

ВЕСТНИК
РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ
МЕДИЦИНСКИХ
НАУК

ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY
OF MEDICAL SCIENCES



4

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

Научно-теоретический журнал. Выходит один раз в два месяца. Основан в 1946 г.

Входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК.
Индексируется в базах данных: Elsevier BV Scopus, Pub Med, Embase, EBSCO,
Russian Science Citation Index.

Учредитель — Российская академия медицинских наук

Главный редактор И.И. ДЕДОВ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Э.К. АЙЛАМАЗЯН, А.И. АРЧАКОВ, Л.И. АФТАНАС, А.А. БАРАНОВ, В.В. БЕРЕГОВЫХ (зам. гл. редактора),
Л.А. БОКЕРИЯ, Н.Н. ВОЛОДИН, Н.Ф. ГЕРАСИМЕНКО, Е.К. ГИНТЕР, П.В. ГЛЫБОЧКО, Е.З. ГОЛУХОВА,
В.В. ЗВЕРЕВ, Р.С. КАРПОВ, С.И. КОЛЕСНИКОВ, В.В. КУХАРЧУК, Г.А. МЕЛЬНИЧЕНКО, Н.А. МУХИН,
Е.Л. НАСОНОВ, Г.Г. ОНИЩЕНКО, В.И. ПЕТРОВ, В.И. ПОКРОВСКИЙ, В.П. ПУЗЫРЁВ, В.Г. САВЧЕНКО,
В.И. СЕРГИЕНКО, Г.А. СОФРОНОВ, В.И. СТАРОДУБОВ, Г.Т. СУХИХ, В.А. ТУТЕЛЬЯН (зам. гл. редактора),
И.Б. УШАКОВ, Р.М. ХАИТОВ, Е.И. ЧАЗОВ, В.П. ЧЕХОНИН, В.И. ЧИССОВ, Е.В. ШЛЯХТО

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР: А.А. КУБАНОВ

2017/ТОМ 72/№4

Журнал «Вестник Российской академии медицинских наук» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций 16.09.1992 г. Регистрационный номер 01574.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов.

Воспроизведение или использование другим способом любой части издания без согласия редакции является незаконным и влечет за собой ответственность, установленную действующим законодательством РФ

Тираж 1000 экз. Подписные индексы: в агентстве Роспечать — 71488, в агентстве «Пресса России» — 38814

Издательство «ПедиатрЪ»: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, 2/62, тел./факс: +7 (499) 132-30-43, <http://vestnikramn.spr-journal.ru>
e-mail: vestnikramn@nczd.ru

ООО "Деловая полиграфия", 121352, Москва, ул. Давыдовская, 12-1-11

THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES

ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES

Published bimonthly. Founded in 1946.

The Journal is in the List of the leading scientific journals and publications
of the Supreme Examination Board (VAK).

The journal is indexed in Elsevier BV Scopus, Pub Med, Embase, EBSCO,
Russian Science Citation Index.

Founder — The Russian Academy of Medical Sciences

Editor-in-chief I.I. Dedov

EDITORIAL BOARD:

E.K. AILAMAZYAN, A.I. ARCHAKOV, L.I. AFTANAS, A.A. BARANOV, V.V. BEREGOVYKH (deputy editors-in-chief),
L.A. BOKERIYA, N.N. VOLODIN, N.F. GERASIMENKO, E.K. GINTHER, P.V. GLYBOCHKO, L.Z. GOLUKHOVA,
V.V. ZVEREV, R.S. KARPOV, S.I. KOLESNIKOV, V.V. KUKHARCHUK, G.A. MELNICHENKO, N.A. MUKHIN,
E.L. NASONOV, I.I. ONISHCHENKO, V.I. PETROV, V.I. POKROVSKII, V.P. PUZYREV, V.G. SAVCHENKO,
V.I. SERGIENKO, G.A. SOFRONOV, V.I. STARODUBOV, G.T. SUKHIKH, V.A. TUTELYAN (deputy editors-in-chief),
I.B. USHAKOV, R.M. KHAITOV, E.I. CHAZOV, V.P. CHEKHONIN, V.I. CHISSOV, E.V. SHLYAKHTO

SCIENCE EDITOR: A.A. KUBANOV

2017 / 72 (4)

Mass media registration certificate dated September, 16, 1992. Series № 01574 Federal service for surveillance over non-violation
of the legislation in the sphere of mass communications and protection of cultural heritage.

Editorial office takes no responsibility for the contents of advertising material.

No part of this issue may be reproduced without permission from the publisher. While reprinting publications one must make reference
to the journal «Annals of The Russian Academy of Medical Sciences»

Edition 1000 copies. Subscription indices are in the catalogue «Rospechat» 71488

Publisher «PEDIATR»: 2/62, Lomonosov avenue, Moscow, 119991, tel./fax: +7 (499) 132-30-43, <http://vestnikramn.spr-journal.ru>
e-mail: vestnikramn@nczd.ru

Printed by «Business printing» Ltd, 12-1-11, Davydkovskaya street, Moscow, 121352

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ГЕНЕТИКИ И
МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ**

- Т.А. Васильева, А.А. Воскресенская, О.В. Хлебникова,
Н.А. Поздеева, А.В. Марахонов, Р.А. Зинченко*
Дифференциальная диагностика наследственных
форм врожденной аниридии с позиций
современной генетики
- К.В. Савостьянов, Л.С. Намазова-Баранова,
Е.Н. Басаргина, Н.Д. Вшакмадзе, Н.В. Журкова,
А.А. Пушков, И.С. Жанин, Н.А. Сдвигова,
В.Ю. Луканина, А.Г. Никитин*
Новые варианты генома
российских детей с генетически обусловленными
кардиомиопатиями, выявленные методом
массового параллельного секвенирования

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
КЛЕТОЧНОЙ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И
ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ**

- Д.С. Барановский, А.Г. Демченко, Р.В. Оганесян,
Г.В. Лебедев, Д.А. Берсенева,
М.В. Балясин, В.Д. Паршин, А.В. Ляндуп*
Получение бесклеточного матрикса хряща трахеи
для тканеинженерных конструкций

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
ОНКОЛОГИИ**

- Е.В. Шахристова, Е.А. Степовая, О.Л. Носарева,
Е.В. Рудиков, В.В. Новицкий*
Глутатион и глутаредоксин
в росковитинопосредованном ингибировании
пролиферации клеток аденокарциномы молочной
железы

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
ОФТАЛЬМОЛОГИИ**

- Т.А. Морозова, Д.Ф. Покровский, И.Б. Медведев,
Т.З. Керимов*
Современные аспекты мультифокальной
интраокулярной коррекции (обзор)

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
ПАТОФИЗИОЛОГИИ**

- М.Ю. Лебедев, М.Н. Шолкина, Д.В. Новиков,
С.В. Шумилова, В.В. Новиков, А.В. Караулов*
Сывороточное содержание растворимых молекул
CD25 и CD95 у ожоговых больных

**233 GENETICS AND MOLECULAR MEDICINE:
CURRENT ISSUES**

- T.A. Vasilyeva, A.A. Voskresenskaya, O.V. Khlebnikova,
N.A. Pozdeyeva, A.V. Marakhonov, R.A. Zinchenko*
Genetic Approaches to Differential
Diagnosis of Hereditary Forms
of Congenital Aniridia
- 242** *K.V. Savostyanov, L.S. Namazova-Baranova,
E.N. Basargina, N.D. Vashakmadze,
N.V. Zhurkova, A.A. Pushkov, I.S. Zhanin, N.A. Sdvigova,
V. Yu. Lukanina, A.G. Nikitin*
The New Genome Variants in Russian
Children with Genetically Determined
Cardiomyopathies Revealed with Massive Parallel
Sequencing

**CELL TRANSPLANTOLOGY
AND TISSUE ENGINEERING:
CURRENT ISSUES**

231

- 254** *D.S. Baranovsky, A.G. Demchenko, R.V. Oganessian,
G.V. Lebedev, D.A. Berseneva, M.V. Balyasin,
V.D. Parshin, A.V. Lyundup*
Acellular Tracheal Cartilaginous Scaffold Producing
for Tissue-Engineered Constructs

**ONCOLOGY:
CURRENT ISSUES**

- 261** *E.V. Shakhristova, E.A. Stepovaya, O.L. Nosareva,
E.V. Rudikov, V.V. Novitsky*
Glutathione and Glutaredoxin
in Roscovitine-Mediated Inhibition
of Breast Cancer Cell Proliferation

**OPHTHALMOLOGY:
CURRENT ISSUES**

- 268** *T.A. Morozova, D.F. Pokrovskiy, I.B. Medvedev,
T.Z. Kerimov*
Modern Aspects of Multifocal Intraocular Correction:
a review

**PATHOPHYSIOLOGY:
CURRENT ISSUES**

- 276** *M.Ju. Lebedev, M.N. Sholkina, D.V. Novikov,
S.V. Shumilova, V.V. Novikov, A.V. Karaulov*
Soluble CD25 and CD95 Molecules
Level at Burns

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПЕДИАТРИИ

- А.И. Чубарова, И.В. Давыдова, И.В. Виноградова,
Е.А. Дегтярёва, Е.С. Кешисян, А.И. Сафина,
Э.В. Нестеренко*
Эффективность паливизумаба
в снижении частоты госпитализации детей с
РСВ инфекцией в группах высокого риска:
проспективное наблюдательное многоцентровое
исследование

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЭНДОКРИНОЛОГИИ

- А.С. Луценко, Ж.Е. Белая, Е.Г. Пржиялковская,
Г.А. Мельниченко*
МикроРНК и их значение в патогенезе СТГ-
продуцирующих аденом гипофиза

СОСТОЯНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

- В.А. Бывальцев, И.А. Степанов, Е.Г. Бельх,
А.А. Калинин, Л.А. Бардонова*
Плагиат и академическая добросовестность в
науке

ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

- А.А. Баранов, Л.С. Намазова-Баранова, Р.Н. Терлецкая,
Е.В. Антонова*
Проблемы детской инвалидности в современной
России

ЮБИЛЕИ

- Игорь Валентинович Бухтияров
Владимир Иосифович Коненков
Владимир Викторович Кутырев
Валерий Павлович Пузырёв*

PEDIATRICS: CURRENT ISSUES

- 282** *A.I. Chubarova, I.V. Davydova, I.V. Vinogradova,
E.A. Degtiareva, E.S. Keshishyan, A.I. Safina,
E.V. Nesterenko*
Effectiveness of Palivizumab
in Preventing RSV Hospitalization
in High-Risk Children:
A Prospective Observational
Multicenter Study

ENDOCRINOLOGY: CURRENT ISSUES

- 290** *A.S. Lutsenko, Z.E. Belaya, E.G. Przhiyalkovskaya,
G.A. Mel'nichenko*
MicroRNA: Role in GH-Secreting Pituitary Adenoma
Pathogenesis

STATE OF MEDICAL SCIENCES

- 299** *V.A. Byvaltsev, I.A. Stepanov, E.G. Belykh, A.A. Kalinin,
L.A. Bardonova*
Plagiarism and Academic Integrity
in Science

HEALTH CARE MANAGEMENT

- 305** *A.A. Baranov, L.S. Namazova-Baranova, R.N. Terletsкая,
E.V. Antonova*
Problems of Children's Disability
in Modern Russia

ANNIVERSARIES, CONGRATULATIONS

- 313** *Igor' Valentinovich Bukhtiyarov*
315 *Vladimir Iosifovich Konenkov*
317 *Vladimir Viktorovich Kutyrev*
319 *Valerii Pavlovich Puzyrev*

DOI: 10.15690/vramn834

Т.А. Васильева¹, А.А. Воскресенская², О.В. Хлебникова¹, Н.А. Поздеева²,
А.В. Марахонов^{1,3}, Р.А. Зинченко^{1,4}

¹ Медико-генетический научный центр, Москва, Российская Федерация

² Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова,
Чебоксары, Российская Федерация

³ Московский физико-технический институт (государственный университет),
Долгопрудный, Российская Федерация

⁴ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова,
Москва, Российская Федерация

Дифференциальная диагностика наследственных форм врожденной аниридии с позиций современной генетики

Врожденная аниридия (ВА) — наследственный аутосомно-доминантный порок развития глаз. В основе патогенеза ВА лежат гетерозиготные мутации в гене PAX6 и хромосомные перестройки, вовлекающие локус 11p13. Ключевая роль гена PAX6 в регуляции эмбриогенеза и плейотропность действия этого транскрипционного фактора объясняют возможность поражения сразу нескольких сред переднего отрезка глаз и глазного дна, структур головного мозга, а также нарушение морфогенеза и эндокринной функции поджелудочной железы, наблюдаемые при ВА. В последнее время ВА стала рассматриваться рядом исследователей как синдромальная патология. В обзоре собраны сведения о клинической характеристике, генетической основе различных форм ВА. Обсуждается проблема дискриминации клинико-генетических вариантов дисгенезии переднего отрезка глаза и дифференциальной диагностики PAX6-ассоциированной ВА с синдромом WAGR, дисгенезиями переднего отрезка глаз, другими редкими моногенными и хромосомными синдромами; подчеркивается роль молекулярной диагностики.

Ключевые слова: врожденная аниридия, WAGR-синдром, дисгенезии переднего отрезка глаза, PAX6, 11p13.

(Для цитирования: Васильева Т.А., Воскресенская А.А., Хлебникова О.В., Поздеева Н.А., Марахонов А.В., Зинченко Р.А. Дифференциальная диагностика наследственных форм врожденной аниридии с позиций современной генетики. *Вестник РАМН*. 2017;72 (4):233–241. doi: 10.15690/vramn834)

233

Актуальность

Врожденная аниридия (ВА) (номер в базе данных менделирующих заболеваний человека, Online Mendelian Inheritance in Men [1], OMIM #106210) — редкий моногенный врожденный порок развития глаза с ауто-

сомно-доминантным типом наследования, полной пенетрантностью и варьирующей экспрессивностью [2–4]. Заболевание клинически характеризуется полным или частичным отсутствием радужки, обычно сопровождается низкой остротой зрения, возникающей вследствие вовлеченности в данный порок нескольких структур глаза

Т.А. Vasilyeva¹, А.А. Voskresenskaya², О.В. Khlebnikova¹, N.A. Pozdeyeva²,
А.В. Marakhonov^{1,3}, R.A. Zinchenko^{1,4}

¹ Research Center for Medical Genetics, Moscow, Russian Federation

² S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Cheboksary, Russian Federation

³ Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Dolgoprudny, Russian Federation

⁴ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Genetic Approaches to Differential Diagnosis of Hereditary Forms of Congenital Aniridia

Congenital aniridia (AN) is a hereditary autosomal dominant developmental disorder of the eye. Heterozygous mutations in the PAX6 gene and chromosomal rearrangements involving the 11p13 locus lie behind the pathogenesis of the AN. The key role of the PAX6 gene in the regulation of embryogenesis and the pleiotropic effect of this transcription factor explain the damage of several tissues of the anterior and posterior segments of the eye, brain structures, and the disturbance of morphogenesis and endocrine function of the pancreas observed in AN. Recently AN has been considered a syndromic pathology by several researchers. The review suggests classification and summarizes information on the clinical characteristics and genetic basis of various forms of AN. The problem of discrimination of clinical-genetic variants of the dysgenesis of the anterior segment of the eye and the differential diagnosis of PAX6-associated AN with WAGR syndrome, anterior dysgenesis, other rare monogenic and chromosomal syndromes is discussed, and the role of molecular diagnostics is emphasized.

Key words: congenital aniridia, WAGR syndrome, anterior segment mesenchymal dysgenesis, PAX6 protein, deletion 11p13.

(For citation: Vasilyeva TA, Voskresenskaya AA, Khlebnikova OV, Pozdeyeva NA, Marakhonov AV, Zinchenko RA. Genetic Approaches to Differential Diagnosis of Hereditary Forms of Congenital Aniridia. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017;72 (4):233–241. doi: 10.15690/vramn834)

[2]. Клиническая картина заболевания очень вариабельна и может включать также поражение других органов и систем. Впервые заболевание описано С. Rush в 1926 г. [5]. Частота встречаемости составляет от 1:40 000 до 1:100 000 новорожденных [6–8]. Соотношение семейных и спорадических случаев различно по данным разных авторов: в ряде работ оно составляет 2:1 [2, 9, 10], в других — 1:2 [11, 12].

Этиопатогенез и клиническая картина врожденной аниридии

Врожденная аниридия, по классической классификации, в 3/4 случаев развивается как изолированная глазная аномалия без вовлечения других органов и систем [13], в 1/4 — как синдромальная патология. Причиной изолированной ВА в 90% являются мутации гена *PAX6* (11p13; OMIM *607108), в том числе хромосомные перестройки с вовлечением локуса гена или удаленной *cis*-регуляторной области, контролирующей его экспрессию [3], расположенные внутри соседних генов (*ELP4* и *TRIM44*). В 5% случаев ВА может быть обусловлена мутациями генов *PITX2*, *FOXC1*, *FOXE3*, *CYP11B1* и др. [2, 11]. Причина заболевания остается неидентифицированной в 5%.

Врожденная аниридия может являться составной частью синдрома WAGR (2,4–13% случаев), ассоциированного с делециями региона 11p13, которые захватывают локусы генов *PAX6* и *WT1* [2, 14]. WAGR-синдром (OMIM #194072) характеризуется четырьмя основными фенотипическими проявлениями — опухолью Вильмса (W), врожденной аниридией (A), урогенитальными нарушениями (G) и задержкой психомоторного развития (R) различной тяжести. *PAX6*-ассоциированные синдромальные формы аниридии, отличные от WAGR-синдрома, наблюдаются не менее чем в 12% случаев и обусловлены как перестройками 11p13, так и внутригенными *PAX6*-мутациями [14, 15].

Кроме того, ВА описана как симптом редких полиорганных наследственных синдромов с установленной или неустановленной генетической причиной в других генах (до 5%) [2, 10, 11, 14].

PAX6-ассоциированная аниридия

Еще недавно считалось, что большинство случаев ВА относятся к «изолированной классической аниридии» (OMIM #106210 — AN1) [16]. Совершенствование исследований в области молекулярной генетики, патофизиологии и возможностей клинического обследования пациентов показало, что помимо пороков переднего и заднего сегментов глаза при аниридии могут встречаться морфологические изменения коры больших полушарий и мозжечка; гипоплазия мозолистого тела, передней комиссуры, эпифиза и гипофиза; нарушение обоняния и слуха, неврологические и когнитивные дефекты, дисфункция мозжечка и гипоталамо-гипофизарной системы [17]. Все эти изменения, с точки зрения тератологии человека, связаны с поражением нескольких видов тканей, имеющих общие происхождение (нейроэктодермальное или мезенхимальное) и регуляцию эмбриогенеза, контролируемую геном *PAX6*. Доля встречаемости нарушений в этих тканях из-за выраженного клинического полиморфизма определена нечетко. В последнее время некоторые авторы любую форму врожденной изолированной аниридии стали считать синдромальной патологией и называть *PAX6*-синдромом [18].

Врожденная аниридия как паночулярная патология

Как упоминалось выше, при аниридии в большей или меньшей степени поражены несколько структур глаза. Врожденная и/или осложненная катаракта встречается у 50–85% пациентов [19, 20], гипоплазия центральной ямки (фовеа), по данным разных авторов, выявляется в 41–86% случаев [10, 19, 21, 22], гипоплазии зрительного нерва — в 10–23% [21]. По результатам электроретинографии у 74–100% пациентов наблюдаются те или иные признаки ретиальной дисфункции [23–26]. Частота ништагма составляет от 81 до 95% [10, 19]. Его возникновение может быть связано как с повреждением афферентной части зрительного пути (гипоплазией центральной ямки, зрительного нерва), так и с органическим поражением центральной нервной системы.

Кроме того, обнаруживаются признаки дисгенеза угла передней камеры в виде уменьшения толщины цилиарного тела и корня радужки, сохранения остатков мезодермальной ткани в трабекулярной зоне. У 6–75% пациентов в позднем детском возрасте развивается осложненная глаукома (медиана приходится на возраст 8,5 года) [10, 17, 19].

Кератопатия установлена у 45–85% больных [22]. Развитие кератопатии обычно начинается с периферического утолщения эпителия роговицы и ее васкуляризации, чаще на первом десятке лет жизни. Клинически кератопатия проявляется симптомами «сухого глаза», рецидивирующими эрозиями, светобоязнью, формированием язв и островков субэпителиального фиброза. В терминальной стадии роговица приобретает иррегулярную структуру и может полностью терять свою прозрачность [19].

Возможные системные поражения при врожденной аниридии

Ассоциированные с аниридией системные нарушения распространены гораздо шире, чем предполагалось ранее [2, 10, 14, 15]. Они обусловлены важной ролью гена *PAX6* в эмбриональном развитии центральной нервной и других систем и органов. Частота дополнительных системных нарушений определялась только в некоторых ретроспективных исследованиях. Так, P. Netland с соавт. [10] на выборке из 83 больных приводит следующую статистику: зубные аномалии — 35%, задержка развития — 17%, нарушение тактильной чувствительности — 16%, депрессия — 12%, гипосомния — 5%, костно-мышечные аномалии — 13%, астма — 12%, нарушение фертильности — 11%, болезни желчного пузыря — 8%, гипертонзия — 8%, сахарный диабет — 7%. В работе подчеркивается, что частота указанных изменений достоверно выше популяционных.

В различных работах подтверждается частая вовлеченность в патологический процесс систем и органов, отличных от глаз, однако без оценки частоты встречаемости, тем не менее их спектр повторяется в разных работах. Помимо структурных аномалий мозга, перечисленных выше, возможны и функциональные нарушения нервной системы, такие как снижение мышечного тонуса; нарушение координации, мелкой моторики рук, походки; задержка психомоторного развития, судороги, эпилепсия, пирамидный синдром от средней до тяжелой степени выраженности, когнитивные нарушения при сохранном интеллекте; нарушения сна, поведения; снижение слуха, обоняния [2, 15, 27–32].

Считается, что умственное развитие пациентов с врожденной аниридией в целом сохранено [2, 33], однако частота задержки психомоторного развития составляет 12–17% [10, 14, 34]. Более того, при тщательном

исследовании выявлены не только морфологические, но и функциональные отличия в работе мозга пациентов с аниридией по сравнению со здоровыми индивидами из тех же семей и из контрольной выборки. Пациенты показывали изменения в нейропсихологических тестах, свидетельствующие о нарушении когнитивного контроля [34–36].

У пациентов с врожденной аниридией возможно нарушение морфогенеза и эндокринной функции поджелудочной железы, гипофиза, щитовидной железы [37, 38], эмбриональное развитие которых также регулируется *РАХ6*. Так, отмечается нарушение толерантности к глюкозе, развитие сахарного диабета 2-го типа с ранним началом и ожирение [39]. При аниридии могут встречаться нарушения роста, висцеромегалия, гигантизм. Анализ данных 155 пациентов с ВА и здоровых членов их семей показал, что во взрослом возрасте индекс массы тела и частота ожирения достоверно выше среди больных аниридией, чем среди их здоровых сибсов, а также по сравнению с популяционным контролем [10].

Костные аномалии при ВА могут включать неправильно сформированные предплечье и кисть, стопу, гипоплазию бедренной кости и диффузную остеопению, грудной, шейный и поясничный кифозы [29], а также аплазию локтевой кости и общее отставание в развитии костного скелета [13].

В табл. 1 суммируются различные ассоциированные с ВА системные поражения.

Таким образом, данные исследований, приведенные различными авторами, показывают, во-первых, значи-

тельную фенотипическую вариабельность врожденной аниридии; во-вторых, необходимость полного обследования пациентов с аниридией для выявления возможной сопутствующей патологии, прогноза течения болезни и ведения пациентов.

Изолированная врожденная аниридия, ассоциированная с другими генами

С точки зрения этиопатогенеза, ВА относится к группе мезенхимальных дисгенезий глаза (фенотипическая серия OMIM PS107250), возникающих из-за нарушения миграции мезенхимальных клеток нервного гребня и их дифференцировки в структуры глаза в период эмбрионального развития [50]. При этом аниридия, а точнее дисплазия радужки, как часть фенотипа может входить в состав других мезенхимальных дисгенезий.

В настоящее время выделяют 8 клинико-генетических типов собственно дисгенезий переднего отрезка глаза, ассоциированных с мутациями в различных генах [51, 52]. К этой группе также можно отнести и другие состояния, вызываемые мутациями в тех же генах: врожденная аниридия (OMIM #106210), аномалии группы синдрома Аксенфельда–Ригера (OMIM #602482), иридогониодисгенезии I, II типа (OMIM #601631 и OMIM #137600), аномалия Петерса (OMIM #604229) и некоторые другие [53] (табл. 2).

Клинические проявления дисгенезий могут включать гипоплазию радужки разной степени выраженности, непрозрачность роговицы, адгезии между радужкой и роговицей, роговицей и хрусталиком, аномалии дренажных структур иридокорнеального угла [54].

Таблица 1. Системные нарушения при врожденной аниридии и WAGR-синдроме

Признак	Врожденная аниридия	Синдром WAGR
Неврологические расстройства	Судороги (4/24) [30, 32], реже эпилепсия, синдром навязчивых движений, повышенная двигательная активность, дисфункция мозжечка, аутизм [28, 29]	Синдром навязчивых движений, повышенная двигательная активность, депрессия, беспокойство, эпилепсия, судороги, мышечная гипер- или гипотония (13/19), аутизм (~20%) [40] Неврологические расстройства — у 1/3 больных [2]
Отставание в психомоторном развитии	Чаще небольшое отставание, иногда значительное снижение интеллекта [28–30, 32]	Часто (9/16) [40]. У 70% больных IQ <74 [2]
Морфологические аномалии мозга	В некоторых случаях кисты боковых желудочков, изменение морфологии коры больших полушарий (2/24), аплазия/ гипоплазия эпифиза (20/24), гипоплазия или отсутствие мозолистого тела, передней комиссуры (15/24), гиппокампа (2/24), гипоплазия червя мозжечка (2/24) [32]	Часто (10/18) микроцефалия, изменение морфологии коры больших полушарий, коры мозжечка; встречаются также атрофия коры головного мозга, агенезия мозолистого тела и эпифиза [40]
Морфологические и функциональные аномалии почек	Отдельные случаи врожденных нарушений морфологии почек [40]	Нефробластома (42,5–77%) и/или нефропатия (47%); изредка (3/18) аплазия, гипоплазия почки [14, 40–42]
Аномалии половой системы	Единичные случаи: крипторхизм (3/82), гипоспадия (2/82) [40]; поликистоз яичников в 10% [10]	Чаще у мальчиков (12/18): крипторхизм (7/18; 60%), гипоспадия (1/18), гонадобластома (3/18), половые органы промежуточного типа (5/18), псевдогермафродитизм (1/18). У девочек (17%): рудиментарное влагалище и дефекты развития яичников и матки [2, 40, 42]
Развитие опухолей	В единичных случаях гемангиома и нейрофиброма [40]	Нефробластома (33–70%). В единичных случаях гонадобластома, другие опухоли (множественные гемангиомы, гамартомы, врожденная липома [14, 40, 42, 43])
Отставание в росте	Единичные случаи общего отставания в росте и развитии [13]	Часто (9/16): общее отставание в росте и развитии, в единичных случаях карликовость [40, 44]
Черепно-лицевые аномалии	В очень редких случаях краниофациальный дизостоз [40]	Встречаются (4/18) [40]

Таблица 1. Системные нарушения при врожденной аниридии и WAGR-синдроме (Окончание)

Признак	Врожденная аниридия	Синдром WAGR
Другие костные аномалии	В редких случаях агенез локтевой кости [13], гипоплазия бедренной кости и диффузная остеопения, кифозы [29]	Встречаются удвоение больших пальцев ног, отставание в костном развитии, деминерализация костей, почти всегда есть отставание в росте [40, 44–46]
Дефекты соединительной ткани	Единичные случаи паховой и пупочной грыжи [40]	Часто (6/18): паховая, пупочная, а также грыжа диафрагмы, врожденный вывих бедра, дефекты межпредсердной перегородки [40, 47]
Аномалии ушной раковины	В единичных случаях [29]	Часто (7/12) [40]
Ожирение	Индекс массы тела и частота ожирения достоверно выше среди больных аниридией, чем среди их здоровых сибсов. Встречаются висцеромегалия и гигантизм [10]	Хотя пациенты с синдромом имеют пониженный вес при рождении [41], в значительной доле случаев с возрастом развивается ожирение (18%) [2, 48], гемигипертрофия [14, 40]
Сахарный диабет с ранним началом, нарушение толерантности к глюкозе	Описаны в некоторых случаях [37–39]	Описаны в некоторых случаях (2/18) [48, 49]

Таблица 2. Сравнение наиболее распространенных дисгенезий переднего отрезка глаза по возможным клиническим проявлениям [54–57]

Дисгенезы переднего отрезка		Синдром Аксенфельда–Ригера	Аномалия Петерса	Иридо-гоно-дисгенезия	Врожденная первичная глаукома	Врожденная аниридия	ДПОГ тип 8	ДПОГ тип 7	ДПОГ тип 1
Клинические признаки	Непрозрачность роговицы		+			+		+	+
	Непрозрачность роговицы и адгезии между роговицей, хрусталиком и радужкой		+			+		+	+
	Отсутствие большей части радужки	+	+			+	+	+	+
	Гипоплазия стромы радужки	+	+	+		+			
	Эктропион радужки	+	+			+	+		
	Поликория, корэктопия	+	+			+			
	Аномалии угла с периферическими иридо-корнеальными синехиями / тяжами между радужкой и трабекулярной сетью	+	+	+	+	+		+	
Гены	<i>PITX2</i>	+	+	+		+			
	<i>FOXC1</i>	+	+	+	+	+			
	<i>PAX6</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>FOXE3</i>		+						
	<i>CYP11B1</i>		+		+				
	<i>PITX3</i>								+
	<i>PXDN</i>							+	
	<i>SPAMD8</i>						+		

Примечание. ДПОГ — дисгенезия переднего отрезка глаза.

Значительное перекрыwanie фенотипов затрудняет диагностику дисгенезий переднего отрезка глаза. Дифференциальная диагностика аниридии особенно осложняется в случаях так называемых вариантов аниридии, когда радужка диспластична и выявляется в виде эктопии зрачка [58] или эктропион увеа [59]. Дискриминация клини-

ко-генетических вариантов в данном случае может быть основана на молекулярной диагностике [11] и на фенотипическом сочетании ВА с гипоплазией фовеа, которая в некоторых случаях отличает *PAX6*-ассоциированную ВА от других врожденных состояний, образующих данную группу.

Врожденная аниридия в составе синдрома WAGR

WAGR-синдром обусловлен делециями разной протяженности хромосомного региона 11p13 (WAGR-область), точнее, его теломерной части, захватывающей одновременно гены *PAX6* и *WT1* [3, 14, 60]. WAGR-синдром встречается в 2,5–13% случаев врожденной аниридии. До возможности использования цитогенетических методов высокого разрешения данное заболевание диагностировалось на основании снижения активности ферментов лактатдегидрогеназы А и каталазы, что обусловлено локализацией генов, ответственных за синтез данных ферментов, в области 11p13 [61]. Ген *WT1* (OMIM *607102) кодирует транскрипционный фактор, содержащий домен цинковых пальцев, действует как активатор или репрессор транскрипции в зависимости от клеточного или хромосомного контекста, выполняет функцию опухолевого супрессора и играет важнейшую роль в правильном развитии мочеполовой системы и мезотелиальных тканей [62, 63].

Ассоциация аниридии и опухоли Вильмса впервые подтверждена цитогенетическими методами в 1962 г. R. Miller с соавт. [60]. Частота WAGR-синдрома — 1:500 000–1:1 000 000. Так называемые делеции WAGR-области могут охватывать от 1,0 до 26,5 млн пар нуклеотидов (п.н.) и включать от 3 до >60 генов [64, 65].

Предполагается, что область длиной примерно в 1,5 млн пар нуклеотидов, обязательно захватывающая оба гена — *PAX6* и *WT1*, является критичной для формирования всех составляющих синдрома [45]. Синдром встречается почти исключительно в спорадических случаях (в мировой литературе описано всего 2 семейных случая) [14], однако у одного из родителей возможен гонадный мозаицизм по делеции или сбалансированная хромосомная перестройка, нарушающая сегрегацию хромосом при созревании гамет и приводящая к частичной анеуплоидии у потомков. Цитогенетическое обследование родителей и пренатальная диагностика необходимы во всех семьях, где стоит вопрос о прогнозе потомства и уже есть пациент с синдромом WAGR.

Опухоль Вильмса развивается только у 40–70% больных аниридией с хромосомной делецией области 11p13, захватывающей оба гена — *PAX6* и *WT1* [14]. У остальных больных, впрочем, как и у больных с удаленной опухолью почки, существует высокая вероятность развития тяжелой нефропатии во взрослом возрасте [41]. В исследовании монозиготных близнецов с делецией дистального региона 11p13, включающей WAGR-область, в части случаев нефробластома развивалась только у одного из сибсов [66]. Если у больного с WAGR-делецией опухоль все же развивается, то с большой вероятностью это происходит до 8 лет, медианный возраст развития WAGR-ассоциированной нефробластомы составляет примерно 2 года [67].

Отставание в психомоторном развитии, когнитивные нарушения, неврологическая симптоматика выражены у всех пациентов при WAGR-синдроме, однако в разной степени [64]. Аутичное поведение установлено у 20% пациентов [48].

Урогенитальные нарушения могут включать крипторхизм, гипоспадию, реже — формирование наружных половых органов по промежуточному типу (псевдогермафродитизм), совсем редко — полную реверсию пола, аномалии развития влагалища, матки и яичников, гонадобластому [68–70]. Общая примерная частота основных диагностических признаков при синдроме WAGR приведена в табл. 3.

Таким образом, только у 44,44% пациентов с синдромом WAGR присутствуют все четыре классических при-

Таблица 3. Классические признаки синдрома WAGR [48]

Признаки синдрома	Мальчики	Девочки	Все
Опухоль Вильмса, %	61,29	52,17	57,41
Аниридия, %	100	95,62	98,15
Аномалии развития мочеполовой системы, %	90,32	34,78	79,93
Задержка психомоторного развития, %	77,42	65,22	72,22

знака, у 25,93% — только 3 из них, а у 20,37% — лишь два [48]. Когнитивные функции снижены у 70% пациентов (IQ <74) [2, 65]. В двух случаях делеции региона 11p13 были описаны как ассоциированные с опухолью Вильмса, задержкой развития и крипторхизмом, однако без аниридии [48, 71] (сравнение частоты системных нарушений при синдроме WAGR и врожденной аниридии отражены в табл. 1).

Дополнительные соматические осложнения при синдроме WAGR весьма многочисленны [48]. Самыми частыми из них являются зубные аномалии и черепно-лицевые дисморфии, нефропатия, гломерулосклероз, артериальная гипертензия, бронхиальная астма, пневмония, синуситы, отмечена высокая частота проведения тонзилло-, аденоэктомии и тимпаностомий.

Как следует из табл. 1, дифференциальный диагноз между ВА и WAGR-синдромом на основе только клинических данных в большинстве случаев затруднителен, особенно сразу после рождения, поэтому обязательно требуется лабораторное подтверждение диагноза. У девочек наружные половые органы могут быть абсолютно нормальными при рождении. В течение первых месяцев жизни остается незаметным отставание в развитии, и нефробластома может развиваться в более позднем возрасте [14].

Таким образом, учитывая, что при WAGR-синдроме редко выявляются основные характерные для синдрома признаки, всех детей со спорадической ВА до 8 лет жизни необходимо 3–4 раза в год обследовать на возможное появление опухоли Вильмса.

В немногочисленных литературных источниках субфенотип синдрома WAGR, ассоциированный с делециями региона 11p12–11p14 и характеризующийся дополнительным признаком — ожирением (WAGR + O — obesity), выделяют в самостоятельную нозологическую форму WAGRO (OMIM #612469) [48, 72].

Варианты сочетания WAGR с другими синдромами

Варианты и сочетания синдрома WAGR встречаются довольно редко (<1% случаев врожденной аниридии) и в сумме составляют небольшой процент среди пациентов с этим синдромом [14]. Обычно определяемые WAGR-делеции локализованы внутри участка 11p12–11p14 [14]. При расширении границ делеции в более теломерную область, захватывающую сегмент 11p15.5, в клинической картине аниридия сочетается с гемигипертрофией и другими нарушениями роста [60, 73, 74]. Это связано с локализацией в регионе 11p15.5 локуса контроля импринтинга (imprinting control region, ICR) генов *IGF2/KCNQ10T* и *CDKN1C/H19*. Нарушения эпигенетического состояния в ICR как вследствие однородительской дисомии, так и делеций ведут к дисрегуляции моноаллельной экспрессии в локусе, что проявляется в виде двух синдромов с противоположными нарушениями роста — Беквита–Видемана (BWS; OMIM #130650) и Рассела–Сильвера (SRS, OMIM #180860) [75].

При делециях, захватывающих более центральномерную область вплоть до 11p11, развивается сочетание син-

дромов WAGR и Поттоцкого–Шаффер (ОМIM #601224) [76, 77].

Врожденная аниридия в комбинации с известными синдромами и в составе некоторых множественных пороков развития

Врожденная аниридия описана в составе синдрома Гиллеспи (ОМIM #206700), который характеризуется двусторонней частичной аниридией/гипоплазией радужки, отставанием в психомоторном развитии, гипоплазией мозжечка и атаксией. С 1965 г., когда синдром был впервые описан, зарегистрирован 21 больной [78]. Только в трех случаях выявлена ассоциация с локусом 11p13 [30, 78]. Ранее считалось, что синдром Гиллеспи представляет генетически гетерогенную группу синдромов с широкой клинической вариабельностью, при котором целесообразно проводить скрининг на мутации в гене *PAX6* [29]. В 2016 г. обнаружена генетическая причина аутосомно-доминантного синдрома Гиллеспи — это ген *ITPRI*, локализованный в регионе 3p26.1 (ОМIM *147265) [79, 80].

Врожденная аниридия описана в единичных случаях при известных синдромах и множественных пороках развития моногенной и хромосомной этиологии:

- синдроме летальной скелетной дисплазии с грацильными костями (ОМIM #602361), обусловленном гетерозиготными мутациями в гене *FAM111A* (регион 11q12.1) [81];
- синдроме Барде–Бидля 1-го типа (ОМIM #209900), вызываемом гомозиготными и компаунд-гетерозиготными мутациями в гене *BBS1*, регион 11q13.2 [82];
- синдроме кошачьего глаза (ОМIM #115470), хромосомный синдром 22q11 [83];
- кольцевой хромосомы 6 [84] и некоторых других [85, 86].

Очень редко описывают состояния, вызываемые двумя независимыми мутациями в разных генах, в связи с чем возникает сложная комбинация фенотипов, характерных для каждой нозологии [40, 87–89].

Врожденная аниридия и синдромы неизвестной этиологии

Для большинства синдромов этой группы характерна клиническая картина ВА в сочетании с другими аномалиями развития, для которых установлено отсутствие ассоциаций с локусом 11p13, молекулярная природа заболеваний пока не определена.

Неизвестной остается молекулярная причина сочетания ВА и микрокорнеа со спонтанной резорбцией ката-

ракты (ОМIM 106230) [90], вторичной «аниридии» при синдроме Франк–Каменецкого (ОМIM 308500), Халлермана–Штрайфа (ОМIM %234100) [91, 92], комбинации ВА с гипо- или аплазией надколенника (ОМIM 106220) [93].

Описан также синдром задержки роста и психомоторного развития с различными аномалиями глаз, включающими ВА (ОМIM 156190) [94].

