

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РИСКА РАЗВИТИЯ ИБС

С. Горохова¹, доктор медицинских наук, профессор,
О. Атьков², доктор медицинских наук, профессор,
А. Сбоев³, кандидат физико-математических наук,
Э. Генерозов⁴, кандидат биологических наук,
Е. Мурасева⁵, кандидат медицинских наук, **Н. Черний**³,
С. Морошкина⁴, **С. Копычева**³

¹Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, ²РНИМУ им. Н.И. Пирогова,
³МИФИ, ⁴НИИ физико-химической медицины ФМБА России,
⁵ЦКБ № 2 им. Н.А. Семашко ОАО «РЖД»
E-mail: кафедра2004@mail.ru

В основе возникновения и развития ишемической болезни сердца (ИБС) лежит множество средовых и генетических факторов риска, что обуславливает объективные трудности ее прогнозирования. Представлены данные собственного исследования, в котором с помощью искусственных нейронных сетей разработаны модели прогнозирования и диагностики ИБС, характеризующиеся адекватной точностью. Показано преимущество моделей ИБС, включающих в себя одновременно обоснованный набор генетических (SNP генов-кандидатов ИБС) и негенетических (клинических, лабораторно-инструментальных) факторов, коррелирующих с ИБС.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, факторы риска, генотипирование, искусственные нейронные сети.

Несмотря на наметившуюся в мире тенденцию к снижению показателей смертности от ишемической болезни сердца (ИБС), эта патология остается на 1-м месте среди причин смерти, временной и стойкой утраты трудоспособности населения от сердечно-сосудистых заболеваний – ССЗ [4], причем ИБС вносит основной вклад в заболеваемость и смертность лиц трудоспособного возраста [2, 14]. В связи с этим программа ВОЗ определяет разработку инновационных подходов к решению вопросов профилактики, диагностики и лечения ИБС как одно из ключевых направлений работ, нацеленных на снижение заболеваемости и смертности населения [14].

В последние годы широкое распространение получили стратегии профилактики ИБС, базирующиеся на выявлении лиц с высоким риском развития ССЗ. Традиционно такой риск оценивают по комплексу факторов, которые ассоциированы с развитием ИБС. Так, по результатам крупномасштабных международных исследований, определяющее влияние на риск развития инфаркта миокарда (ИМ) оказывают дислипидемия, курение, артериальная гипертензия (АГ), абдоминальное ожирение, психосоциальные факторы (стресс, социальная изоляция, депрессия), сахарный диабет (СД) [3]. Однако в действительности факторов риска (ФР) развития ИБС намного больше, и их перечень включает свыше сотни как средовых, так и генетических признаков.

Сегодня задача практического врача заключается в выявлении ФР и оценке степени риска ИБС. Современными зарубежными и отечественными рекомендациями предложено определять суммарный кардиоваскулярный риск с помощью калькуляторов, разработанных на основе данных крупных эпидемиологических исследований. В России считают целесообразным рассчитывать риск по шкале SCORE, разработанной для стран с высоким риском ССЗ [6]. Суть данной методики заключается в оценке риска смерти от любых осложнений болезней атеросклеротического генеза, таких как ИМ, мозговой инсульт, разрыв аневризмы аорты и т.д. Исходя из этого, важно понимать, что шкала SCORE не решает проблемы оценки риска ИБС как таковой (т.е. риска ИБС вне связи со смертельным исходом). Следовательно, актуальна разработка методов прогнозирования и ранней диагностики ИБС.

