	<0,0001
Примечание — n — количество пациентов.						

Таким образом, в результате анализа были выделены три кластера взрослых пациентов с МВ соответственно степени тяжести бронхолегочного процесса: кластер 1 — легкие клинико-функциональные нарушения (удовлетворительное состояние); кластер 2 — клинико-функциональные нарушения средней тяжести (состояние средней тяжести); кластер 3 — тяжелые клинико-функциональные нарушения (тяжелое состояние).

Как показано в таблице, у 7 из 12 пациентов из кластера 1 длительно имела место хроническая колонизация *P. aeruginosa* в бронхиальном дереве, но это не приводило к быстрому утяжелению клинической симптоматики и прогрессированию нарушений функции внешнего дыхания. В настоящее время известно, что важное прогностическое значение при наличии синегнойной инфекции имеет ранняя антибиотикотерапия (сразу после ее колонизации) и постоянный прием пациентами субтерапевтических доз макролидов [4].

Далее на основании статистического исследования и длительного клинического наблюдения пациентов с МВ идентифицировано 2 клинических фенотипа бронхолегочного синдрома при МВ:

А — длительное (до достижения взрослого возраста и в течение некоторого периода во взрослом возрасте) стабильное течение бронхолегочного процесса с редкими обострениями, удовлетворительной легочной функцией и нормальным ИМТ;

В — непрерывно прогрессирующий бронхолегочный процесс с частыми обострениями, проявляющимися выраженным нарастанием клиничко-функциональных нарушений, раннее снижение легочной функции, часто сниженный ИМТ, наличие осложнений.

До настоящего времени не определены четкие взаимосвязи генотипических особенностей с тяжестью респираторного синдрома при МВ. При генетическом и клиническом анализе пациентов с МВ установлено, что генотип МВ дает возможность точного прогноза экзокринной функции поджелудочной железы, но в то же время не позволяет прогнозировать тяжесть патологии легких. Помимо огромного разнообразия мутаций МВТР-гена их проявление существенно зависит от функции других генов, так называемых генов-модификаторов [1, 5].

Случай малосимптомного течения МВ (фенотип А), который проявлялся в возрасте 18 лет наличием односторонних ограниченных бронхоэктазов, бессимптомной гепатоспленомегалией и эрозивным дуоденитом, демонстрирует клинический пример:

пациентка N. (история болезни № 485/198), 1995 г. р., жительница Витебской области, находилась на лечении в пульмонологическом отделении ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии» в 2013 г. с диагнозом: муковисцидоз, смешанная форма, внебольничная двусторонняя пневмония. ДН 0.

При поступлении предъявляла жалобы на повышение температуры, кашель с мокротой, слабость, снижение аппетита. В семье является единственным ребенком. У отца отмечаются частые бронхиты. Со слов родителей, в возрасте 5 мес. во время стационарного лечения по поводу острого заболевания мочевыводящих путей ребенку был проведен потовый тест (скрининговые исследования), который оказался положительным, после чего было проведено генетическое тестирование и установлен диагноз МВ. До 14 лет пациентка практически не болела, росла и развивалась нормально, посещала детский сад и школу, лечения по поводу МВ не получала. В 2009 и 2012 гг. перенесла правостороннюю пневмонию. В 2012 г. в связи с атипичным течением МВ повторно выполнены потовый тест и генетическое исследование. Уровень хлоридов в секрете потовых желез составил 80 ммоль/л (положительный тест), по данным генетического исследования: гетерозиготный компаунд по мутации протяженной делеции (редкая неидентифицированная мутация) и мутации ΔF508 (проводилось нерасширенное генетическое исследование).