Заключение

Таким образом, дифференциальная диагностика врожденной аниридии определяется рядом особенностей. Зачастую клинические проявления ВА у разных больных могут быть очень гетерогенны. Это связано как с плейотропностью действия гена *PAX6*, вовлеченного в эмбриональное развитие многих систем и органов, так и с различными механизмами повреждения функции этого гена при разных типах мутаций, что дает основание ряду исследователей использовать термин «*PAX6*-синдром» применительно к врожденной аниридии. При этом специфичность спектра клинических проявлений *PAX6*-синдрома достаточно четко дифференцирует его с другими редкими синдромальными состояниями, изредка включающими дисплазию радужки. Тем не менее в ряде случаев существует значительное перекрытие клинической картины между врожденной аниридией и другими дисгенезиями переднего отрезка глаза, что существенно затрудняет дифференциальную диагностику и выбор клинико-генетического варианта. Ведущую роль в решении этой проблемы играет ДНК-диагностика, которая позволяет верифицировать диагноз, уточнить методы лечения, реабилитации и прогноза дальнейшего клинического течения заболевания.

Источник финансирования

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда (грант №17-15-01051).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. omim.org [Internet]. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. McKusick–Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University [cited 2017 Jun 9]. Available from: <https://omim.org/>.
2. Hingorani M, Moore A. Aniridia. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al., editors. *GeneReviews*®. Seattle, WA: University of Washington; 1993.
3. Crolla JA, van Heyningen V. Frequent chromosome aberrations revealed by molecular cytogenetic studies in patients with aniridia. *Am J Hum Genet.* 2002;71(5):1138–1149. doi: 10.1086/344396.
4. Gramer E, Reiter C, Gramer G. Glaucoma and frequency of ocular and general diseases in 30 patients with aniridia: a clinical study. *Eur J Ophthalmol.* 2012;22(1):104–110. doi: 10.5301/Ejo.2011.8318.
5. Cvekl A, Callaerts P. PAX6: 25th anniversary and more to learn. *Exp Eye Res.* 2017;156:10–21. doi: 10.1016/j.exer.2016.04.017.
6. Gronskov K, Olsen JH, Sand A, et al. Population-based risk estimates of Wilms tumor in sporadic aniridia — a comprehensive mutation screening procedure of PAX6 identifies 80% of mutations in aniridia. *Hum Genet.* 2001;109(1):11–18. doi: 10.1007/s004390100529.
7. Blanco-Kelly F, Villaverde-Montero C, Lorda-Sanchez I, et al. Guidelines for genetic study of aniridia. *Arch Soc Esp Ophthalmol.* 2013;88(4):145–152. doi: 10.1016/j.oftal.2012.07.006.
8. Edén U, Beijar C, Riise R, Tornqvist K. Aniridia among children and teenagers in Sweden and Norway. *Acta Ophthalmol.* 2008;86(7):730–734. doi: 10.1111/j.1755-3768.2008.01310.x
9. Chien YH, Huang HP, Hwu WL, et al. Eye anomalies and neurological manifestations in patients with PAX6 mutations. *Mol Vis.* 2009;15:2139–2145.

10. Netland PA, Scott ML, Boyle JW, Lauderdale JD. Ocular and systemic findings in a survey of aniridia subjects. *J AAPOS*. 2011;15(6):562–566. doi: 10.1016/j.jaaapos.2011.07.009.
11. Kokotas H, Petersen MB. Clinical and molecular aspects of aniridia. *Clin Genet*. 2010;77(5):409–420. doi: 10.1111/j.1399-0004.2010.01372.x.
12. Park SH, Park YG, Lee MY, Kim MS. Clinical features of Korean patients with congenital aniridia. *Korean J Ophthalmol*. 2010;24(5):291–296. doi: 10.3341/kjo.2010.24.5.291.
13. Chen P, Zang X, Sun D, et al. Mutation analysis of paired box 6 gene in inherited aniridia in northern China. *Mol Vis*. 2013;19:1169–1177.
14. Robinson DO, Howarth RJ, Williamson KA, et al. Genetic analysis of chromosome 11p13 and the PAX6 gene in a series of 125 cases referred with aniridia. *Am J Med Genet A*. 2008;146A(5):558–569. doi: 10.1002/ajmg.a.32209.
15. Dansault A, David G, Schwartz C, et al. Three new PAX6 mutations including one causing an unusual ophthalmic phenotype associated with neurodevelopmental abnormalities. *Mol Vis*. 2007;13:511–523.
16. Taylor D, Hoyt CS. *Practical paediatric ophthalmology*. Cambridge, USA: Wiley; 1997.
17. Lee H, Khan R, O’Keefe M. Aniridia: current pathology and management. *Acta Ophthalmol*. 2008;86(7):708–715. doi: 10.1111/j.1755-3768.2008.01427.x.
18. Kasmann-Kellner B, Seitz B. [Aniridia syndrome: clinical findings, problematic courses and suggestions for optimization of care («aniridia guide»). (In German).] *Ophthalmologe*. 2014;111(12):1145–1156. doi: 10.1007/s00347-014-3060-x.
19. Schanilec P, Biernacki R. Aniridia: a comparative overview. *Am Orthopt J*. 2014;64:98–104. doi: 10.3368/aoj.64.1.98.
20. Hingorani M, Hanson I, van Heyningen V. Aniridia. *Eur J Hum Genet*. 2012;20(10):1011–1017. doi: 10.1038/ejhg.2012.100.
21. Hingorani M, Williamson KA, Moore AT, van Heyningen V. Detailed ophthalmologic evaluation of 43 individuals with PAX6 mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(6):2581–2590. doi: 10.1167/iovs.08-2827.
22. Lee NY, Lee YE, Mok J, et al. Three cases with unusual ophthalmic phenotypes of congenital aniridia. *Can J Ophthalmol*. 2013;48(4):340–342. doi: 10.1016/j.cjco.2013.02.009.
23. Elsas FJ, Maumenee IH, Kenyon KR, Yoder F. Familial aniridia with preserved ocular function. *Am J Ophthalmol*. 1977;83(5):718–724. doi: 10.1016/0002-9394(77)90139-8.
24. Hittner HM, Riccardi VM, Ferrell RE, et al. Variable expressivity in autosomal dominant aniridia by clinical, electrophysiologic, and angiographic criteria. *Am J Ophthalmol*. 1980;89(4):531–539. doi: 10.1016/0002-9394(80)90062-8.
25. Tremblay F, Gupta SK, De Becker I, et al. Effects of PAX6 mutations on retinal function: an electroretinographic study. *Am J Ophthalmol*. 1998;126(2):211–218. doi: 10.1016/S0002-9394(98)00190-1.
26. Hood MP, Kerr NC, Smaoui N, Iannaccone A. Abnormal cone ERGs in a family with congenital nystagmus and photophobia harboring a p.X423Lfs mutation in the PAX6 gene. *Doc Ophthalmol*. 2015;130(2):157–164. doi: 10.1007/s10633-014-9477-3.
27. Bamiou DE, Free SL, Sisodiya SM, et al. Auditory interhemispheric transfer deficits, hearing difficulties, and brain magnetic resonance imaging abnormalities in children with congenital aniridia due to PAX6 mutations. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2007;161(5):463–469. doi: 10.1001/archpedi.161.5.463.
28. Davis LK, Meyer KJ, Rudd DS, et al. Pax6 3’ deletion results in aniridia, autism and mental retardation. *Hum Genet*. 2008;123(4):371–378. doi: 10.1007/s00439-008-0484-x.
29. Malandrini A, Mari F, Palmeri S, et al. PAX6 mutation in a family with aniridia, congenital ptosis, and mental retardation. *Clin Genet*. 2001;60(2):151–154. doi: 10.1034/j.1399-0004.2001.600210.x.
30. Graziano C, D’Elia AV, Mazzanti L, et al. A de novo nonsense mutation of PAX6 gene in a patient with aniridia, ataxia, and mental retardation. *Am J Med Genet A*. 2007;143A(15):1802–1805. doi: 10.1002/ajmg.a.31808.
31. Hanish AE, Butman JA, Thomas F, et al. Pineal hypoplasia, reduced melatonin and sleep disturbance in patients with PAX6 haploinsufficiency. *J Sleep Res*. 2016;25(1):16–22. doi: 10.1111/jsr.12345.
32. Mitchell TN, Free SL, Williamson KA, et al. Polymicrogyria and absence of pineal gland due to PAX6 mutation. *Ann Neurol*. 2003;53(5):658–663. doi: 10.1002/ana.10576.
33. Thompson PJ, Mitchell TN, Free SL, et al. Cognitive functioning in humans with mutations of the PAX6 gene. *Neurology*. 2004;62(7):1216–1218. doi: 10.1212/01.wnl.0000118298.81140.62.
34. Yogarajah M, Matarin M, Vollmar C, et al. PAX6, brain structure and function in human adults: advanced MRI in aniridia. *Ann Clin Transl Neurol*. 2016;3(5):314–330. doi: 10.1002/acn3.297.
35. Heyman I, Frampton I, van Heyningen V, et al. Psychiatric disorder and cognitive function in a family with an inherited novel mutation of the developmental control gene PAX6. *Psychiatr Genet*. 1999;9(2):85–90. doi: 10.1097/00041444-199906000-00006.
36. Ellison-Wright Z, Heyman I, Frampton I, et al. Heterozygous PAX6 mutation, adult brain structure and fronto-striato-thalamic function in a human family. *Eur J Neurosci*. 2004;19(6):1505–1512. doi: 10.1111/j.1460-9568.2004.03236.x.
37. Yasuda T, Kajimoto Y, Fujitani Y, et al. PAX6 mutation as a genetic factor common to aniridia and glucose intolerance. *Diabetes*. 2002;51(1):224–230. doi: 10.2337/diabetes.51.1.224.
38. Shimo N, Yasuda T, Kitamura T, et al. Aniridia with a heterozygous PAX6 mutation in which the pituitary function was partially impaired. *Intern Med*. 2014;53(1):39–42. doi: 10.2169/internalmedicine.53.1184.
39. Nishi M, Sasahara M, Shono T, et al. A case of novel de novo paired box gene 6 (PAX6) mutation with early-onset diabetes mellitus and aniridia. *Diabet Med*. 2005;22(5):641–644. doi: 10.1111/j.1464-5491.2005.01469.x.
40. Fraumeni JF Jr, Glass AG. Wilms’ tumor and congenital aniridia. *JAMA*. 1968;206(4):825–828. doi: 10.1001/jama.1968.03150040037007.
41. Breslow NE, Norris R, Norkool PA, et al. Characteristics and outcomes of children with the Wilms Tumor-Aniridia syndrome: a report from the National Wilms Tumor Study Group. *J Clin Oncol*. 2003;21(24):4579–4585. doi: 10.1200/Jco.2003.06.096.
42. Clericuzio C, Hingorani M, Crolla JA, et al. Clinical utility gene card for: WAGR syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2011;19(4). doi: 10.1038/ejhg.2010.220.
43. Haicken BN, Miller DR. Simultaneous occurrence of congenital aniridia, hamartoma, and Wilms’ tumor. *J Pediatr*. 1971;78(3):497–502. doi: 10.1016/s0022-3476(71)80233-0.
44. *Тератология человека. Руководство для врачей / Под ред. Лазюка Г.И. 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Медицина; 1991. — 480 с. [Teratologiya cheloveka. Rukovodstvo dlya vrachei. Ed by Lazyuk GI. 2nd ed., revised and enlarged. Moscow: Meditsina; 1991. 480 p. (In Russ).]*
45. Yamamoto T, Togawa M, Shimada S, et al. Narrowing of the responsible region for severe developmental delay and autistic behaviors in WAGR syndrome down to 1.6 Mb including PAX6, WT1, and PRRG4. *Am J Med Genet A*. 2014;164A(3):634–638. doi: 10.1002/ajmg.a.36325.
46. Bremond-Gignac D, Gerard-Blanluet M, Copin H, et al. Three patients with hallucal polydactyly and WAGR syndrome, including discordant expression of Wilms tumor in MZ twins. *Am J Med Genet A*. 2005;134(4):422–425. doi: 10.1002/ajmg.a.30646.
47. Scott DA, Cooper ML, Stankiewicz P, et al. Congenital diaphragmatic hernia in WAGR syndrome. *Am J Med Genet A*. 2005;134(4):430–433. doi: 10.1002/ajmg.a.30654.
48. Fischbach BV, Trout KL, Lewis J, et al. WAGR syndrome: a clinical review of 54 cases. *Pediatrics*. 2005;116(4):984–988. doi: 10.1542/peds.2004-0467.

49. Miura R, Yokoyama Y, Shigeto T, et al. Dysgerminoma developing from an ectopic ovary in a patient with WAGR syndrome: a case report. *Mol Clin Oncol*. 2016;5(5):503–506. doi: 10.3892/mco.2016.1004.
50. Churchill A, Booth A. Genetics of aniridia and anterior segment dysgenesis. *Br J Ophthalmol*. 1996;80(7):669–673. doi: 10.1136/bjo.80.7.669.
51. Cheong SS, Hentschel L, Davidson AE, et al. Mutations in CPAMD8 cause a unique form of autosomal-recessive anterior segment dysgenesis. *Am J Hum Genet*. 2016;99(6):1338–1352. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.09.022.
52. Choi A, Lao R, Ling-Fung Tang P, et al. Novel mutations in PXDN cause microphthalmia and anterior segment dysgenesis. *Eur J Hum Genet*. 2015;23(3):337–341. doi: 10.1038/ejhg.2014.119.
53. Gould DB, John SW. Anterior segment dysgenesis and the developmental glaucomas are complex traits. *Hum Mol Genet*. 2002;11(10):1185–1193. doi: 10.1093/hmg/11.10.1185.
54. Sowden JC. Molecular and developmental mechanisms of anterior segment dysgenesis. *Eye (Lond)*. 2007;21(10):1310–1318. doi: 10.1038/sj.eye.6702852.
55. Nanjo Y, Kawasaki S, Mori K, et al. A novel mutation in the alternative splice region of the PAX6 gene in a patient with Peters' anomaly. *Br J Ophthalmol*. 2004;88(5):720–721.
56. Hanson IM, Fletcher JM, Jordan T, et al. Mutations at the PAX6 locus are found in heterogeneous anterior segment malformations including Peters' anomaly. *Nat Genet*. 1994;6(2):168–173. doi: 10.1038/ng0294-168.
57. Riise R, Storhaug K, Brondum-Nielsen K. Rieger syndrome is associated with PAX6 deletion. *Acta Ophthalmol Scand*. 2001;79(2):201–203. doi: 10.1034/j.1600-0420.2001.079002201.x.
58. Hanson I, Churchill A, Love J, et al. Missense mutations in the most ancient residues of the PAX6 paired domain underlie a spectrum of human congenital eye malformations. *Hum Mol Genet*. 1999;8(2):165–172. doi: 10.1093/hmg/8.2.165.
59. Willcock C, Grigg J, Wilson M, et al. Congenital iris ectropion as an indicator of variant aniridia. *Br J Ophthalmol*. 2006;90(5):658–659. doi: 10.1136/bjo.2005.089698.
60. Miller RW, Fraumeni JF Jr, Manning MD. Association of Wilms' tumor with aniridia, hemihypertrophy and other congenital malformations. *N Engl J Med*. 1964;270:922–927. doi: 10.1056/NEJM196404302701802.
61. Gessler M, Bruns GA. A physical map around the WAGR complex on the short arm of chromosome 11. *Genomics*. 1989;5(1):43–55. doi: 10.1016/0888-7543(89)90084-0.
62. Hossain A, Saunders GF. The human sex-determining gene SRY is a direct target of WT1. *J Biol Chem*. 2001;276(20):16817–16823. doi: 10.1074/jbc.M009056200.
63. Wagner KD, Wagner N, Schley G, et al. The Wilms' tumor suppressor Wt1 encodes a transcriptional activator of the class IV POU-domain factor Pou4f2 (Brn-3b). *Gene*. 2003;305(2):217–223. doi: 10.1016/S0378-1119(02)01231-3.
64. Han JC, Thurm A, Golden Williams C, et al. Association of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) haploinsufficiency with lower adaptive behaviour and reduced cognitive functioning in WAGR/11p13 deletion syndrome. *Cortex*. 2013;49(10):2700–2710. doi: 10.1016/j.cortex.2013.02.009.
65. Xu S, Han JC, Morales A, et al. Characterization of 11p14-p12 deletion in WAGR syndrome by array CGH for identifying genes contributing to mental retardation and autism. *Cytogenet Genome Res*. 2008;122(2):181–187. doi: 10.1159/000172086.
66. Franke U, Riccardi VM, Hittner HM, Borges W. Interstitial del(11p) as a cause of the aniridia-Wilms tumor association: band localization and a heritable basis. (Abstract) *Am J Hum Genet*. 1978;30(6):A81.
67. Beckwith JB. Nephrogenic rests and the pathogenesis of Wilms tumor: developmental and clinical considerations. *Am J Med Genet*. 1998;79(4):268–273. doi: 10.1002/(Sici)1096-8628(19981002)79:4<268::Aid-Ajmg7>3.0.Co;2-I.
68. Turleau C, de Grouchy J, Dufier JL, et al. Aniridia, male pseudohermaphroditism, gonadoblastoma, mental retardation, and del 11p13. *Hum Genet*. 1981;57(3):300–306. doi: 10.1007/BF00278949.
69. Junien C, Turleau C, Grouchy JD, et al. Regional assignment of catalase (CAT) gene to band 11p13. Association with the aniridia-Wilms' tumor-Gonadoblastoma (WAGR) complex. *Ann Genet*. 1980;23(3):165–168.
70. Le Caignec C, Delnatte C, Vermeesch JR, et al. Complete sex reversal in a WAGR syndrome patient. *Am J Med Genet A*. 2007;143A(22):2692–2695. doi: 10.1002/ajmg.a.31997.
71. Turleau C, de Grouchy J, Nihoul-Fékété C, et al. Del11p13/nephroblastoma without aniridia. *Hum Genet*. 1984;67(4):455–456. doi: 10.1007/Bf00291410.
72. Han JC, Liu QR, Jones M, et al. Brain-derived neurotrophic factor and obesity in the WAGR syndrome. *N Engl J Med*. 2008;359(9):918–927. doi: 10.1056/NEJMoa0801119.
73. Gilgenkrantz S, Vigneron C, Gregoire MJ, et al. Association of del(11)(p15.1p12), aniridia, catalase deficiency, and cardiomyopathy. *Am J Med Genet*. 1982;13(1):39–49. doi: 10.1002/ajmg.1320130108.
74. Maurer HS, Pendergrass TW, Borges W, Honig GR. The role of genetic factors in the etiology of Wilms' tumor: two pairs of monozygous twins with congenital abnormalities (aniridia; hemihypertrophy) and discordance for Wilms' tumor. *Cancer*. 1979;43(1):205–208. doi: 10.1002/1097-0142(197901)43:1<205::AID-CNCR2820430130>3.0.CO;2-7
75. Bartholdi D, Krajewska-Walasek M, Ounap K, et al. Epigenetic mutations of the imprinted IGF2-H19 domain in Silver-Russell syndrome (SRS): results from a large cohort of patients with SRS and SRS-like phenotypes. *J Med Genet*. 2009;46(3):192–197. doi: 10.1136/jmg.2008.061820.
76. McGaughan JM, Ward HB, Evans DG. WAGR syndrome and multiple exostoses in a patient with del(11)(p11.2p14.2). *J Med Genet*. 1995;32(10):823–824. doi: 10.1136/jmg.32.10.823.
77. Bremond-Gignac D, Crolla JA, Copin H, et al. Combination of WAGR and Potocki-Shaffer contiguous deletion syndromes in a patient with an 11p11.2-p14 deletion. *Eur J Hum Genet*. 2005;13(4):409–413. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201358.
78. Ticho BH, Hilchie-Schmidt C, Egel RT, et al. Ocular findings in Gillespie-like syndrome: association with a new PAX6 mutation. *Ophthalmic Genet*. 2006;27(4):145–149. doi: 10.1080/13816810600976897.
79. McEntagart M, Williamson KA, Rainger JK, et al. A restricted repertoire of de novo mutations in ITPR1 cause Gillespie syndrome with evidence for dominant-negative effect. *Am J Hum Genet*. 2016;98(5):981–992. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.03.018.
80. Gerber S, Alzayady KJ, Burglen L, et al. Recessive and dominant de novo ITPR1 mutations cause Gillespie syndrome. *Am J Hum Genet*. 2016;98(5):971–980. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.03.004.
81. Verloes A, Nancy F, Grattagliano B, et al. Osteocraniostenosis. *J Med Genet*. 1994;31(10):772–778. doi: 10.1136/jmg.31.10.772.
82. Verloes A, Temple IK, Bonnet S, Bottani A. Coloboma, mental retardation, hypogonadism, and obesity: Critical review of the so-called Biemond syndrome type 2, updated nosology, and delineation of three "new" syndromes. *Am J Med Genet*. 1997;69(4):370–379. doi: 10.1002/(Sici)1096-8628(19970414)69:4<370::Aid-Ajmg7>3.0.Co;2-P.
83. Weber FM, Dooley RR, Sparkes RS. Anal atresia, eye anomalies, and an additional small abnormal acrocentric chromosome (47,XX,mar+): report of a case. *J Pediatr*. 1970;76(4):594–597. doi: 10.1016/s0022-3476(70)80410-3.
84. Chitayat D, Hahm SY, Iqbal MA, Nitowsky HM. Ring chromosome 6: report of a patient and literature review. *Am J Med Genet*. 1987;26(1):145–151. doi: 10.1002/ajmg.1320260122.
85. Nelson LB, Spaeth GL, Nowinski TS, et al. Aniridia. A review. *Surv Ophthalmol*. 1984;28(6):621–642. doi: 10.1016/0039-6257(84)90184-x.

86. Sachdev MS, Sood NN, Kumar H, Ghose S. Bilateral aniridia with Marfan's syndrome and dental anomalies — a new association. *Jpn J Ophthalmol.* 1986;30(4):360–366.
87. Sheehan WJ, Delmonte OM, Miller DT, et al. Novel presentation of Omenn syndrome in association with aniridia. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123(4):966–969. doi: 10.1016/j.jaci.2008.12.007.
88. Ohno F, Yamano T, Kataoka K. A case of congenital aniridia and familial pheochromocytoma with special reference to aniridia-Wilms' tumor syndrome. *Jinrui Idengaku Zasshi.* 1982;27(4):335–340. doi: 10.1007/bf01900445.
89. Castori M, Barboni L, Duncan PJ, et al. Darier disease, multiple bone cysts, and aniridia due to double de novo heterozygous mutations in ATP2A2 and PAX6. *Am J Med Genet A.* 2009;149A(8):1768–1772. doi: 10.1002/ajmg.a.32960.
90. Yamamoto Y, Hayasaka S, Setogawa T. Family with aniridia, microcornea, and spontaneously reabsorbed cataract. *Arch Ophthalmol.* 1988;106(4):502–504. doi: 10.1001/archophth.1988.01060130548033.
91. Vadiakas G, Oulis C, Tsianos E, Mavridou S. A typical Hallermann-Streiff syndrome in a 3 year old child. *J Clin Pediatr Dent.* 1995;20(1):63–68.
92. Schanzlin DJ, Goldberg DB, Brown SI. Hallermann-Streiff syndrome associated with sclerocornea, aniridia, and a chromosomal abnormality. *Am J Ophthalmol.* 1980;90(3):411–415. doi: 10.1016/s0002-9394(14)74926-8.
93. Mirkinson AE, Mirkinson NK. A familial syndrome of aniridia and absence of the patella. *Birth Defects Orig Artic Ser.* 1975;11(5):129–131.
94. Sato H, Takaya K, Nihira S, Fujita H. Familial mental retardation associated with balanced chromosome rearrangement rcp t(8;11)(q24.3;p15.1). *J Med Genet.* 1989;26(10):642–644. doi: 10.1136/jmg.26.10.642.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Васильева Татьяна Алексеевна, научный сотрудник лаборатории генетической эпидемиологии ФГБНУ «МГНЦ»
 Адрес: 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1, тел.: +7 (499) 320-60-90, e-mail: vasilyeva_debrie@mail.ru,
 SPIN-код: 7759-9570, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6744-0567>

Воскресенская Анна Александровна, врач-офтальмолог отделения амбулаторной хирургии и консервативных методов лечения Чебоксарского филиала ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России
 Адрес: 428028, Чебоксары, пр. Тракторостроителей, д. 10, тел.: +7 (8352) 30-50-00, e-mail: vsolaris@mail.ru,
 SPIN-код: 8117-8135, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4213-4923>

Хлебникова Ольга Вадимовна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-консультативного отдела ФГБНУ «МГНЦ»
 Адрес: 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1, e-mail: khlebnikova@med-gen.ru, SPIN-код: 1452-8249,
 ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4947-4314>

Поздеева Надежда Александровна, доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе Чебоксарского филиала ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России
 Адрес: 428028, Чебоксары, пр. Тракторостроителей, д. 10, тел.: +7 (8352) 30-50-81, e-mail: npozdeeva@mail.ru,
 SPIN-код: 2878-7280, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3637-3645>

Марахонов Андрей Владимирович, старший научный сотрудник лаборатории генетической эпидемиологии ФГБНУ «МГНЦ», старший научный сотрудник лаборатории функционального анализа генома Московского физико-технического института
 Адрес: 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1, e-mail: marakhonov@generesearch.ru, SPIN-код: 6803-9072,
 ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0972-5118>

Зинченко Рена Абульфазовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией генетической эпидемиологии ФГБНУ «МГНЦ», профессор кафедры молекулярной и клеточной генетики МБФ ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России
 Адрес: 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1, тел.: +7 (499) 324-12-24, e-mail: renazinchenko@mail.ru,
 SPIN-код: 7273-4358, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3586-3458>

DOI: 10.15690/vramn872

К.В. Савостьянов, Л.С. Намазова-Баранова, Е.Н. Басаргина, Н.Д. Вашакмадзе, Н.В. Журкова, А.А. Пушков, И.С. Жанин, Н.А. Сдвигова, В.Ю. Луканина, А.Г. Никитин

Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

Новые варианты генома российских детей с генетически обусловленными кардиомиопатиями, выявленные методом массового параллельного секвенирования

242

Обоснование. Кардиомиопатии у детей относятся к тяжелым, непрерывно прогрессирующим заболеваниям миокарда, характеризующимся разнообразием причин, симптомов и проявлений, высокой летальностью. В мировой литературе описано более 400 генов, мутации которых приводят к развитию генетически обусловленных болезней сердца и сосудов. Применение высокопроизводительного метода массового параллельного секвенирования позволяет проводить исследование протяженных целевых областей генома для обнаружения вариантов и их дальнейшего биоинформатического анализа на предмет патогенности. **Цель исследования** — выявление генетической этиологии развития наследственных кардиомиопатий среди детского населения России. **Методы.** В исследование были включены 103 пациента с различными фенотипами кардиомиопатий в возрасте от 3 мес до 17 лет 9 мес на момент обследования, наблюдавшиеся в кардиологическом отделении и отделении восстановительного лечения детей с болезнями сердечно-сосудистой системы ФГАУ «НМИЦ здоровья детей». Всем пациентам методом массового параллельного секвенирования проведен анализ целевых областей 404 генов, мутации в которых приводят к развитию наследственных болезней сердца и сосудов. **Результаты.** Разработан диагностический алгоритм на основе метода массового параллельного секвенирования. Идентифицировано 176 258 минорных вариантов у 103 пациентов в исследуемых целевых регионах генома. В среднем у каждого пациента выявлено 1711 нуклеотидных замен, отличающихся от референсной последовательности. Установлено, что около 40% обнаруженных нами вариантов приходится на гены *MYH7*, *MYBPC3*, *TTN*, *MYH6*, *SCN5A*, *DSC2* и *TPM1*. Биоинформатический анализ позволил выявить 68 новых вариантов генома, ассоциированных с развитием кардиомиопатий. Обнаружена достоверная ассоциация носительства патогенных вариантов гена *MYBPC3* с развитием гипертрофической кардиомиопатии у российских детей — $OR\ 3,17\ (1,36–11,72; p=0,009)$. **Заключение.** Применение предложенного алгоритма позволило установить лабораторные диагнозы 99 (96,1%) пациентам из 103 обследованных, в том числе с синдромальными и несиндромальными формами наследственных болезней сердца и сосудов, проявляющимися фенотипом кардиомиопатии.

Ключевые слова: кардиомиопатии, генетика человека, высокопроизводительное секвенирование, патогенность, поиск мутаций.

(Для цитирования: Савостьянов К.В., Намазова-Баранова Л.С., Басаргина Е.Н., Вашакмадзе Н.Д., Журкова Н.В., Пушков А.А., Жанин И.С., Сдвигова Н.А., Луканина В.Ю., Никитин А.Г. Новые варианты генома российских детей с генетически обусловленными кардиомиопатиями, выявленные методом массового параллельного секвенирования. *Вестник РАМН*. 2017;72 (4):242–253. doi: 10.15690/vramn872)

Обоснование

Кардиомиопатии (КМП) — группа болезней миокарда, характеризующаяся структурными и функциональными изменениями сердечной мышечной ткани. Согласно современной классификации, выделяют первичные, развивающиеся вследствие повреждения миокарда, и вторичные, развивающиеся вследствие генерализованных системных заболеваний и сопровождающиеся повреждением миокарда кардиомиопатии. Эти категории разбиваются на группы в зависимости от этиологии заболевания [1].

К первичным относятся генетические, приобретенные и смешанные кардиомиопатии. *Генетические КМП* обусловлены мутациями генов, кодирующих различные белки, участвующие в формировании и функционировании миокарда. Генетические КМП подразделяют на гипертрофическую кардиомиопатию (ГКМП); аритмогенную кардиомиопатию, или дисплазию правого желудочка (АКМП); некомпактный миокард левого желудочка (НМЛЖ); PRKAG2- и LAMP2-зависимые болезни

накопления гликогена и ионные каналопатии¹. *Приобретенные (ненаследственные) КМП*, причинами развития которых являются негенетические факторы, подразделяют на воспалительную (миокардиты), стрессовую (такоцубо) КМП; КМП беременных; КМП, обусловленную тахикардией, а также КМП детей, рожденных от матерей с сахарным диабетом I типа [3]. Среди *смешанных форм* выделяют дилатационную (ДКМП) и рестриктивную (РКМП) кардиомиопатии, которые могут быть обусловлены как генетическими дефектами, так и развиваться вследствие влияния различных (средовых) факторов.

Ко вторичным КМП относятся инфильтративные (амилоидоз, болезнь Гоше, мукополисахаридоз), токсические (лекарственная, химическая, радиационная), эндокринные (сахарный диабет, гипертириозидизм, гипотирозидизм, гиперпаратирозидизм, феохромоцитома,

¹ Позднее ионные каналопатии было предложено вывести из номенклатуры КМП в связи с тем, что мутации генов, отвечающих за ионные каналопатии, не всегда приводят к морфофункциональному фенотипу КМП [2].

акромегалия), воспалительные (саркоидоз), эндомикардиальные (эндомикардиальный фиброз) кардиомиопатии, а также кардиомиопатии при болезнях накопления (гемохроматоз, болезнь Фабри, болезнь Паркинсона, болезнь Ниманна–Пика), нервно-мышечных болезнях, аутоиммунных заболеваниях и болезнях соединительной ткани, синдромах Нунан и Леопард, дефиците питательных веществ и др. [3].

Характерным осложнением кардиомиопатий является сердечная недостаточность: на это заболевание (в частности, ГКМП и АКМП) приходится значительная доля внезапных сердечных смертей спортсменов и молодых людей в возрасте до 35 лет, что диктует необходимость проведения скрининга на предмет выявления патологического состояния [4]. Отметим, что гипертрофическая кардиомиопатия занимает ведущее место в структуре генетически обусловленных заболеваний сердечно-сосудистой системы. По средним оценкам, частота встречаемости ГКМП составляет 1 случай на 500 человек [5].

За последние десятилетия достигнуты значительные успехи в изучении генетических механизмов, обуславливающих патогенез повреждения миокарда, что способствовало открытию множества генов, ассоциированных с наследственными формами КМП, пересмотру существовавшей номенклатуры и появлению новой системы классификации КМП. Загадочная болезнь миокарда перестала считаться идиопатической, ее все чаще стали называть болезнью саркомера [6], наследуемой в большинстве случаев в соответствии с аутосомно-доминантным механизмом и обладающей варьирующей экспрессивностью и неполной пенетрантностью [7]. Однако существенное увеличение количества генов-кандидатов, значительная аллельная гетерогенность, характерная для всех типов КМП, требовали последовательного анали-

за всех кодирующих областей этих генов, который при использовании традиционных технологий двунаправленного секвенирования представлял собой достаточно длительный и дорогостоящий процесс. При этом ни результаты функциональной диагностики, ни установленные ранее ассоциации между генотипом и фенотипом не позволяли ощутимо сократить количество исследуемых генов ввиду существенного генетического и фенотипического перекрытия между различными типами КМП, что приводило к дополнительным сложностям как на этапе генетического тестирования, так и при интерпретации полученных результатов [8].

Технология секвенирования нового поколения (next-generation sequencing, NGS), активно используемая с 2012 г. в молекулярно-генетических исследованиях, имеющих клиническую направленность, позволила устранить указанные недостатки и обеспечила возможность одновременного анализа протяженных целевых областей генома человека. Однако высокопроизводительное исследование огромных участков генома привело к увеличению вероятности обнаружения вариантов неясной клинической значимости, требующих проведения тщательного биоинформатического анализа [9].

Согласно практическим рекомендациям и заключениям экспертных кардиологических сообществ, ведение пациентов с наследственными КМП включает генетическое тестирование, изучение семейной (не менее трех поколений) истории, а также клинический и генетический скрининг членов семьи пробанда, в т.ч. медико-генетическое консультирование [10]. Генетическое тестирование группы риска в отягощенных семьях способствует исключению болезни у одних родственников и выявлению патогенных генетических вариантов у других, что снижает

K.V. Savostyanov, L.S. Namazova-Baranova, E.N. Basargina, N.D. Vashakmadze, N.V. Zhurkova, A.A. Pushkov, I.S. Zhanin, N.A. Sdvigova, V.Yu. Lukanina, A.G. Nikitin

National Medical Research Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

The New Genome Variants in Russian Children with Genetically Determined Cardiomyopathies Revealed with Massive Parallel Sequencing

Background: Cardiomyopathies in children are serious, continuously progressing myocardium diseases which are characterized by a variety of the causes, symptoms, implications, and high lethality. More than 400 genes that can cause hereditary heart and vessels diseases are described in scientific literature. The application of a high-performance method of massive parallel sequencing allows to conduct the investigation of genome extended targeted areas revealing the variants and analyzing them (bioinformatics) for pathogenicity. **Aims:** Identification of a genetic etiology of hereditary cardiomyopathies development in children's population of the Russian Federation. **Materials and methods:** The research included 103 patients with various phenotypes of cardiomyopathies aged from 3 months up to 17 years 9 months who at the moment of examination were observed in the cardiology department and the department of recovery treatment with cardiovascular diseases in the NMRCCH. All patients were performed massive parallel sequencing analyzing the targeted areas of 404 genes which mutations lead to the development of heart and vessels hereditary diseases. **Results:** The diagnostic algorithm based on the method of a massive parallel sequencing was developed. 176 258 minor options were identified in the explored target areas of genome of 103 patients. An average number of the revealed nucleotide replacements different from the reference sequence was 1711. We observed that about 40% of all variants founded by our means were found in MYH7, MYBPC3, TTN, MYH6, SCN5A, DSC2 and TPM1 genes. Bioinformatics analysis allowed revealing 68 novel genome variants associated with cardiomyopathy development. The reliable association of carriage of pathogenic option in MYBPC3 gene with development of hypertrophic cardiomyopathy in the Russian children was found. **Conclusions:** The application of the offered algorithm allowed establishing laboratory diagnoses to 99 (96.1%) patients out from 103 investigated subjects including the syndromal and non-syndromal forms of heart and vessels hereditary diseases which showed a cardiomyopathy phenotype.

Key words: cardiomyopathies, human genetics, high-throughput sequencing, pathogenicity, search for mutations.

(For citation) Savostyanov KV, Namazova-Baranova LS, Basargina EN, Vashakmadze ND, Zhurkova NV, Pushkov AA, Zhanin IS, Sdvigova NA, Lukanina VYu, Nikitin AG. The New Genome Variants in Russian Children with Genetically Determined Cardiomyopathies Revealed with Massive Parallel Sequencing. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017;72 (4):242–253. doi: 10.15690/vramn872)

риск заболеваемости и смертности посредством регулярного клинического мониторинга, назначения соответствующей терапии, а также сведению к минимуму вторичных случаев возникновения болезни в отягощенных семьях посредством пренатальной и преимплантационной диагностики.

Ввиду существенного генетического разнообразия наследственных КМП спектр патогенных вариантов, выявляемых в большинстве популяций, охарактеризован недостаточно полно, даже в генах с очевидной клинической значимостью. В статье представлена стратегия использования массового параллельного секвенирования для анализа панели генов-кандидатов, ответственных за развитие этой группы болезней. Описано применение метода массового параллельного секвенирования для изучения таргетных областей генома, доказавших связь с развитием генетически обусловленных форм болезней сердца и сосудов, известных к настоящему времени.

Цель исследования — выявление генетической этиологии развития наследственных КМП среди детского населения России, а также описание полученных фенотипических корреляций на основе биоинформатического анализа и изучения частоты и спектра различных патогенных вариантов исследованных генов с использованием технологии массового параллельного секвенирования.

Методы

Дизайн исследования

Сравнительное клиническое наблюдение. Исследование носило одномоментный моноцентровой характер.

Критерии соответствия

Критерии включения

Лица в возрасте до 18 лет, у которых на основании физикального осмотра, а также данных лабораторных и инструментальных методов исследований диагностирована кардиомиопатия.

Критерии исключения

Лица старше 18 лет; лица, имеющие клинические признаки синдромальных заболеваний (в т.ч. множественные стигмы дизэмбриогенеза), сопутствующую сердечно-сосудистую патологию (врожденные пороки сердца, артериальную гипертензию).

Диагностическим критерием дилатационного фенотипа кардиомиопатии являлась систолическая дисфункция, проявляемая снижением фракции выброса левого желудочка (ЛЖ) $<0,45$ (Z -score $>2SD$) и/или фракции укорочения $<25\%$ (Z -score $>2SD$), при исключении врожденных пороков сердца, приводящих к развитию вторичной КМП (клапанные пороки сердца, заболевания коронарных артерий), артериальной гипертензии и воспалительных заболеваний миокарда. Конечно-диастолический размер ЛЖ $>117\%$ прогнозируемого значения с поправкой на возраст и площадь поверхности тела [11].

Диагностическим критерием гипертрофического фенотипа кардиомиопатии у детей являлось утолщение стенки ЛЖ при эхокардиографии более чем на 2 стандартных отклонения от предполагаемого среднего значения (Z -score $>2SD$); кроме того, у детей старшего возраста в качестве дополнительного критерия было добавлено увеличение толщины стенки ЛЖ >15 мм в одном или

нескольких сегментах миокарда ЛЖ, которое не может быть объяснено нагрузкой давлением, в соответствии с рекомендациями Европейского общества кардиологов (European Society of Cardiology, ESC) 2014 г. [12].

Диагностическими критериями НМЛЖ являлись соотношение некомпактного слоя миокарда к компактному слою более 2 (двухслойная структура миокарда выявляется из парастернальной позиции по короткой оси); отсутствие других сопутствующих аномалий сердца; наличие многочисленных, чрезмерно выступающих в полость левого желудочка трабекул с глубокими межтрабекулярными пространствами; сообщающиеся с полостью левого желудочка межтрабекулярные пространства, выявляемые с помощью цветного доплеровского картирования [13]. Для отбора пациентов с НМЛЖ по данным магнитно-резонансной томографии использовались схожие диагностические критерии: наличие двух слоев миокарда — компактного и некомпактного, истончение компактного слоя миокарда, соотношение некомпактного слоя и компактного более 2 [14].