Существование множества ФР развития ИБС обуславливает объективные трудности ее прогнозирования. Врач не может работать с неограниченным набором факторов, тем более что информативность некоторых из них (например, гомоцистеина, депрессии) изучена недостаточно. Отсюда вытекает необходимость изучения структуры и эффективной классификации переменных ФР. С этой целью в настоящее время применяют машинные методы интеллектуальной обработки данных (Data Mining) [1, 5], на основе которых формируют экспертные медицинские системы. Наиболее перспективны из них искусственные нейронные сети – ИНС (Artificial Neural Networks – ANN) и методы кластеризации, особенно метод опорных векторов (Support Vector Machine – SVM). Разработка прогностических моделей с помощью этих методов находится на стыке нескольких наук, прежде всего математики и медицины. Обычные представления о сложности новых математических программ часто вызывают проблемы при их внедрении и недостаточно полное использование в лечебно-профилактических учреждениях. В действительности же подобные программы предоставляют врачу качественно иные возможности работы с медицинской информацией. При этом психологически важно наличие у современного врача некоторых знаний о том, что представляют собой эти методы. Поэтому следует кратко их охарактеризовать.

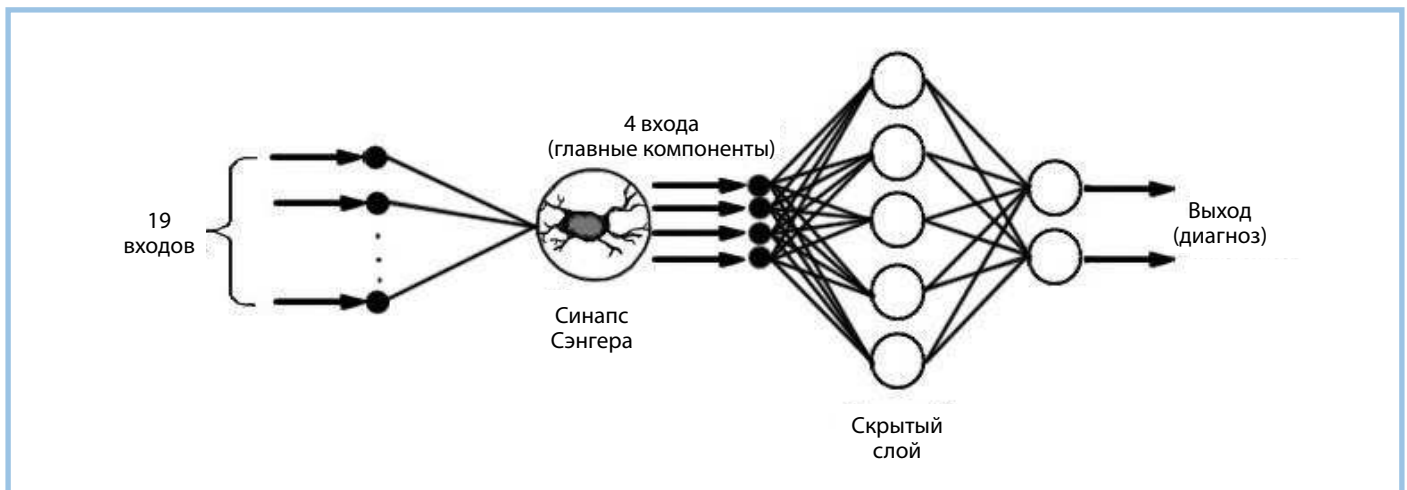
ИНС, как и живые биологические нейронные сети, являются структурой для обработки информации. Составляющие их элементы имитируют функции мозга: запоминают, классифицируют, идентифицируют, прогнозируют сигналы и признаки. При этом ИНС способны обучаться на заданных им примерах и таким образом настраиваться на решение поставленных задач. Кроме того, они обобщают полученную информацию, т.е. дают правильные ответы при предъявлении «незнакомых» данных. Эти свойства оказываются полезными при построении диагностических моделей в условиях, когда существует большой набор примеров с ожидаемым решением. В результате возможно построение модели, включающей в себя наиболее существенные диагностические признаки, которые обладают высокой информативностью (чувствительностью, специфичностью, точностью). Иными словами, машинная интеллектуальная система на 1-м этапе обрабатывает базу данных, обучается распознавать заданную цель (например, диагноз), на 2-м принимает решения о принадлежности симпто-

мов и признаков к тому или иному классу и таким образом «ставит диагноз».