Общее состояние пациентки при поступлении удовлетворительное. Телосложение нормостеническое, нормального питания (ИМТ 20,0 кг/м<sup>2</sup>). Кожные покровы чистые, нормальной окраски. Деформаций пальцевых фаланг, ногтевых пластин, искривлений позвоночника не выявлено. Грудная клетка обычной формы. При аускультации везикулярное дыхание, единичные сухие хрипы в нижних отделах легких. Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Печень на 1 см выступает из-под края реберной дуги. В общем анализе крови отмечается повышение СОЭ до 46 мм/ч, биохимический анализ крови в норме. ЭКГ без патологии. Данные исследования функции внешнего дыхания: ЖЕЛ — 95 %, ОФВ<sub>1</sub> — 95 %, МОС<sub>25</sub> — 91 %, МОС<sub>50</sub> — 100 %, МОС<sub>75</sub> — 99 %. При бактериологическом исследовании мокроты выделен *S. aureus* 10<sup>6</sup>. На рентгенограммах органов грудной клетки, выполненных в динамике, определяется появление и затем постепенное рассасывание воспалительных очагов в обоих легких. Правый корень фиброзно уплотнен. Справа участок фиброзно-ячеистой трансформации легочного рисунка. По данным компьютерной томографии определяются бронхоэктазы в области средней доли правого легкого, фиброзные изменения S4, S5 правого легкого. По данным ультразвукового исследования органов брюшной полости наблюдается гепатоспленомегалия; фиброгастродуоденоскопия показала наличие эрозивного дуоденита.

Таким образом, у пациентки при наличии гетерозиготного носительства редкой неидентифицированной мутации (вероятнее всего «мягкой») и распространенной мутации ΔF508 гена муковисцидоза заболевание в детском возрасте протекало практически бессимптомно, и в возрасте 18 лет обнаруживались лишь минимальные клинические изменения, которые выявляются при углубленном обследовании.

Выявленные фенотипические особенности имеют значение при выборе тактики ведения и прогнозирования течения заболевания у взрослых пациентов с МВ. Пациенты фенотипа А нуждаются преимущественно в амбулаторном наблюдении, эти пациенты имеют относительно благоприятный прогноз. Пациенты фенотипа В нуждаются в стационарном лечении от 2 до 4 раз в год для лечения и контроля состояния, им назначается более массивная медикаментозная терапия, у пациентов фенотипа В неблагоприятное течение заболевания и более низкая продолжительность жизни по сравнению с фенотипом А. Необходимо иметь в виду, что при отсутствии в стране скрининга новорожденных на МВ, пациенты с МВ фенотипа А с легким нетипичным течением заболевания могут длительное время оставаться недиагностированными и наблюдаться у врачей-терапевтов или врачей-пульмонологов с другими диагнозами (бронхоэктатическая болезнь, хронический бронхит и т. д.).

**Заключение.** Разработанные клиничко-функциональные критерии разделения взрослых пациентов с МВ на группы соответственно тяжести течения заболевания и идентифицированные клинические фенотипы МВ могут быть использованы для совершенствования подходов к диагностике, лечению и реабилитации пациентов с МВ.

## Литература

1. Гено-фенотипические взаимосвязи у взрослых больных муковисцидозом / С. А. Красовский [и др.] // Астрахан. мед. журн. — 2013. — Т. 8, № 5. — С. 57–61.
2. Капранов, Н. И. Муковисцидоз — современное состояние проблемы / Н. И. Капранов // Пульмонология. — 2006. — № 3 (Прил.). — С. 3–11.
3. Халафян, А. А. Statistica 6. Математическая статистика с элементами теории вероятностей / А. А. Халафян. — М. : Бином, 2010. — 436 с.
4. Al-Aloul, M. Increased morbidity associated with chronic infection by an epidemic *Pseudomonas aeruginosa* strain in CF patients / M. Al-Aloul // Thorax. — 2004. — Vol. 59, № 4. — P. 334–336.
5. Castellani, C. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice / C. Castellani, H. Cuppens, M. Macek // J. Cyst. Fibros. — 2008. — Vol. 8, № 2. — P. 179–196.
6. Haldar, P. Cluster analysis and clinical asthma phenotypes / P. Haldar // Am. J. Respir. Crit. Care Med. — 2008. — Vol. 178. — P. 218–224.

## IDENTIFICATION OF CYSTIC FIBROSIS PHENOTYPES

*Manovitskaya N. V.*

*Educational Establishment “Belarusian State Medical University”, Minsk, Republic of Belarus*

Method of hierarchical (tree) cluster analysis in 37 adult cystic fibrosis (CF) patients (age 18–37 years) was used to isolate the cystic fibrosis phenotypes. The analysis has been allocated three clusters in accordance with the severity of clinical and functional impairment of patients with CF. Identified two clinical phenotypes of CF (long-term stability for bronchopulmonary process with satisfactory lung function and progressive course with impaired lung function and the presence of complications).

**Keywords:** cystic fibrosis, cluster analysis, phenotypes.