Для отбора пациентов с РКМП использовались следующие эхокардиографические критерии: выраженная дилатация предсердий на фоне уменьшения полости пораженного желудочка, рестриктивный тип диастолической дисфункции (укорочение времени изоволюмического расслабления, увеличение пика раннего наполнения, уменьшение пика позднего предсердного наполнения желудочков, увеличение отношения раннего наполнения к позднему) при ненарушенной систолической функции, функциональная митральная и/или трикуспидальная регургитация, признаки легочной гипертензии [15].

Семейные формы исследовались при наличии в семье двух или более родственников с установленным клиническим диагнозом либо при наличии достоверной информации хотя бы об одном случае внезапной сердечной смерти в возрасте ранее 35 лет [11].

Условия проведения

Все дети были отобраны среди пациентов, наблюдавшихся в кардиологическом отделении и отделении восстановительного лечения детей с болезнями сердечно-сосудистой системы Национального медицинского исследовательского центра здоровья детей Минздрава России, и направлены на диагностику в лабораторию молекулярной генетики и клеточной биологии Центра.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось с марта 2016 по апрель 2017 г.

Описание медицинского вмешательства

Всем пациентам был осуществлен забор 1–2 мл цельной венозной крови в пробирку-вакутейнер с антикоагулянтом ЭДТА².

Исходы исследования

Основной исход исследования

Конечные точки в нашем исследовании — это регистрация генотипов в таргетных областях генома, нуклеотидные замены в которых приводят к развитию генетически обусловленных болезней сердца и сосудов.

² ЭДТА (от англ. ethylenediaminetetraacetic acid) — этилендиаминтетрауксусная кислота.

Анализ в подгруппах

Группы сформированы на основании данных семейного анамнеза, результатов физикального осмотра, инструментальных методов обследования (эхокардиография, магнитно-резонансная томография, электрокардиография, холтеровское мониторирование ЭКГ). Все пациенты были разделены на четыре группы по фенотипу заболевания: ДКМП, ГКМП, НМЛЖ, РКМП.

Методы регистрации исходов

Всем пациентам осуществлялось выделение геномной ДНК с помощью набора реактивов DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Германия) на автоматической станции QIAQUBE (QIAGEN, Германия). Качество и количество выделенной геномной ДНК исследовалось при помощи флуориметра нового поколения Qubit 3.0 (Invitrogen, США). Геномная ДНК, соответствующая всем необходимым требованиям, была отправлена на молекулярно-генетическую диагностику методом массового параллельного секвенирования, подразумевающим мультиплексное исследование целевых областей 404 генов, мутации в которых приводят к развитию максимального количества известных к настоящему времени наследственных болезней сердца и сосудов. Под целевыми областями подразумевались все промоторные, кодирующие и прилегающие интронные области этих генов. Таргетные области, включающие 2 145 839 пар нуклеотидов (п.н.), были обогащены со средним покрытием 291X. Длина среднего прочтения одного фрагмента составила 181 п.н. Пробоподготовка и массовое параллельное секвенирование осуществлялось на оборудовании Ion S5 (Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с протоколами и рекомендациями производителя. Все найденные минорные варианты исследованных генов с частотой встречаемости менее 0,5% по информационным базам dbSNP (Short Genetic Variations database) и ExAC (Exome Aggregation Consortium³), в том числе новые нуклеотидные замены, не описанные ранее, были подвергнуты биоинформатическому анализу с использованием программ Alamut Batch и Alamut Focus (Interactive Biosoftware, Франция) на предмет возможной патогенности и валидированы при помощи метода двустороннего секвенирования по Сэнгеру. Не описанные ранее мутации, патогенность которых была подтверждена путем биоинформатического анализа, были подвергнуты семейному анализу. Для проведения секвенирования по Сэнгеру вся исходная геномная ДНК подвергалась амплификации при помощи олигонуклеотидов, подобранных в программе Beacon Designer 8.10. Проверка специфичности пар праймеров проводилась с помощью программы Primer-BLAST (National Center for Biotechnological Information, NCBI, США). Продукты амплификации секвенировались при помощи набора реактивов BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с протоколами и рекомендациями производителя на оборудовании ABI 3500 (Thermo Fisher Scientific, США).

Этическая экспертиза

Результаты получены в ходе выполнения научно-исследовательской работы «Новые высокотехнологичные методы диагностики и лечения болезней сердца и сосудов у детей». Тема утверждена на совместном заседании Ученого совета и ЛНЭК ФГАУ ФБГУ «НЦЗД» (в настоящее

время ФГАУ «НМИЦ здоровья детей») Минздрава России, протокол № 9 от 22.11.2010 г.

Родители или законные представители пациентов, включенных в исследование, подписывали информированное согласие на проведение данного генетического исследования, а также на обработку персональных данных и внесение их в регистр.

Статистический анализ

Пациенты были охарактеризованы по полу, возрасту, семейному анамнезу и наличию патогенных вариантов.

Для статистического анализа категориальных данных использовался пакет R, версия 3.3.0 (R Foundation, США). Анализ проводился с помощью метода логистической регрессии. Ассоциации оценивались на основе логистической модели распределения с учетом доминантной модели наследования. Достоверным считался уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты

Объекты (участники) исследования

В исследовании были включены 103 ребенка: 59 (57,3%) мальчиков и 44 (42,7%) девочки в возрасте от 3 мес до 17 лет 9 мес на момент обследования. Пациенты с фенотипом ДКМП составили 47 (45,6%) человек, с ГКМП — 33 (32,0%), с признаками НМЛЖ — 28 (27,2%), с нарушениями ритма сердца — 18 (17,5%), с РКМП — 4 (3,9%). У 27 (26,2%) детей перекрывались различные фенотипы. У 43 (41,7%) пациентов КМП носила семейный характер, у 60 (58,3%) — спорадический.

Основные результаты исследования

В общей сложности мы идентифицировали 176 258 минорных вариантов у 103 пациентов в исследуемых целевых регионах генома. У каждого пациента в среднем было выявлено 1711 нуклеотидных замен, отличающихся от референсной последовательности.

Для получения информации о значимости каждого найденного варианта мы выполнили поэтапный подход к фильтрации этих вариантов, исключив все известные варианты с частотой встречаемости в европейской популяции более 0,5%, согласно базе данных ExAC. Это позволило значительно сократить общее количество анализируемых нуклеотидных замен до 807 вариантов, расположенных в 251 гене. Однако следует отметить, что отсекание редких вариантов генома с частотой встречаемости более 0,5% не исключает возможности появления патогенных вариантов, связанных с эффектом основателя в популяциях с плохо изученной генетической архитектурой той или иной наследственной болезни (в частности, КМП).

По результатам проведенного исследования, наибольшее количество вариантов с частотой встречаемости менее 0,5% было обнаружено в гене *TTN*, что связано с тем, что ген кодирует самый крупный белок человека [16], а его кодирующие области составляют около 10% длины всей изученной нами таргетной последовательности нуклеотидов. При сопоставлении количества найденных вариантов с размером каждого гена было обнаружено довольно равномерное распределение, исключающее существование частых мутаций в изученных генах.

Следующий этап анализа полученных нами данных включал аннотацию 807 редких минорных аллелей с использованием международных баз данных HGMD

³ Exome Aggregation Consortium (ExAC) — международный консорциум специалистов, исследующих данные секвенирования экзома.

(Human Gene Mutation Database) и ClinVar (Clinical Variation database), что позволило обнаружить 93 описанных ранее мутации у 71 (68,9%) пациента.

На рис. 1 представлены наиболее частые синдромальные и несиндромальные формы КМП и нарушения ритма сердца, соответствующие обнаруженным патогенным вариантам, описанным ранее в базах данных HGMD и ClinVar. Наибольшее число описанных ранее мутаций приходится на ГКМП (у 25; 26,9%), ДКМП (у 17; 18,3%) и нарушения ритма сердца (у 15; 16,1%). Кроме того, выявлено 16 (17,2%) мутаций (на рис. 1 обозначены розовым цветом — «другие»), ассоциированных с фенотипом вторичных КМП, проявляющимся лишь в случае поражения обеих хромосом. Лишь у 6 пациентов из обследованной когорты детей были выявлены такие мутации в гетерозиготном состоянии и не выявлены при этом мутации, описанные для различных КМП с доминантным типом наследования.

Для вычисления вероятно патогенных вариантов мы выбрали все выявленные несинонимичные нуклеотидные замены, исключив описанные ранее как непатогенные, и при помощи биоинформатического программного обеспечения (SIFT, PolyPhen, MutationTast, MetaLR⁴) определили патогенность каждой из оставшихся на основании ее патогенности хотя бы в трех биоинформатических модулях из четырех использованных. В результате проведенного анализа 77 нуклеотидных замен, 75 из которых — миссенс-варианты (табл. 1), одна гемизиготная делеция *c.889_891del, p.K297del* в гене *LAMP2* и одна гетерозиготная делеция *c.741_776del, p.E248_S259del* в гене *RAF1*, не приводящие к сдвигу рамки считывания, были отобраны нами у 59 (57,3%) пациентов и классифицированы как вероятно патогенные. Чтобы выяснить, действительно ли эти варианты могут являться мутациями, мы дополнительно вычислили процент синглов, т.е. уникальных вариантов, не описанных ранее ни в одной из инфор-

мационных баз. Этот показатель составил 48/77 (62,3%) вариантов, что подчеркнуло строгость выбранного классификационного подхода.

Среди оставшихся вариантов, не аннотированных ранее в международных базах данных по мутациям и отличающихся от референсной последовательности изученных генов, в первую очередь был выполнен поиск высоковероятно патогенных вариантов. Суммарное количество таких вариантов, сдвигающих рамки считывания, приводящих к преждевременной терминации трансляции и изменяющих сайты сплайсинга, составило 29 (у 28 обследованных пациентов; 27,2%). В частности, были выявлены 6 различных неописанных делеций и 2 вставки, сдвигающие рамки считывания. Нам также удалось обнаружить 9 различных вариантов сайтов сплайсинга и 12 различных нонсенс-вариантов (табл. 2).

Наибольшее суммарное количество высоковероятно патогенных и вероятно патогенных вариантов было обнаружено в гене *MYH7*, что, по всей видимости, связано с тем, что именно в этом гене встречается наибольшее количество описанных мутаций, являющихся причинами генетически обусловленных КМП, приведенных в базе данных HGMD. Существенный процент неописанных ранее вариантов может указывать на высокую полиморфность генетических основ развития наследственных КМП и на их слабую изученность среди популяций, населяющих территорию современной России.

Просуммировав патогенные, высоковероятно патогенные и вероятно патогенные варианты, мы получили 199 нуклеотидных замен, выявленных в описываемой когорте обследованных пациентов в ходе проведенного нами исследования и последующего анализа данных, и распределили их по генам (рис. 2).

Из представленных данных следует, что около 40% обнаруженных вариантов приходится на гены *MYH7*, *MYBP3*, *TTN*, *MYH6*, *SCN5A*, *DSC2* и *TPM1*, что в целом коррелирует с результатами крупномасштабных многоцентровых исследований генетически обусловленных КМП, проведенных за рубежом [17, 18].

⁴ SIFT, PolyPhen, MutationTast, MetaLR — программы для анализа клинической значимости выявленных геномных вариантов.

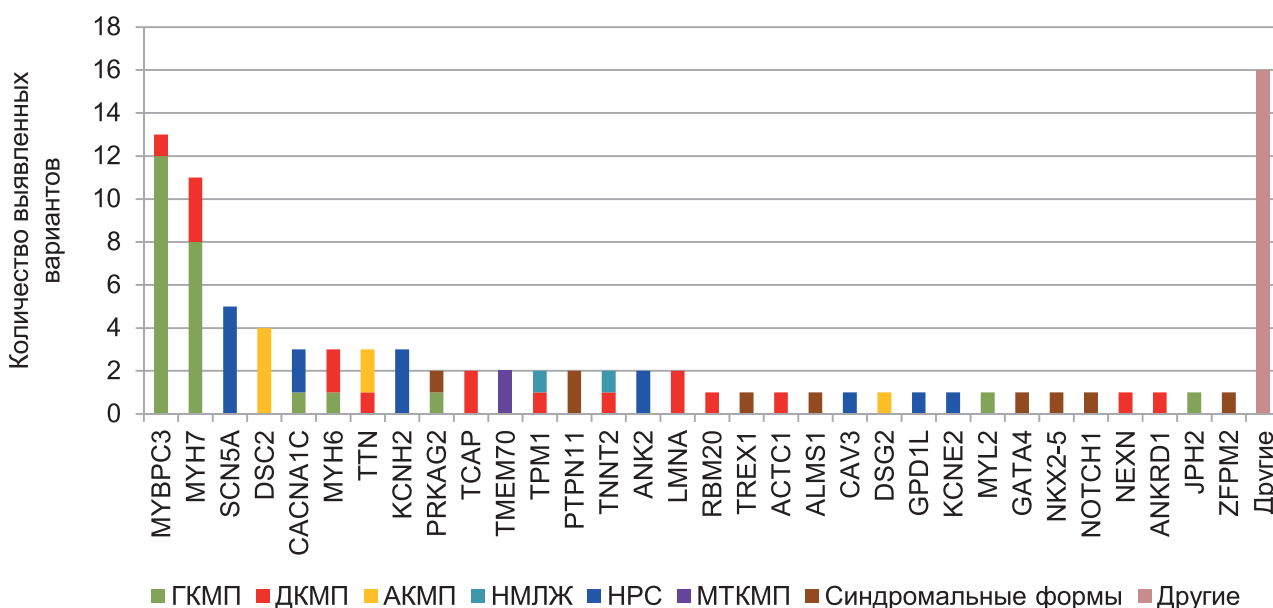


Рис. 1. Распределение выявленных патогенных вариантов исследованных генов, аннотированных в международных базах данных HGMD и ClinVar

Примечание. ГКМП — гипертрофическая кардиомиопатия, ДКМП — дилатационная кардиомиопатия, АКМП — аритмогенная кардиомиопатия, НМЛЖ — некомпактный миокард левого желудочка, НРС — нарушения ритма сердца, МТКМП — митохондриальная кардиомиопатия.

Таблица 1. Биоинформатический анализ вероятно патогенных миссенс-вариантов, не аннотированных ранее в международных базах данных по мутациям

Варианты / частота встречаемости (количество пациентов)	SIFT	PolyPhen	MutationTast	MetaLR
<i>ACTC1</i> c.477T>A, p.D159E	-	D	D	D
<i>ACTC1</i> c.758G>T, p.G253V	D	D	D	D
<i>ACTC1</i> c.1039A>G, p.I347V	-	D	D	D
<i>ACTN2</i> c.440C>T, p.S147L / 0%	D	D	D	-
<i>ACTN2</i> c.2082G>C, p.K694N / 6,00E-05	D	D	D	-
<i>ACTN2</i> c.1331A>G, p.H444R	D	D	D	D
<i>AKAP9</i> c.11351G>A, p.R3784Q	D	D	D	-
<i>AKAP9</i> c.11495G>A, p.R3832H	D	D	D	-
<i>AKAP9</i> c.2581T>C, p.Y861H / 6,00E-04	D	D	D	-
<i>CAVI</i> c.358G>T, p.A120S	D	D	D	D
<i>CTNNA3</i> c.2573T>C, p.L858S / 3,00E-04	D	D	D	-
<i>CTNNA3</i> c.416C>A, p.A139E	D	D	D	-
<i>DMD</i> c.3326A>T, p.N1109I / 4,00E-04	D	D	D	-
<i>DSC2</i> c.2497C>T, p.R833C / 0%	D	D	D	D
<i>DSG2</i> c.1537G>A, p.V513M	D	D	D	D
<i>DSG2</i> c.436C>T, p.R146C / 1,50E-05	D	D	D	-
<i>DSP</i> c.1349C>T, p.P450L / 3,00E-05	D	D	D	-
<i>DTNA</i> c.445A>G, p.R149G	D	D	D	D
<i>EDN1</i> c.354G>C, p.K118N / 1,00E-04	D	D	D	D
<i>EMD</i> c.188A>G, p.D63G	-	D	D	D
<i>HCN4</i> c.2081A>T, p.E694V	D	D	D	D
<i>JPH2</i> c.611T>G, p.L204R	D	D	D	D
<i>KANSL1</i> c.2339A>G, p.D780G	D	D	D	-
<i>KCNA5</i> c.497A>C, p.D166A / 4,00E-04	D	D	D	D
<i>KCNJ5</i> c.605T>C, p.F202S	D	D	D	D
<i>LDB3</i> c.98C>T, p.T33I	D	D	D	-
<i>LDB3</i> c.1834G>A, p.A612T	D	D	D	D
<i>LMNA</i> c.1375A>T, p.N459Y	D	D	D	D
<i>MYBPC3</i> c.977G>A, p.R326Q / 7,80E-03	-	-	-	-
<i>MYBPC3</i> c.3197C>G, p.P1066R	D	D	D	D
<i>MYH6</i> c.4010C>T, p.S1337L / 1,52E-05	D	D	D	D
<i>MYH6</i> c.4424A>G, p.E1475G / 0%	D	D	D	D
<i>MYH6</i> c.2974G>A, p.A992T / 0%	D	-	D	D
<i>MYH7</i> c.545C>T, p.A182V	D	D	D	D
<i>MYH7</i> c.727C>A, p.R243S	D	D	D	D
<i>MYH7</i> c.1205C>T, p.P402L	D	D	D	-
<i>MYH7</i> c.2678C>A, p.A893E	D	-	D	D
<i>MYH7</i> c.1628C>T, p.A543V	D	-	D	D
<i>MYH7</i> c.2330G>A, p.R777K (2)	D	-	D	D
<i>MYH7</i> c.2372A>C, p.Q791P	-	D	D	D
<i>MYH7</i> c.2512C>T, p.P838S	D	D	D	D
<i>MYH7</i> c.2647G>A, p.E883K	D	D	D	D
<i>MYH7</i> c.2689A>C, p.N897H / 1,50E-05	D	D	D	D
<i>MYH7</i> c.2890G>C, p.V964K / 6,00E-04	D	D	D	D
<i>MYH7</i> c.3926C>T, p.T1309I	D	-	D	D
<i>MYH7</i> c.481G>A, p.A161T / 0%	D	-	D	D
<i>MYH7</i> c.4894G>A, p.A1632T / 1,50E-05	D	-	D	D
<i>MYL2</i> c.120G>C, p.R40S	D	D	D	-

Таблица 1. Биоинформатический анализ вероятно патогенных миссенс-вариантов, не аннотированных ранее в международных базах данных по мутациям (*Окончание*)

Варианты / частота встречаемости (количество пациентов)	SIFT	PolyPhen	MutationTast	MetaLR
MYL2 c.206T>C, p.M69T (2)	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>
MYLK c.3610C>T, p.R1204W / 3,00E-04	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	-
MYPN c.1995G>T, p.Q665H (2)	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	-
MYPN c.2863C>T, p.R955W / 7,00E-04 (2)	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	-
MYPN c.802C>T, p.P268S / 1,00E-04 (3)	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>
NEXN c.1255G>C, p.E419Q	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>
PSEN2 c.1163C>T, p.T388M / 6,02E-05 (3)	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>
RBM20 c.325G>A, p.A109T	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>
RBM20 c.613C>A, p.Q205K / 1,00E-04	<i>D</i>	<i>D</i>	-	<i>D</i>
RBM20 c.1958C>T, p.T653I / 5,00E-05	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	-
SCN5A c.3265C>T, p.P1089S	-	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>
SYNE2 c.17583G>T, p.W5861C / 1,50E-05	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	-
SYNE2 c.2936A>T, p.H979L	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	-
TCAP c.337C>T, p.L113F / 2,00E-04	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>
TGFBR1 c.856T>C, p.Y286H / 3,00E-05	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	-
TMPO c.974T>A, p.I325K	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	-
TNNC1 c.184G>A, p.D62N	-	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>
TPM1 c.218T>A, p.L73Q	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>
TPM1 c.398G>A, p.R133Q	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	-
TPM1 c.4G>A, p.D2N	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>
TTN c.42296A>G, p.D14099G	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	-
TTN c.46591G>A p.G15531R / 3,00E-05	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>
TTN c.49964C>T, p.P16655L	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>
TTN c.53498A>G, p.Y17833C (3)	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>
TTN c.80263T>C, p.F26755L / 2,00E-04	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	-
TTN c.85846C>T, p.R28616W	-	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>
VCL c.2544C>A, p.D848E	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>	<i>D</i>

Примечание. *D* (от англ. Disease-causing) — нуклеотидная замена, вызывающая заболевание. Жирным шрифтом выделены уникальные нуклеотидные замены, не описанные ранее ни в одной из информационных баз данных; для остальных вариантов приведена частота их встречаемости среди европейских популяций (по данным ExAC). Для тех нуклеотидных замен, которые встретились более одного раза, в скобках приведено количество пациентов, являющихся их носителями.

Таблица 2. Высоковероятно патогенные варианты, не аннотированные ранее в международных базах данных по мутациям

Ген	Нуклеотидные и аминокислотные варианты		
	Приводящие к сдвигу рамки считывания	Оказывающие влияние на сплайсинг	Вызывающие преждевременную терминацию трансляции
ALMS1	-	-	c.1063C>T, p.Q355X
ATP1A2	c.971del, p.G324Afs*3	-	-
DSG2	-	-	c.1088C>A, p.S363X / 1,50E-03
DSP	c.5004dup, p.L1669Tfs*15	-	c.4354A>T, p.R1452X
FHL1	c.4del, p.A2Rfs*28	-	-
HCN4	-	-	c.2083G>T, p.E695X
LAMP2	c.893_923del, p.E298Afs*38	-	c.733C>T, p.Q245X
MYBPC3	-	c.2738-5C>A	c.1855G>T, p.E619X
MYH7	-	c.4353+3G>T / 7,00E-03	c.3706G>T, p.E1236X
MYL3	-	c.559+1G>A	-
NEBL	-	-	c.1255G>T, p.E419X / 5,15E-05
NEXN	-	c.298+1G>C	-
PTPN11	-	c.1611+4C>A / 1,50E-03	-
PRKAG2	-	c.1585-1G>A	-

Таблица 2. Высоковероятно патогенные варианты, не аннотированные ранее в международных базах данных по мутациям (Окончание)

Ген	Нуклеотидные и аминокислотные варианты		
	Приводящие к сдвигу рамки считывания	Оказывающие влияние на сплайсинг	Вызывающие преждевременную терминацию трансляции
<i>SNTA1</i>	-	-	<i>c.79C>T, p.Arg27X</i>
<i>SOS1</i>	<i>c.940_943del, p.Q314Yfs*13</i>	-	-
<i>TAZ</i>	<i>c.208del, p.E70Sfs*31</i>	-	-
<i>TBX20</i>	<i>c.831_832insTA, p.D278X</i>	-	-
<i>TPM1</i>	-	<i>c.375-3C>T / 1,00E-04</i>	-
<i>TTN</i>	-	<i>c.36790+1G>A</i>	<i>c.48499C>T, p.R16167X</i> <i>c.56572C>T, p.R18858X / 3,12E-05</i>
<i>VCL</i>	<i>c.1713del, p.A573Hfs*8</i>	<i>c.2746-4A>G</i>	<i>c.1708C>T, p.R570X / 0%</i>

Примечание. Жирным шрифтом выделены уникальные варианты, не описанные ранее ни в одной из информационных баз данных; для остальных минорных аллелей приведена частота их встречаемости среди европейских популяций (по данным ExAC).

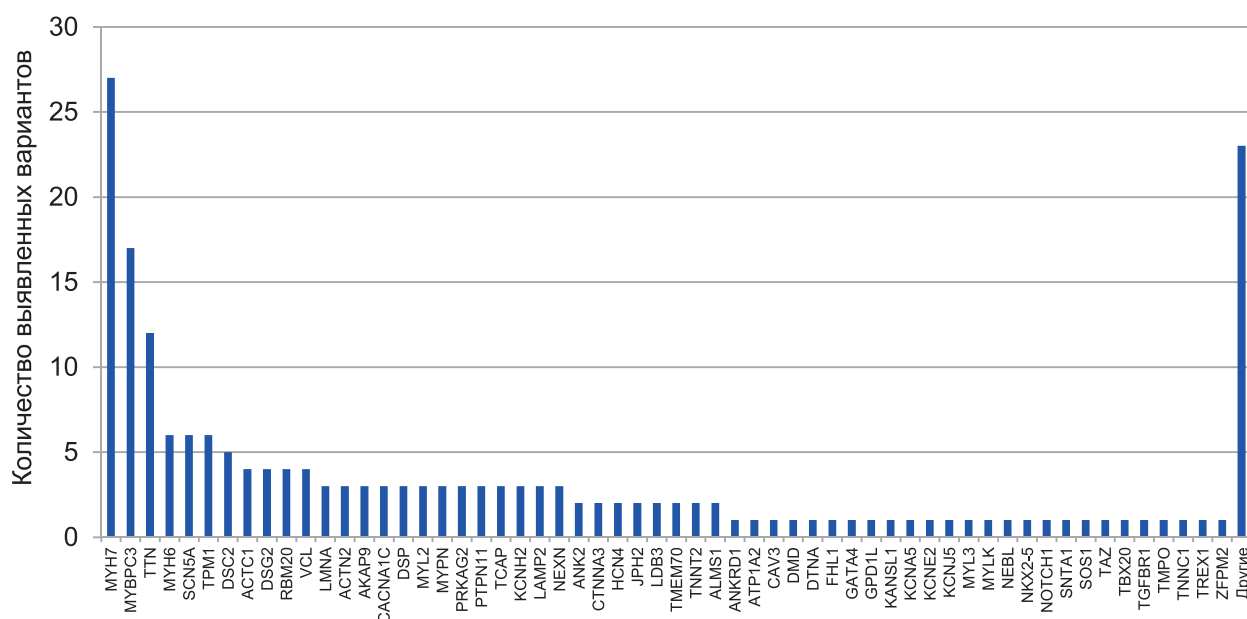


Рис. 2. Распределение 199 патогенных, высоковероятно патогенных и вероятно патогенных вариантов в исследованной когорте пациентов

Нежелательные явления

Нежелательных явлений не наблюдалось.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Из общего числа идентифицированных минорных вариантов в целевых областях генома у обследованных пациентов наибольшее число вариантов было обнаружено в гене *MYH7*. Данные по распределению относительных частот выявленных вариантов исследованных генов в целом соответствовали результатам многоцентровых исследований, проведенных за рубежом среди пациентов с генетически обусловленными кардиомиопатиями.

Обсуждение основного результата исследования

Разработанный метод массового параллельного секвенирования целевых областей 404 генов позволил поставить лабораторные диагнозы 99 (96,1%) пациентам из 103 обследованных, в том числе с синдромальными

и несиндромальными формами наследственных болезней сердца и сосудов, проявляющимися фенотипом КМП. У 2 пациентов с ГКМП были заподозрены синдромальные болезни, сопровождающиеся КМП, причиной развития которых могут являться протяженные делеции и/или вставки, которые не выявляются посредством проведения массового параллельного секвенирования. У двух других детей, один из которых с фенотипом РКМП, а другой — с фенотипом ДКМП, выявлены гетерозиготные минорные варианты генов с неизвестной патогенностью, обнаруженные так же во время проведения популяционных исследований, что не позволяет считать их причинными, несмотря на небольшую частоту встречаемости — <0,1% среди европейского населения.

Отметим, что ассоциации генотипа и фенотипа 57 обследованных нами детей совпадали с описанными ранее в международных базах, тогда как фенотип 8 пациентов не соответствовал описанному ранее фенотипу пациентов, обладающих такими же мутациями. Это может объясняться тем, что для рассматриваемых заболеваний описаны мутации, приводящие к различным фе-

нотипам, а также тем, что не все мутации, описанные в международных базах, являются истинно патогенными. Для проверки последнего предположения мы исключили варианты, выявленные ранее во время проведения общепопуляционных исследований, в результате чего не описанные при проведении общепопуляционных исследований патогенные варианты были обнаружены у 30 (31,3%) пациентов. При этом для 3 детей мы опровергли корреляции фенотипа и генотипа, обнаруженные ранее. Это сплайсинговые варианты *c.1928-2A>G* и *c.2905+1G>A* гена *MYBPC3* и миссенс-мутация *c.2146G>A*, *p.G716R* гена *MYH7*, описанные ранее лишь у пациентов с ГКМП [19–21] и обнаруженные нами у детей с дилатационным фенотипом. Интересно, что среди всех описанных ранее мутаций лишь нонсенс-мутация *c.3697C>T*, *p.Q1233X* гена *MYBPC3*, ассоциированная с семейной формой ГКМП [22], встретилась дважды у детей с семейной формой ГКМП из неродственных семей; остальные мутации, описанные ранее, были выявлены нами в единственном числе.

Для поиска ассоциаций генов, а также типа и количества найденных мутаций с различными фенотипическими проявлениями и тяжестью клинической картины мы вычислили число мутаций, приходящееся на каждого больного ребенка из когорты обследованных детей. Примечательно, что у 3 детей мы выявили 3 описанные мутации, у 1 ребенка — 4 описанные мутации, и еще у 1 — 5 описанных мутаций в разных генах (табл. 3).

Это распределение наглядно иллюстрирует корреляцию тяжести клинических проявлений в зависимости от числа выявленных генетических вариантов. Ввиду довольно высокой распространенности КМП семьи, имеющие более одной мутации, не являются редкими, и, как ожидается, их количество будет расти по мере совершенствования методов молекулярно-генетической диагностики.

При этом удалось отметить, что носительство единичных вариантов генов также способно вызывать тяжелейшую клиническую картину болезни. Так, варианты гена *MYH7 c.2512C>T*, *p.P838S* и *c.2513C>T*, *p.P838L*, расположенные в одном кодоне, явились причиной развития резистентных к проводимой терапии форм ДКМП и ГКМП соответственно и раннего летального исхода у обоих детей в возрасте до 2 лет. Первая мутация была описана ранее при тяжелых формах ГКМП и РКМП [23], тогда как вторая мутация не была описана ранее. Ее патогенность была подтверждена биоинформатическим путем и путем семейного анализа, доказавшего спонтанность ее возникновения. Кроме того, у 4 пациентов удалось обнаружить компаундное носительство 8 гетерозиготных мутаций в гене *MYBPC3: c.3197C>G*, *p.P1066R*

и *c.1928-2A>G*; *c.772G>A*, *p.E258K* и *c.3697C>T*, *p.Q1233X*; *c.1468G>A*, *p.G490R* и *c.3811C>T*, *p.R1271X*; *c.787G>A*, *p.G263R* и *c.2827C>T*, *p.R943X*, из которых 7 аннотированы в базе данных по мутациям HGMD. Все 4 случая КМП были семейными, поэтому обследование родителей помогло обнаружить причинные мутации, вызвавшие развитие болезни в соответствии с аутосомно-доминантным механизмом наследования. Остальные минорные аллели, по всей видимости, вносят вклад в фенотип больных детей, усугубляя его, однако ГКМП и ДКМП сами по себе не вызывают. В семьях, демонстрирующих аутосомно-доминантное наследование, сегрегация мутаций необходима для исключения маркировки носителей недетерминированных вариантов генов как возможных пациентов, так и для обеспечения правильной интерпретации результатов в случае пренатальной диагностики.

Среди всех обследованных пациентов у 4 детей были выявлены аутосомно-рецессивные формы болезни, подтвержденные при помощи семейного анализа. У девочки в возрасте 1 года 9 мес с фенотипом ДКМП, аффективно-респираторными пароксизмами, нистагмом и атрофией диска зрительного нерва были выявлены 2 мутации гена *ALMS1: c.1063C>T*, *p.Q355X*, не описанная ранее, и *c.4150dup*, *p.T1384Nfs*15*, описанная при синдроме Альстрема. У мальчика (4 года 6 мес) с фенотипом ГКМП, НМЛЖ, врожденным пороком сердца, нарушением ритма сердца и выраженной мышечной гипотонией были обнаружены 2 мутации гена *TMEM70: c.317-2A>G* и *c.578_579del*, *p.T193Sfs*6*, описанные ранее у пациентов с недостаточностью митохондриального комплекса V (АТФ-синтазной недостаточностью). У другого мальчика (3 года 7 мес) с фенотипом ДКМП и кардиофиброзом были обнаружены 2 не описанные ранее мутации гена *DSP*, приводящие к ДКМП с кератодермией: *c.4354A>T*, *p.R1452X* и *c.5004dup*, *p.L1669Tfs*15*. Особый интерес представляет также случай, описывающий мальчика (2 года 4 мес) с фенотипом ДКМП и гомозиготным сплайсинговым вариантом *c.559+1G>A* гена *MYL3*, для которого в базе данных OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) описано лишь аутосомно-доминантное наследование. Данный минорный аллель, вызвавший сплайс-изменение обеих хромосом, не был описан до проведения этого исследования ни в одной из информационных баз. Такой вариант был унаследован от клинически здоровых родителей, состоящих в близкородственном браке, и способствовал развитию тяжелой картины ДКМП у ребенка [24].

Кроме того, обнаруженные варианты генов, включая патогенные, высоковероятно патогенные и вероятно патогенные, выявленные в этом исследовании, были классифицированы в соответствии с функциональной

250

Таблица 3. Распределение обследованных пациентов в зависимости от числа выявленных вариантов

Число вариантов	Количество пациентов, чел. (%)	
	С описанными ранее патогенными вариантами	С высоковероятно патогенными и вероятно патогенными вариантами
0	32 (31,1)	16 (31,5)
1	44 (42,7)	64 (33,7)
2	22 (21,3)	17 (19,1)
3	3 (2,9)	5 (11,2)
4	1 (1)	1 (4,5)
5	1 (1)	0

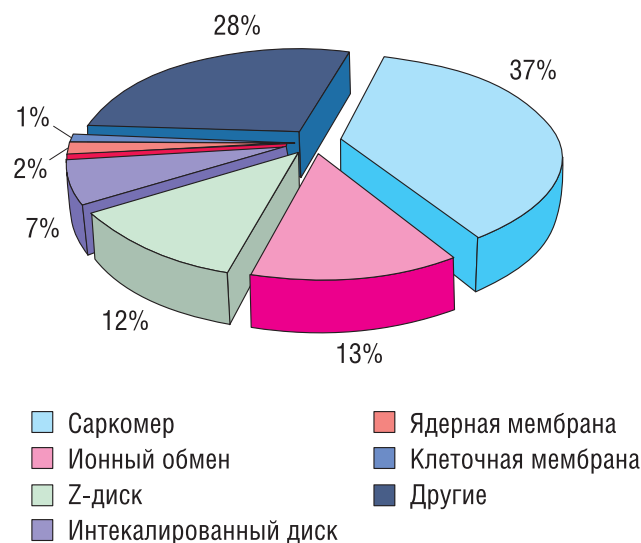


Рис. 3. Распределение выявленных патогенных, высоковероятно патогенных и вероятно патогенных вариантов по функциональному вкладу различных компонентов кардиомиоцитов

Примечание. Гены были сгруппированы на основании функционального вклада их продуктов в различные компоненты кардиомиоцитов по 7 группам (гены, кодирующие саркомерные белки; гены, кодирующие z-диск/цитоскелетные белки; гены, кодирующие белки, отвечающие за ионный обмен; гены, кодирующие интеркалированные диски; гены, продукты которых формируют ядерную оболочку, гены, продукты которых формируют клеточную мембрану; другие гены).

принадлежностью кодируемых ими продуктов различным компонентам кардиомиоцитов согласно информации, представленной на информационном ресурсе <http://www.genecards.org> (рис. 3). С учетом этой классификации в группе генов, кодирующих саркомерные белки, выявлено наибольшее число вариантов (37%); далее следуют группа генов, кодирующих белки, отвечающие за ионный обмен (13%); группа генов, кодирующих белки цитоскелета/z-диска (12%), и группа генов, кодирующих белки интеркалированного диска (7%). В группах генов, кодирующих ядерную оболочку и клеточную мембрану, было выявлено соответственно 2 и 1% вариантов исследованных генов.

Для поиска возможных ассоциаций между найденными вариантами и соответствующими клиническими проявлениями был проведен регрессионный анализ, выявивший значимые предикторы статуса ГКМП. Полученная достоверная ассоциация была обусловлена повышенным риском развития ГКМП у носителей вариантов гена *MYBPC3*, имеющих OR 3,17 (1,36–11,72; $p=0,009$).

Ограничения исследования

Целевые участки генома, изученные у пациентов, не могут дать полной информации о генетических причинах развития кардиомиопатий. Для поиска новых генов, мутации в которых могут приводить к развитию различных форм генетически обусловленных сердечно-сосудистых заболеваний, может быть рекомендовано полноэкзомное секвенирование. Ввиду незначительного размера выборки, используемой в данном исследовании, значимых межпопуляционных различий, а также генетической гетерогенности внутри одной популяции результаты исследования не могут быть экстраполированы на все человечество.

Выводы

В рамках этой работы впервые в России проведено масштабное исследование таргетных областей генома с целью выявления и описания этиологических причин развития генетически обусловленных КМП среди детского населения. Очевидно, что эти преимущественно аутосомно-доминантные болезни имеют немалую распространенность, значительную генетическую гетерогенность и медицинскую значимость, поэтому гены, вызывающие КМП, занимают важное место в списке генов Американской коллегии медицинской генетики и геномики и должны подвергаться обязательному анализу во всех случаях секвенирования экзома и генома [25]. Однако технология массового параллельного секвенирования сохраняет некоторые недостатки, такие как неполное покрытие и охват таргетных областей генома, риск ограниченной чувствительности и невозможность обнаружения клинически значимых вариантов генома длиной свыше 20 п.н. Для сведения к минимуму числа вероятных патогенных вариантов биоинформатический анализ должен включать в себя постадийную фильтрацию выявленных вариантов. При этом исключение из рассмотрения всех описанных в каких-либо информационных базах вариантов, особенно для таких нередких болезней, как генетически обусловленные КМП, может повлечь за собой потерю потенциально значимых вариантов, т.к. известно, что среди вариантов, описанных в базе dbSNP, отмечается незначительное число мутаций [26, 27]. С другой стороны, международные базы данных по мутациям содержат потенциально незначимые варианты, классифицированные ранее как мутации. Особенно это заметно для рассматриваемой группы болезней, т.к. технологии молекулярно-генетической диагностики, применявшиеся в 90-е годы прошлого века, не позволяли анализировать объем рассматриваемой ныне информации ввиду огромной стоимости и трудоемкости ее получения, что иногда приводило к описанию вариантов, выявляемых в единственном исследованном гене, как патогенных.

Заключение

Разработанный диагностический алгоритм на основе метода массового параллельного секвенирования с валидацией выявленных вариантов методом Сэнгера позволил продемонстрировать высокую аналитическую точность диагностики в обследованной когорте пациентов (установлены лабораторные диагнозы у 96,1% обследованных пациентов, в том числе с синдромальными и несиндромальными формами генетически обусловленных КМП), обосновывая продолжающийся в развитых странах переход парадигмы от низко- к высокопроизводительной геномике в медицине.