Метод опорных векторов относится к семейству линейных классификаторов (разделяющих набор объектов на группы с помощью линии). Он позволяет классифицировать признаки путем поиска гиперплоскости, разделяющей переменные величины, которые принадлежат к разным классам, с максимальным зазором в этом пространстве. Реализуя этот метод, математическая программа строит на границах классов 2 гиперплоскости, параллельные разделяющей, и решает вопрос, к какому классу относится новый объект. Чем больше расстояние между этими гиперплоскостями, тем меньше средняя ошибка классификатора.

Указанные методы сегодня применяют в различных областях медицины, в том числе для разработки модели диагностики ИБС на основе различных сочетаний клинико-лабораторных и инструментальных показателей [7, 9, 12, 13]. Продемонстрируем возможности использования ИНС для разработки прогностической модели ИБС на примере собственного исследования.

С целью построения эффективной прогностической модели ИБС нами была сформирована исходная база данных о 488 пациентах, госпитализированных в Центральную клиническую больницу № 2 им. Н.А. Семашко ОАО «РЖД» для уточнения диагноза, проведения коронароангиографии (согласно показаниям, принятым к данному обследованию) и лечения. В базу данных заносили результаты клинико-лабораторных и инструментальных обследований, в том числе показатели липидного и углеводного профиля, данные ЭКГ, велоэргометрии, суточного мониторирования ЭКГ по Холтеру, эхокардиографического и доплер-эхокардиографического исследований, селективной коронароангиографии (перечисленные исследования выполнялись всем пациентам). Наряду с этим в исходную базу вносили данные, полученные при генетическом исследовании пациентов, которое включало в себя идентификацию 14 точечных полиморфизмов (SNP), локализованных в генах-кандидатах, ответственных за ключевые звенья патогенеза коронарного атеросклероза и ИБС. Это гены, отвечающие за экспрессию ангиотензинпревращающего фермента (*ACE*), ангиотензиногена и рецепторов



ИНС, реализующая метод главных компонент

Точность моделей диагностики ИБС методом ИНС

№	Модель диагностики	Точность, %
1	Профессия, возраст, СД, АГ, курение, наследственность, уровень глюкозы, уровень ХС	64
2	Профессия – машинист, возраст, СД, АГ, курение, индекс Кетле, наследственность, уровень глюкозы, ХС	77
3	Профессия – машинист, возраст, СД, АГ, курение, индекс Кетле, наследственность, уровень глюкозы, ХС, ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП, ТГ, индекс атерогенности	83
4	Профессия – машинист, возраст, СД, АГ, курение, индекс Кетле, наследственность, уровень глюкозы, ХС, ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП, ТГ, индекс атерогенности, данные коронарографии	91
5	Гены <i>NOS, ACE, AGT235, AGT174, AGTR, CRP</i>	90
6	Гены <i>NOS, ACE, AGT235, AGT174, AGTR, CRP</i> , индекс риска SCORE	83
7	Гены <i>NOS, ACE, AGT235, AGT174, AGTR, CRP1, CRP2, CRP3</i> , данные коронарографии	89
8	Гены <i>NOS, ACE, AGT235, AGT174, AGTR, CRP</i> , индекс риска SCORE, данные коронарографии	93
9	Гены <i>NOS, ACE, AGT235, AGT174, AGTR, CRP</i> , уровни ЛПВП, ЛПНП, глюкозы	90
10	Гены <i>NOS, ACE, AGT235, AGT174, AGTR, CRP</i> , возраст, курение, индекс Кетле, наследственность, уровни ЛПВП, ЛПНП	88

Примечание. ЛПВП – липопротеиды высокой плотности; ЛПНП – липопротеиды низкой плотности; ЛПОНП – липопротеиды очень низкой плотности; ТГ – триглицериды.

ангиотензина (*AGT-235*, *AGT-174*, *AGTR*), связанные с синтезом холестерина – ХС (*LIPC-250* и *LIPC-514*), гомоцистеина (*MTHFR*), оксида азота (*NOS*), плазминогена (*PAI*), а также С-реактивного белка (*CRP*).