Источник финансирования

Исследование проводилось в рамках реализации научно-исследовательской работы «Новые высокотехнологичные методы диагностики и лечения болезней сердца и сосудов у детей» в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. McCartan C, Mason R, Jayasinghe SR, Griffiths LR. Cardiomyopathy classification: ongoing debate in the genomics era. *Biochem Res Int*. 2012;2012:796926. doi: 10.1155/2012/796926.
2. Arbustini E, Narula N, Tavazzi L, et al. The MOGE(S) classification of cardiomyopathy for clinicians. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64(3):304–318. doi: 10.1016/j.jacc.2014.05.027.
3. Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 2006;113(14):1807–1816. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.174287.
4. Barsheshet A, Brenyo A, Moss AJ, Goldenberg I. Genetics of sudden cardiac death. *Curr Cardiol Rep*. 2011;13(5):364–376. doi: 10.1007/s11886-011-0209-y.
5. Maron BJ, Gardin JM, Flack JM, et al. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults. Echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA Study. Coronary Artery Risk Development in (Young) Adults. *Circulation*. 1995;92(4):785–789. doi: 10.1161/01.cir.92.4.785.
6. Niimura H, Patton KK, McKenna WJ, et al. Sarcomere protein gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy of the elderly. *Circulation*. 2002;105(4):446–451. doi: 10.1161/hc0402.102990.
7. Landstrom AP, Ho CY, Ackerman MJ. Mutation type is not clinically useful in predicting prognosis in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 2010;122(23):2441–2450. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.954446.
8. Rubiś P, Wiśniowska-Śmiałek S, Rudnicka-Sosin L, et al. Overlap cardiomyopathy — coexistence of hypertrophic and restrictive cardiomyopathy phenotypes in one patient (RCD code: III-2A.1). *JRCD*. 2014;1(6):21–28. doi: 10.20418/jrcd.vol1no6.119.
9. Lopes LR, Zekavati A, Syrris P, et al. Genetic complexity in hypertrophic cardiomyopathy revealed by high-throughput sequencing. *J Med Genet*. 2013;50(4):228–239. doi: 10.1136/jmedgenet-2012-101270.
10. Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, et al. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies: this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Heart Rhythm*. 2011;8(8):1308–1339. doi: 10.1016/j.hrthm.2011.05.020.
11. Mestroni L, Rocco C, Gregori D, et al. Familial dilated cardiomyopathy: evidence for genetic and phenotypic heterogeneity. *J Am Coll Cardiol*. 1999;34(1):181–190. doi: 10.1016/S0735-1097(99)00172-2.
12. Рабочая группа по диагностике и лечению гипертрофической кардиомиопатии Европейского общества кардиологов (ESC). Рекомендации ESC по диагностике и лечению гипертрофической кардиомиопатии 2014 // *Российский кардиологический журнал*. — 2015. — №5 — С. 7–57. [The task force for the diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). 2014 ESC Guidelines on Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy. *Rossiiskii kardiologicheskii zhurnal*. 2016;(5):7–57. (In Russ).] doi: 10.15829/1560-4071-2015-05-7-57.
13. Jenni R, Oechslin EN, van der Loo B. Isolated ventricular non-compaction of the myocardium in adults. *Heart*. 2007;93(1):11–15. doi: 10.1136/hrt.2005.082271.
14. Макаренко В.Н., Александрова С.А., Дарий О.Ю., и др. Оценка структурно-функционального состояния миокарда с помощью магнитно-резонансной томографии у пациентов с синдромом «некомпактный миокард» // *Диагностическая и интервенционная радиология*. — 2011. — Т.5. — №2 (Приложение). — С. 256. [Makarenko VN, Aleksandrova SA, Darii OYu, et al. Otsenka strukturno-funktsional'nogo sostoyaniya miokarda s pomoshch'yu magnitno-rezonansnoi tomografii u patsientov s sindromom «nekompaktnyi miokard». *Diagnosticheskaya i intervensionnaya radiologiya*. 2011;5(2 suppl.):256. (In Russ).]
15. Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с кардиомиопатиями. — М.: Союз педиатров России, Ассоциация детских кардиологов в России; 2014. — 23 с. [Federal'nye klinicheskie rekomendatsii po okazaniyu meditsinskoi pomoshchi detyam s kardiomiopatiyami. Moscow: Soyuz peditrov Rossii, Assotsiatsiya detskikh kardiologov v Rossii; 2014. 23 p. (In Russ).]
16. Opitz CA, Kulke M, Leake MC, et al. Damped elastic recoil of the titin spring in myofibrils of human myocardium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(22):12688–12693. doi: 10.1073/pnas.2133733100.
17. Cahill TJ, Ashrafian H, Watkins H. Genetic cardiomyopathies causing heart failure. *Circ Res*. 2013;113(6):660–675. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.113.300282.
18. Walsh R, Thomson KL, Ware JS, et al. Reassessment of Mendelian gene pathogenicity using 7,855 cardiomyopathy cases and 60,706 reference samples. *Genet Med*. 2017;19(2):192–203. doi: 10.1038/gim.2016.90.
19. Jordan DM, Kiezun A, Baxter SM, et al. Development and validation of a computational method for assessment of missense variants in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Hum Genet*. 2011;88(2):183–192. doi: 10.1016/j.ajhg.2011.01.011.
20. Teirlinck CH, Senni F, El Malti R, et al. A human MYBPC3 mutation appearing about 10 centuries ago results in a hypertrophic cardiomyopathy with delayed onset, moderate evolution but with a risk of sudden death. *BMC Med Genet*. 2012;13:105. doi: 10.1186/1471-2350-13-105.
21. Helms AS, Davis FM, Coleman D, et al. Sarcomere mutation-specific expression patterns in human hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet*. 2014;7(4):434–495. doi: 10.1161/Circgenetics.113.000448.
22. Ehlermann P, Weichenhan D, Zehlein J, et al. Adverse events in families with hypertrophic or dilated cardiomyopathy and mutations in the MYBPC3 gene. *BMC Med Genet*. 2008;9:95. doi: 10.1186/1471-2350-9-95.
23. Karam S, Raboisson MJ, Ducreux C, et al. A de novo mutation of the beta cardiac myosin heavy chain gene in an infantile restrictive cardiomyopathy. *Congenit Heart Dis*. 2008;3(2):138–143. doi: 10.1111/j.1747-0803.2008.00165.x.
24. Lukanina V, Vashakmadze N, Zhurkova N, et al. P123 Rare hereditary cardiomyopathy caused by novel homozygous mutation in the myl3 gene. *Arch Dis Child*. 2017;102(Suppl. 2):A81–A82. doi: 10.1136/archdischild-2017-313273.211.
25. Green RC, Berg JS, Grody WW, et al. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet Med*. 2013;15(7):565–574. doi: 10.1038/gim.2013.73.
26. Smigielski EM, Sirotkin K, Ward M, Sherry ST. dbSNP: a database of single nucleotide polymorphisms. *Nucleic Acids Res*. 2000;28(1):352–355. doi: 10.1093/nar/28.1.352.
27. Bamshad MJ, Ng SB, Bigham AW, et al. Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. *Nat Rev Genet*. 2011;12(11):745–755. doi: 10.1038/nrg3031.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Савостьянов Кирилл Викторович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной генетики и клеточной биологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-09-19, e-mail: 7443333@gmail.com, SPIN-код: 6377-3090, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-4885-4171>

Намазова-Баранова Лейла Сеймуровна, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заместитель директора ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России по научной работе, директор НИИ педиатрии

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-14, e-mail: namazova@nczd.ru, SPIN-код: 1312-2147, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2209-7531>

Басаргина Елена Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кардиологическим отделением ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-01-93, e-mail: basargina@nczd.ru, SPIN-код: 5302-0767, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-0144-2885>

Вашакмадзе Нато Джумберовна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением восстановительного лечения детей с болезнями сердечно-сосудистой системы ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-08-15, e-mail: vashakmadze@nczd.ru, SPIN-код: 2906-9190, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-8320-2027>

Журкова Наталия Вячеславовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и клеточной биологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-09-19, e-mail: zhurkovanv@nczd.ru, SPIN-код: 4768-6310, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-6614-6115>

Пушков Александр Алексеевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и клеточной биологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-09-19, e-mail: pushkovaa@nczd.ru, SPIN-код: 2928-5764, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-6648-2063>

Жанин Илья Сергеевич, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и клеточной биологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-09-19, e-mail: ilya_zhanin@outlook.com, SPIN-код: 6108-2016, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-1423-0379>

Сдвигова Наталия Андреевна, аспирант кардиологического отделения ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-01-93, e-mail: sdvigova-natalya@yandex.ru, SPIN-код: 1765-5309, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-5313-1237>

Луканина Валентина Юрьевна, врач-кардиолог отделения восстановительного лечения детей с болезнями сердечно-сосудистой системы ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-08-15, e-mail: lukanina@nczd.ru, SPIN-код: 3237-2986, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2133-8284>

Никитин Алексей Георгиевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и клеточной биологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-09-19, e-mail: avialn@gmail.com, SPIN-код: 3367-0680, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-9762-3383>

DOI: 10.15690/vramn723

Д.С. Барановский¹, А.Г. Демченко¹, Р.В. Оганесян¹, Г.В. Лебедев², Д.А. Берсенева²,
М.В. Балясин¹, В.Д. Паршин¹, А.В. Лյондуп¹

¹ Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
(Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация

Получение бесклеточного матрикса хряща трахеи для тканеинженерных конструкций

Обоснование. Трансплантация тканеинженерной трахеи остается единственной надеждой для множества пациентов, страдающих тяжелыми рубцовыми стенотическими поражениями трахеи. Несмотря на существенное число выполненных исследований, окончательного решения проблемы пока не найдено. Вопрос о возможности создания функционально полноценной гиалиновой хрящевой ткани в трансплантате *in vitro* остается открытым, и ряд исследователей видят в нем ключ к успешному решению современных задач тканевой инженерии трахеи. **Цель исследования** — оценить способность комбинации детергентов и ДНКазы I к децеллюляризации хрящевой ткани трахеи человека при кратковременном воздействии для получения бесклеточного матрикса-носителя. **Методы.** В исследовании использовался нативный хрящ человека, выделяемый из трахеи трупного донора и децеллюляризуемый комплексом детергентов и энзимов, включающих Тритон X-100, DMSO и ДНКазу I. Свойства получаемого матрикса-носителя оценивались в ходе гистологических исследований, анализа содержания остаточной ДНК в препарате и колориметрического теста метаболической активности клеток при культивировании на фрагментах носителя. **Результаты.** Полученные матриксы-носители обладали пористой структурой, преимущественно представленной коллагеном и гликозаминогликанами, демонстрировали низкий уровень остаточной ДНК, лишены цитотоксичности и способны стимулировать пролиферативную клеточную активность. **Заключение.** Результаты данного исследования позволили предложить новый метод непродолжительной децеллюляризации гиалиновой хрящевой ткани с получением клеточных носителей, отвечающих основным требованиям тканевой инженерии.

Ключевые слова: тканевая инженерия, децеллюляризация, гиалиновый хрящ трахеи.

(Для цитирования: Барановский Д.С., Демченко А.Г., Оганесян Р.В., Лебедев Г.В., Берсенева Д.А., Балясин М.В., Паршин В.Д., Лյондуп А.В. Получение бесклеточного матрикса хряща трахеи для тканеинженерных конструкций. *Вестник РАМН*. 2017; 72 (4):254–260. doi: 10.15690/vramn723)

Обоснование

Первые попытки создания комбинированных тканеинженерных трансплантатов трахеи в эксперименте были сделаны Ваканти еще в 1994 г. Разработанная им

технология подразумевала использование синтетических материалов и имела множество недостатков: экспериментальное исследование завершилось развитием респираторного дистресс-синдрома у лабораторных животных и их гибелью [1]. В последствии множество других на-

D.S. Baranovsky¹, A.G. Demchenko¹, R.V. Oganessian¹, G.V. Lebedev², D.A. Berseneva¹,
M.V. Balyasin¹, V.D. Parshin¹, A.V. Lyundup¹

¹ Sechenov First Moscow State Medical University Ministry of Health of Russian Federation, Moscow, Russian Federation

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Acellular Tracheal Cartilaginous Scaffold Producing for Tissue-Engineered Constructs

Background: Tissue-engineered trachea transplantation remains the last chance for a variety of patients suffering from severe cicatricial tracheal stenosis. Despite the series of carried studies, the final solution hasn't been found. Creating a functionally complete hyaline cartilage graft *in vitro* still presents a fundamental problem, and a number of researchers consider it as the key to a successful tracheal tissue-engineering. **Aims:** The study aimed to investigate the capability of detergent complex and DNase I for human tracheal cartilage decellularization in short-time exposition for acellular scaffold obtaining. **Materials and methods:** Isolated from cadaveric trachea human native cartilage was used for decellularization by enzymatic-detergent complex including Triton X-100, DMSO, and DNase I. The scaffold was characterised by histological examinations, analysis of the residual DNA content, and cell metabolic activity colorimetric test with culture in the scaffold fragments. **Results:** The obtained scaffolds presented highly porous structure mostly composed of collagen and glycosaminoglycans with an insignificant residual DNA level, absence of cytotoxicity, and capability for cell proliferative activity stimulation. **Conclusions:** Thus, the study provides a new short-time technology for hyaline cartilage decellularization in order to achieve acellular scaffolds in step with the tissue engineering requirements.

Key words: tissue engineering, decellularization, tracheal hyaline cartilage.

(For citation: Baranovsky DS, Demchenko AG, Oganessian RV, Lebedev GV, Berseneva DA, Balyasin MV, Parshin VD, Lyundup AV. Acellular Tracheal Cartilaginous Scaffold Producing for Tissue-Engineered Constructs. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017; 72 (4):254–260. doi: 10.15690/vramn723)

учных коллективов трудились над созданием оптимального тканеинженерного трансплантата трахеи. Между тем трансплантация тканеинженерной трахеи остается единственной надеждой для множества пациентов, страдающих тяжелыми рубцовыми стенотическими поражениями трахеи после длительной интубации [2]. Однако, несмотря на значительное число экспериментальных и клинических исследований в данной области, окончательного решения проблемы пока не найдено. Исследование послеоперационных биоптатов, полученных из тканеинженерных трансплантатов трахеи, имплантированных пациентам, и оценка микрофотографий некоторыми независимыми экспертами демонстрируют наличие большого количества грануляционной ткани в зоне анастомозов и стенке тканеинженерного органа и признаки затяжного хронического воспаления с крайне небольшими и незначительными участками с элементами формирования эпителиального покрытия [3]. Вопрос о возможности создания функционально полноценной гиалиновой хрящевой ткани в трансплантате *in vitro* на сегодняшний день также остается открытым, несмотря на то, что ряд исследователей именно в нем видят ключ к успешному решению современных задач тканевой инженерии трахеи [4].

Данные наблюдения позволяют предположить, что существующие технологии получения матриц для тканевой инженерии трахеи и ее хрящевой ткани в частности не обеспечивают создания клеточных носителей, представляющих оптимальные условия для клеточной пролиферации и направленной дифференцировки.

Идеальный материал для такого трехмерного каркаса (или скаффолда) по своим свойствам должен максимально соответствовать межклеточному веществу, что необходимо для образования в рамках клеточного носителя искусственной клеточной ниши — непосредственного окружения клеток, создающего адекватные условия для их деления и взаимодействия, гисто- и морфогенеза, а также продукции межклеточного вещества.

Современные матрицы, как правило, имеют органическое происхождение и могут быть созданы искусственно на основе коллагена или полимеров молочной и/или гликолевой кислоты и др., или их гибридов. Все скаффолды, разрабатываемые в настоящее время, можно подразделить на резорбируемые и нерезорбируемые в зависимости от взаимодействия материала, из которого они изготовлены, с тканями реципиента.

В 80–90-х гг. прошлого столетия предпринимались попытки использования нерезорбируемых клеточных каркасов на основе пористого политетрафторэтилена, силикона и композитных материалов типа тефлоновой сетки. Однако в большинстве своем данные работы оказывались неудачными. Имплантация носителей из таких материалов приводила к большому числу тяжелых осложнений [5, 6].

Резорбируемые матрицы-носители способны метаболизироваться макрофагальной системой организма, со временем замещаясь межклеточным веществом, не оставляя в организме реципиента постоянного инородного тела [7]. В настоящее время в тканевой инженерии наиболее широко используются кадаверные аллотрансплантаты с последующей их децеллюляризацией и количественной контрольной оценкой остаточного ДНК в трансплантате [8–10]. Такая процедура позволяет избежать попадания антигенов донора в организм реципиента и, как следствие, предотвратить нежелательную реакцию иммунной системы [11–13]. Такие матрицы уже содержат соответствующие белки и факторы роста для первоначальной

адгезии, поверхностной пролиферации и клеточной дифференцировки, что облегчает создание клеточной ниши [14–16].

Для удаления клеточной составляющей нативного органа могут быть использованы различные методы воздействия на ткань — физические, ферментативные и химические [17, 18]. При этом следует отличать понятия децеллюляризации и девитализации: последняя только уничтожает живые клетки, сохраняя клеточное содержимое в структуре матрикса.

К физическим методам относятся механическое воздействие, циклы замораживания-оттаивания, обработка ультразвуком.

При ферментативной децеллюляризации используются трипсин, эндо- и экзонуклеазы. Широко применяются и химические детергенты — кислоты и щелочи, ферменты, гипертонические и гипотонические растворы, ионные и неионные детергенты, хелатирующие агенты и бимодальные детергенты. Выбор действующего агента, метода децеллюляризации и продолжительности экспозиции действующих растворов определяется с учетом анатомо-гистологических особенностей, структуры и свойств исследуемого органа.

Неудачный выбор децеллюляризирующего агента может привести к разрушению структуры матрикса и потере его механических и биологических свойств. Необходимо учитывать, что любой химический агент повреждает матрикс в той или иной степени, и только правильно подобранные метод и длительность экспозиции способны минимизировать последствия данного воздействия, поэтому проблема поиска оптимальной технологии децеллюляризации тканей с сохранением межклеточного вещества максимально интактным остается открытой. Именно сохранность микроархитектоники и компонентов межклеточного вещества придает биоинженерным каркасам способность стимулировать клеточную пролиферацию, хемотаксис, ответное ремоделирование тканей пациента, и при этом они не должны содержать продуктов деградации донорских клеток и остатков химических детергентов, которыми их обрабатывали [18, 19].

Цель исследования — создание метода децеллюляризации хрящевой ткани трахеи с целью получения оптимального бесклеточного матрикса-носителя для создания тканеинженерных трансплантатов, обладающих широкими возможностями при решении задач реконструктивной хирургии трахеи и органоподобных моделей.

Методы

Дизайн исследования

План экспериментального исследования включал следующие этапы: медицинское вмешательство (забор биологического материала у трупного донора, определяемого в соответствии с критериями включения в исследование), выделение хрящевой ткани из стенки трахеи, децеллюляризация полученных образцов, оценку качества децеллюляризации и биосовместимости конечного продукта.

В основе проверки гипотезы исследования о возможности получения бесклеточного матрикса-носителя, обладающего надлежащими характеристиками, лежала оценка уровня остаточной ДНК в образцах конечного продукта децеллюляризации, гистологическое исследование образцов и оценка биосовместимости образцов *in vitro*.

Критерии соответствия

В качестве доноров хрящевой ткани для получения матрикс-носителей в ходе настоящего исследования использовались исключительно кадаверные доноры.

Критерии включения:

- 1) подписанная форма информированного согласия на посмертное использование тканей в научно-исследовательских целях на момент смерти;
- 2) возраст от 18 до 65 лет на момент смерти.

Условия проведения

Все этапы экспериментального исследования выполнялись в условиях чистых помещений (стерильные культуральные боксы), при ламинарном потоке воздуха. Транспортировка биологических образцов производилась квалифицированным персоналом в емкостях, содержащих стерильный изотонический солевой раствор, в специальных контейнерах.

Продолжительность исследования

Общая продолжительность экспериментального исследования составила 12 нед, в числе которых 21 день с момента получения донорского материала.

Описание медицинского вмешательства

Забор биологического материала у трупного донора производился квалифицированным персоналом с использованием общехирургического инструментария. При этом после послойного рассечения подлежащих тканей, выполнения верхней срединной стернотомии выполнялась мобилизация трахеи тупым и острым путем, производилась резекция участка трахеи между 2-м и 8-м кольцами без продольного рассечения передней стенки трахеи с целью сохранения хрящевых колец интактными. Резецированная часть помещалась в герметичную маркированную емкость со стерильным изотоническим солевым раствором для транспортировки.

Основной исход исследования

В качестве основного критерия удаления клеточной составляющей было предложено снижение уровня остаточной ДНК в полученном матриксе более чем на 90%, что является общепринятым показателем высокой эффективности децеллюляризации ткани.

Дополнительные исходы исследования

Дополнительным критерием подлежащего удалению клеточной составляющей стало отсутствие видимых клеточных фрагментов при световой микроскопии образцов в результате гистологического исследования.

В качестве критерия биосовместимости матрикс-носителей было предложено отсутствие цитотоксического эффекта образцов при исследовании *in vitro*.

Методы регистрации исходов

В качестве нативного материала для получения бесклеточного матрикса-носителя использовались фрагменты хряща, выделенного из участка трахеи трупного донора от перстневидного хряща до карины. Перед проведением децеллюляризации хрящ очищался от окружающих тканей и промывался физиологическим раствором с целью удаления сгустков крови или других биологических жидкостей, потенциальных посторонних частиц. Затем образцы тканей проходили обработку 6% раствором диметилсульфоксида (DMSO) с добавлением антибиотика и антимикотика 1% в течение 24 ч, и отмывались в стерильной дистиллированной и деионизированной

воде с антибиотиком-антимикотиком на протяжении 48 ч. После завершения отмывания ткани перемещались в 4% раствор дезоксихолата натрия на 4 ч для полного разрушения клеточных липидных оболочек. По истечении требуемого времени воздействия физиологический солевой баланс тканей восстанавливался сбалансированным раствором Хенкса в течение 30 мин для подготовки образцов к ферментации. С целью ферментации нуклеиновых кислот использовался раствор ДНКазы (20 ЕД/мл, Sigma, США), с добавлением 1 ммоль/л NaCl и 10% DMSO (Sigma, США) с 4-часовой экспозицией, после чего фрагменты тканей помещались в 1% раствор Тритона X-100 с добавлением CHAPS, Tris и 10% DMSO на 48 ч. Выполнялось контрольное повторение цикла. Процесс децеллюляризации завершался промыванием образца 1% раствором пенициллина-стрептомицина в фосфатном буфере в течение 72 ч с целью удаления из ткани остаточных количеств химических детергентов. Все представленные стадии децеллюляризации выполнялись при температуре +3–4°C, за исключением стадии ферментации ДНКазой, наибольшая активность которой достигалась при температуре +37°C.

Гистологическое исследование скаффолда

Полученные образцы ткани замораживали при температуре -80°C. С помощью криотома (Microm HM 505 E Cryostat, Германия) получали срезы толщиной 6 мкм, фиксировали в течение нескольких секунд в нейтральном растворе формальдегида с добавлением 95% этанола в отношении 1:1. Для изучения структуры полученного внеклеточного матрикса использовали гистохимическую окраску по методу Маллори и окраску сафранином-О (Biovitrum, Россия). Исследование микропрепаратов выполнялось методом трансмиссивной световой микроскопии с использованием микроскопа ECLIPSE TE2000-U (Nikon, Япония).

Флуоресцентная микроскопия

Качество децеллюляризации в образцах определяли по наличию нуклеиновых кислот. Срезы фиксировали, отмывали 10 мин в фосфатно-солевом буфере (Gibco, США). Окрашивали бромистым этидием (3,8-диамино-5-этил-6-фенилфенантридиум бромид, Sigma, США) в концентрации 5 мкг/мл в течение 5 мин, промывали фосфатно-солевым буфером и заключали под покровное стекло в 80% глицерине на фосфатно-солевом буфере. Микроскопию проводили на флуоресцентном микроскопе ECLIPSE TE2000-U при возбуждении флуоресценции лазером зеленого спектра.

Оценка содержания остаточной ДНК

Анализ материала осуществлялся по стандартному протоколу [20]. Для анализа использовали пять предварительно гомогенизированных проб материала, взятых не с поверхности образца. Оценка содержания ДНК в растворе производилась методом флуориметрического анализа (Quantus Fluorometer, США). С учетом концентрации ДНК в полученном растворе, объема данной пробы и массы образца оценивалось процентное содержание ДНК в пробе. В качестве положительного контроля использовали пробы нативного образца хрящевой ткани трахеи человека, не подвергавшийся децеллюляризации.

Оценка биосовместимости

С целью оценки цитотоксичности (биосовместимости) децеллюляризованного хряща использовался колориметрический тест метаболической активности клеток

(МТТ-тест) с применением клеточной линии фибробластов мыши 3Т3.

Фибробласты засеивали на кусочки стерильного децеллюляризованного хряща трахеи размером 1×2 мм в количестве 24 000 клеток в объеме 600 мкл. Культивирование проводилось в полнокомпонентной питательной среде Игла, модифицированной по Дюльбекко (Invitrogen, США), содержащей 10% телячью фетальную сыворотку (HyClone Defined, HyClone, США), 100 Ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина (Sigma, США). Культивирование осуществляли в пробирках объемом 1,8 мл (Corning, США) при непрерывном вращении в CO₂-инкубаторе (Thermo) с 5% концентрацией CO₂, 95% атмосферного воздуха и с повышенной влажностью при температуре 37°C. По истечении 4 сут проводился МТТ-тест по методу Мосмана [21]. Показания оптической плотности считывали на планшетном фотометре (Multiskan FC, Thermo Scientific, США).

Оценка содержания ДНК производилась методом флуориметрического анализа раствора после гомогенизации всех образцов с использованием аппарата Quantus Fluorometer (США).

Этическая экспертиза

Протокол настоящего исследования рассмотрен Локальным комитетом по этике ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» (протокол заседания Локального комитета по этике № 07-15 от 15.07.2015, протокол исследования № ЦКПРМТИТ 3/2015).

Статистический анализ

Статистический анализ не проводился в связи с особенностями плана экспериментального исследования, в т.ч. с отсутствием групп, подлежащих сравнению.

Результаты

Основные результаты исследования

Гистохимическая окраска тканей по Маллори показала, что гиалиновый хрящ децеллюляризованных экземпляров и образцов нативного хряща трахеи от трупного донора окрашен различными оттенками синего, характерными для коллагена, — более светлыми в препаратах децеллюляризованного хряща. Слизистая оболочка и подслизистая основа децеллюляризованного фрагмента трахеи была представлена в виде единичных рыхлых волокон, сохранившихся после механического удаления окружающих хрящ тканей. В децеллюляризованной ткани не наблюдалось сохраненных клеток эпителия, хондроцитов и хондробластов, в глубоких слоях матрикса отмечены единичные фрагменты клеточных оболочек. Микроархитектоника полученного матрикса без патологических изменений. Результаты окраски срезов нативного образца позволили визуализировать сохранную стенку трахеи, представленную слизистой оболочкой и подслизистой основой, фиброзно-хрящевой оболочкой, надхрящницей и адвентициальной оболочкой (рис. 1).

Окраска срезов децеллюляризованного хряща сафранином-О продемонстрировала насыщенную розово-красную окраску межклеточного матрикса, соответствующую высокому содержанию гликозаминогликанов в материале (рис. 2).

Окрашивание на нуклеиновые кислоты показало отсутствие характерной флуоресценции ядер и цитоплазмы

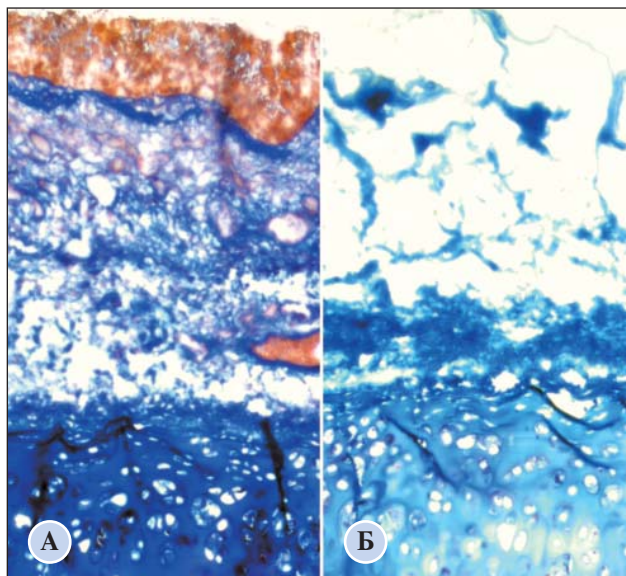


Рис. 1. Окраска по методу Маллори, световая микроскопия, ×100

Примечание. А — препарат интактной стенки трахеи человека: визуализируется слизистая оболочка и подслизистая основа с залегающими белково-слизистыми железами, надхрящница (перихондриум) и гиалиновый хрящ, содержащий лакуны с сохранными хондроцитами; Б — препарат гиалинового хряща трахеи человека после химической децеллюляризации: слизистая оболочка и подслизистая основа представлены в виде отдельных рыхлых волокон; в толще хрящевой ткани визуализируются пустые клеточные лакуны, глубоко в структуре ткани отмечаются единичные фрагменты клеточных оболочек.

257

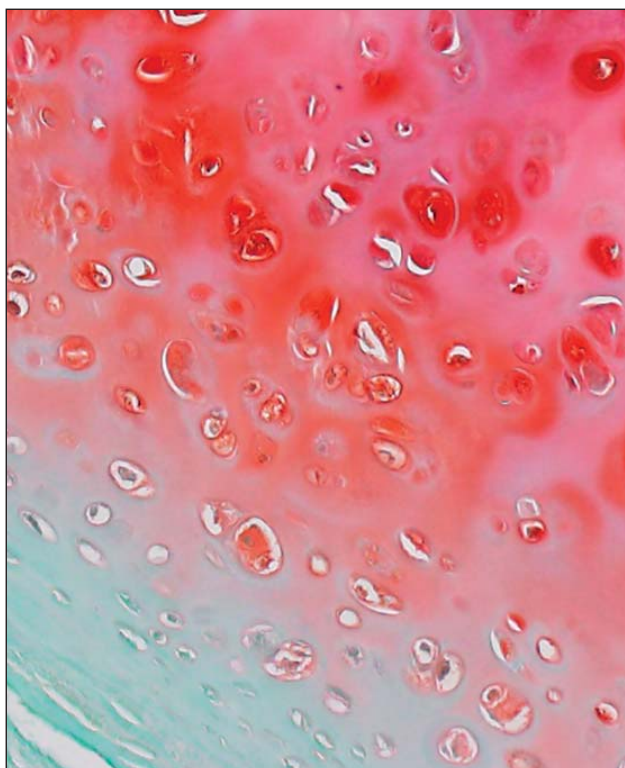


Рис. 2. Препарат гиалинового хряща трахеи человека после химической децеллюляризации, световая микроскопия, сафранин-О

Примечание. Гликозаминогликаны в толще хрящевой ткани окрашены оттенками красного и розового цветов, более насыщенными в глубоких структурах образца и области клеточных лакун, что соответствует более высокому содержанию гликозаминогликанов.

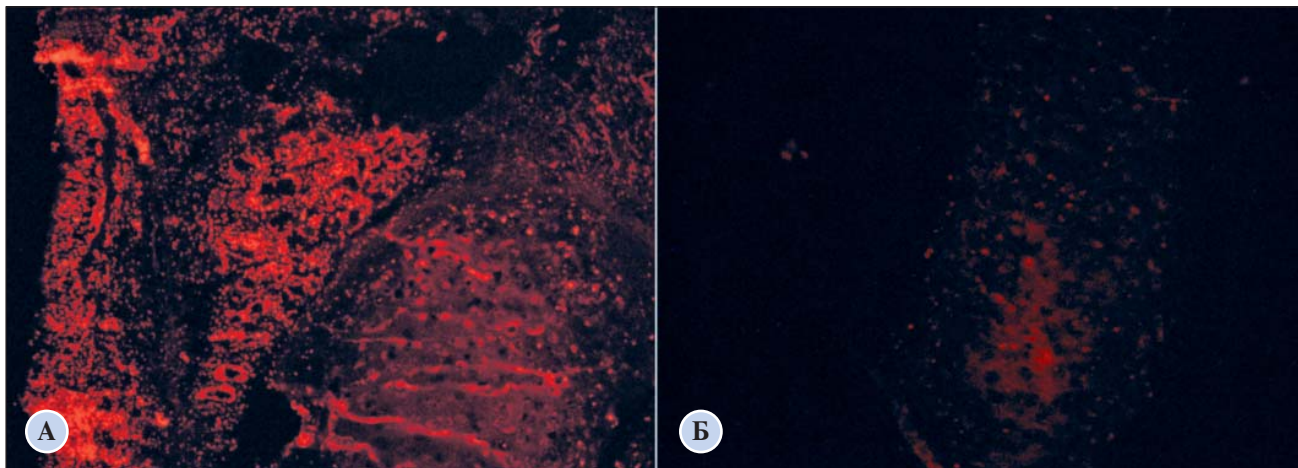


Рис. 3. Окраска нуклеиновых кислот бромистым этидием, флуоресцентная микроскопия, $\times 40$

Примечание. А — препарат интактной стенки трахеи человека: визуализируется интенсивная ярко-красная флуоресценция нуклеиновых кислот; Б — препарат стенки трахеи человека после химической децеллюляризации: визуализируется снижение интенсивности флуоресценции нуклеиновых кислот, наблюдается слабое свечение клеток в глубине хрящевой ткани.

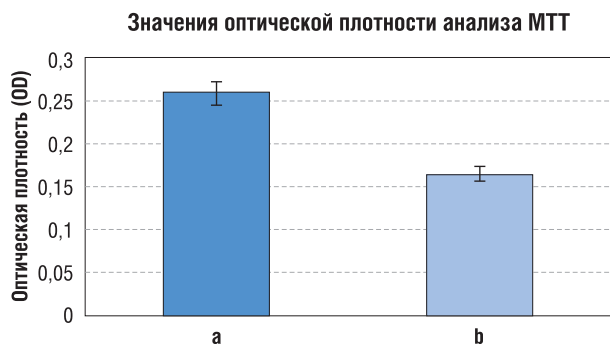


Рис. 4. Диаграмма показателей МТТ-теста клеточной активности на 4-е сут культивирования на исследуемых образцах

Примечание. а — фрагменты стерильного децеллюляризованного хряща, б — клеточный носитель-цитодекс (контроль)

в образцах после децеллюляризации и наличие интенсивного свечения в нативных образцах (рис. 3).

Оценка остаточной ДНК методом флуоресцентного анализа подтвердила удаление большей части ДНК в процессе децеллюляризации: так, содержание ДНК в нативном образце составило $2,442 \pm 0,114$ нг/мкг, в то время как в децеллюляризованной хрящевой ткани — только $0,101 \pm 0,030$ нг/мкг, что соответствует $4,12 \pm 1,22\%$ относительного количества ДНК в нативном образце.

Результаты МТТ-теста выявили более высокую оптическую плотность в исследуемых образцах (0,26 OD) в сравнении с контрольным стандартным клеточным носителем (0,16 OD): таким образом, полученные матриксы-носители на основе децеллюляризованной ткани хряща трахеи не обладают выраженной цитотоксичностью и способны стимулировать пролиферативную клеточную активность (рис. 4).

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

В основе предложенного процесса децеллюляризации гиалиновой хрящевой ткани лежит эффективное комплексное воздействие детергентов и энзимов на донорскую ткань. Новая технология позволяет получать материалы, отвечающие основным критериям, предъявляемым к клеточным носителям в тканевой инженерии, в т.ч. низкому содержанию остаточной донорской ДНК.

Обсуждение основного результата исследования

Задача максимально полного удаления донорской ДНК является ключевой в трансплантологии тканеинженерных органов, однако достичь ее можно лишь при очень тонкой подборке используемых детергентов и времени экспозиции. В работах S. Vaiguera и соавт. исследователи сообщают о $\sim 90\text{--}99\%$ очистке трахеального матрикса при остающихся нескольких видимых хондроцитах в поле зрения при микроскопическом исследовании хрящевой части трахеи [22, 23]. A. Batioglu-Karaaltin и соавт. получили матриксы, на 90% очищенные от донорской ДНК [24].

Использование комбинации ДНКазы и детергентов, разработанной в результате настоящего исследования, обеспечивает более полное удаление клеточных компонентов из нативной ткани, максимально сохраняя структуру и архитектуру внеклеточного матрикса. Незначительный уровень остаточного ДНК в получаемых носителях обеспечивает им низкую иммуногенность, что может иметь определяющее значение при имплантации. Метод количественной оценки остаточной ДНК, использованный в настоящем исследовании, позволяет представить наиболее точный, объективный и репрезентативный результат в дополнение к качественным оценкам, получаемым при микроскопии отдельных срезов матрикса.

Обработка биологического материала 1% раствором Тритон X-100 с добавлением CHAPS способствует достижению максимальной экстракции клеточных белков и ферментов, включая протеины цитоплазматических мембран (в т.ч. и молекул главного комплекса гистосовместимости) [25, 26]. Качество элиминации внутриклеточных высокомолекулярных соединений существенно повышается за счет впервые предложенной комбинации дезоксихолата натрия и диметилсульфоксида, липолитическая активность которых позволяет быстро разрушать фосфолипидный бислой клеточной мембраны. Способность DMSO дестабилизировать структуру белков и увеличивать проницаемость клеточной оболочки доказывалась неоднократно [27, 28]. Уже на первом этапе девитализации растворенный DMSO обеспечивает быстрое поступление воды в клетку, осмотический лизис подавляющего большинства клеток и элиминацию клеточных органелл. На последующих этапах детергентно-энзиматического воздействия добавлением DMSO достигается быстрое проникновение активных компонентов раствора в подлежащие слои плотной ткани и сквозь цитоплазматические мембраны, повышая каче-

ство децеллюляризации и сокращая время, затрачиваемое на процедуру. Вместе с тем на завершающих этапах подготовки клеточного носителя удаление диметилсульфоксида солевыми растворами из внеклеточного матрикса не представляет технических трудностей. Приведенные выше результаты гистологического исследования и количественного анализа остаточной ДНК в носителях, полученных с применением DMSO, указывают на надлежащий эффект децеллюляризации. Отсутствие потенциального цитотоксического эффекта следовых количеств детергентов подтверждается представленными результатами анализа метаболической активности клеток, находящихся в непосредственном контакте с фрагментами скаффолда.

Гистохимическая окраска тканей по Маллори указывает на незначительную потерю коллагеновых волокон в межклеточном веществе хряща при химическом воздействии детергентов. Гиалиновый хрящ децеллюляризованных образцов и нативный хрящ трахеи от трупного донора окрашены различными оттенками синего, более светлыми в периферической части препаратов децеллюляризованного хряща, что объясняется неизбежно более высокой концентрацией активных химических веществ в этой области при проведении процедуры обескелотчивания. Внеклеточный матрикс обнаруживает пористую структуру, представленную преимущественно коллагеном и гликозаминогликанами, надлежащая сохранность последних при этом подтверждается при специальной окраске срезов сафранином-О. Наличие компонентов межклеточного вещества, необходимых для формирования естественной клеточной ниши в рамках носителя, и пористая структура матрикса позволяют предполагать возможность его успешной последующей ревитализации хондроцитами или мезенхимальными стволовыми клетками реципиента. Естественная органическая природа скаффолда делает возможным постепенное замещение межклеточного вещества скаффолда новыми компонентами, синтезируемыми аутогенными клетками, что не допускает пожизненного присутствия инородного материала в организме реципиента, существенно снижает риск развития хронического воспаления и фиброзирующих деформаций.

Сохраняющаяся высокая клеточная пролиферативная активность в протестированных образцах подтверждает биосовместимость носителя и указывает на отсутствие цитотоксических свойств скаффолда, что возможно лишь в случае надлежащей элиминации детергентов и энзимов после завершения процесса децеллюляризации.

Особенностью предложенной технологии остается непродолжительное время, затрачиваемое на обработку донорских тканей. Возможность быстрой подготовки плотных хрящевых матриксов-носителей, обладающих всеми вышеописанными качествами, позволяет рассматривать их в качестве оптимальных кандидатов для потенциального использования в хирургическом лечении пациентов. Благодаря предложенной технологии становится возможной персонализированная подготовка скаффолда с заданными морфометрическими параметрами, что тем не менее не приведет к существенному увеличению времени ожидания оперативного лечения пациентом или продолжительности лечебного процесса. Применение матриксов-носителей в создании тканеинженерных кон-

струкций для клинической практики предполагает ужесточение критериев включения для потенциальных доноров тканей. Так, должны быть исключены кадаверные доноры, имевшие на момент смерти любые инфекционные (в т.ч. ВИЧ, гепатит) и онкологические заболевания.

Перспектива клинического внедрения предлагаемой технологии также подразумевает выполнение исследований безопасности и эффективности готовых трансеинженерных конструкций *in vivo* с моделированием соответствующей патологии на лабораторных животных.

Ограничения исследования

Ограниченные возможности использования клеточного материала не позволяют непосредственно оценить способность матрикса к стимуляции клеточной миграции и глубокой колонизации носителя. Данное направление должно стать темой отдельного экспериментального исследования в рамках доклинического тестирования тканеинженерных конструкций.

Методы, использованные для оценки межклеточного вещества, подразумевают лишь качественную оценку матрикса и не позволяют сделать выводы о количественном содержании его компонентов.

Заключение

В результате данного исследования был предложен новый метод децеллюляризации хрящевой ткани на основе поэтапного непродолжительного комплексного воздействия комбинаций детергентов и энзимов. Эффективность метода оценивалась на примере децеллюляризации гиалиновой хрящевой ткани трахеи человека с получением обескелоточенных матриксов-носителей, отвечающих основным современным требованиям тканевой инженерии. Главным преимуществом метода становится малое количество времени, затрачиваемое на подготовку продукта, что особенно важно для пациентов, ожидающих заместительной трансплантации участка дыхательных путей тканеинженерным графтом.

Таким образом, метод может найти применение в создании тканеинженерных трансплантатов дыхательных путей нового поколения, при этом естественная органическая природа матрикса-носителя создает возможности для постепенного замещения его межклеточного вещества новыми компонентами, синтезируемыми аутогенными клетками реципиента, и существенно снижает риск развития хронических воспалительных процессов и фиброзирующих деформаций полого органа.

Источник финансирования

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 15-1500132).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Vacanti CA, Paige KT, Kim WS, et al. Experimental tracheal replacement using tissue-engineered cartilage. *J Pediatr Surg.* 1994;29(2):201–205. doi: 10.1016/0022-3468(94)90318-2.
2. Stein AA, Quebral R, Boba A, Landmesser C. A post mortem evaluation of laryngotracheal alterations associated with intubation. *Ann Surg.* 1960;151(1):130–138.

3. Delaere PR, Van Raemdonck D. The trachea: the first tissue-engineered organ? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2014;147(4):1128–1132. doi: 10.1016/j.jtcvs.2013.12.024.
4. Kojima K, Vacanti CA. Tissue engineering in the trachea. *Anat Rec (Hoboken).* 2014;297(1):44–50. doi: 10.1002/ar.22799.
5. Cull DL, Lally KP, Mair EA, et al. Tracheal reconstruction with polytetrafluoroethylene graft in dogs. *Ann Thorac Surg.* 1990;50(6):899–901. doi: 10.1016/0003-4975(90)91116-s.
6. Bottema JR, Wildevuur CH. Incorporation of microporous Teflon tracheal prostheses in rabbits: evaluation of surgical aspects. *J Surg Res.* 1986;41(1):16–23. doi: 10.1016/0022-4804(86)90003-x.
7. Ziegelaar BW, Aigner J, Staudenmaier R, et al. The characterisation of human respiratory epithelial cells cultured on resorbable scaffolds: first steps towards a tissue engineered tracheal replacement. *Biomaterials.* 2002;23(6):1425–1438. doi: 10.1016/S0142-9612(01)00264-2.
8. Lim ML, Jungebluth P, Sjoqvist S, et al. Decellularized feeders: an optimized method for culturing pluripotent cells. *Stem Cells Transl Med.* 2013;2(12):975–982. doi: 10.5966/sctm.2013-0077.
9. Carbognani P, Spaggiari L, Solli P, et al. Experimental tracheal transplantation using a cryopreserved aortic allograft. *Eur Surg Res.* 1999;31(2):210–215. doi: 10.1159/000008641.
10. Vorotnikova E, McIntosh D, Dewilde A, et al. Extracellular matrix-derived products modulate endothelial and progenitor cell migration and proliferation in vitro and stimulate regenerative healing in vivo. *Matrix Biol.* 2010;29(8):690–700. doi: 10.1016/j.matbio.2010.08.007.
11. Barkan D, Green JE, Chambers AF. Extracellular matrix: a gatekeeper in the transition from dormancy to metastatic growth. *Eur J Cancer.* 2010;46(7):1181–1188. doi: 10.1016/j.ejca.2010.02.027.
12. Nelson CM, Bissell MJ. Of extracellular matrix, scaffolds, and signaling: tissue architecture regulates development, homeostasis, and cancer. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2006;22:287–309. doi: 10.1146/annurev.cellbio.22.010305.104315.
13. Taylor KR, Gallo RL. Glycosaminoglycans and their proteoglycans: host-associated molecular patterns for initiation and modulation of inflammation. *FASEB J.* 2006;20(1):9–22. doi: 10.1096/fj.05-4682rev.
14. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res.* 2006;69(3):562–573. doi: 10.1016/j.cardiores.2005.12.002.
15. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, et al. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen.* 2008;16(5):585–601. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x.
16. Bornstein P, Sage EH. Matricellular proteins: extracellular modulators of cell function. *Curr Opin Cell Biol.* 2002;14(5):608–616. doi: 10.1016/S0955-0674(02)00361-7.
17. Badylak SF, Taylor D, Uygun K. Whole-organ tissue engineering: decellularization and recellularization of three-dimensional matrix scaffolds. *Annu Rev Biomed Eng.* 2011;13:27–53. doi: 10.1146/annurev-bioeng-071910-124743.
18. Macchiarini P, Jungebluth P, Go T, et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet.* 2008;372(9655):2023–2030. doi: 10.1016/S0140-6736(08)61598-6.
19. Badylak SF. The extracellular matrix as a biologic scaffold material. *Biomaterials.* 2007;28(25):3587–3593. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.04.043.
20. Nishiguchi MK, Doukakis P, Egan M, et al. *DNA isolation procedures.* In: DeSalle R, Giribet G, Wheeler W, editors. *Techniques in molecular systematics and evolution.* Birkhäuser Basel; 2002. pp 249–287. doi: 10.1007/978-3-0348-8125-8_12.
21. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* 1983;65(1–2):55–63. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.
22. Baiguera S, Jungebluth P, Burns A, et al. Tissue engineered human tracheas for in vivo implantation. *Biomaterials.* 2010;31(34):8931–8938. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.08.005.
23. Baiguera S, Del Gaudio C, Kuevda E, et al. Dynamic decellularization and cross-linking of rat tracheal matrix. *Biomaterials.* 2014;35(24):6344–6350. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.04.070.
24. Batioglu-Karaaltin A, Karaaltin MV, Ovali E, et al. In vivo tissue-engineered allogenic trachea transplantation in rabbits: a preliminary report. *Stem Cell Rev.* 2015;11(2):347–356. doi: 10.1007/s12015-014-9570-8.
25. Sui X, Zhao B, Lu S, et al, inventors. Cartilage cell epimatrix three-dimensional porous sponge stent for tissue engineering. Patent CN 200810057373. 2008 Jan 31.
26. Jiahuan D, Xianchang S, Song G, et al, inventors. Biological type cartilage repair material and preparation method. Patent CN 201310192619. 2013 May 22.
27. Gordeliy VI, Kiselev MA, Lesieur P, et al. Lipid membrane structure and interactions in dimethyl sulfoxide/water mixtures. *Biophys J.* 1998;75(5):2343–2351. doi: 10.1016/S0006-3495(98)77678-7.
28. Jackson M, Mantsch HH. Beware of proteins in DMSO. *Biochim Biophys Acta.* 1991;1078(2):231–235. doi: 10.1016/0167-4838(91)90563-f.

260

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Барановский Денис Станиславович, научный сотрудник Института регенеративной медицины Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **e-mail:** doc.baranovsky@gmail.com, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-6154-9959>, **SPIN-код:** 6913-6361

Оганесян Рубен Вагеевич, студент 5-го курса Института регенеративной медицины Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **e-mail:** oganesyan.rv@gmail.com, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8967-5597>, **SPIN-код:** 8106-3394

Лебедев Георгий Владиславович, студент 2-го курса Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова
Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 1, **e-mail:** lebedev.george12@gmail.com, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8493-3390>, **SPIN-код:** 2050-4004

Берсенева Дарья Артемовна, студентка 2-го курса Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова
Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 1, **e-mail:** berseneva1410@rambler.ru, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-5970-2240>, **SPIN-код:** 8005-4028

Демченко Анна Гасымовна, студент-лаборант 3-го курса Института регенеративной медицины Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **e-mail:** demchenkoann@yandex.ru, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-4460-7627>, **SPIN-код:** 3779-9060

Балясин Максим Витальевич, студент-лаборант 3-го курса Института регенеративной медицины Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **e-mail:** max160203@gmail.com, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-3097-344X>, **SPIN-код:** 9738-4520

Паршин Владимир Дмитриевич, доктор медицинских наук, заведующий отделением торакальной хирургии Университетской клинической больницы № 1 Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **тел.:** +7 (495) 609-14-00, **e-mail:** vdparshin@yandex.ru, **SPIN-код:** 8024-0178

Людуп Алексей Валерьевич, кандидат медицинских наук, заведующий отделением клеточных технологий Института регенеративной медицины Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **тел.:** +7 (495) 609-14-00, **e-mail:** lyundup@gmail.com, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-0102-5491>, **SPIN-код:** 4954-3004

DOI: 10.15690/vramn849

Е.В. Шахристова, Е.А. Степовая, О.Л. Носарева, Е.В. Рудиков, В.В. Новицкий

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

Глутатион и глутаредоксин в росковитинопосредованном ингибировании пролиферации клеток аденокарциномы молочной железы

Обоснование. Опухоли молочной железы занимают первое место в структуре онкологической заболеваемости и смертности среди женщин в мире, в том числе и в России. Многие белки, контролирующие пролиферацию иммортализованных клеток, являются редоксрегулируемыми, что играет важную роль в модуляции пролиферативной активности клеток, особенно при опухолевом росте. Исследование вклада глутаредоксина и глутатиона в распределение клеток по фазам клеточного цикла позволит не только определить молекулярные мишени регуляции пролиферации, но и в перспективе разработать методы таргетной терапии и диагностики социально значимых заболеваний, в том числе рака молочной железы. **Цель исследования** — оценить роль глутатиона и глутаредоксина в молекулярных механизмах регуляции пролиферации клеток аденокарциномы молочной железы линии MCF-7 при действии росковитина — ингибитора циклинзависимых протеинкиназ. **Методы.** Исследование выполнено с использованием культуры клеток аденокарциномы молочной железы линии MCF-7, инкубируемых в присутствии и отсутствии росковитина в конечной концентрации 20 мкМ в течение 18 ч. С помощью проточной цитофлуориметрии определяли продукцию активных форм кислорода, распределение клеток по фазам клеточного цикла и количество аннексинположительных клеток. Концентрацию общего, восстановленного и окисленного глутатиона, SH-групп протеинов и белковосвязанного глутатиона определяли спектрофотометрическим методом. Содержание глутаредоксина, циклина E и циклинзависимых протеинкиназ оценивали с помощью специфических моноклональных антител методом вестерн-блоттинга. **Результаты.** Установлено, что при действии росковитина в клетках линии MCF-7 происходила остановка клеточного цикла в G₂/M фазах при снижении содержания циклина E и циклинзависимой протеинкиназы 2, что сопровождалось активацией запрограммированной гибели клеток. В опухолевых клетках, инкубированных в присутствии росковитина, активировался окислительный стресс, сопровождающийся повышенной генерацией активных форм кислорода, снижением концентрации восстановленного глутатиона и повышением содержания глутаредоксина, что способствовало увеличению глутатионилирования белков на фоне снижения концентрации SH-групп протеинов. **Заключение.** Пролиферация клеток аденокарциномы молочной железы при действии росковитина снижается не только вследствие уменьшения содержания циклинов и активности циклинзависимых протеинкиназ, но и в результате изменения соотношения про- и антиоксидантов внутри клетки. Глутатион и глутаредоксин, участвуя в реакциях глутатионилирования/деглутатионилирования белков в клетках линии MCF-7 при индуцированном росковитином окислительном стрессе, способствовали модуляции функциональных свойств протеинов, что привело к нарушению прогрессии фаз клеточного цикла, указывая на возможность редокс-регуляции пролиферации.

Ключевые слова: пролиферация, система глутатиона, глутаредоксин, циклинзависимые протеинкиназы, аденокарцинома молочной железы. (Для цитирования: Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., Рудиков Е.В., Новицкий В.В. Глутатион и глутаредоксин в росковитинопосредованном ингибировании пролиферации клеток аденокарциномы молочной железы. Вестник РАМН. 2017;72 (4):261–267. doi: 10.15690/vramn849)

Обоснование

По данным Международного агентства по исследованию рака, в мире ежегодно выявляется около 1,676 млн новых случаев злокачественных новообразований молочной железы, и опухоли данной локализации занимают первое место в структуре онкологической заболеваемости и смертности среди женщин [1]. В последние годы смертность от рака молочной железы в Российской Федерации лидирует среди причин смерти от злокачественных новообразований (16,7%) и продолжает увеличиваться в абсолютных и относительных показателях [2]. Изучение молекулярных механизмов опухолевой прогрессии, сопровождаемой активной пролиферацией трансформированных клеток, дисрегуляцией апоптоза на фоне развития окислительного стресса, является одним из приоритетных направлений трансляционной медицины. Опухолевый рост характеризуется интенсификацией процессов свободно-радикального окисления и дисбалансом в системе антиоксиданты-прооксиданты, что приводит к увеличению уровня активных форм кислорода (АФК),

вызывающих обратимую или необратимую окислительную модификацию биомолекул с нарушением их структуры и функций [3–7]. В поддержании внутриклеточного редокс-гомеостаза важную роль играют системы глутатиона, глутаредоксина, тиоредоксина и другие, функционирование которых приводит к снижению уровня АФК, изменению активности факторов транскрипции и экспрессии ряда генов при адаптивных реакциях клеток на изменяющиеся условия. Многие белки, контролирующие пролиферацию как нормальных, так и трансформированных клеток, являются редоксрегулируемыми, что играет важную роль в модуляции пролиферации при опухолевом росте [3, 7–9]. Исследования возможностей по изменению функциональной активности белков-регуляторов пролиферации (циклинов и циклинзависимых протеинкиназ) и вклада глутаредоксина и глутатиона в распределение клеток по фазам клеточного цикла позволят не только определить молекулярные мишени регуляции пролиферации, но и в перспективе разработать методы таргетной терапии и диагностики социально значимых заболеваний, в том числе рака молочной железы.

Цель исследования — оценить роль глутатиона и глутаредоксина в молекулярных механизмах регуляции пролиферации клеток аденокарциномы молочной железы линии MCF-7 при действии росковитина — ингибитора циклинзависимых протеинкиназ.

Методы

Дизайн исследования

Выполнено экспериментальное нерандомизированное исследование *in vitro* на культуре клеток линии MCF-7.

Критерии соответствия

В исследовании были использованы клетки аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7, полученные из Российской коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Культура клеток включалась в исследование, если после обработки смесью трипсин-версен доля жизнеспособных клеток в микроскопическом тесте с трипановым синим (Serva, США) составляла не менее 85%. Были сформированы 2 группы: первая — интактные клетки линии MCF-7, инкубированные в питательной среде без внесения дополнительных веществ (n=6), вторая — клетки линии MCF-7, культивируемые в питательной среде с добавлением росковитина (n=6).

Условия проведения

Клетки линии MCF-7 культивировали в полной питательной среде, содержащей 90% ЕМЕМ (ПанЭко,

Россия), 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Invitrogen, США), 1% заменимых аминокислот (ПанЭко, Россия), 10 мкг/мл бычьего инсулина (ПанЭко, Россия), 0,3 мг/мл L-глутамин (ПанЭко, Россия) и 100 мкг/мл гентамицина (ICN, США), при 37°C и 5% двуокиси углерода (CO₂).

Продолжительность исследования

После культивирования клеток аденокарциномы молочной железы и получения необходимого их количества клетки делили на 2 группы и инкубировали в присутствии и отсутствии росковитина в течение 18 ч, после чего клеточный материал использовали для количественного определения исследуемых показателей.

Описание медицинского вмешательства

Росковитин (ROSC, Sigma Aldrich, США) — ингибитор циклинзависимых протеинкиназ — вносили в лунку культурального планшета в конечной концентрации 20 мкМ [10] и инкубировали в течение 18 ч при 37°C и 5% CO₂. К интактным клеткам линии MCF-7 добавляли культуральную среду в том же объеме, что и ингибитор, и инкубировали в тех же условиях.

Исходы исследования

Основной исход исследования

После 18 ч инкубации клеток линии MCF-7 с ROSC происходила остановка пролиферации вследствие блокирования АТФ-связывающего домена циклинзависимых протеинкиназ 2, 5, 7 [11], и клеточный цикл аденокарциномы молочной железы останавливался в G₂/M фазах.

E.V. Shakhristova, E.A. Stepovaya, O.L. Nosareva, E.V. Rudikov, V.V. Novitsky

Siberian state medical university, Tomsk, Russian Federation

Glutathione and Glutaredoxin in Roscovitine-Mediated Inhibition of Breast Cancer Cell Proliferation

Background: Breast tumors are number one cause of cancer morbidity and mortality among women around the world, and Russia is not an exception. Many proteins that control proliferation of immortalized cells are redox-regulated, which is essential for modulating cellular proliferative activity, especially during tumor growth. Studying the role of glutaredoxin and glutathione in cell cycle phase distribution will allow not only to identify the molecular targets regulating cell proliferation, but also to develop methods of diagnosis and targeted therapy of socially sensitive diseases, including breast cancer, in the future. **Aims:** To evaluate the role of glutathione and glutaredoxin in the molecular mechanisms regulating MCF-7 breast cancer cell proliferation under the effects of roscovitine, a cyclin-dependent protein kinase inhibitor. **Materials and methods:** The MCF-7 cell line (human breast adenocarcinoma) was used in the study. The cell culture was incubated in the presence and absence of roscovitine in the final concentration of 20 μmol for 18 h. The production of reactive oxygen species, the distribution of cells between cell cycle phases and the amount of Annexin V positive cells were determined using flow cytometry. The concentrations of total, reduced and oxidized glutathione, protein SH groups and protein-bound glutathione were measured by spectrophotometry. The levels of glutaredoxin, cyclin E and cyclin-dependent protein kinases were estimated by Western blotting with monoclonal antibodies. **Results:** The effects of roscovitine in the MCF-7 cells resulted in cell cycle arrest in G₂/M phases with the decreased levels of cyclin E and cyclin-dependent protein kinase 2. It was accompanied by activation of programmed cell death. In tumor cells incubated in the presence of roscovitine, oxidative stress was triggered, which was accompanied by the elevated generation of reactive oxygen species, the decrease in the concentration of reduced glutathione, and the rise in the level of glutaredoxin. It contributed to the increase in protein glutathionylation against the backdrop of the decreased SH group concentration. **Conclusions:** Breast cancer cell proliferation under the effects of roscovitine is reduced following not only the decrease in the cyclin level and cyclin-dependent protein kinase activity, but also the shift in the intracellular oxidant/antioxidant ratio. Roscovitine-induced oxidative stress in the MCF-7 cells contributed to protein glutathionylation with the changes in the protein structure and functions. It results in impaired cell cycle progression, indicating a possibility to regulate cellular proliferation through modulating functional properties of redox-dependent proteins using the glutathione/glutaredoxin system.

Key words: proliferation, glutathione system, glutaredoxin, cyclin-dependent kinase, breast adenocarcinoma.

(**For citation:** Shakhristova EV, Stepovaya EA, Nosareva OL, Rudikov EV, Novitsky VV. Glutathione and Glutaredoxin in Roscovitine-Mediated Inhibition of Breast Cancer Cell Proliferation. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017;72 (4):261–267. doi: 10.15690/vramn849)

Методы регистрации исходов

Клетки линии MCF-7 культивировали в полной питательной среде, как описано выше, адгезионным методом с использованием культуральных флаконов (Jet Biofil, China, Китай), полистероловая поверхность которых специфически обработана для лучшей адгезии.

Образование АФК, представленных перекисными группировками гидро- и липопероксидов, в культуре клеток линии MCF-7 оценивали с использованием флуоресцентного зонда 2,7-дихлорфлуоресцеиндиацетата (Sigma-Aldrich, США), превращающегося внутри клетки в 2,7-дихлорфлуоресцеин, который, связываясь с пероксидами, флуоресцирует [12]. Количественно внутриклеточную продукцию АФК оценивали по интенсивности флуоресценции 2,7-дихлорфлуоресцеина на проточном лазерном цитометре BD FaCSCanto II (Becton Dickinson, США), для визуализации флуоресценции использовали микроскоп Axiostar plus (Carl Zeiss, Германия) при суммарном увеличении в 100 раз. Концентрации общего, восстановленного (GSH), окисленного (GSSG) глутатиона и величины отношения восстановленной формы трипептида к окисленной определяли спектрофотометрическим методом, предложенным М. Anderson (1985) в модификации I. Rahman и соавт. [13]. Уровень белковосвязанного глутатиона определяли после предварительного высвобождения трипептида боргидратом натрия из связи с белками [14] спектрофотометрическим методом, описанным ранее. Концентрацию SH-групп белков определяли спектрофотометрическим методом по способности тиоловых соединений взаимодействовать с 5,5-дителиобис-2-нитробензойной кислотой. Содержание белка в клетках определяли по взаимодействию Кумасси голубого G-250 с остатками аминокислот лизина и аргинина белковых молекул [15].

Методом вестерн-блоттинга с использованием соответствующих моноклональных антител определяли внутриклеточное содержание глутаредоксина (Abcam, США), циклина E (Abcam, США), циклинзависимых протеинкиназ 2 (Sigma Aldrich, США) и 4 (Thermo Scientific, США) по протоколу фирмы-производителя. Расчет содержания исследуемых белков проводили относительно концентрации референсного протеина β -актина.

Для оценки распределения опухолевых клеток по фазам клеточного цикла (G_0/G_1 , G_2/M и S) использовали набор CycleTest PLUS DNA Reagent Kit (Becton Dickinson, США), принцип метода которого основан на способности стехиометрического связывания ядерной ДНК с пропилид йодидом, флуоресцирующим при длине волны 580–650 нм, с последующим подсчетом интенсивности свечения изолированных ядер с помощью проточной цитофлуориметрии и дальнейшим анализом полученных данных с использованием пакета программ ModFit LT 3.2 (Verity Software House, США). Определение количества аннексинположительных клеток проводили методом проточной цитофлуориметрии с использованием FITC-меченного аннексина V, связывающегося с фосфатидилсеринем, и пропилид йодида, интеркалирующего с молекулой ДНК, по протоколу фирмы-производителя (eBioscience, Австрия). Количество аннексинположительных клеток выражали в процентах от общего числа клеток.

Этическая экспертиза

Локальный этический комитет ГБОУ ВПО «СибГМУ» Минздрава России утвердил протокол исследования и за-

ключил, что документация представлена в полном объеме, замечаний нет, работа соответствует требованиям этической экспертизы (регистрационный № 3555, заключение выдано 23.12.2013).

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался.

Методы статистического анализа данных

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи пакета программ SPSS 11.0. Проверка на соответствие выборок нормальному закону распределения проводилась с использованием критерия Шапиро–Уилка. В связи с тем, что распределение значений оцениваемых показателей не соответствовало нормальному, для описания групп использовали медиану (Me) и интерквартильный интервал [Q_1 ; Q_3]. Достоверность различий независимых выборок оценивали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни для малых групп. Различия считались достоверными при достигнутом $p < 0,05$.

Результаты

Объекты (участники) исследования

В результате культивирования клеток линии MCF-7 было наработано достаточное количество клеточного материала, чтобы сформировать обе группы исследования и провести инкубацию клеток в присутствии и отсутствии ROSC с последующей оценкой изучаемых параметров.

Основные результаты исследования

В результате проведенных исследований нами установлено, что ROSC, действуя на клетки аденокарциномы молочной железы, способствовал снижению прогрессии фаз клеточного цикла, что выражалось в уменьшении содержания циклинзависимой протеинкиназы 2 и циклина E в 1,4 и 1,6 раза ($p < 0,01$) соответственно (табл.) и сокращении количества клеток линии MCF-7 в G_0/G_1 в G_0/G_1 фазах и в 2,5 раза ($p < 0,01$) в G_2/M фазах по сравнению с соответствующими показателями в интактной культуре (рис. 1). Остановка клеточного цикла в G_2/M фазах при действии ROSC сопровождалась активацией запрограммированной гибели клеток линии MCF-7 с увеличением количества аннексинположительных клеток в 2,1 раза ($p < 0,01$) по сравнению с интактной культурой. Кроме того, в опухолевых клетках, инкубированных в присутствии ROSC, активировался окислительный стресс, сопровождаемый повышенной в 1,6 раза ($p < 0,01$) генерацией АФК (рис. 2), снижением концентрации GSH в 1,8 раза ($p < 0,01$), уменьшением величины отношения GSH/GSSG в 2,1 раза ($p < 0,01$) и увеличением содержания глутаредоксина в 1,3 раза ($p < 0,01$) по сравнению со значениями аналогичных показателей в интактной культуре (см. табл.). Активация окислительного стресса, индуцированного ROSC в клетках аденокарциномы молочной железы, приводила к увеличению глутатионилирования белков в 2,6 раза ($p < 0,01$), на фоне которого снижалась концентрация SH-групп протеинов в 3,1 раза ($p < 0,01$) по сравнению со значениями аналогичных показателей в интактной культуре (см. табл.).

Таблица. Содержание глутатиона, глутаредоксина, SH-групп белков, глутатионилирование протеинов и изменение пролиферации клеток линии MCF-7 при действии ингибитора циклинзависимых протеинкиназ росковитина (ROSC), Me [Q₁; Q₃]

Показатель	Группы	
	Интактные MCF-7	MCF-7 + ROSC
Восстановленный глутатион (GSH), нмоль/мг белка	3,67 [3,60; 3,72]	2,02 [#] [1,98; 2,34]
Окисленный глутатион (GSSG), нмоль/мг белка	0,38 [0,37; 0,43]	0,42 [0,41; 0,43]
Величина отношения GSH/GSSG	9,71 [9,55; 9,73]	4,69* [4,67; 5,54]
Глутаредоксин, усл. ед.	1,43 [1,39; 1,45]	1,79* [1,77; 1,85]
SH-группы белков, нмоль/мг белка	2,91 [2,22; 3,03]	0,93* [0,91; 1,15]
Белковосвязанный глутатион, нмоль/мг белка	0,17 [0,16; 0,22]	0,44* [0,43; 0,47]
Циклин E, усл. ед.	1,18 [1,14; 1,21]	0,73* [0,58; 0,78]
Циклинзависимая протеинкиназа 2, усл. ед.	0,96 [0,94; 1,12]	0,69* [0,62; 0,79]
Циклинзависимая протеинкиназа 4, усл. ед.	0,35 [0,28; 0,41]	0,45 [0,36; 0,58]
Аннексинположительные клетки, %	14,25 [13,20; 15,25]	30,40* [28,70; 30,90]

Примечание. [#] — $p < 0,05$, уровень значимости различий по сравнению с интактными клетками MCF-7; * — $p < 0,01$, уровень значимости различий по сравнению с интактными клетками MCF-7.

264

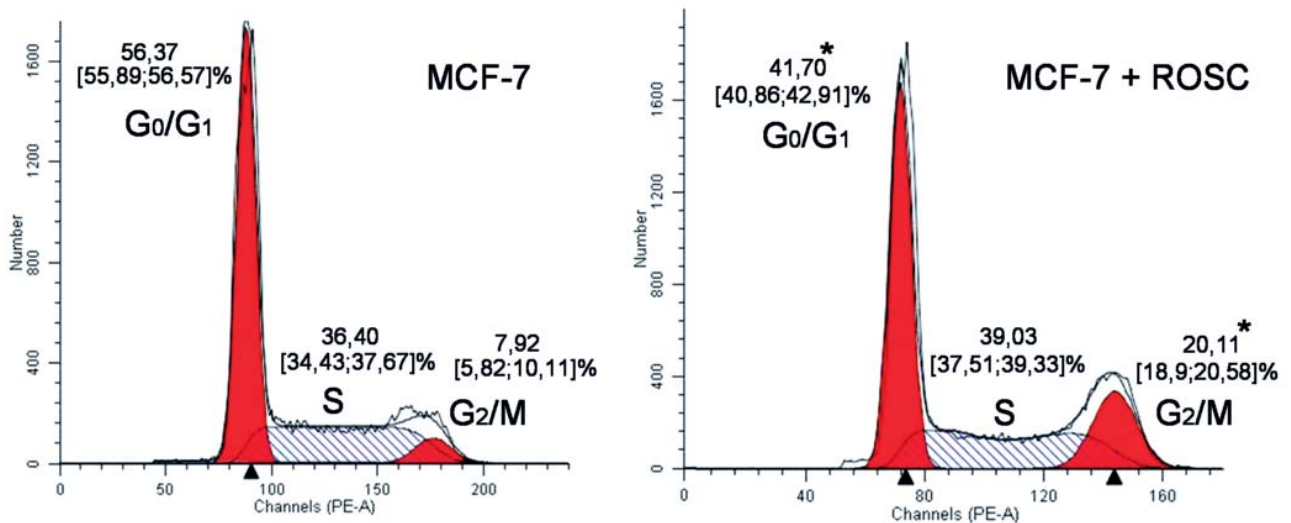


Рис. 1. Распределение клеток аденокарциномы молочной железы по фазам клеточного цикла при действии ингибитора циклинзависимых протеинкиназ росковитина (ROSC)

Примечание. Здесь и на рис. 2: * — $p < 0,01$, уровень значимости различий по сравнению с интактными клетками MCF-7.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Остановка пролиферации клеток аденокарциномы молочной железы при действии ROSC достигается не только его ингибирующим влиянием на циклинзависимые протеинкиназы, но и активацией свободно-радикального окис-

ления и изменением редокс-статуса опухолевых клеток. Также нами выявлена активация обратимой окислительной модификации белков, а именно глутатионилирования внутриклеточных протеинов, в том числе редоксчувствительных регуляторов пролиферации и апоптоза клеток, что может лежать в основе снижения прогрессии фаз клеточного цикла и запуска запрограммированной гибели.

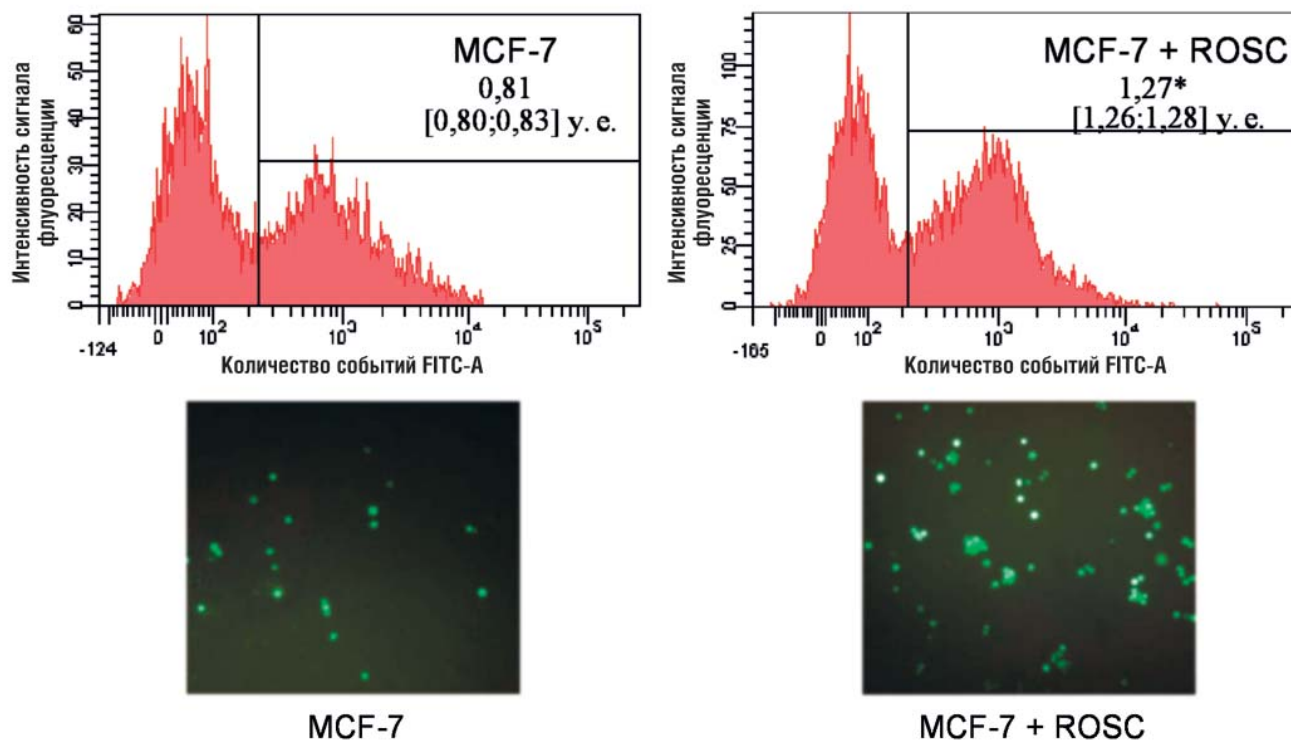


Рис. 2. Интенсивность флуоресценции клеток аденокарциномы молочной железы при действии ингибитора циклинзависимых протеинкиназ росковитина (ROSC), регистрируемая на проточном лазерном цитометре BD FaCSCanto II (Becton Dickinson, США) (верхняя часть рисунка) и визуализация флуоресценции на микроскопе Axiostar plus (Carl Zeiss, Германия) при суммарном увеличении в 100 раз (нижняя часть рисунка)

Обсуждение основного результата исследования

Полученные нами результаты действия ROSC на пролиферацию клеток линии MCF-7, а именно остановка клеточного цикла в G₂/M фазах и снижение содержания циклинзависимой киназы 2 и циклина E за счет конкурентного взаимодействия ингибитора с АТФ-связывающими участками этих белков, согласуется с существующими представлениями действия блокаторов клеточного цикла [10, 11]. В то же время нами установлено, что ROSC способствует индукции окислительного стресса в клетках аденокарциномы молочной железы, выражающейся увеличением продукции АФК и уменьшением величины отношения GSH/GSSG. Ведущую роль в защите клеток от окислительного стресса и поддержании редокс-гомеостаза играет система глутатиона, включающая глутатион, глутатионредуктазу и глутатионпероксидазу [4, 9, 16]. Поскольку АФК способны повреждать макромолекулы клеток, в том числе белки-регуляторы пролиферации, в опухолевых клетках нами зарегистрировано снижение концентрации GSH, который может использоваться в качестве кофермента в ферментативных реакциях взаимодействия с гидро- и липопероксидами. Многие белки являются редокс-регулируемыми за счет наличия свободных SH-групп аминокислотных остатков цистеина. Установленное нами снижение концентрации свободных SH-групп белков свидетельствует об активации процессов обратимой окислительной модификации протеинов — глутатионилировании (рис. 3), что подтверждается увеличением внутриклеточного содержания белковосвязанного глутатиона в клетках аденокарциномы молочной железы при действии ROSC. Так как глутатионилирование протеинов при действии ROSC способно приводить к конформационным изменениям

структуры белковых молекул, в том числе циклинзависимых протеинкиназ, то это может привести к нарушению выполняемых ими функций, остановке пролиферации клеток линии MCF-7 и запуску запрограммированной клеточной гибели.

Наряду с системой глутатиона важную роль в тиол-дисульфидном обмене играет глутаредоксинзависимая система [4, 8, 17]. Нами установлено увеличение содержания глутаредоксина в клетках линии MCF-7 при действии ROSC в ответ на индукцию окислительного стресса. Глутаредоксин, катализируя процесс деглута-

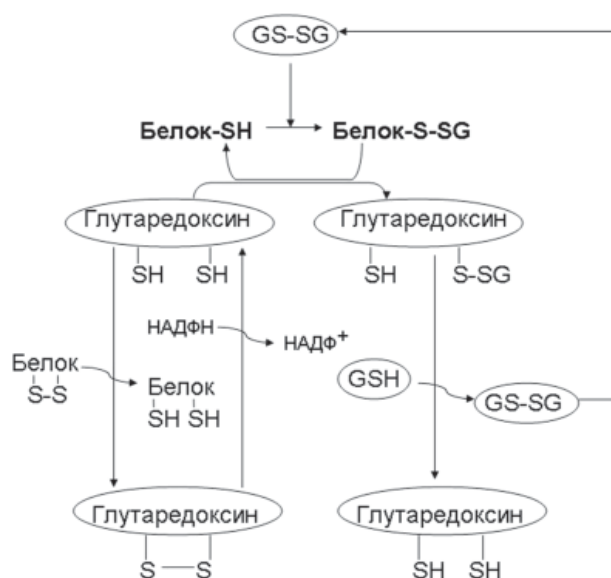


Рис. 3. Участие глутатиона и глутаредоксина в глутатионилировании белков

тионирования, модулирует активность транскрипционных факторов NF- κ B, Nrf2 и AP-1 [4, 8], под контролем которых находятся участки генов, кодирующих ключевые белки антиоксидантной системы, в том числе ферменты синтеза и метаболизма глутатиона. Таким образом, системы глутатиона и глутаредоксина функционально взаимосвязаны и способствуют поддержанию редокс-баланса, функционированию и выживанию опухолевых клеток линии MCF-7 в условиях окислительного стресса.

Заключение

Пролиферация клеток аденокарциномы молочной железы при действии росковитина снижается не только вследствие уменьшения содержания циклинов и активности циклинзависимых протеинкиназ, но и в результате изменения соотношения про- и антиоксидантов внутри клетки. Глутатион и глутаредоксин, участвуя в реакциях глутатионирования/деглутатионирования белков в клетках линии MCF-7 при индуцированном росковити-

ном окислительном стрессе, способствовали модуляции функциональных свойств протеинов, что привело к нарушению прогрессии фаз клеточного цикла, указывая на возможность редокс-регуляции пролиферации.

Источник финансирования

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (отделение гуманитарных и общественных наук) в рамках научного проекта № 17-36-01029.

Конфликт интересов

Представленный в статье материал является частью диссертационной работы Шахристовой Е.В. (предполагаемый срок защиты — 2017 г.).