Важной характеристикой базы данных стало то, что она содержала информацию как о лицах с диагностированной ИБС, так и о тех, у кого данных в пользу ИБС не было обнаружено при тщательном всестороннем обследовании. Соотношение пациентов с и без ИБС – 2:1.

При первичной обработке базы данных методом главных компонент и попарной корреляции полученных параметров с ИБС было выделено 32 наиболее значимых фактора, теснее всего связанных с диагностируемым заболеванием. В их числе оказались профессия, показатели липидного профиля и глюкозы крови, коронароангиографии, фракции выброса левого желудочка, анамнез ИБС, СД, АГ, изучаемые гены. Эти показатели сформировали матрицу для разработки моделей диагностики ИБС с использованием ИНС. В данной работе для этого применяли программные среды Statistica 8.0 и NeuroSolutions 5.0. При расчете нейросетевых моделей использовали многослойные перцептроны – многоуровневые нейронные сети прямого пространства, обучаемые с помощью статического обратного распространения ошибок (см. рисунок).

Поставленная перед ИНС задача заключалась в классификации признаков на 2 класса: «1» – болен (есть ИБС), «0» – здоров (нет ИБС). При построении ИНС на вход задавали показатели определенных переменных факторов, на выход – данные о диагнозе ИБС.

Как было сказано выше, первоначально проводилось обучение ИНС (так называемое решение задачи с учителем), затем – тестирование. Для обучения использовали 338 примеров. На кросс-валидацию выделили 50 и на тестирование – 100 примеров.

Используя разные типы ИНС и варьируя количество подаваемых на вход факторов от 5 до 10, мы получили модели, которые диагностировали ИБС с точностью от 64 до 93% (см. таблицу).

Минимальная точность была в модели, в которую вошли 8 негенетических факторов. Точность диагностики $\geq 90\%$ имели модели, которые существенно различались по набору переменных. Так, в модель 4 вошли клинико-лабораторные показатели, данные анамнеза и коронароангиографии, в модель 5 – только гены *NOS*, *ACE*, *AGT3*, *AGT4*, *AGTR*, *CRP*, в модель 8 – указанные гены в сочетании с данными коронарографии и индексом SCORE, в модель 9 – те же гены в сочетании с уровнями ЛПВП, ЛПНП и глюкозы в крови.

Таким образом, оптимальной точностью чаще обладали модели диагностики ИБС, в которые были включены генетические факторы.

Генотипирование, проводимое с целью определения риска возникновения ИБС, является еще одной новой технологией прогнозирования данной патологии. Такой подход исходит из понимания ИБС как мультифакторного, полигенного заболевания. Как показывают последние крупномасштабные исследования (в частности, исследование ARIC), точность прогнозирования ИБС увеличивается, если принимать в расчет данные о носительстве аллелей риска генов-кандидатов ИБС [8]. На сегодня изучаются сотни аллелей и генотипов поли-

морфных маркеров ИБС [3, 11]. Однако для оценки риска ИБС у конкретного пациента необходимо иметь данные о наиболее значимых маркерах заболевания. Так как генетический анализ стал вполне доступным благодаря внедрению новых лабораторных методик, следует знать перечень генов-кандидатов, анализ которых целесообразен при проведении индивидуальных и массовых обследований. Это необходимо с точки зрения здравого смысла и следования рекомендациям независимой экспертной группой Европейской комиссии по этике, юридическим и социальным последствиям генетического тестирования [10].