Авторы подтверждают отсутствие иных явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015;65(2):87–108. doi: 10.3322/caac.21262.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность)*. — М.: МНИОИ им. П.А. Герцена; 2017. — 250 с. [Kaprin AD, Starinskii VV, Petrova GV. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2015 godu (zabolevaemost' i smertnost')*. Moscow: MNIIOI im. P.A. Gertsena; 2017. 250 p. (In Russ).]
3. Дубинина Е.Е., Пустыгина А.В. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях // *Украинский биохимический журнал*. — 2008. — Т.80. — №6 — С. 5–18. [Dubinina EE, Pustygina AV. Okislitel'naya modifikatsiya proteinov, ee rol' pri patologicheskikh sostoyaniyakh. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2008;80(6):5–18. (In Russ).]
4. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Алеид Р., и др. Современные представления об антиоксидантной роли глутатиона и глутатионзависимых ферментов // *Вестник Российской академии медицинских наук*. — 2010. — №3 — С. 46–54. [Kalinina EV, Chernov NN, Aleid R, Novichkova MD, Saprin AN, Berezov TT. Current views of antioxidative activity of glutathione and glutathione-depending enzymes. *Vestn Ross Akad Med Nauk*. 2010;(3):46–54. (In Russ).]
5. Степовая Е.А., Шахристова Е.В., Рязанцева Н.В., и др. Окислительная модификация белков и система глутатиона при модуляции редокс-статуса клеток эпителия молочной железы // *Биомедицинская химия*. — 2016. — Т.62. — №1 — С. 64–68. [Stepovaya EA, Shakhristova EV, Ryazantseva NV, et al. The role of oxidative protein modification and the glutathione system in modulation of the redox status of breast epithelial cells. *Biomed Khim*. 2016;62(1):64–68. (In Russ).] doi: 10.18097/PBMC20166201064.
6. Murphy MP, Holmgren A, Larsson NG, et al. Unraveling the biological roles of reactive oxygen species. *Cell Metab*. 2011;13(4):361–366. doi: 10.1016/j.cmet.2011.03.010.
7. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutr Rev.* 2012;70(5):257–265. doi: 10.1111/j.1753-4887.2012.00476.x.
8. Октябрьский О.Н., Смирнова Г.В. Редокс-регуляция клеточных функций // *Биохимия*. — 2007. — Т.72. — №2 — С. 158–175. [Oktyabrskiy ON, Smirnova GV. Redox regulation of cellular functions. *Biochemistry*. 2007;72(2):158–175. (In Russ).]
9. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б., Ткачев В.О. Некоторые принципы и механизмы редокс-регуляции // *Кислород и антиоксиданты*. — 2009. — №1 — С. 3–64. [Zenkov NK, Men'shchikova EB, Tkachev VO. Nekotorye printsipy i mekhanizmy redoks-regulyatsii. *Kislород i antioksidanty*. 2009;(1):3–64. (In Russ).]
10. Rajnai Z, Mehn D, Beery E, et al. ATP-binding cassette B1 transports seliciclib (R-roscovitine), a cyclin-dependent kinase inhibitor. *Drug Metab Dispos.* 2010;38(11):2000–2006. doi: 10.1124/dmd.110.032805.
11. Cappellini A, Chiarini F, Ognibene A, et al. The cyclin-dependent kinase inhibitor roscovitine and the nucleoside analog sangivamycin induce apoptosis in caspase-3 deficient breast cancer cells independent of caspase mediated P-glycoprotein cleavage. *Cell Cycle*. 2009;8(9):1421–1425. doi: 10.4161/cc.8.9.8323.
12. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol.* 2004;142(2):231–255. doi: 10.1038/sj.bjp.0705776.
13. Rahman I, Kode A, Biswas SK. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. *Nat Protoc.* 2006;1(6):3159–3165. doi: 10.1038/nprot.2006.378.
14. Burchill BR, Oliver JM, Pearson CB, et al. Microtubule dynamics and glutathione metabolism in phagocytizing human polymorphonuclear leukocytes. *J Cell Biol.* 1978;76(2):439–447. doi: 10.1083/jcb.76.2.439.
15. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of

- protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976;72:248–254. doi: 10.1006/abio.1976.9999.
16. Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal.* 2012;24(5):981–990. doi: 10.1016/j.cellsig.2012.01.008.
17. Sengupta R, Holmgren A. Thioredoxin and glutaredoxin-mediated redox regulation of ribonucleotide reductase. *World J Biol Chem.* 2014;5(1):68–74. doi: 10.4331/wjbc.v5.i1.68.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Шахристова Евгения Викторовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России
Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, **тел.:** +7 (3822) 90-11-01 доб. 1853, **e-mail:** shaxristova@yandex.ru,
SPIN-код: 8125-6414, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-2938-1137>

Степовая Елена Алексеевна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России
Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, **тел.:** +7 (3822) 90-11-01 доб. 1853, **e-mail:** muir@mail.ru,
SPIN-код: 5562-4522, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9339-6304>

Носарева Ольга Леонидовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России
Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, **тел.:** +7 (3822) 90-11-01 доб. 1853, **e-mail:** olnosareva@yandex.ru,
SPIN-код: 5688-7566, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-7441-5554>

Рудиков Евгений Валерьевич, интерн кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России
Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, **тел.:** +7 (3822) 90-11-01 доб. 1853, **e-mail:** korvin_w@mail.ru,
SPIN-код: 5559-4313, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-3283-3616>

Новицкий Вячеслав Викторович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой патофизиологии ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России
Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, **тел.:** +7 (3822) 90-11-01 доб. 1740, **e-mail:** patfizssmu@yandex.ru,
SPIN-код: 7160-6881, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9577-8370>

Современные аспекты мультифокальной интраокулярной коррекции (обзор)

За последнее десятилетие мультифокальные интраокулярные линзы (ИОЛ) вошли в ежедневную практику в катарактальной хирургии, доказав возможность эффективного восстановления зрительных функций. На основании большого количества проведенных клинических исследований с разнообразными моделями мультифокальных ИОЛ можно сделать вывод о возможности достижения высокой остроты зрения на различных дистанциях без коррекции в послеоперационном периоде. При этом острота зрения вдаль без коррекции сопоставима с данными показателями на фоне монофокальных ИОЛ, а некорригированная острота зрения вблизи и на промежуточной дистанции значительно выше в сравнении с монофокальной интраокулярной коррекцией. Положение добавочного сегмента в асимметричных моделях мультифокальных интраокулярных линз не оказывает существенного влияния на остроту зрения. В зависимости от типа конструкции — бифокальной или трифокальной, а также степени аддидации мультифокальные ИОЛ обеспечивают различные функциональные результаты в ближнем и промежуточном фокусах, что определяет возможность выбора модели интраокулярной линзы в зависимости от приоритетной дистанции для конкретного пациента. В данном сообщении освещены следующие вопросы: современная классификация мультифокальных ИОЛ, функциональные результаты остроты зрения на различных дистанциях после имплантации мультифокальных интраокулярных линз, сравнение мультифокальных ИОЛ различных конструкций, сравнение функциональных результатов мультифокальной интраокулярной коррекции в зависимости от величины аддидации, влияние положения добавочного сегмента на остроту зрения, сравнение результатов мультифокальной и монофокальной интраокулярной коррекции.

Ключевые слова: катаракта, мультифокальные интраокулярные линзы, факэмульсификация, острота зрения, имплантация

(Для цитирования: Морозова Т.А., Покровский Д.Ф., Медведев И.Б., Керимов Т.З. Современные аспекты мультифокальной интраокулярной коррекции. Вестник РАМН. 2017; 72 (4):268–275. doi: 10.15690/vramn835)

Введение

В данном сообщении, основанном на анализе 21 публикации в рецензируемых международных офтальмологических изданиях, освещены следующие вопросы: классификация мультифокальных интраокулярных линз (ИОЛ), функциональные результаты остроты зрения на различных дистанциях после имплантации мультифокальных ИОЛ, сравнение мультифокальных ИОЛ различных конструкций, сравнение функциональных результатов мультифокальной интраокулярной коррекции в зависимости от величины аддидации, влияние положе-

ния добавочного сегмента на остроту зрения, сравнение результатов мультифокальной и монофокальной интраокулярной коррекции.

Классификация мультифокальных интраокулярных линз

На сегодняшний день существует большое многообразие конструкций мультифокальных ИОЛ, которые по физическому принципу, лежащему в основе их функционирования, можно разделить на 4 основные груп-

Т.А. Morozova¹, D.F. Pokrovskiy¹, I.B. Medvedev¹, T.Z. Kerimov²

¹ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

² A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

Modern Aspects of Multifocal Intraocular Correction: a review

During the last decade multifocal intraocular lenses (IOL) became widely used in cataract surgery and proved to be effective in recovery of visual functions. Lots of clinical studies with different multifocal IOL models showed high effectiveness of multifocal correction to achieve good visual quality for far, intermediate, and near distances. Uncorrected visual acuity at a distance is equal to multifocal and monofocal correction, while uncorrected near vision is significantly better with multifocal IOLs. Additional segment position in asymmetric multifocal IOL models did not significantly influence on visual acuity. Multiple multifocal IOL designs (bifocal, trifocal) and ADD power level provide different functional results for near and intermediate distances which allows to select the specific IOL model depending on the patient's needs. The review covers the following aspects of multifocal intraocular correction: update for classification of multifocal IOLs, visual acuity (functional results) at different distances after multifocal IOL implantation, comparison of clinical results with different multifocal IOL designs and add power levels, influence of add segment position in asymmetric multifocal IOLs on visual quality, comparison between multifocal and monofocal correction.

Key words: phacoemulsification, refractive surgery, intraocular lens implantation, multifocal intraocular lenses, cataract, vision acuity, implantation. (For citation: Morozova TA, Pokrovskiy DF, Medvedev IB, Kerimov TZ. Modern Aspects of Multifocal Intraocular Correction. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2017; 72 (4):268–275. doi: 10.15690/vramn835)

пы — дифракционные, рефракционные, гибридные и градиентные; по количеству формируемых фокусов — на 2 группы — бифокальные и трифокальные; по типу зрачковой независимости — на 2 группы; также мультифокальные интраокулярные линзы различаются по величине аддидации (табл. 1).

Функциональные результаты остроты зрения на различных дистанциях

Одним из основных и наиболее значимых критериев оценки результатов мультифокальной интраокулярной коррекции является значение послеоперационной остро-

Таблица 1. Классификация мультифокальных интраокулярных линз

Название / Модель ИОЛ	Производитель	Добавка для близи, дптр.	Зрачково-независимая (Да/Нет)	Асферическая (Да/Нет)
<i>Рефракционные с симметричной оптикой</i>				
Argray (SA40N)	Abbott Medical Optics, США	+3.50	Нет	Нет
M-flex (580F, 630F)	Rayner Ltd., Великобритания	+3.00, +4.00	Нет	Да
M-flex T (588F, 638F) (toric)	Rayner Ltd., Великобритания	+3.00, +4.00	Нет	Да
PA 154N	Allergan Inc., США	+3.50	Нет	Нет
PY-60MV	Ноуа, Япония	+3.00	Нет	Нет
TrueVista 68STUV	Storz Ophthalmics Inc., США	+4.00	Нет	Нет
ReZoom (NXG1)	Abbott Medical Optics, США	+3.50	Нет	Нет
SFX MV1	Ноуа, Япония	+2.25	Нет	Нет
UV360M4-07	Ioptex Research, Inc., США	+4.00	Нет	Нет
<i>Рефракционные с асимметричной оптикой</i>				
LENTIS Mplus (LS-312 MF15)	Oculentis GmbH, Германия	+1.50	Да	Да
LENTIS Mplus (LS-312 MF30, LS-313 MF30)	Oculentis GmbH, Германия	+3.00	Да	Да
LENTIS Mplus (LU-313 MF30)	Oculentis GmbH, Германия	+3.00	Да	Да
LENTIS Mplus toric (LU-313 MF30T)	Oculentis GmbH, Германия	+3.00	Да	Да
LENTIS Mplus X (LS-313 MF30)	Oculentis GmbH, Германия	+3.00	Да	Да
SBL-3	Lenstec, США	+3.00	Да	Да
Дифракционные бифокальные				
Acri.Twin (733, 737D)	Acri. Tech / Carl Zeiss Meditec, Германия	+4.00	Да	Да
AcriviaReviol (BB MF 613, BB MFM 611)	VSY Biotechnology, Нидерланды	+3.75	Да	Да
CeeOn 811E	Pharmacia, Нидерланды	+4.00	Да	Нет
DiffRACTIVA-aA	Dr. Schmidt GmbH, Германия	+3.50	Да	Нет
OptiVis	Aaren Scientific Inc., США	+2.80	Нет	Да
Tecnis (ZM900, ZM001, ZMA00, ZMB00)	Abbott Medical Optics, США	+4.00	Да	Да
Tecnis ZMT (toric)	Abbott Medical Optics, США	+4.00	Да	Да
<i>Дифракционные трифокальные</i>				
FineVision	Physiol, Бельгия	+1.75, +3.50	Нет	Да
AT Lisa tri 839MP	Carl Zeiss Meditec, Германия	+1.66, +3.33	Да	Нет
<i>Гибридные рефракционно-дифракционные</i>				
AT Lisa (801, 802, 809M) бывш. Acri. Lisa (376D, 536D, 366D)	Carl Zeiss Meditec, Германия	+3.75	Да	Да
AT Lisa toric (909M) бывш. Acri. Lisa (466TD) (toric)	Carl Zeiss Meditec, Германия	+3.75	Да	Да
ReSTOR (SA60D3, SN60D3, MN60D3)	Alcon Laboratories, США	+4.00	Нет	Да
ReSTOR (SN6AD1, SN6AD2, SN6AD3)	Alcon Laboratories, США	+3.00, +2.50, +4.00	Нет	Да
ReSTOR (SND1 T2/3/4/5) (toric)	Alcon Laboratories, США	+3.00	Нет	Да
МИОЛ-Аккорд	Репер-НН, Россия	+4.00	Да	Да
<i>Градиентные</i>				
Градиол	Репер-НН, Россия	+2.00, +3.00, +3.50	Нет	Да

Примечание. ИОЛ — интраокулярные линзы.

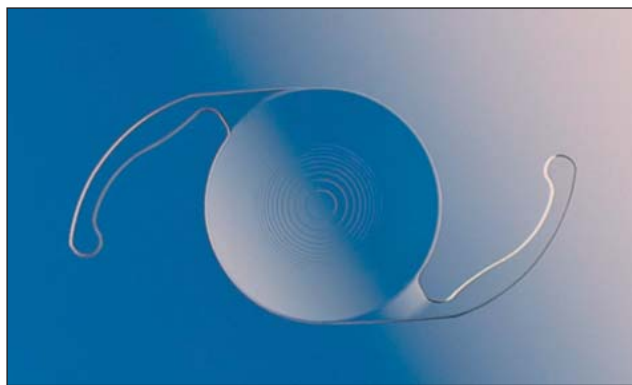


Рис. 1. Гибридная мультифокальная интраокулярная линза с аподизированной оптической частью ReSTOR SA60D3 (Alcon Laboratories, США)

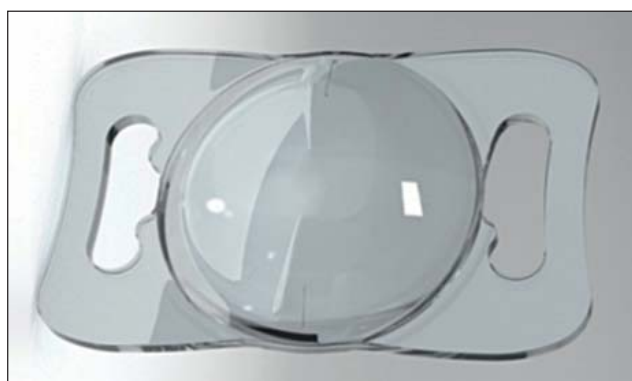


Рис. 2. Рефракционная асимметричная мультифокальная интраокулярная линза Lentis Mplus LU-313 (Oculentis GmbH, Германия)

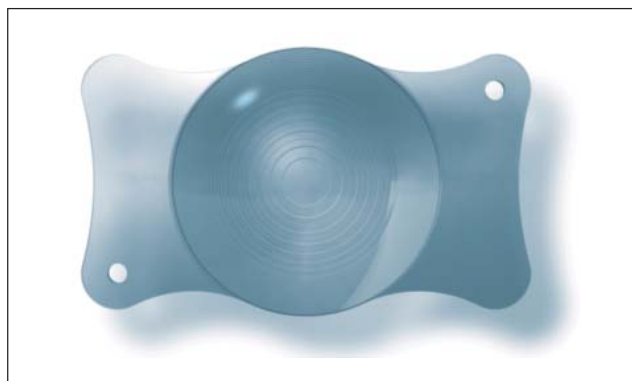


Рис. 3. Дифракционная мультифокальная интраокулярная линза AT Lisa 809M (Carl Zeiss Meditec, Германия)



Рис. 4. Трифокальная дифракционная мультифокальная интраокулярная линза FineVision (Physiol, Бельгия)

ты зрения без коррекции и с коррекцией на различных дистанциях. На сегодняшний день оценка данных остроты зрения по системе logMAR является стандартом в проведении клинических исследований, в соответствии с чем все значения остроты зрения в данном сообщении указаны в логарифмических единицах.

На основании метаанализа [1], в котором рассматривались результаты имплантации мультифокальных интраокулярных линз 34 различных конструкций [Tecnis ZM900, ReSTOR SA60D3 (рис. 1); ArraySA40N, ReZoom NXG1, ReSTOR SN6AD1, Tecnis ZMA00, ReSTOR SN6AD3, Lentis Mplus LU-313 (рис. 2), AT Lisa 809M (рис. 3), FineVision (рис. 4), ReSTOR SND1, T2, T3, T4,

Таблица 2. Мультифокальные интраокулярные линзы, включенные в обзор

Название / Модель ИОЛ	Количество исследований	Число пациентов
Tecnis ZM900	17	10 736
ReSTOR SA60D3	16	
Array SA40N	13	
ReZoom NXG1	12	
ReSTOR SN6AD1	8	
Tecnis ZMA00	6	
ReStor SN6AD3	4	
Градиол	4	
Lentis Mplus (LS-312 MF30)	3	
M-Flex (630F)	3	
ReSTOR SND1T2,T3,T4,T5	3	
Acri. LISA 366D	2	
AT Lisa 809M	2	
AT Lisa 909M	2	
FineVision	2	
Lentis Mplus X (LS-313 MP30)	2	
ReSTOR	2	
ReStor SN60D3	2	
Tecnis ZMB00	2	
Acri.Twin	1	
AcrySof, AcrySof Toric	1	
CeeOn 811E	1	
Diffractiva-aA	1	
Lentis Mplus (LU-313 MF30)	1	
Lentis Mplus toric (LU-313 MF30T)	1	
OptiVis	1	
PY-60MV	1	
ReSTOR IQ	1	
ReSTOR MA60D3	1	
ReZoom	1	
SBL-3	1	
Tecnis ZA9003	1	
Tecnis ZMT	1	
TrueVista 68STUV	1	
UV360M4-07	1	

Примечание. ИОЛ — интраокулярная линза.



Рис. 5. Мультифокальная интраокулярная линза с градиентной оптикой последнего поколения «Градиол» (Репер-НН, Россия)

T5 и др. (табл. 2)], E. Rosen и соавт. пришли к выводу о возможности получения высоких функциональных результатов остроты зрения в послеоперационном периоде. Острота зрения без коррекции вдаль в послеоперационном периоде в 95% случаев (3826 глаз в 21 исследовании) составила $<0,30$ logMAR, а значение в $0,00$ logMAR было достигнуто в 58,1% случаев (1810 глаз в 19 исследованиях). Об аналогичных высоких функциональных результатах также сообщается в исследовании F. Kretz с соавт. [2], в котором в результате использования мультифокальной коррекции (ИОЛ Tecnis ZKB00) значение послеоперационной остроты зрения без коррекции вдаль составляло $<0,20$ logMAR (73,7% из 143 глаз у 85 пациентов), значение остроты зрения без коррекции вблизи достигло $0,20$ logMAR (81,1% глаз), значение остроты зрения без коррекции на средней дистанции было равно $0,20$ logMAR (83,9% глаз). Схожие данные были получены в исследовании M. Attia с соавт. [3], в котором у всех пациентов (20 пациентов, 40 глаз) после имплантации мультифокальных ИОЛ (AcrySof IQ ReSTOR) удалось достигнуть среднего значения остроты зрения вдаль без коррекции $0,00$ logMAR, остроты зрения без коррекции вблизи — $0,04$ logMAR; острота зрения без коррекции на средней дистанции составила $0,15$ logMAR.

Данные о высокой послеоперационной остроте зрения после имплантации мультифокальных ИОЛ с градиентной оптикой (рис. 5), разработанных совместно научно-просветительским предприятием «Репер-НН» (Н. Новгород) с ФГАУ «МНТК МГ им. С.Н. Фёдорова» (Москва), приводятся в исследованиях Т.А. Морозовой [4] и Б.Э. Малогина и соавт. [5–7]. Острота зрения без коррекции вдаль спустя год после имплантации мультифокальных ИОЛ с градиентной оптикой, по данным проведенных исследований, достигла $0,036 \pm 0,01$ logMAR, острота зрения на промежуточном расстоянии без коррекции — $0,131 \pm 0,03$ logMAR, острота зрения без коррекции вблизи — $0,251 \pm 0,07$ logMAR.

Как видно из данных многочисленных исследований, мультифокальная интраокулярная коррекция способна обеспечить высокую некорректируемую остроту зрения на различных дистанциях.

Сравнение мультифокальных интраокулярных линз различных конструкций

Представляется интересным сравнение мультифокальных интраокулярных линз различных типов конструкции между собой. Так, в исследовании В. Cochener [8] сравниваются дифракционные мультифокальные ИОЛ бифокальной (Tecnis ZMB00; 14 пациентов, 28 глаз) и трифокальной (FineVision, PhysiOL; 15 пациентов,

30 глаз) конструкции. Проводилась оценка послеоперационной остроты зрения на различных дистанциях. По результатам исследования, острота зрения без коррекции вдаль составила $0,02 \pm 0,04$ (FineVision) и $0,04 \pm 0,05$ (Tecnis) logMAR, острота зрения без коррекции на средней дистанции — $0,07 \pm 0,05$ (FineVision) и $0,11 \pm 0,05$ (Tecnis) logMAR, острота зрения без коррекции вблизи — $0,01 \pm 0,00$ (FineVision) и $0,01 \pm 0,00$ (Tecnis) logMAR. Дополнительно была проведена оценка кривых дефокуса дифракционных мультифокальных ИОЛ FineVision и Tecnis ZMB00, по результатам которой линза FineVision не имела трех ярко выраженных фокусов, несмотря на свою трифокальную конструкцию, однако обладала более плавным и меньшим снижением остроты зрения ($0,12$ logMAR) в значении дефокуса $-1,5$ дптр в отличие от линзы Tecnis с бифокальной оптикой ($0,24$ logMAR). Тем не менее авторы исследования пришли к выводу, что независимо от типа конструкции (бифокальные или трифокальные) мультифокальные ИОЛ предоставляют высокие значения послеоперационной остроты зрения на различных дистанциях.

Аналогичные данные о кривой дефокуса трифокальной линзы FineVision представлены в исследовании J. Vryghem и S. Heireman [9]: авторы также считают, что исследуемая мультифокальная ИОЛ предоставляет умеренное снижение остроты зрения на средней дистанции на уровне дефокуса $-1,5$ дптр. менее чем на $0,20$ logMAR (рис. 6) по отношению к остроте зрения вдаль с нулевым уровнем дефокуса (острота зрения вдаль бинокулярно составила $-0,04 \pm 0,09$ logMAR).

Схожие выводы были получены в исследовании K. Gundersen и R. Potvin [10], в котором изучались кривые дефокуса бифокальных дифракционных торических (AcrySof ReSTOR SND1T) и трифокальных дифракционных торических мультифокальных ИОЛ (FineVision Toric): аналогично вышеописанным результатам было показано статистически значимо меньшее снижение остроты зрения на средней дистанции при дефокусе $-1,5$ дптр. у трифокальной линзы по сравнению с бифокальной (рис. 7).

Сравнение функциональных результатов мультифокальной коррекции в зависимости от величины аддидации

Серьезные особенности мультифокальной интраокулярной коррекции выявляются при оценке влияния величины аддидации на клинические результаты после имплантации мультифокальных дифракционных ИОЛ Tecnis с тремя различными добавками. В исследовании J. Kim с соавт. [11] пациенты были разделены на 3 группы в зависимости от использованной силы добавки мультифокальных дифракционных ИОЛ Tecnis. Первой группе (№ 1) пациентов (23 глаза) имплантировались мультифокальные ИОЛ с добавкой $+2,75$ дптр. (ИОЛ Tecnis ZKB00), второй группе (№ 2) — $+3,25$ дптр. (21 глаз, ИОЛ Tecnis ZLB00), третьей группе (№ 3) — $+4,00$ дптр. (21 глаз, ИОЛ Tecnis ZMB00). Сразу после операции не обнаружено значимых отличий в остроте зрения вдаль, однако значения остроты зрения вблизи были лучшими в группе № 3. Существенных отличий в абберациях и контрастной чувствительности не наблюдалось. Все 3 вида добавок способны предоставить очень высокую остроту зрения без коррекции вдаль ($0,070$; $0,045$ и $0,067$ logMAR у добавок $+2,75$; $+3,25$ и $+4,00$ дптр. соответственно). Спустя 3 мес после операции пациенты 3-й

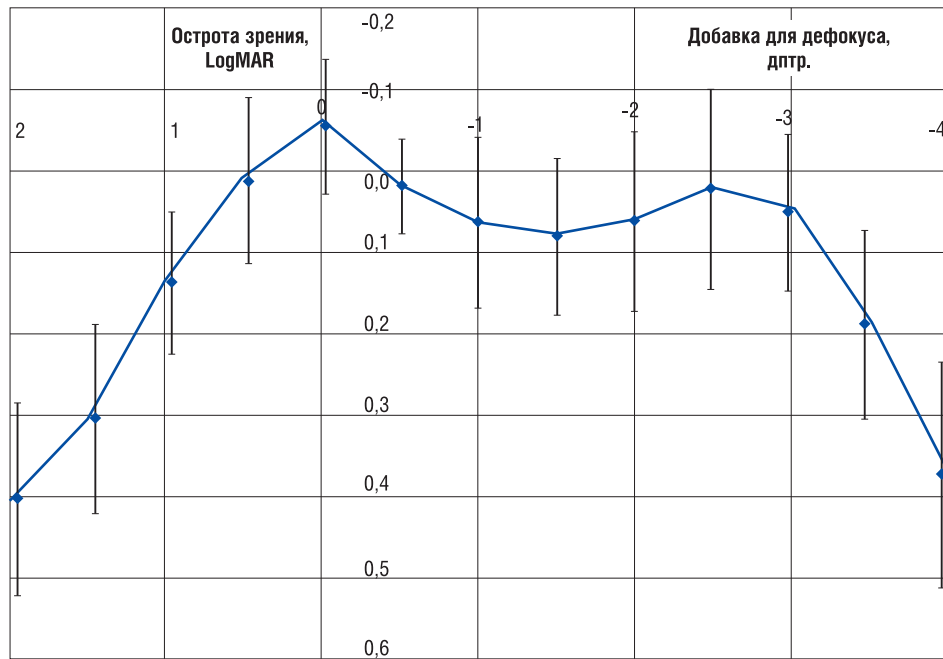


Рис. 6. Кривая дефокуса мультифокальной интраокулярной линзы FineVision (Physiol, Бельгия) [9]

272

группы (с аддидацией +4.00 дптр., ИОЛ ZMB00) обладали самой высокой остротой зрения без коррекции вблизи на расстоянии 33 см, однако авторы акцентируют внимание на том, что фокусное расстояние 33 см подходит далеко не всем группам населения: так, например, при частой работе за компьютером/планшетом предпочтительно фокусное расстояние в 60–70/40–50 см соответственно. В таких условиях лучшую остроту зрения без коррекции вблизи на дистанции 50 см показали пациенты, которым были имплантированы мультифокальные ИОЛ с аддидацией +2.75 дптр. ($0,10 \pm 0,047 \text{ logMAR}$; ZKB00; группа № 1). На дистанции 40 см существенных отличий в остроте зрения не наблюдалось. Степень очковой независимости была высокой: 87,0; 85,7 и 76,9% в 1-й (+2.75; ZKB00), 2-й (+3.25; ZLB00) и 3-й группе (+4.00; ZMB00) соответственно. Исследователи пришли к выводу, что линза с наименьшей добавкой (+2.75 дптр.) обеспечивала хорошую остроту зрения на более отдаленных рабочих расстояниях (50 см, 0,10 logMAR) и очень

высокую остроту зрения вдаль (0,070 logMAR). Группа пациентов с добавкой +2.75 дптр. (ZKB00) имела наилучшую субъективную удовлетворенность, большую степень очковой независимости и меньше негативные зрительные симптомы, чем пациенты с добавкой +4.00 дптр. Аналогичные данные были получены в теоретическом исследовании G. Savini с соавт. [12], в котором расчет ближнего фокуса проводился для мультифокальных ИОЛ с +2.5; 3.0 и +4.0 дптр., по результатам которого ближняя фокусная точка находилась на 53–72, 44–60 и 33–44 см соответственно. Исследователи акцентировали внимание на том, что чем больше расстояние между ИОЛ и роговицей, тем отдаленнее расположен ближний фокус. По данным T. Rabsilber и соавт. [13], пациенты, которым имплантировали мультифокальные интраокулярные линзы с разной силой добавки, сообщали о большем гало-эффекте, чем пациенты, которым имплантировали мультифокальные ИОЛ с одинаковой силой добавки в оба глаза.

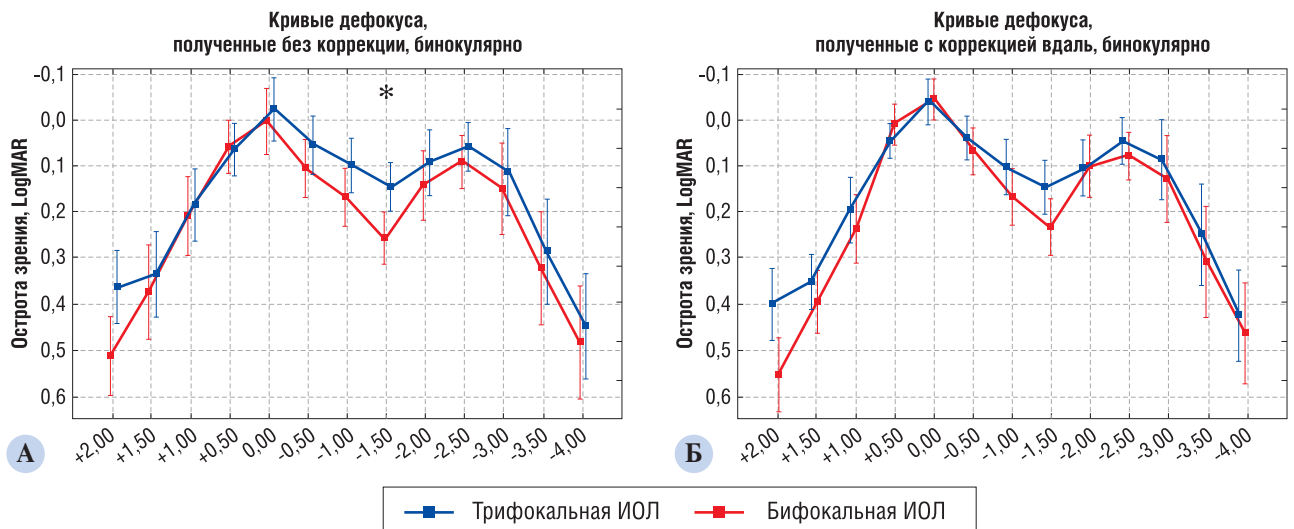


Рис. 7. Кривые дефокуса трифокальной (FineVision) и бифокальной (AcrySof ReSTOR SND1T) интраокулярной линзы [10]

Примечание. А — кривые дефокуса, полученные без использования дополнительной коррекции, бинокулярно; Б — кривые дефокуса, полученные с коррекцией вдаль, бинокулярно. ИОЛ — интраокулярная линза.

Влияние положения добавочного сегмента на остроту зрения

Интересными представляются работы по изучению влияния на зрительные результаты положения добавочного сегмента. Так, в исследовании D. de Wit с соавт. [14] линза Lentis Mplus LS-312 устанавливалась с положением добавочного сегмента в нижненосовом квадранте (80 глаз, 40 пациентов) либо в верхневисочном квадранте (76 глаз, 38 пациентов). Во всех глазах была использована добавка +3.0 дптр., при этом не найдено различий в передаточной функции модуляции. Значение остроты зрения без коррекции вдаль у пациентов первой группы составило $0,14 \pm 0,10$ logMAR, в то время как во второй — $0,18 \pm 0,15$ logMAR. Значение остроты зрения без коррекции вблизи составило $0,21 \pm 0,14$ и $0,24 \pm 0,13$ logRAD соответственно, сферэквивалент был равен $-0,11 \pm 0,49$ и $-0,18 \pm 0,46$ дптр. соответственно. Исследователи пришли к выводу, что не было существенных отличий в показателях аберраций высокого порядка, коэффициенте Штреля либо передаточной функции модуляции, не отличались также и симптомы дисфотопсии, отсутствие которых подтвердилось и в тесте-опросе пациентов о качестве зрения. Таким образом, авторы этого исследования утверждают, что позиция добавочного сегмента не влияет на объективные и субъективные зрительно-функциональные параметры.

Аналогичные данные были получены в исследовании I. Song и соавт. [15], в котором также проводилась оценка влияния положения сегмента добавки линзы Lentis Mplus LS 313 с нижним, верхним и темпоральным расположением аддидации. Авторы работы пришли к выводу, что лучшую остроту зрения без коррекции вдаль, а также остроту зрения с коррекцией вдаль и вблизи показала группа пациентов с темпоральным расположением сегмента, лучшую остроту зрения без коррекции на средней дистанции — группа пациентов с верхневисочным расположением добавки, лучшую остроту зрения без коррекции вблизи и с коррекцией на средней дистанции — группа пациентов с нижним положением аддидации. В контрастной чувствительности авторы не обнаружили отличий, как и в аберрациях высокого порядка. При этом исследователи утверждают и акцентируют внимание на том, что не получено существенных статистически значимых отличий в остроте зрения в зависимости от положения добавочного сегмента. Схожие данные были получены в исследовании S. Vonaque-Gonzalez с соавт. [16], в котором на примере Lentis Mplus LS 312 MF был сделан вывод, что острота зрения не имеет статистических различий в случае имплантации ИОЛ в правильный или неправильный меридиан. Однако было установлено, что оптимальная ориентация интраокулярной линзы вызывает улучшение расчетного параметра качества изображения VSMTF (Visually modulated transfer function) на $58 \pm 19\%$ по сравнению с неправильной ориентацией ИОЛ.

Сравнение результатов мультифокальной и монофокальной интраокулярной коррекции

Традиционным представляется сравнение возможных результатов имплантации мультифокальных интраокулярных линз с монофокальными.

В этом вопросе интерес вызывает исследование S. Shah с соавт. [17], в котором оценивались данные послеоперационной остроты зрения у 100 пациентов на

фоне имплантации мультифокальных ИОЛ и 108 пациентов с монофокальной интраокулярной коррекцией. В результате сравнения оказалось, что значение остроты зрения без коррекции как вдаль, так и на близком расстоянии $0,10$ logMAR и выше было достигнуто в 45,7% случаев при использовании мультифокальной коррекции и в 2,1% при выборе в пользу монофокальной коррекции.

После имплантации мультифокальных линз и монофокальных ИОЛ с торическим компонентом в исследовании с участием 91 пациента [18] были достигнуты результаты остроты зрения без коррекции вдаль $0,10$ logMAR и выше в 46,4% глаз в группе с мультифокальной коррекцией (AcrySof IQ ReSTOR Toric), однако при этом отмечалась крайне высокая зависимость результата от угла поворота линзы, в то время как в группе с имплантированными монофокальными ИОЛ (AcrySof IQ Toric, enVista Toric, Lentis LT) острота зрения без коррекции вдаль в 64,6% глаз составила $0,10$ logMAR или выше. Угол отклонения спустя 1 мес после операции составлял в среднем $2,78 \pm 5,83^\circ$ у группы пациентов с мультифокальными интраокулярными линзами. В группе монофокальных ИОЛ этот показатель достигал $0,32 \pm 5,85^\circ$ (AcrySof IQ Toric), $-0,42 \pm 5,87^\circ$ (enVista Toric) и $3,71 \pm 5,94^\circ$ (Lentis LT).

В исследовании K. Hayashi с соавт. [19] ученые получили значительное превосходство в значении послеоперационной остроты зрения без коррекции вблизи и на средней дистанции у группы пациентов с торическими мультифокальными линзами (Restor SND1T, 66 глаз) и отсутствие статистически значимой разницы в данных остроты зрения без коррекции вдаль по сравнению с группой пациентов, которым имплантировали торические монофокальные ИОЛ (Acrysof SN6AT, 66 глаз).

Согласно последним данным о сравнении мультифокальных ИОЛ с монофокальными интраокулярными линзами, опубликованным в метаанализе В. Cochener с соавт. [20], не найдено различий в значениях остроты зрения без коррекции вдаль между рассматриваемыми видами линз, при этом мультифокальные ИОЛ демонстрировали лучшую остроту зрения без коррекции вблизи ($0,141$ logMAR у мультифокальных в сравнении с $0,470$ logMAR у монофокальных ИОЛ). Также, С. Peng с соавт. [21] обнаружили отсутствие отличий в значении остроты зрения без коррекции на средней дистанции (на дистанции 70 см) между мультифокальными и монофокальными ИОЛ.

Согласно литературным источникам, пациенты с имплантированной мультифокальной интраокулярной линзой в 3,6 раза чаще имеют возможность обходиться без очков, чем пациенты с монофокальной коррекцией; при этом также отмечается более высокая частота встречаемости фотических феноменов после имплантации мультифокальных линз [1].