В нашей работе генотипирование проводили с целью уточнения информативности указанного выше набора генов-кандидатов ИБС. Корреляционный анализ показал достоверную прямую связь между наличием коронарного атеросклероза и генами ангиотензинпревращающего фермента (*ACE*), ангиотензиногена (*AGT235* и *AGT174*), рецепторов ангиотензина (*AGTR*), оксида азота (*NOS*), плазминогена (*PAI*) и С-реактивного белка (*CRP*), что согласуется с результатами других исследований. Наибольшее значение этих генов-кандидатов среди всех ФР было подтверждено нами факторным анализом, и соответственно они вошли в анализируемые прогностические модели ИБС. Как оказалось, точность диагностики на основании только генетических факторов оказалась почти равна таковой в модели, объединившей 15 негенетических факторов: 90 и 91% соответственно.

Заметим, что негенетические факторы, как правило, представляют собой признаки существующих патологических изменений, в то время как генетические дают информацию о потенциальном риске независимо от периода жизни человека. Следовательно, можно с высокой вероятностью прогнозировать ИБС на донологическом этапе по анализу SNP генов *NOS*, *ACE*, *AGT3*, *AGT4*, *AGTR*, *CRP*, т.е. гены-кандидаты ИБС являются опережающими маркерами заболевания. Увеличение точности прогноза, на наш взгляд, возможно благодаря не только некоторому расширению числа генетических маркеров, но и более точному их выбору.

Итак, применение новых технологий, а именно ИНС и методов кластеризации, генотипирования, позволяет создать модели прогнозирования ИБС с адекватными аналитическими характеристиками. Наибольшей точностью характеризуются модели, в которые включены одновременно генетические и негенетические (клинические, лабораторно-инструментальные) факторы, коррелирующие с ИБС. Полученные модели, обладающие точностью $>90\%$, могут быть базовыми при разработке программных инструментов для диагностики и прогнозирования ИБС.

Литература

1. Жариков О.Г., Литвин А.А., Ковалёв В.А. Экспертные системы в медицине // Мед. новости. – 2008; 10: 15–18.
2. Какорина Е.П., Ефимов Д.М., Чемякина С.Н. Гендерные особенности смертности населения трудоспособного возраста // Здравоохран. – 2010; 2: 15–28.
3. Кардиоваскулярная профилактика. Национальные рекомендации // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2011; 10 (6): 64.
4. Оганов Р.Г., Масленникова Г.Я. Демографическая ситуация и сердечно-сосудистые заболевания в России: пути решения проблем // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2007; 8: 7–14.

5. Чубукова И.А. Data Mining.— М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2008.— 384 с.
6. Шальнова С. А., Вихирева О. В. Оценка суммарного риска сердечно-сосудистых заболеваний. Комментарии к европейским рекомендациям по профилактике сердечно-сосудистых заболеваний // Рациональная фармакотерапия в кардиологии.— 2005; 3: 54–55.
7. Allison J., Heo J., Iskandrian A. Artificial neural network modeling of stress single-photon emission computed tomographic imaging for detecting extensive coronary artery disease // Am. J. Cardiol.— 2005; 95: 178–181.
8. Brautbar A., Ballantyne C. M., Lawson K., et al. Impact of adding a single allele in the 9p21 locus to traditional risk factors on reclassification of coronary heart disease risk and implications for lipid-modifying therapy in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study // Circ. Cardiovasc. Genet.— 2009; 2 (3): 279–285.
9. Colak M., Colak C., Kocatürk H. et al. Predicting coronary artery disease using different artificial neural network models // Anadolu Kardiyol. Derg.— 2008; 8 (4): 249–254.
10. European Commission. 25 Recommendations on the ethical, legal and social implications of genetic testing.— Brussels, Directorate-General for Research, 2004.— P. 25.
11. Jayasinghe S., Mishra A., Van Daal A. et al. Genetics and cardiovascular disease: Design and development of a DNA biobank // Exp. Clin. Cardiol.— 2009; 14 (3): 33–37.
12. Papaloukas C., Fotiadis D., Likas A. et al. An ischemia detection method based on artificial neural networks // Artif Intell Med.— 2002; 24 (2): 167–78.
13. Scott J., Aziz K., Yasuda T. et al. Integration of clinical and imaging data to predict the presence of coronary artery disease with the use of neural networks // Coron Artery Dis.— 2004; 15 (7): 427–434.
14. Strategic priorities of the WHO Cardiovascular Disease Programme: http://www.who.int/cardiovascular_diseases/priorities/en/index.html.