Заключение

Таким образом, на основании большого количества проведенных клинических исследований с различными моделями мультифокальных интраокулярных линз можно сделать вывод об эффективности данного вида коррекции, позволяющей достигнуть высокой остроты зрения на различных дистанциях без коррекции. При этом острота зрения вдаль без коррекции сопоставима с данными показателями на фоне монофокальных ИОЛ, а некорригированная острота зрения вблизи и на

промежуточном расстоянии значительно выше в сравнении с монофокальной коррекцией. В зависимости от типа конструкции — бифокальной или трифокальной, а также степени аддидации мультифокальные интраокулярные линзы обеспечивают различные функциональные результаты в ближнем и промежуточном фокусах, что определяет возможность выбора ИОЛ

в зависимости от приоритетной дистанции для конкретного пациента.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Rosen E, Alio JL, Dick HB, et al. Efficacy and safety of multifocal intraocular lenses following cataract and refractive lens exchange: Metaanalysis of peer-reviewed publications. *J Cataract Refract Surg.* 2016;42(2):310–328. doi: 10.1016/j.jcrs.2016.01.014.
- Kretz FTA, Gerl M, Gerl R, et al. Clinical evaluation of a new pupil independent diffractive multifocal intraocular lens with a+2.75 D near addition: a European multicentre study. *Br J Ophthalmol.* 2015;99(12):1655–1659. doi: 10.1136/bjophthalmol-2015-306811.
- Attia MS, Khoramnia R, Auffarth GU, et al. Near and intermediate visual and reading performance of patients with a multifocal apodized diffractive intraocular lens using an electronic reading desk. *J Cataract Refract Surg.* 2016;42(4):582–590. doi: 10.1016/j.jcrs.2015.11.047.
- Morozova TA. Third-generation gradient multifocals effective for pseudophakic implantation. *Eurotimes.* 2008;13(6):23.
- Малюгин Б.Э., Тахтаев Ю.В., Морозова Т.А., Поздеева Н.А. Результаты мультицентровых исследований имплантации мультифокальной градиентной ИОЛ третьего поколения (Градиол 3) // *Офтальмохирургия.* — 2012. — №2 — С. 36–41. [Malyugin BE, Takhtaev YV, Morozova TA, Pozdeeva NA. Clinical outcomes of the third generation multifocal gradient IOL implantation in prospective multicenter study. *Ophthalmosurgery.* 2012;(2):36–41. (In Russ).]
- Малюгин Б.Э., Морозова Т.А., Фомина О.В. Исследование остроты зрения у пациентов после имплантации мультифокальной интраокулярной линзы // *Современные технологии в офтальмологии.* — 2015. — №4 — С. 163–166. [Malyugin BE, Morozova TA, Issledovanie ostroty zreniya u patsientov posle implantatsii mul'tifokal'noi intraokulyarnoi linzy. *Sovremennye tekhnologii v oftal'mologii.* 2015;(4):163–166. (In Russ).]
- Фомина О.В., Малюгин Б.Э., Морозова Т.А. Стандартизация клинических исследований остроты зрения после имплантации мультифокальной интраокулярной линзы // *Современные технологии в офтальмологии.* — 2015. — №3 — С. 169–173. [Fomina OV, Malyugin BE, Morozova TA. Standartizatsiya klinicheskikh issledovaniy ostroty zreniya posle implantatsii mul'tifokal'noi intraokulyarnoi linzy. *Sovremennye tekhnologii v oftal'mologii.* 2015;(3):169–173. (In Russ).]
- Cochener B. Prospective clinical comparison of patient outcomes following implantation of trifocal or bifocal intraocular lenses. *J Refract Surg.* 2016;32(3):146–151. doi: 10.3928/1081597x-20160114-01.
- Vryghem JC, Heireman S. Visual performance after the implantation of a new trifocal intraocular lens. *Clin Ophthalmol.* 2013;7:1957–1965. doi: 10.2147/OPTH.S44415.
- Gundersen KG, Potvin R. Comparison of visual outcomes after implantation of diffractive trifocal toric intraocular lens and a diffractive apodized bifocal toric intraocular lens. *Clin Ophthalmol.* 2016;10:455–461. doi: 10.2147/OPTH.S103375.
- Kim JS, Jung JW, Lee JM, et al. Clinical outcomes following implantation of diffractive multifocal intraocular lenses with varying add powers. *Am J Ophthalmol.* 2015;160(4):702–709e1. doi: 10.1016/j.ajo.2015.07.021.
- Savini G, Hoffer KJ, Lombardo M, et al. Influence of the effective lens position, as predicted by axial length and keratometry, on the near add power of multifocal intraocular lenses. *J Cataract Refract Surg.* 2016;42(1):44–49. doi: 10.1016/j.jcrs.2015.07.044.
- Rabsilber TM, Rudalevicius P, Jasinskas V, et al. Influence of +3.00 D and +4.00 D near addition on functional outcomes of a refractive multifocal intraocular lens model. *J Cataract Refract Surg.* 2013;39(3):350–357. doi: 10.1016/j.jcrs.2012.09.026.
- de Wit DW, Diaz J, Moore TC, et al. Effect of position of near addition in an asymmetric refractive multifocal intraocular lens on quality of vision. *J Cataract Refract Surg.* 2015;41(5):945–955. doi: 10.1016/j.jcrs.2014.07.045.
- Song IS, Yoon SY, Kim JY, et al. Influence of near-segment positioning in a rotationally asymmetric multifocal intraocular lens. *J Refract Surg.* 2016;32(4):238–243. doi: 10.3928/1081597X-20160217-06.
- Bonaque-Gonzalez S, Rios S, Amigo A, Lopez-Gil N. Influence on visual quality of intraoperative orientation of asymmetric intraocular lenses. *J Refract Surg.* 2015;31(10):651–657. doi: 10.3928/1081597X-20150922-01.
- Shah S, Peris-Martinez C, Reinhard T, Vinciguerra P. Visual outcomes after cataract surgery: multifocal versus monofocal intraocular lenses. *J Refract Surg.* 2015;31(10):658–666. doi: 10.3928/1081597x-20150611-01.
- Garzon N, Poyales F, de Zarate BO, et al. Evaluation of rotation and visual outcomes after implantation of monofocal and multifocal toric intraocular lenses. *J Refract Surg.* 2015;31(2):90–97. doi: 10.3928/1081597x-20150122-03.
- Hayashi K, Masumoto M, Takimoto M. Comparison of visual and refractive outcomes after bilateral implantation of toric intraocular lenses with or without a multifocal component. *J Cataract Refract Surg.* 2015;41(1):73–83. doi: 10.1016/j.jcrs.2014.04.032.
- Cochener B, Lafuma A, Khoshnood B, et al. Comparison of outcomes with multifocal intraocular lenses: a meta-analysis. *Clin Ophthalmol.* 2011;5:45–56. doi: 10.2147/OPTH.S14325.
- Peng C, Zhao J, Ma L, et al. Optical performance after bilateral implantation of apodized aspheric diffractive multifocal intraocular lenses with +3.00-D addition power. *Acta Ophthalmol.* 2012;90(8):e586–593. doi: 10.1111/j.1755-3768.2012.02497.x

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Керимов Тимур Захирович, ординатор кафедры глазных болезней ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России
Адрес: 127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20/1, e-mail: timkerimov2014@yandex.ru,
SPIN-код: 1297-9373, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8967-6370>

Морозова Татьяна Анатольевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры офтальмологии факультета ДПО ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России
Адрес: 119049, Москва, Ленинский проспект, д. 10, кор. 7, тел.: +7 (495) 536-92-92, e-mail: glazmed@list.ru,
SPIN-код: 3459-3956, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3320-5366>

Покровский Дмитрий Фёдорович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры офтальмологии факультета ДПО ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России
Адрес: 119049, Москва, Ленинский проспект, д. 10, кор. 7, тел.: +7 (495) 536-92-92, e-mail: glazmed@list.ru,
SPIN-код: 6487-5793, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5475-0398>

Медведев Игорь Борисович, доктор медицинских наук, профессор кафедры офтальмологии факультета ДПО ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России
Адрес: 119049, Москва, Ленинский проспект, д. 10, кор. 7, тел.: +7 (495) 536-92-92, e-mail: glazmed@list.ru,
SPIN-код: 5779-2406, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9155-8736>

DOI: 10.15690/vramn772

М.Ю. Лебедев¹, М.Н. Шолкина¹, Д.В. Новиков², С.В. Шумилова², В.В. Новиков², А.В. Караулов^{2, 3}

¹ Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр,
Нижний Новгород, Российская Федерация

² Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Российская Федерация

³ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова,
Москва, Российская Федерация

Сывороточное содержание растворимых молекул CD25 и CD95 у ожоговых больных

Обоснование. Ожоговая травма сопровождается модуляцией многих звеньев иммунитета, в том числе системой регуляции, в состав которой входят растворимые формы лейкоцитарных дифференцировочных молекул. Ранее у ожоговых больных были обнаружены изменения в сывороточном содержании растворимых дифференцировочных молекул CD25 (sCD25) и CD95 (sCD95). Несмотря на наличие данных об изменении сывороточного содержания растворимых молекул CD25 и CD95 в крови пациентов с ожоговой травмой, отсутствуют данные о том, какими клетками они продуцируются. **Цель исследования** — провести анализ сывороточного уровня молекул sCD25 и sCD95 в крови пациентов в остром периоде ожоговой травмы в сопоставлении с популяционным составом клеток периферической крови с целью получения данных о типах клеток, продуцирующих молекулы sCD25 и sCD95. **Методы.** Исследованы образцы крови 24 тяжело обожженных пациентов в возрасте от 16 до 77 лет. Определение сывороточного содержания молекул sCD25 и sCD95 проводили иммуноферментным методом. Количество CD45⁺CD25⁺ лимфоцитов, CD45⁺CD95⁺ клеток, CD14⁺CD95⁺ моноцитов, CD16b⁺CD95⁺ нейтрофилов и RFMI (relative mean fluorescence intensity) оценивали с помощью точной цитофлуорометрии. **Результаты.** В первые пять суток от момента ожога сывороточное содержание sCD25 и sCD95 имело тенденцию к повышению. Содержание молекул sCD25 как у выживших, так и погибших больных не зависело от относительного содержания CD45⁺CD25⁺ лимфоцитов, индекса RFMI, но коррелировало с абсолютным содержанием лимфоцитов и лейкоцитов. Сывороточный уровень молекул sCD95 обнаруживал зависимость от абсолютного содержания нейтрофилов и лейкоцитов у выживших больных и абсолютного содержания лимфоцитов, нейтрофилов и лейкоцитов — у погибших. **Заключение.** Полученные данные позволяют заключить, что лимфоциты в раннем периоде ожоговой болезни являются основными клетками-продуцентами sCD25 и влияют на повышение их содержания в сыворотке крови не за счет изменения плотности экспрессии на их мембране молекул CD25 с последующим усилением шеддинга, а путем увеличения количества CD25-положительных клеток. Основными клетками-продуцентами молекул sCD95 у выживших больных в раннем периоде ожоговой болезни, вероятно, являются нейтрофилы и лимфоциты, у погибших — нейтрофилы.

Ключевые слова: растворимые дифференцировочные молекулы, sCD25 (sIL-2R), sCD95 (sFas), ожоговая болезнь.

(Для цитирования: Лебедев М.Ю., Шолкина М.Н., Новиков Д.В., Шумилова С.В., Новиков В.В., Караулов А.В. Сывороточное содержание растворимых молекул CD25 и CD95 у ожоговых больных. *Вестник РАМН.* 2017;72 (4):276–281. doi: 10.15690/vramn772)

Обоснование

Тяжесть состояния больного после ожоговой травмы, высокая частота присоединения посттравматических инфекций во многом определяются состоянием иммунной системы организма пострадавшего [1]. В регуляции иммунитета наряду с другими белками участвуют растворимые дифференцировочные молекулы, продуцируемые клетками иммунной системы [2]. Так, в крови присутствуют растворимые формы молекул CD25 (sCD25). В мембранной форме они присутствуют на активированных лимфоцитах, в том числе на регуляторных Т клетках. Молекула CD25 (IL-2R) представляет собой альфа-цепь рецептора интерлейкина 2. При активации лимфоцитов происходит увеличение мембранной экспрессии CD25.

Растворимые молекулы CD25 продуцируются активированными лимфоцитами. Сывороточный уровень sCD25 служит маркером их активации при различных патологических состояниях, в том числе при механической и ожоговой травме [2–4]. Взаимодействуя с интерлейкином 2, растворимые молекулы sCD25 по принципу обратной связи тормозят иммунные реакции, ограничивая чрезмерно развитый иммунный ответ при

его гиперактивации. В связи с этим молекулы sCD25 рассматривают в качестве фактора супрессии иммунного ответа [5].

Молекула CD95 (Fas) модулирует апоптоз клеток и также служит маркером активации лимфоцитов. CD95 — это мембранный белок I типа с молекулярной массой 43 кДа, который является представителем семейства рецептора фактора некроза опухоли и имеет в своем составе домен смерти [6]. Данная молекула экспрессируется у человека на кортикальных тимоцитах, активированных Т и В лимфоцитах, моноцитах и нейтрофилах. Кроме того, вне иммунной системы CD95 определяется на различных типах нормальных человеческих клеток [7, 8].

Существует растворимая форма Fas-молекулы (sFas/sCD95). Описано несколько вариантов функциональных молекул sFas, которые образуются за счет альтернативного сплайсинга матричной РНК Fas [9, 10]. Известно 3 альтернативных варианта мРНК, кодирующих мембранные молекулы CD95, и 13 вариантов мРНК, кодирующих различные по строению молекулы sFas. Среди них выделяют мРНК доминирующей формы sFas (Fas TMDel) и мРНК нескольких минорных форм, образующихся за счет единичных или комбинированных

делений различных экзонов. Все растворимые формы Fas-молекулы, не содержащие домен смерти, блокируют апоптоз, индуцированный Fas-лигандом в Fas-позитивных клетках [11]. Несмотря на наличие данных об изменении сывороточного содержания растворимых молекул CD25 и CD95 в крови пациентов с ожоговой травмой, отсутствуют данные о том, какими клетками они продуцируются.

Цель исследования — провести анализ сывороточного уровня молекул sCD25 и sCD95 в крови пациентов в остром периоде ожоговой травмы в сопоставлении с изучением популяционного состава клеток периферической крови с целью получения данных о типах клеток, продуцирующих молекулы sCD25 и sCD95.

Методы

Дизайн исследования

Проведено наблюдательное исследование «случай-контроль», в котором две подгруппы больных с термической травмой сравнивались с группой здоровых добровольцев.

Критерии соответствия

В исследование включали пациентов с термической травмой в возрасте от 16 до 77 лет (в среднем 48 лет) и площадью ожогов от 15 до 80% поверхности тела.

Условия проведения

Исследование проведено на базе Приволжского федерального медицинского исследовательского центра (Нижний Новгород).

Анализ в подгруппах

Группу I (n=18) составили пациенты с термической травмой (площадь ожогов до 80% поверхности тела),

выжившие в течение первых пяти дней после получения травмы.

Группу II (n=6) составили пациенты с термической травмой (площадь ожогов до 80% поверхности тела), погибшие в течение первых пяти дней после получения травмы.

Группу III составили 15 здоровых добровольцев сопоставимого возраста (в среднем 48 лет).

Продолжительность исследования

Биоматериал брали ежедневно однократно в течение 5 дней от момента травмы (или до момента гибели пациента в тех случаях, когда пациент погибал ранее чем через 5 дней). Включение пациентов в исследование и набор материала проходили в течение 2013–2015 гг.

Описание медицинского вмешательства

Все пациенты получали лечение, включающее оперативные вмешательства и медикаментозную терапию. Специфических иммуномодуляторов не использовали. Сыровотку крови забирали в утренние часы одновременно с плановыми анализами, начиная с первых суток от момента травмы. Исследования проводили в динамике в течение 5 дней от момента травмы (или до момента гибели пациента).

Исходы исследования

Исходом исследования являлись ежесуточное определение уровня растворимых молекул Fas и CD25 и оценка количественного содержания популяций клеток крови у выживших и погибших больных в первые 5 суток от момента получения ожоговой травмы.

Методы регистрации исходов

Определение молекул sFas и sCD25 проводили иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител серии ИКО-160 и ИКО-105, как опи-

M.Ju. Lebedev¹, M.N. Sholkina¹, D.V. Novikov², S.V. Shumilova², V.V. Novikov², A.V. Karaulov^{2,3}

¹ Volga Federal Medical Research Center, Nizhny Novgorod, Russian Federation

² N.I. Lobachevskiy National Research Nizhny Novgorod State University, Nizhny Novgorod, Russian Federation

³ I.M. Sechenov Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Soluble CD25 and CD95 Molecules Level at Burns

Background: Burn injury is accompanied by modulation of the many components of immunity, including the system regulation, which includes soluble forms of leukocyte differentiation molecules. Earlier in burn patients, we detected changes in serum levels of soluble differentiation molecules CD25 (sCD25) and CD95 (sCD95). Despite the existence of data on change of serum level of the soluble molecules CD25 and CD95 in the blood of patients with a burn trauma, there are no data on particular cell producers. **Aims:** To conduct the analysis of serum level of the molecules sCD25 and sCD95 in the blood of patients with acute burn trauma in comparison with peripheral blood cells composition to obtain data on the types of cells that produce the molecules sCD25 and sCD95. **Materials and methods:** Blood samples from 24 heavily burnt patients aged 16 to 77 years were studied. Determination of sCD25 and sCD95 molecules serum levels was performed by ELISA. Number of CD45⁺CD25⁺ lymphocytes, CD45⁺CD95⁺ cells, CD14⁺CD95⁺ monocytes, CD16b⁺CD95⁺ neutrophils, and RFMI (relative mean fluorescence intensity) was evaluated by flow cytometry. **Results:** In the first five days of the date of burn sCD25 and sCD95 serum levels tended to increase. sCD25 molecules contents in the blood of surviving and dead patients did not depend on the relative content of CD45⁺CD25⁺ lymphocytes, RFMI index, but correlated with the absolute level of lymphocytes and leukocytes. Serum levels of sCD95 molecules showed the dependence on the absolute neutrophil count and leukocytes in the survivors and on the absolute content of lymphocytes, neutrophils, and leukocytes in patients who died. **Conclusions:** The findings suggest that the lymphocytes in the early period of burn disease are the main cells-producers of sCD25 and affect the increase of its content in the blood serum not due to changes in the density of CD25 molecules expression on their membrane followed by increased shedding but by increasing the number of CD25 positive cells. The main cells-producers of sCD95 molecules for survivors in the early period of burn disease are likely to be the neutrophils and lymphocytes; in the dead patients, the main producers are neutrophils.

Key words: CD25, CD95, burns.

(For citation: Lebedev MJu, Sholkina MN, Novikov DV, Shumilova SV, Novikov VV, Karaulov A.V. Soluble CD25 and CD95 Molecules Level at Burns. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017;72 (4):276–281. doi: 10.15690/vramn772

сано ранее [12, 13]. Результаты выражали в условных единицах (U/ml). В качестве контроля использовали сыворотку 15 здоровых доноров сопоставимого возраста.

Содержание основных популяций лимфоцитов, а также активированных лимфоцитов и активированных нейтрофилов и моноцитов проводили методом многоцветного анализа на цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США) с использованием моноклональных антител производства Beckman Coulter. Исследовали количество CD45⁺CD25⁺ лимфоцитов, CD45⁺CD95⁺ клеток, CD14⁺CD95⁺ моноцитов, CD16b⁺CD95⁺ нейтрофилов. Результаты выражали в процентах и в относительных показателях интенсивности флуоресценции (relative mean fluorescence intensity, RFMI).

Этическая экспертиза

Локальный этический комитет при ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России одобрил проведение настоящего исследования (протокол заседания № 3 от 06.03.2013).

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывали.

Методы статистического анализа данных

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ SPSS-14. Для оценки значимости различий выборочных совокупностей использованы критерии непараметрической статистики, в качестве нижней границы достоверности принят уровень $p < 0,05$. При анализе взаимосвязей использовали коэффициент корреляции Пирсона.

Результаты

Объекты (участники) исследования

Изучение иммунологических параметров в периферической крови проводили у 24 пациентов с термической травмой в возрасте от 16 до 77 лет (в среднем 48 лет), IIIБ и IV степени ожога и площадью ожогов от 15 до 80% поверхности тела. У 6 больных ожоговая болезнь привела к летальному исходу.

Основные результаты исследования

У пациентов с ожогами среднее сывороточное содержание исследуемых растворимых молекул sCD25 и sCD95 не имело статистически значимых отличий от нормы (табл. 1). Вместе с тем обнаруживалась тенденция

к повышению сывороточных уровней молекул sCD25 и sCD95.

В образцах крови пациентов, у которых ожоговая болезнь привела к летальному исходу (группа II), по сравнению с выжившими пациентами (группа I) имелась тенденция к повышению в крови как содержания молекул sCD25 (650,2±268,0 и 543,5±104,3 U/ml соответственно), так и уровня sCD95 (549,2±415,2 и 439,3±171,3 U/ml соответственно). Кроме того, у 3 пациентов регистрировался достоверно высокий уровень исследуемых показателей по сравнению с донорами (группа III). Среди них 1 пациент выжил (пациентка А., 55 лет, содержание sCD95 2377,4±260,9 U/ml, sCD25 — 1935,7±282,1 U/ml); 2 пациентов погибли на четвертые сутки от момента травмы (пациентка З., 62 года, sCD95 — 1589,4±274,6 U/ml, sCD25 — 1655,4±204,5 U/ml и пациент К., 60 лет, sCD95 — 1728,34±247,1 U/ml, sCD25 — 1449,0±161,2 U/ml соответственно). Достоверно выяснить причину подобного увеличения концентрации растворимых молекул не удалось, и поэтому эти пациенты были исключены из дальнейшего статистического анализа.

Корреляционный анализ показал наличие достоверной положительной взаимосвязи между содержанием молекул sCD95 и sCD25 у выживших ($r=0,58, p<0,01$), при этом у пострадавших, для которых ожоговая болезнь закончилась летальным исходом, подобной взаимосвязи не наблюдалось.

Исследование CD45⁺CD25⁺ лимфоцитов в первые пять суток от момента травмы показало, что число исследуемых клеток было относительно стабильным показателем и не имело статистически достоверных отличий относительно контроля (16,9±3,8 и 15,9±3,1% соответственно). Индекс RFMI также не отличался от индекса здоровых добровольцев (5,25±2,3 и 5,1±1,4 соответственно). Не выявлено достоверных взаимоотношений между относительным числом CD25⁺ лимфоцитов, индексом RFMI и содержанием в сыворотке крови молекул sCD25. Вместе с тем ожоговая болезнь протекает на фоне увеличения количества лейкоцитов в крови и резких изменений лейкоцитарной формулы, в исследуемый период нами был выявлен лейкоцитоз у всех пациентов. Одновременно определялась относительная лимфопения, но абсолютное число лимфоцитов было в пределах нормальных значений. Корреляционный анализ показал достоверные взаимосвязи между сывороточным содержанием молекул sCD25, с одной стороны, и количеством лейкоцитов ($r=0,37, p<0,01$), лимфоцитов ($r=0,31, p<0,05$) — с другой.

Проведено также сравнительное исследование числа CD45⁺CD95⁺ лимфоцитов, CD14⁺CD95⁺ моноцитов

Таблица 1. Содержание sCD25 и sCD95 в сыворотке крови пациентов с ожогами в первые пять суток от момента термической травмы (U/ml)

Группа	Сутки после травмы	sCD25		sCD95	
Доноры		403,9±83,3		384,2±111,2	
Пациенты с ожогами		Умершие	Выжившие	Умершие	Выжившие
	1	668,4±269,7	539,9±106,1	547,1±419,2	444,2±181,9
	2	658,8±265,2	570,2±104,6	542,4±402,4	440,2±169,1
	3	640,1±266,3	561,2±102,0	556,3±418,6	437,1±168,1
	4	634,7±231,4	524,5±103,7	552,1±417,4	431,7±170,5
	5	652,4±307,4	522,1±105,4	547,3±418,4	446,7±166,9

Таблица 2. Иммунофенотип лейкоцитов периферической крови здоровых доноров и больных в первые 5 суток от момента термической травмы

Популяция клеток	Здоровые добровольцы		Больные после ожоговой травмы	
	%	RMFI	%	RMFI
CD45 ⁺ CD25 ⁺ лимфоциты	15,9±3,1	5,1±1,4	16,9±3,8	5,3±2,3
CD45 ⁺ CD95 ⁺ лимфоциты	10,2±1,5	15,8±2,5	10,0±1,6	18,1±6,0
CD14 ⁺ CD95 ⁺ моноциты	96,9±3,4	8,3±1,9	77,0±4,9	10,8±3,9
CD16b ⁺ CD95 ⁺ нейтрофилы	100,0	28,5±2,5	94,0±5,6	13,8±8,6

и CD16b⁺CD95⁺ нейтрофилов. У здоровых добровольцев количество CD45⁺CD95⁺ лимфоцитов было значительно ниже, чем число CD95⁺ моноцитов и нейтрофилов (табл. 2). Относительное содержание CD16b⁺CD95⁺ нейтрофилов приближалось к 100%. У здоровых добровольцев экспрессия молекул CD95 (по индексу RMFI) была максимально высокой на мембране нейтрофилов (28,5±2,5), затем на мембранах лимфоцитов (15,8±2,5) и моноцитов (8,3±1,9), что совпадает с данными, полученными W. Liles и соавт. [14].

В первые пять суток от момента ожоговой травмы достоверных изменений числа CD95⁺ лимфоцитов и моноцитов в периферической крови обнаружено не было, но выявлена тенденция к увеличению у них индекса RMFI, что отражает увеличение плотности экспрессии молекул CD95 на мембране и активацию клеточного звена иммунной системы в ответ на ожоговую травму в раннем посттравматическом периоде. Количество CD95⁺ нейтрофилов и уровень экспрессии на них молекул Fas имели тенденцию к снижению. Различий между содержанием популяций CD95⁺ лейкоцитов в крови погибших и выживших больных не обнаружено. Анализ корреляционных взаимоотношений между содержанием в сыворотке крови sCD95 молекул, числом клеток в протестированных популяциях CD95⁺ лейкоцитов и показателем RMFI достоверных взаимосвязей не выявил, что указывает на отсутствие взаимосвязей между процессами образования мембранных и растворимых форм молекул CD95 при ожогах.

В исследованный период ожоговой болезни одновременно с лейкоцитозом и относительной, но не абсолютной лимфопенией наблюдались абсолютные нейтрофилез и моноцитопения. В группе выживших пациентов выявлена достоверная положительная взаимосвязь между сывороточным содержанием sCD95 и количеством лейкоцитов ($r=0,37, p<0,01$), а также нейтрофилов ($r=0,34, p<0,05$). У погибших тяжелообожженных выявлены положительные корреляционные взаимоотношения между уровнем в крови sCD95 и числом лейкоцитов ($r=0,91, p<0,01$), абсолютным количеством нейтрофилов ($r=0,88, p<0,01$) и лимфоцитов ($r=0,76, p<0,01$).

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

По результатам исследования показано, что в первые 5 суток от момента ожога сывороточное содержание растворимых молекул CD25 и CD95 имело тенденцию к повышению. Как у выживших, так и погибших больных содержание молекул sCD25 не зависело от относительного содержания CD45⁺CD25⁺ лимфоцитов, индекса RMFI. Однако оно коррелировало с абсолютным содержанием лимфоцитов и лейкоцитов. Сывороточный уровень мо-

лекул sCD95 у выживших больных обнаруживал зависимость от абсолютного содержания нейтрофилов и лейкоцитов: у погибших больных он был связан с абсолютным содержанием лимфоцитов, нейтрофилов и лейкоцитов.

Обсуждение основного результата исследования

Наши предыдущие исследования сывороточного содержания растворимых форм мембранных молекул на протяжении всего периода тяжелой ожоговой болезни показали, что при длительных интервалах между исследованиями уровень изучаемых показателей может резко изменяться (в несколько раз) [12, 15]. Ежедневный мониторинг содержания sCD25 и sCD95 в крови показал, что только у 1 пациента (с благоприятным исходом ожоговой болезни) уровень sCD95 отличался более чем на 40% по сравнению с предыдущими сутками. Для молекул sCD25 ежесуточные изменения были незначительны и составляли в среднем 5–15% (для всех групп обследованных). Вместе с тем одновременно с незначительными суточными колебаниями изначальные уровни исследуемых молекул уже в первые сутки с момента травмы могли значительно различаться и быть как ниже показателей здоровых доноров, так и значительно их превосходить. В первую очередь это относится к сывороточному содержанию sCD95 в образцах сыворотки крови пациентов, у которых ожоговая травма привела к летальному исходу. Таким образом, в первые 5 суток от момента термической травмы сывороточный уровень молекул sCD95 и sCD25 является довольно стабильным показателем. Отсутствие достоверных изменений (наличие только тенденций к увеличению) может объясняться различным содержанием исследуемых молекул в крови до получения ожоговой травмы, то есть зависит от преморбидного фона пострадавших.

Поскольку корреляционный анализ показал наличие достоверной положительной взаимосвязи между содержанием молекул sCD95 и sCD25 только у выживших пациентов, можно предположить, что процессы патогенеза ожоговой травмы, приводящие к гибели больного в ранние сроки от момента ее получения, сопровождаются нарушениями механизмов активации иммунных клеток, в частности последовательностью ее развития. Известно, что молекула CD25 экспрессируется на клетках лимфоидного ряда, причем уровень экспрессии увеличивается при развитии активационных процессов [6]. Активация клеток также сопровождается увеличением экспрессии молекул CD95. При этом молекула CD95 (Fas) обнаруживается на мембранах как лимфоцитов, так и моноцитов и нейтрофилов периферической крови и целого ряда клеток, не относящихся к иммунной системе [14]. Вероятно, любые типы CD95⁺ клеток могут рассматриваться как клетки-продуценты различных форм sCD95, обнаруживаемых в сыворотке крови.

В то же время связь между сывороточным содержанием молекул sCD25, количеством лейкоцитов и лимфоцитов свидетельствует о том, что лимфоциты в раннем периоде ожоговой болезни, являясь основными клетками-продуцентами sCD25, влияют на изменение содержания последнего в сыворотке крови не за счет изменения плотности экспрессии на мембране CD25 рецептора (усиления шеддинга), но преимущественно благодаря своей численности.

Известно, что экспрессия молекул CD95 на лимфоцитах и моноцитах зависит от степени их активации, тогда как нейтрофилы экспрессируют мембранный Fas вне зависимости от их функционального состояния [16, 17]. Выявленное в настоящей работе наличие положительной корреляционной взаимосвязи между сывороточным уровнем sCD95 и числом лейкоцитов свидетельствует о том, что клетки гемопоэтического ряда могут являться продуцентами sCD95. Нейтрофилы как представители естественного иммунитета сразу после получения ожоговой травмы первыми запускают воспалительные и иммунные процессы. Высокая чувствительность нейтрофилов к Fas-зависимому апоптозу [14] позволяет предположить, что одной из стратегий выживания нейтрофилов является усиление синтеза ими растворимых молекул CD95, предотвращающих механизм гибели как самих нейтрофилов, так и других иммунокомпетентных клеток. Вероятно, часть пула молекул sCD95 в периферической крови может появляться в результате массовой гибели нейтрофилов в очаге воспаления (ожоговой ране) как по механизму некроза, так и апоптоза [18]. Многочисленность популяции нейтрофилов позволяет рассматривать их как наиболее вероятный источник молекул sCD95 на ранних сроках ожоговой болезни. В то же время отсутствие взаимоотношений между уровнем sCD95 в кровотоке и абсолютным количеством моноцитов, видимо, связано с малочисленностью последних в ранние сроки после термического поражения и указывает на незначительность роли этих клеток в образовании сывороточного пула sCD95 молекул на раннем этапе ожоговой болезни.

Ограничения исследования

Основным ограничением исследования является анализ сывороточного уровня растворимых дифферен-

цированных молекул CD25 и CD95 и иммунофенотипа периферической крови у больных с тяжелыми ожогами в первые 5 суток после получения ожоговой травмы. Исследование проведено на 24 больных, в одном медицинском исследовательском учреждении, не являлось рандомизированным мультицентровым, но репрезентативным для анализа патогенетических особенностей тяжелой ожоговой болезни.

Заключение

Суммируя полученные результаты, можно заключить, что в первые 5 суток от момента ожоговой травмы сывороточное содержание как sCD25, так и sCD95 молекул является довольно стабильным показателем, очень незначительно изменяющимся при ежедневном тестировании. Лимфоциты в раннем периоде ожоговой болезни служат основными клетками-продуцентами sCD25 и влияют на повышение его содержания в сыворотке крови не за счет изменения плотности экспрессии на их мембране молекул CD25 с последующим усилением шеддинга, а путем увеличения количества CD25-положительных клеток. У выживших больных основными клетками-продуцентами молекул sCD95 в раннем периоде ожоговой болезни являются нейтрофилы и лимфоциты, у погибших больных основными продуцентами служат нейтрофилы. Остальные популяции клеток не вносят существенного вклада в продукцию растворимых молекул CD95.

Источник финансирования

Работа выполнена при поддержке гранта Российской государственной академии наук (грант №16-14-10179).

Конфликт интересов

Авторы подтвердили отсутствие конфликтов интересов в отношении проведенного исследования и настоящей статьи, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Jewo PI, Fadeyibi IO. Progress in burns research: a review of advances in burn pathophysiology. *Ann Burns Fire Disasters*. 2015;28(2):105–115.
- Teodorczyk-Injeyan JA, McRitchie DI, Peters WJ, et al. Expression and secretion of IL-2 receptor in trauma patients. *Ann Surg*. 1990;212(2):202–208. doi: 10.1097/00000658-199008000-00015.
- Walsh DS, Siritongtaworn P, Pattanapanyasat K, et al. Lymphocyte activation after non-thermal trauma. *Br J Surg*. 2000;87(2):223–230. doi: 10.1046/j.1365-2168.2000.01341.x.
- Teodorczyk-Injeyan JA, Sparkes BG, Lalani S, et al. IL-2 regulation of soluble IL-2 receptor levels following thermal injury. *Clin Exp Immunol*. 1992;90(1):36–42. doi: 10.1111/j.1365-2249.1992.tb05828.x.
- Teodorczyk-Injeyan JA, Sparkes BG, Mills GB, Peters WJ. Immunosuppression follows systemic T lymphocyte activation in the burn patient. *Clin Exp Immunol*. 1991;85(3):515–518. doi: 10.1111/j.1365-2249.1991.tb05759.x.
- Barclay AN, Birkeland ML, Brown MH, et al, editors. The Leucocyte antigen facts book. London, UK: Academic Press; 1993. 424 p.
- Debatin KM, Goldmann CK, Bamford R, et al. Monoclonal-antibody-mediated apoptosis in adult T-cell leukaemia. *Lancet*. 1990;335(8688):497–500. doi: 10.1016/0140-6736(90)90735-N.
- Ricci-Vitiani L, Conticello C, Zeuner A, De Maria R. CD95/CD95L interactions and their role in autoimmunity. *Apoptosis*. 2000;5(5):419–424. doi: 10.1023/A:1009668212375.
- Hughes DP, Crispe IN. A naturally occurring soluble isoform of murine Fas generated by alternative splicing. *J Exp Med*. 1995;182(5):1395–1401. doi: 10.1084/jem.182.5.1395.
- Cascino I, Fiucci G, Papoff G, Ruberti G. Three functional soluble forms of the human apoptosis-inducing Fas molecule are produced by alternative splicing. *J Immunol*. 1995;154(6):2706–2713.
- Hosaka N, Oyaizu N, Kaplan MH, et al. Membrane and soluble forms of Fas (CD95) and Fas ligand in peripheral blood mononuclear cells and in plasma from human immunodeficiency virus-infected persons. *J Infect Dis*. 1998;178(4):1030–1039. doi: 10.1086/515700.
- Lebedev MJ, Ptitina JS, Vilkov SA, et al. Membrane and soluble forms of Fas (CD95) in peripheral blood lymphocytes and in serum from burns patients. *Burns*. 2001;27(7):669–673. doi: 10.1016/S0305-4179(01)00036-5.

13. Novikov VV, Egorova NI, Kurnikov GYu, et al. Serum levels of soluble HLA and IL-2R molecules in patients with urogenital chlamydia infection. *Adv Exp Med Biol.* 2007;601:285–289. doi: 10.1007/978-0-387-72005-0_30.
14. Liles WC, Kiener PA, Ledbetter JA, et al. Differential expression of Fas (CD95) and Fas ligand on normal human phagocytes: Implications for the regulation of apoptosis in neutrophils. *J Exp Med.* 1996;184(2):429–440. doi: 10.1084/jem.184.2.429.
15. Lebedev MJ, Egorova NI, Sholkina MN, et al. Serum levels of different forms of soluble CD38 antigen in burned patients. *Burns.* 2004;30(6):552–556. doi: 10.1016/j.burns.2004.01.029.
16. Iwai K, Miyawaki T, Takizawa T, et al. Differential expression of Bcl-2 and susceptibility to anti-Fas-mediated cell death in peripheral blood lymphocytes, monocytes, and neutrophils. *Blood.* 1994;84(4):1201–1208.
17. Kiener PA, Davis PM, Starling GC, et al. Differential induction of apoptosis by Fas-Fas ligand interactions in human monocytes and macrophages. *J Exp Med.* 1997;185(8):1511–1516. doi: 10.1084/jem.185.8.1511.
18. Savill J. Apoptosis in resolution of inflammation. *J Leukoc Biol.* 1997;61(4):375–380.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Лебедев Михаил Юрьевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник группы иммунологии ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России
Адрес: 603155, Нижний Новгород, В. Волжская набережная, д. 18/1, **тел.:** +7 (951) 908-13-42, **e-mail:** miklgito@mail.ru, **SPIN-код:** 6801-2854, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-5596-2619>

Шолкина Маргарита Николаевна, кандидат медицинских наук, врач клинической лабораторной диагностики клинико-иммунологической лаборатории ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России

Адрес: 603155, Нижний Новгород, В. Волжская набережная, д. 18/1, **тел.:** +7 (831) 436-62-40, **e-mail:** msholkina@inbox.ru, **SPIN-код:** 9563-6356, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-0258-3847>

Новиков Дмитрий Викторович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Центра молекулярной биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

Адрес: 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23, **тел./факс:** +7 (831) 419-90-64, **e-mail:** novikov.dv75@mail.ru, **SPIN-код:** 6801-1613, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-7049-6935>

Шумилова Светлана Викторовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Центра молекулярной биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

Адрес: 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23, **тел./факс:** +7 (831) 419-90-64, **e-mail:** swetlana.shumilova@gmail.com, **SPIN-код:** 9562-9450, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-2727-2888>

Новиков Виктор Владимирович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой молекулярной биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

Адрес: 603950, Нижний Новгород, ГСП-20, пр. Гагарина, д. 23, **тел./факс:** +7 (831) 462-32-16, **e-mail:** mbre@mail.ru, **SPIN-код:** 5492-7871, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-2449-7213>

Караулов Александр Викторович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой клинической иммунологии и аллергологии ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **тел.:** +7 (495) 635-13-73, **e-mail:** drkaraulov@mail.ru, **SPIN-код:** 4122-5565, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-1930-5424>

DOI: 10.15690/vramn855

А.И. Чубарова^{1,2}, И.В. Давыдова³, И.В. Виноградова⁴, Е.А. Дегтярёва^{2,5},
Е.С. Кешишян⁶, А.И. Сафина⁷, Э.В. Нестеренко⁸

¹ Детская городская клиническая больница № 13 имени Н.Ф. Филатова, Москва, Российская Федерация

² Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова,
Москва, Российская Федерация

³ Национальный научно-практический центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

⁴ Президентский перинатальный центр, Щелково, Российская Федерация

⁵ Детская инфекционная клиническая больница № 6, Москва, Российская Федерация

⁶ Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. Ю.Е. Вельтищева,
Москва, Российская Федерация

⁷ Казанская государственная медицинская академия, Казань, Российская Федерация

⁸ Городской клинический перинатальный центр, Омск, Российская Федерация

Эффективность паливизумаба в снижении частоты госпитализации детей с РСВ инфекцией в группах высокого риска: проспективное наблюдательное многоцентровое исследование

282

Обоснование. Паливизумаб предназначен для профилактики тяжелых форм респираторной синцитиальной вирусной (РСВ) инфекции у детей групп высокого риска. **Цель исследования** — оценка эффективности и безопасности паливизумаба в повседневной клинической практике при применении у детей с высоким риском развития тяжелой РСВ инфекции в эпидемический сезон 2014–2015 гг. в Российской Федерации. **Методы.** Проведено проспективное наблюдательное многоцентровое когортное исследование с участием детей грудного и раннего детского возраста групп высокого риска по развитию тяжелой РСВ инфекции: дети с гестационным возрастом при рождении ≤ 35 нед; дети в возрасте ≤ 24 мес с бронхолегочной дисплазией (БЛД) или врожденным пороком сердца (ВПС), которым в рамках рутинной клинической практики была назначена иммунопрофилактика паливизумабом. Работа выполнена на базе 16 исследовательских центров, расположенных в европейской части России и Западной Сибири. **Результаты.** Всего в исследование были включены 359 (180 мальчиков и 179 девочек) детей раннего детского возраста, из них 148 (41,2%) имели БЛД, 45 (12,5%) — гемодинамически значимый ВПС, 166 (46,2%) относились к группе высокого риска тяжелого течения РСВ инфекции по причине недоношенности. Большинство детей (86,9%) получили три и более инъекции препарата. Из 359 детей, включенных в исследование, были госпитализированы по причине развития инфекции нижних дыхательных путей 11 (3,1%; 95% ДИ 1,5–5,4). Диагностический тест на РСВ был выполнен у 9 детей, РСВ инфекция подтверждена у 1 ребенка. Таким образом, частота РСВ-ассоциированной госпитализации составила 0,3% (95% ДИ 0,0–1,5). **Заключение.** Исследование продемонстрировало низкую частоту РСВ-ассоциированной госпитализации при проведении иммунопрофилактики паливизумабом. Терапия препаратом хорошо переносилась и показала благоприятный профиль риск/польза.

Ключевые слова: паливизумаб, иммунопрофилактика, респираторный синцитиальный вирус, дети грудного возраста из групп высокого риска тяжелого течения РСВ инфекции.

(Для цитирования: Чубарова А.И., Давыдова И.В., Виноградова И.В., Дегтярёва Е.А., Кешишян Е.С., Сафина А.И., Нестеренко Э.В. Эффективность паливизумаба в снижении частоты госпитализации детей с РСВ инфекцией в группах высокого риска: проспективное наблюдательное многоцентровое исследование. *Вестник РАМН.* 2017;72 (4):282–289. doi: 10.15690/vramn855)

Обоснование

Респираторный синцитиальный вирус (РСВ) является наиболее частой причиной развития инфекций нижних дыхательных путей (ИНДП) у детей раннего возраста. Приблизительно у 70% детей грудного возраста заражение РСВ происходит в первый год жизни, и практически все дети переносят данную инфекцию к 2 годам жизни хотя бы один раз [1]. РСВ инфекция у детей является причиной госпитализаций по поводу бронхита в 50–90% случаев, по поводу пневмонии — в 5–40%, по поводу трахеобронхита — в 10–30%. Бронхит и пневмония, вызванные РСВ, приводят к летальному исходу в 25% случаев у ВИЧ-инфицированных детей, в 37% при пороках сердца и ~73% при легочной гипертензии [2, 3].