NEW TECHNOLOGIES FOR PREDICTING THE RISK OF CORONARY HEART DISEASE

Professor **S. Gorokhova**¹, MD; Professor **O. Atkov**², MD; Associate Professor **A. Shoyev**³, Candidate of Physico-Mathematical Sciences; **E. Generozov**⁴, Candidate of Biological Sciences; **E. Muraseyeva**⁵, Candidate of Medical Sciences; **N. Cherniy**³; **S. Moroshkina**⁴; **S. Kopycheva**³

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University

³MEPhI National Research Nuclear University

⁴Research Institute of Physical-Chemical Medicine, Federal Biomedical Agency of Russia

⁵Central Clinical Hospital No 2 of the Russian Railways JSC

The occurrence and development of coronary heart disease (CHD) is determined by a variety of environmental and genetic risk factors which causes objective problems in its prediction. The authors present the results of the study in which artificial neural networks were used to devise models for CHD predicting and diagnostics with adequate accuracy. The advantage of CHD models that include both genetic (SNP candidate genes) and non-genetic (clinical, laboratory, and instrumental) factors correlating with CHD is demonstrated.

Key words: coronary heart disease, risk factors, genotyping, artificial neural systems.

ПЕРСПЕКТИВНАЯ БИОСОВМЕСТИМАЯ МАТРИЦА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ ЧЕЛОВЕКА

О. Макеев^{1,3}, доктор медицинских наук, профессор,
С. Коротких^{1,3}, доктор медицинских наук, профессор,
Р. Рахматуллин², кандидат медицинских наук,
О. Бурлуцкая², кандидат биологических наук, **А. Зверева**^{1,3},
М. Герасимов^{1,3}

¹УГМА, Екатеринбург, ²Оренбургский государственный университет,

³Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург

E-mail: lab@hyamatrix.ru

Показано, что новая биосовместимая матрица «Гиаматрикс®» обладает достаточными для закрепления культивируемых клеток роговицы адгезивными свойствами, поддерживает их пролиферацию и обеспечивает условия для тканеинженерной конструкции эпителия роговицы человека (для восстановления поверхностных ожоговых повреждений роговицы).

Ключевые слова: наноструктурированная гиалуроновая кислота, биопластический материал «Гиаматрикс®», культура клеток роговицы, биосовместимость, матрицы для культивирования клеток.

Роговица — передняя фиброзная оболочка глаза, состоящая из 5 слоев. Она представляет собой оптически активную среду, обеспечивающую поступление света к световоспринимающему аппарату — сетчатке. При этом прозрачность роговицы зависит от многих факторов, в том числе от сохранности на ее внешней поверхности специфического многослойного неороговевающего эпителия [2]. Его прижизненная регенерация (как физиологическая, так и репаративная) обеспечивается регионарными стволовыми клетками — эпителиальными прогениторами, локализованными в криптах Вогта зоны лимба [9].

В зависимости от объема поражения лимба развивается частичная или полная утрата эпителиальных прогениторов роговицы. Это приводит к замещению прозрачного эпителия на непрозрачный конъюнктивальный, что уменьшает светопропускаемость роговицы и резко снижает зрение [8].

В настоящее время перспективной методикой лечения подобных патологических состояний является трансплантация культивированных *ex vivo* эпителиальных прогениторов роговицы на матрице. При трансплантации происходит восстановление популяции утраченных регионарных стволовых клеток, обуславливающих восстановление эпителия, прозрачности роговицы и в итоге — улучшение остроты зрения поврежденного глаза [15].

Трансплантация культивированных клеток предусматривает применение матрицы (носителя) для их фиксации на роговице, оптимизации процесса миграции и встраивания клеток в область повреждения. Первоначально в качестве матрицы использовали человеческую амниотическую мембрану,