Оценка среднегодовых показателей смертности по причине гриппа и РСВ инфекции среди различных возрастных групп, проведенная Национальным центром статистики в области здравоохранения США (US National Center for Health Statistics, NCHS) в эпидемические сезоны 1990–1999 гг., показала, что для детей младше 1 года относительный риск (Relative risk, RR) смертности от РСВ инфекции против гриппа составил 9,5 (95% ДИ 5,4–16,9) для летальных исходов по причине пневмонии, вызванной РСВ, и 8,1 (95% ДИ 5,4–12,2) для летальных исходов в связи с сопутствующим заболеванием органов дыхания и кровообращения [4]. Согласно данным исследования «Глобальное бремя болезней, травм и факторов риска 2010» (Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors Study 2010), в 2010 г. РСВ инфекция являлась ос-

новой причиной постнеонатальной смертности (дети от 28 до 364 дней жизни) в связи с ИНДП [5]. В соответствии с результатами метаанализа глобальной заболеваемости детей младше 5 лет, в 2005 г. во всем мире было зарегистрировано приблизительно 33,8 млн случаев развития острых ИНДП, вызванных РСВ (22% всех случаев развития острой ИНДП), при этом 3,4 млн случаев развития тяжелой острой ИНДП, вызванной РСВ, требовали госпитализации [6].

Недавнее проспективное наблюдательное исследование, проведенное в центральном, северо-западном и восточном регионах Российской Федерации во время эпидемического сезона РСВ инфекции 2008/2009 г., показало, что из 519 детей в возрасте ≤ 2 лет, госпитализированных по причине ИНДП, у 38% обнаружен респираторный синцитиальный вирус [7]. Пик заболеваемости РСВ инфекцией приходился на март-апрель. Факторы риска госпитализации в связи с РСВ были схожи с таковыми, зарегистрированными в рамках других исследований, проведенных в развитых странах [8–11]. К числу детей с высоким риском развития тяжелой РСВ инфекции относились недоношенные дети грудного возраста, а также дети с заболеваниями сердца и легких, включая врожденный порок сердца (ВПС) и бронхолегочную дисплазию (БЛД). Факторами риска госпитализации являлись мужской пол, малый вес при рождении (< 10 -го перцентиль), наличие домашнего контакта с детьми школьного возраста, посещение учреждений с дневным пребыванием, отказ от грудного вскармливания после 2 мес, воздействие сигаретного дыма, проживание вместе с большим количеством людей и хронологический возраст < 6 мес в момент заражения РСВ [7].

Ретроспективное исследование заболеваемости гриппом и другими острыми респираторными заболеваниями, проведенное на базе 49 исследовательских центров в Российской Федерации с 2009 по 2013 г., показало, что РСВ инфекция являлась наиболее распространенной респираторной инфекцией у детей в возрасте от 0 до 2 лет. Из 10 089 детей с острой респираторной вирусной инфекцией у 31% был обнаружен РСВ. Кроме того, РСВ инфекция являлась основной причиной госпитализации как в течение всего года (вирус обнаружен у 39% госпитализированных пациентов), так и во время сезонной эпидемии гриппа (у 51%) [12].

Госпитализация детей раннего возраста из групп высокого риска требует использования значительных ресурсов здравоохранения и связана с серьезными денежными затратами. Существенная доля детей из групп высокого риска, госпитализированных в связи с РСВ, требует размещения в отделении интенсивной терапии и применения искусственной вентиляции легких. Дополнительные денежные затраты связаны с амбулаторными приемами, последующим наблюдением, а также снижением производительности труда, поскольку родители вынуждены прерывать работу на период ухода за больными детьми [13].

В случае инфицирования количество вариантов лечения ограничено. Профилактика РСВ инфекции путем пассивной иммунизации является основной процедурой, которая может применяться у детей групп высокого риска с целью предотвращения развития тяжелых форм заболевания.

Паливизумаб представляет собой гуманизированные моноклональные антитела (IgG1) к гликопротеину F на

A.I. Chubarova^{1, 2}, I.V. Davydova³, I.V. Vinogradova⁴, E.A. Degtiareva^{2, 5},
E.S. Keshishyan⁶, A.I. Safina⁷, E.V. Nesterenko⁸

¹ Children's City Clinical Hospital № 13 named after N.F. Filatov, Moscow, Russian Federation

² Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russian Federation

³ National Scientific and Practical Center of Children Health, Moscow, Russian Federation

⁴ Presidential Perinatal Center, Shchelkovo, Russian Federation

⁵ Pediatric Infectious Clinical Hospital № 6, Moscow, Russian Federation

⁶ Science Research Clinical Institute of Pediatrics named after U.E. Veltishev, Moscow, Russian Federation

⁷ Kazan State Medical Academy, Kazan, Russian Federation

⁸ City Clinical Perinatal Center, Omsk, Russian Federation

Effectiveness of Palivizumab in Preventing RSV Hospitalization in High-Risk Children: A Prospective Observational Multicenter Study

Background: Palivizumab is indicated for the prevention of serious respiratory syncytial virus (RSV) disease in high-risk infants. **Aims:** The purpose of the study was to assess the real-world effectiveness and safety of palivizumab in children at high risk for serious RSV disease during the 2014–2015 RSV season in the Russian Federation. **Methods:** A prospective, observational, multicentre, cohort study was conducted in a population of infants at high-risk for serious RSV illness: infants born ≤ 35 weeks of gestation and infants ≤ 24 months with bronchopulmonary dysplasia (BDP) or congenital heart disease (CHD), who were administered palivizumab immunoprophylaxis in routine clinical settings. The study was conducted at 16 investigational sites of European Russia and Western Siberia. **Results:** A total of 359 infants were enrolled (180 boys and 179 girls). Of them, 148 (41.2%) infants had BDP, 45 (12.5%) infants had hemodynamically significant CHD, and 166 (46.2%) children of prematurity were at the risk of RSV. The majority of infants (86.9%) received three or more injections during the course of study. Of the 359 participants enrolled, 11 (3.1%; 95% CI 1.5–5.4) patients were hospitalized for lower respiratory tract infection. A RSV diagnostic test was performed in 9 infants, and RSV was detected in one patient giving an overall incidence of RSV hospitalization as 0.3% (95% CI 0.0–1.5). **Conclusions:** This study showed that immunoprophylaxis with palivizumab was associated with a low rate of RSV hospitalization. Overall, therapy with palivizumab was well-tolerated and showed a favourable benefit-risk profile.

Key words: palivizumab, immunoprophylaxis, respiratory syncytial virus, high-risk infants.

(For citation: Chubarova AI, Davydova IV, Vinogradova IV, Degtiareva EA, Keshishyan ES, Safina AI, Nesterenko EV. Effectiveness of Palivizumab in Preventing RSV Hospitalization in High-Risk Children: A Prospective Observational Multicenter Study. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017;72 (4):282–289. doi: 10.15690/vramn855)

поверхности РСВ [14]. Безопасность и эффективность препарата в качестве средства профилактики тяжелых РСВ инфекций была подтверждена в ряде клинических исследований и наблюдательных программ [15, 16]. В рандомизированных исследованиях с участием недоношенных детей грудного возраста, а также детей с ВПС, БЛД или хроническим заболеванием легких паливизумаб снижал РСВ-ассоциированную госпитализацию на 39–78%, а также демонстрировал благоприятный профиль безопасности и переносимости [17, 18]. Наблюдательные исследования (регистры), проведенные в Дании [19], Германии [20], Франции [21], США [22] и Канаде [23, 24], показали низкую частоту госпитализаций в связи с РСВ инфекций среди детей раннего возраста из групп высокого риска, которым проводилась иммунопрофилактика паливизумабом.

Мировой опыт иммунопрофилактики тяжелых заболеваний, связанных с РСВ инфекцией, насчитывает более 15 лет. В настоящий момент паливизумаб одобрен для использования более чем в 85 странах мира. В Российской Федерации паливизумаб был одобрен для медицинского применения в феврале 2010 г. Сегодня иммунопрофилактика паливизумабом рекомендована действующими локальными стандартами оказания первичной и специализированной медицинской помощи, а также рядом клинических протоколов, подготовленных и одобренных российскими профессиональными ассоциациями медицинских работников. В частности, о профилактике паливизумабом говорится в Клинических рекомендациях по диагностике и лечению острых респираторных заболеваний (ОРЗ); лечению пневмонии у детей (Союз педиатров России и Ассоциация медицинских обществ по качеству, 2014), а также в Федеральных клинических рекомендациях по иммунопрофилактике респираторно-синцитиальной вирусной инфекции у детей (Союз педиатров России, 2015), одобренных Союзом педиатров России и представленных в Министерство здравоохранения Российской Федерации. Кроме того, паливизумаб включен в список жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения, что позволяет финансировать проведение иммунопрофилактики в рамках региональных программ государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи. На сегодняшний день 56 российских регионов имеют опыт проведения иммунопрофилактики РСВ инфекции с применением паливизумаба.

Цель исследования — оценить эффективность и безопасность паливизумаба при применении в повседневной клинической практике у детей групп высокого риска по развитию тяжелой РСВ инфекции в эпидемический сезон 2014/2015 г. в Российской Федерации.

Методы

Дизайн исследования

Проведено многоцентровое проспективное наблюдательное когортное исследование в популяции детей раннего возраста из групп высокого риска развития тяжелой РСВ инфекции, которым в повседневной клинической практике назначалась иммунопрофилактика препаратом паливизумаб. Исследование проводилось в Российской Федерации; планируемый период сбора данных включал эпидемический сезон РСВ инфекции с октября 2014 по апрель 2015 г.

График визитов был составлен с учетом повседневной клинической практики и назначения инъекций па-

ливизумаба лечащим врачом. Протоколом исследования было запланировано проведение 3–5 наблюдательных визитов в течение периода лечения и 1 визит в период последующего наблюдения (примерно через 1 мес от последнего визита в период лечения). Получение согласия на участие в исследовании являлось основанием к сбору исходных данных пациента, включая демографические, анамнез, информацию о течении неонатального периода, а также к сбору подробных сведений о назначении паливизумаба. Другие собираемые исходные характеристики включали данные о течении беременности у матери и семейный анамнез (демографические данные родителей, информация о курении, уровне образования, демографические данные братьев и сестер, условия проживания). На визитах после включения пациента в исследование осуществлялся сбор данных об инъекциях паливизумаба, госпитализации в связи с ИНДП и нежелательных явлениях.

Критерии соответствия

В исследование включали детей раннего возраста из групп высокого риска развития тяжелой РСВ инфекции, которым либо была запланирована иммунопрофилактика паливизумабом, либо выполнена первая инъекция препарата не позднее чем за 60 дней до включения в исследование.

Критерии включения:

- дети с гестационным возрастом при рождении ≤ 35 нед и в возрасте ≤ 6 мес на момент начала эпидемического сезона РСВ инфекции;
- дети в возрасте ≤ 24 мес с установленным диагнозом БЛД (потребность в кислороде в 36 нед скорректированного гестационного возраста);
- дети в возрасте ≤ 24 мес с гемодинамически значимым неоперированным или частично скорректированным ВПС.

Критерии невключения

В исследование не включались дети, соответствующие хотя бы одному из следующих критериев:

- крупный врожденный порок развития помимо ВПС;
- хроническое заболевание легких помимо БЛД;
- любая острая инфекция;
- противопоказания к назначению паливизумаба в соответствии с инструкцией по медицинскому применению препарата;
- лечение препаратом, потенциально содержащим нейтрализующие антитела к РСВ, в течение 30 дней до включения в исследование или текущий прием такого препарата (например, гипериммуноглобулина против РСВ, поликлонального внутривенного иммуноглобулина, гипериммуноглобулина против цитомегаловируса, гипериммуноглобулина против ветряной оспы);
- пациенты, ранее участвовавшие в данном исследовании.

Условия проведения

Исследовательские центры выбирались в различных географических регионах и на основе следующих критериев: национальные или региональные центры/больницы, специализирующиеся в педиатрии и неонатологии и осуществляющие медицинское обслуживание детей раннего возраста, соответствующие критериям отбора в исследование, а также выполняющие в повседневной практике лабораторные диагностические тесты на РСВ инфекцию у детей с ИНДП.

Работа была проведена на базе 16 исследовательских центров, расположенных в 9 городах России — Москве,

Оренбурге, Казани, Калининграде, Омске, Иркутске, Челябинске, Чебоксарах, Мытищах.

Продолжительность исследования

Пациенты включались в исследование в период с 22 октября 2014 г. по 20 февраля 2015 г.

Описание медицинского вмешательства

Иммунопрофилактика паливизумабом назначалась всем участникам исследования их лечащим врачом в соответствии с повседневной клинической практикой и локальной инструкцией по медицинскому применению, согласно которой рекомендуется выполнять 5 внутримышечных инъекций препарата в разовой дозе 15 мг/кг с интервалом 1 мес, при этом первую инъекцию следует проводить перед началом сезонного подъема заболеваемости. Предполагалось, что участникам исследования будет выполнено от 3 до 5 инъекций паливизумаба с интервалом 1 мес и отклонением от схемы назначения не более чем ± 10 дней.

Исходы исследования

Основной исход исследования

Доля детей раннего возраста, госпитализированных в связи с ИНДП и имеющих положительный результат теста на РСВ инфекцию, или умерших по причине РСВ инфекции, подтвержденной результатами аутопсии или данными истории заболевания и вирусологическими исследованиями.

Дополнительные исходы исследования

Продолжительность госпитализации и пребывания в отделении интенсивной терапии (ОИТ); доля пациентов, поступивших в ОИТ; доля пациентов, получавших дополнительный кислород или искусственную вентиляцию легких (для данных пациентов также оценивалась продолжительность пребывания в ОИТ и искусственной вентиляции легких); частота сопутствующих заболеваний в период госпитализации; соблюдение режима терапии паливизумабом.

Методы регистрации исходов

Сбор данных проводился путем опроса родителей или опекунов/законных представителей ребенка и анализа первичной документации в исследовательском центре. К первичной документации относились оригиналы документов, включающие медицинские карты, истории болезни, данные/сведения о лабораторных обследованиях или оценочные анкеты, аптечные записи, сделанные при выдаче препарата, и т.д.

Этическая экспертиза

Данное исследование было одобрено центральным Независимым междисциплинарным Комитетом по этической экспертизе клинических исследований. Перед включением пациентов в исследование от их родителей или законных представителей было получено информированное согласие на сбор данных.

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Обоснование размера выборки было основано на данных, опубликованных исследовательской группой IMtract-RSV, а также исходя из предположения, что доля госпитализированных детей раннего возраста с положительным результатом на РСВ инфекцию составит около 4,8% [17]. Размер выборки — 323 пациента — позволял достичь 2,5%

точности оценки с помощью точного (Клоппер–Пирсон) двустороннего 95% доверительного интервала (ДИ) для одной доли. Учитывая возможное досрочное выбывание ~10% пациентов, всего в исследование было запланировано включить 359 участников.

Методы статистического анализа данных

Статистический анализ проводился с использованием программного пакета SAS (версия 9.3). Данное исследование является наблюдательным, поэтому для анализа использовались методы описательной статистики. Демографические данные и исходные характеристики, а также основной исход (критерий) исследования анализировались в популяции безопасности (Safety analysis set), включавшей всех пациентов, для которых было получено подписанное информированное согласие и по которым были получены какие-либо данные. Исследование вторичных критериев оценки проводилось для полного анализа (Full analysis set) в популяции, которая включала пациентов с подписанным информированным согласием, госпитализированных по поводу ИНДП с положительным результатом лабораторного диагностического теста на РСВ. В данной популяции для анализа учитывались только госпитализации, произошедшие в ходе терапии согласно установленной схеме лечения (отсутствие более чем 10-дневных отклонений в проведении иммунопрофилактики). Для оцениваемых долей рассчитывались точные двухсторонние 95% ДИ по методу Клоппера–Пирсона.

Результаты

Объекты (участники) исследования

Соответствовали критериям отбора и были включены в исследование 359 детей раннего возраста с высоким риском развития тяжелой РСВ инфекции, из них 148 (41,2%) имели БЛД, 45 (12,5%) — гемодинамически значимый ВПС, 166 (46,2%) детей относились к группе высокого риска по причине недоношенности. Медиана хронологического возраста детей составляла 2,0 (диапазон от 0 до 21) месяца. В основном дети были европеоидной расы (93,6%), соотношение полов было практически равным (180 мальчиков и 179 девочек).

Включенные в исследование дети были рождены на 22–40-й нед гестации (средний гестационный возраст 29,4 нед), среднее значение веса при рождении составило 1,29 кг. Использование вспомогательных репродуктивных технологий было зарегистрировано в 11,1% случаев, многоплодные роды — в 21,7%. Более половины детей (55,7%) родились путем внепланового кесарева сечения, остальные дети — после естественных родов (22,3%), планового кесарева сечения (15,6%) и влагалищной родоразрешающей операции (6,4%). Аспирация мекония наблюдалась в 2,2% случаев. Большинство детей нуждались во вспомогательной вентиляции легких (95,8%) и назначении сурфактанта (73,8%). Только 130/359 (36,2%) детей находились на грудном вскармливании. Согласно данным о течении беременности, у большинства матерей наблюдался гестоз или угроза невынашивания беременности (у 55,4 и 71,6% соответственно), 42,3% женщин имели инфекционное заболевание во время беременности.

Чаще всего дети проживали в доме с двумя взрослыми (68,8% семей). Почти у половины семей (46,0%) были другие дети в возрасте до 18 лет, в большинстве случаев — старше 3 лет (39,2% семей). У большинства семей были хорошие условия проживания: 1–2 отдельные спальные комнаты имелись в 72,7% случаев, а 3 и более — в 22,2%.

Шерстистые домашние животные были в 40,4% семей. Почти у половины детей (45,1%) отмечался хотя бы один курящий член семьи, но только у 9,2% детей матери курили во время беременности.

Анализ данных исследования показал, что 206 (57,4%) детей досрочно прекратили иммунопрофилактику и участие в исследовании¹. Причины досрочного прекращения участия включали отзыв согласия (2/206; 1,0%), смерть (4/206; 1,9%), недоступность для последующего наблюдения (15/206; 7,3%), а также другие причины, среди которых самой распространенной было отсутствие препарата (185/206; 89,8%). Ни для одного из пациентов участие в исследовании не было прекращено по причине нежелательного явления.

Иммунопрофилактика

Всем участникам исследования была введена как минимум 1 доза паливизумаба. Большинство пациентов (86,9%) в период эпидемического сезона РСВ инфекции получили 3 и более инъекции препарата: 115/359 (32,0%) детей — 3 инъекции, 97/359 (27,0%) — 4 инъекции, 99/359 (27,6%) — 5 инъекций, 1/359 (0,3%) ребенку было выполнено 6 инъекций. У 299/359 (83,3%) детей три и более инъекции препарата были назначены в соответствии с установленной схемой профилактики, без пропуска или задержки введения.

Основные результаты исследования

Из 359 детей, включенных в исследование, были госпитализированы по причине развития инфекции нижних дыхательных путей 11 (3,1%, 95% ДИ 1,5–5,4) человек, из них 1 пациент был госпитализирован дважды: таким образом, всего за период исследования было зарегистрировано 12 случаев госпитализации. Диагностические тесты на РСВ были проведены у 9 детей: 8 тестов выполнены с использованием экспресс-анализа на антиген РСВ, 1 тест — иммунохроматографическим методом.

Положительный результат на РСВ инфекцию был зарегистрирован у 1 пациента (анализ был выполнен иммунохроматографическим экспресс-тестом). Таким образом, доля госпитализированных детей с подтвержденной РСВ инфекцией составила 0,3% (95% ДИ 0,0–1,5). Данным пациентом являлся мальчик с БЛД, родившийся преждевременно — на 27-й нед беременности, возраст ребенка на момент включения в исследование составлял 2 мес (исследовательский центр в Челябинске). Иммунопрофилактика данному пациенту проводилась с декабря 2014 г.: ребенок получил 3 инъекции паливизумаба, при этом последняя доза была введена за 15 дней до госпитализации. Общая продолжительность госпитализации составила 46 дней, 35 из которых пациент провел в отделении интенсивной терапии; дополнительный кислород подавался в течение 30 дней. Искусственная вентиляция легких данному ребенку не проводилась. После лечения пневмония, вызванная РСВ инфекцией, разрешилась.

Нежелательные явления

В ходе исследования нежелательные явления наблюдались у 19/359 (5,3%) детей; всего в период от начала

иммунопрофилактики был зарегистрирован 41 случай побочных эффектов. Наиболее часто регистрировались нежелательные явления из группы инфекционных и паразитарных заболеваний (17 пациентов; 4,7%), среди которых преобладали вирусная инфекция дыхательных путей (у 7), пневмония и бронхит (5 пациентов в каждой нозологии), ринит (у 3), бронхиальная пневмония, острый отит, острый пиелонефрит и вирусная инфекция (2 пациента в каждой нозологии). Второй по распространенности группой нежелательных явлений были нарушения со стороны дыхательной системы, органов грудной клетки и средостения (4 пациента; 1,1%), включая 2 случая бронхолегочной дисплазии. У 3 (0,8%) пациентов отмечались нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта и у такого же числа детей — нарушения со стороны нервной системы.

Серьезные нежелательные явления были зарегистрированы у 17/359 (4,7%) пациентов; всего указанным критериям соответствовало 31 нежелательное явление из 41, наблюдавшегося за весь период исследования. Наиболее частыми серьезными нежелательными явлениями были вирусная инфекция дыхательных путей (6 пациентов; 1,7%), пневмония и бронхит (5 пациентов, 1,4% в каждой из двух нозологий). Четверо (1,1%) пациентов умерли во время исследования: у двух из них была зарегистрирована пневмония, у одного — острый панкреонекроз, у другого — гипоксически-ишемическая энцефалопатия. Ни один из летальных исходов не был связан с РСВ инфекцией.

Девять случаев побочных эффектов были расценены как связанные с применением паливизумаба, из них 8 отнесены к серьезным нежелательным явлениям (все перечисленные за исключением апноэ). Всего связанные с препаратом нежелательные явления были зарегистрированы в 3/359 (0,8%) случаях: у 1 пациента наблюдались пневмония и бронхит, у 1 — вирусная инфекция дыхательных путей, БЛД, кашель, одышка, снижение аппетита и летаргия, у 1 — апноэ. Ни одно из нежелательных явлений, связанных с применением препарата, не привело к летальному исходу.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

На фоне профилактического назначения паливизумаба детям раннего возраста из групп высокого риска по развитию тяжелой инфекции наблюдалась низкая частота госпитализаций с подтвержденным диагнозом РСВ инфекции. Препарат продемонстрировал благоприятный профиль безопасности и хорошую переносимость.

Обсуждение основного результата исследования

Целью данного исследования являлась оценка влияния иммунопрофилактики паливизумабом на частоту госпитализаций и смертность в связи с РСВ-ассоциированной ИНДП, продолжительность госпитализации и пребывания в отделении ОИТ, потребность в дополнительном кислороде и искусственной вентиляции легких, развитие сопутствующих заболеваний, а также изучение приверженности рекомендуемой схеме назначения препарата в реальной клинической практике. Исследование проводилось в период эпидемического сезона РСВ с октября 2014 г. по февраль 2015 г. в исследовательских центрах, расположенных в европейской части России и Западной Сибири. Из 359 детей раннего возраста, включенных в исследование, большинство получали иммунопрофилакти-

¹ Согласно инструкции к применению препарата и Федеральным клиническим рекомендациям по ведению данной категории пациентов, в течение эпидемического сезона респираторной синцитиальной вирусной инфекции необходимо введение от 3 до 5 инъекций паливизумаба. Одной из причин невыполнения полного курса иммунизации была проблема с лекарственным обеспечением.

ку паливизумабом в связи с недоношенностью (46,3%) или бронхолегочной дисплазией (41,2%), меньшая доля детей (12,5%) — в связи с гемодинамически значимым ВПС.

Данное исследование в повседневной клинической практике продемонстрировало низкую приверженность рекомендуемой схеме профилактического назначения паливизумаба. Более чем для половины пациентов (206/359; 57,4%) иммунопрофилактика паливизумабом была досрочно прекращена в связи с тем, что указанное в протоколе исследования минимальное количество доз, равное 3, было истолковано как требуемое общее количество доз. У 80/359 (22,3%) детей как минимум одна инъекция паливизумаба была выполнена с нарушением графика введения (пропуск введения или задержка более чем 10 дней). Вместе с тем большинство пациентов (86,9%) в течение эпидемического сезона РСВ инфекции получили три или более инъекции препарата.

В целом, по причине развития ИНДП за период исследования были госпитализированы 11 детей (3,1%; 95% ДИ 1,5–5,4). Из 9 выполненных лабораторных анализов на РСВ положительный результат был зарегистрирован у 1 пациента, и, соответственно, частота госпитализаций в связи с подтвержденной РСВ инфекцией составила 0,3% (1/359), что ниже, чем в исследовании Impact-RSV (4,8%) [17] и публикации Т. Feltes и соавт. (5,3%) [18]. Вместе с тем результаты исследования были сопоставимы с данными, полученными в рамках других клинических исследований. Так, частота РСВ-ассоциированной госпитализации варьировала от 0 до 5,3% в рандомизированных исследованиях и от 0 до 7,6% в проспективных несравнительных исследованиях и наблюдательных программах (регистрах) [16]. Кроме того, недавний обзор эффективности и безопасности паливизумаба по результатам трех клинических исследований, выполненных в российских исследовательских центрах во время эпидемических сезонов РСВ 2005–2010 гг., показал, что среди 176 пациентов, включенных в число участников, не было зарегистрировано ни одного случая госпитализации в связи с РСВ инфекцией [25].

Единственным пациентом, госпитализированным в связи с подтвержденной РСВ инфекцией, был преждевременно рожденный мальчик с бронхолегочной дисплазией, которому было выполнено 3 инъекции паливизумаба. Продолжительность госпитализации данного пациента составила 46 дней, 35 из которых он провел в ОИТ. Искусственная вентиляция легких для пациента не применялась, а дополнительный кислород подавался в течение 30 дней. Наблюдательный характер данного исследования не позволяет провести сравнительный анализ, однако в ранее выполненных исследованиях была показана тенденция к сокращению сроков госпитализации и снижению потребности в дополнительном кислороде, а также необходимости пребывания в ОИТ и/или искусственной вентиляции легких у пациентов, получавших паливизумаб, по сравнению с пациентами, которым назначали плацебо.

В целом иммунопрофилактика паливизумабом хорошо переносилась участниками исследования. Всего в ходе исследования нежелательные явления были зарегистрированы в 19/359 (5,3%) случаях; не отмечалось нежелательных явлений, превышающих по частоте 5%. Наиболее распространенными нежелательными явлениями были вирусная инфекция дыхательных путей, пневмония, бронхит и ринит. Эти данные схожи с результатами по безопасности, полученными в рамках других исследований паливизумаба. В ходе исследования

не наблюдалось нежелательных явлений, приводящих к преждевременному прекращению иммунопрофилактики препаратом. Из 41 зарегистрированного нежелательного явления 33 были признаны серьезными, из них 8 — связанными с применением изучаемого препарата. В период исследования зарегистрированы 4 летальных исхода, ни один из которых не был связан с применением препарата или РСВ инфекцией. Доля детей, у которых, по мнению исследователя, нежелательные явления были связаны с применением паливизумаба, составила 0,8% (3 ребенка), что ниже, чем по итогам базовых зарубежных рандомизированных плацебоконтролируемых клинических исследований (11% в исследовании Impact-RSV [17] и 7,2% в исследовании Т. Feltes и соавт. [18]).

Ограничения исследования

Следует отметить, что данное исследование имеет ряд ограничений. Так, приблизительно у 57% детей наблюдалось досрочное прекращение иммунопрофилактики паливизумабом. В то же время примерно 87% из них получили три или более инъекции и около 84% не имели прерываний или более чем 10-дневных задержек в назначении препарата. Учитывая, что протоколом исследования рекомендовалось выполнение как минимум трех инъекций паливизумаба, предполагается, что вышеописанный фактор не оказал существенного влияния на результаты исследования. Однако стоит отметить, что ретроспективные исследования показали более высокий риск РСВ-ассоциированной госпитализации среди детей с частичным соблюдением рекомендуемой схемы иммунопрофилактики паливизумабом по сравнению с детьми, которые получили полный курс препарата [26, 27]. В связи с тем, что данное исследование являлось наблюдательным и не включало группу контроля, не представлялось возможным провести сравнительный анализ эффективности препарата. Вместе с тем в рандомизированных клинических исследованиях было показано, что частота РСВ-ассоциированной госпитализации при назначении плацебо составляла от 4,7 до 10,6%, что значительно выше значения 0,3%, полученного для паливизумаба в представленной работе. Другим ограничением были особенности лабораторно-диагностического обследования в ходе исследования. Только у 9 из 11 госпитализированных детей были выполнены диагностические тесты на РСВ инфекцию. Наиболее распространенным методом анализа являлся экспресс-тест на антигены РСВ, чувствительность которого оценивается как умеренная. Кроме того, применение паливизумаба может влиять на результаты диагностических иммунологических тестов на РСВ, таких как тесты, основанные на определении антигена. Два данных фактора могли стать причиной получения ложноотрицательных результатов. Поскольку данное исследование являлось наблюдательным, процедуры забора образцов и проведения анализа на РСВ не были стандартизированы. В результате значения, полученные в рамках представленной работы, могут быть заниженными по сравнению с реальной частотой госпитализации в связи с РСВ инфекцией.

Заключение

Данное наблюдательное проспективное исследование с участием детей групп высокого риска развития тяжелой РСВ инфекции (грудные дети в возрасте ≤6 мес, рожденные на ≤35-й нед беременности, и дети раннего

возраста ≤ 24 мес с БЛД или ВПС) продемонстрировало низкую частоту РСВ-ассоциированной госпитализации (1/359; 0,3%) при иммунопрофилактике паливизумабом. Терапия препаратом хорошо переносилась и имела благоприятный профиль польза/риск, однако отмечалась низкая приверженность рекомендуемой схеме профилактического назначения паливизумаба. Необходимы дальнейшие проспективные исследования с целью оценки эффективности препарата в повседневной клинической практике у детей групп высокого риска с другими медицинскими состояниями.

Источник финансирования

Дизайн, проведение и финансовая поддержка исследования обеспечивались компанией AbbVie Inc. Компания AbbVie Inc. участвовала в интерпретации данных, их проверке и одобрении данной статьи.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтверждают участие в исследовании, которое спонсировала компания AbbVie Inc.

ЛИТЕРАТУРА

- Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Kasel JA. Risk of primary infection and reinfection with respiratory syncytial virus. *Am J Dis Child.* 1986;140(6):543–546. doi: 10.1001/archpedi.1986.02140200053026.
- Hall CB. Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus. *New Engl J Med.* 2001;344(25):1917–1928. doi: 10.1056/NEJM200106213442507.
- Yanney M, Vyas H. The treatment of bronchiolitis. *Arch Dis Child.* 2008;93(9):793–798. doi: 10.1136/adc.2007.128736.
- Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, et al. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. *JAMA.* 2003;289(2):179–186. doi: 10.1001/jama.289.2.179.
- Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet.* 2012;380(9859):2095–2128. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61728-0.
- Nair H, Nokes DJ, Gessner BD, et al. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2010;375(9725):1545–1555. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60206-1.
- Tatochenko V, Uchaikin V, Gorelov A, et al. Epidemiology of respiratory syncytial virus in children ≤ 2 years of age hospitalized with lower respiratory tract infections in the Russian Federation: a prospective, multicenter study. *Clin Epidemiol.* 2010;2:221–227. doi: 10.2147/CLEP.S12279.
- Law BJ, Carbonell-Estrany X, Simoes EA. An update on respiratory syncytial virus epidemiology: a developed country perspective. *Respir Med.* 2002;96(Suppl B):S1–S7. doi: 10.1053/rmed.2002.1294.
- Simoes EA. Respiratory syncytial virus infection. *Lancet.* 1999;354(9181):847–852. doi: 10.1016/S0140-6736(99)80040-3.
- Figueras-Aloy J, Carbonell-Estrany X, Quero J; IRIS Study Group. Case-control study of the risk factors linked to respiratory syncytial virus infection requiring hospitalization in premature infants born at a gestational age of 33–35 weeks in Spain. *Pediatr Infect Dis J.* 2004;23(9):815–820. doi: 10.1097/01.inf.0000136869.21397.6b.
- Law BJ, Langley JM, Allen U, et al. The Pediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada study of predictors of hospitalization for respiratory syncytial virus infection for infants born at 33 through 35 completed weeks of gestation. *Pediatr Infect Dis J.* 2004;23(9):806–814.
- Цыбалова Л.М., Смородинцева Е.А., Карпова Л.С., и др. Значение РС-вирусной инфекции в эпидемиологии и этиологии ОРВИ у детей младшего возраста // *Лечащий врач.* — 2015. — №4 — С. 56. [Cybalova LM, Smorodintseva EA, Karpova LS, et al. The role of RSV disease in the epidemiology and etiology of acute respiratory viral infections in young children. *Practitioner.* 2015;(4):56. (In Russ.)]
- Kamal-Bahl S, Doshi J, Campbell J. Economic analyses of respiratory syncytial virus immunoprophylaxis in high-risk infants: a systematic review. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2002;156(10):1034–1041. doi: 10.1001/archpedi.156.10.1034.
- Johnson S, Oliver C, Prince GA, et al. Development of a humanized monoclonal antibody (MEDI-493) with potent in vitro and in vivo activity against respiratory syncytial virus. *J Infect Dis.* 1997;176(5):1215–1224. doi: 10.1086/514115.
- Checchia PA, Nalysnyk L, Fernandes AW, et al. Mortality and morbidity among infants at high risk for severe respiratory syncytial virus infection receiving prophylaxis with palivizumab: a systematic literature review and meta-analysis. *Pediatr Crit Care Med.* 2011;12(5):580–588. doi: 10.1097/PCC.0b013e3182070990.
- Wegzyn C, Toh LK, Notario G, et al. Safety and effectiveness of palivizumab in children at high risk of serious disease due to respiratory syncytial virus infection: a systematic review. *Infect Dis Ther.* 2014;3(2):133–158. doi: 10.1007/s40121-014-0046-6.
- The IMPact-RSV Study Group. Palivizumab, a humanized respiratory syncytial virus monoclonal antibody, reduces hospitalization from respiratory syncytial virus infection in high-risk infants. *Pediatrics.* 1998;102(3 Pt 1):531–537. doi: 10.1542/peds.102.3.531.
- Feltes TF, Cabalka AK, Meissner HC, et al. Palivizumab prophylaxis reduces hospitalization due to respiratory syncytial virus in young children with hemodynamically significant congenital heart disease. *J Pediatr.* 2003;143(4):532–540. doi: 10.1067/S0022-3476(03)00454-2.
- Pedersen O, Herskind AM, Kamper J, et al. Rehospitalization for respiratory syncytial virus infection in infants with extremely low gestational age or birthweight in Denmark. *Acta Paediatr.* 2003;92(2):240–242. doi: 10.1111/j.1651-2227.2003.tb00533.x.
- Simon A, Ammann RA, Wilkesmann A, et al. Respiratory syncytial virus infection in 406 hospitalized premature infants: results from a prospective German multicentre database. *Eur J Pediatr.* 2007;166(12):1273–1283. doi: 10.1007/s00431-007-0426-y.
- Lacaze-Masmonteil T, Roze JC, Fauroux B. Incidence of respiratory syncytial virus-related hospitalizations in high-risk children: follow-up of a national cohort of infants treated with Palivizumab as RSV prophylaxis. *Pediatr Pulmonol.* 2002;34(3):181–188. doi: 10.1002/ppul.10175.
- Frogel M, Nerwen C, Cohen A, et al. Prevention of hospitalization due to respiratory syncytial virus: results from the Palivizumab Outcomes Registry. *J Perinatol.* 2008;28(7):511–517. doi: 10.1038/jp.2008.28.
- Oh PI, Lanctôt KL, Yoon A, et al. Palivizumab prophylaxis for respiratory syncytial virus in Canada: utilization and outcomes. *Pediatr Infect Dis J.* 2002;21(6):512–518. doi: 10.1097/00006454-200206000-00007.
- Mitchell I, Paes B, Li A, Lanctot KL; CARESS investigators. CARESS: the Canadian registry of palivizumab. *Pediatr Infect Dis J.* 2011;30(8):651–655. doi: 10.1097/INF.0b013e31821146f7.
- Намазова-Баранова Л.С., Турти Т.В., Кешишян Е.С., и др. Безопасность и эффективность применения паливизумаба у детей с высоким риском тяжелой респираторно-синцитиальной вирусной инфекции в Российской Федерации // *Фарматека.* — 2016. — №1 — С. 43–50. [Namazova-Baranova LS, Turti TV, Keshishyan ES, et al. Safety and efficacy of use of palivi-

- zumab in children with high risk of severe respiratory syncytial viral infection in the Russian Federation. *Farmateka*. 2016;(1):43–50. (In Russ.)
26. Krilov LR, Masaquel AS, Weiner LB, et al. Partial palivizumab prophylaxis and increased risk of hospitalization due to respiratory syncytial in a Medicaid population: a retrospective cohort analysis. *BMC Pediatr*. 2014;14:261. doi: 10.1186/1471-2431-14-261.
27. Stewart DL, Ryan KJ, Seare JG, et al. Association of RSV-related hospitalization and non-compliance with palivizumab among commercially insured infants: a retrospective claim analysis. *BMC Infect Dis*. 2013;13:334. doi: 10.1186/1471-2334-13-334.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Чубарова Антонина Игоревна, доктор медицинских наук, профессор, главный врач Детской городской клинической больницы № 13 имени Н.Ф. Филатова, профессор Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова

Адрес: 103001, Москва, ул. Садовая-Кудринская, д. 15, тел.: +7 (499) 254-52-92, e-mail: ach-12@yandex.ru

Давыдова Ирина Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением восстановительного лечения детей раннего возраста с перинатальной патологией ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, тел.: +7 (499) 134-01-67, e-mail: davydova@nczd.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-7780-6737>

Виноградова Ирина Валерьевна, доктор медицинских наук, профессор, главный врач Президентского перинатального центра

Адрес: 141112, Московская область, Щелково, ул. Парковая, д. 6, e-mail: vinir1@rambler.ru

Дегтярёва Елена Александровна, доктор медицинских наук, профессор, главный врач Детской инфекционной клинической больницы № 6, профессор кафедры педиатрии Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова

Адрес: 125438, Москва, 3-й Лихачевский пер., д. 2Б, тел.: +7 (499) 153-41-04, e-mail: dib6@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-4865-732X>

Кешишян Елена Соломоновна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель Центра коррекции развития детей раннего возраста Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтишева

Адрес: 125412, Москва, ул. Талдомская, д. 2, тел.: +7 (495) 487-52-05, e-mail: ekeshishian@list.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-6268-7782>

Сафина Асия Ильдусовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой педиатрии и неонатологии Казанской государственной медицинской академии

Адрес: 420034, Казань, ул. Муштари, д. 11, тел.: +7 (843) 562-52-66, e-mail: safina_asia@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3261-1143>

Нестеренко Элина Викторовна, заместитель главного врача по поликлинической помощи Городского клинического перинатального центра

Адрес: 644007, Омск, ул. Красных Зорь, д. 54 В, тел.: +7 (812) 36-37-46, e-mail: nesterenkoelina@mail.ru

DOI: 10.15690/vramn856

А.С. Луценко, Ж.Е. Белая, Е.Г. Пржихалковская, Г.А. Мельниченко

Эндокринологический научный центр, Москва, Российская Федерация

МикроРНК и их значение в патогенезе СТГ-продуцирующих аденом гипофиза

МикроРНК — это малые некодирующие молекулы РНК, состоящие из 19–25 нуклеотидов, которые осуществляют регуляцию экспрессии генов путем воздействия на матричную РНК. В настоящее время появляется все больше данных о вкладе микроРНК в патогенез различных заболеваний, особенно опухолевых. Изменения в их экспрессии отмечаются при многих патологических состояниях, а устойчивость внеклеточных микроРНК к внешним воздействиям делает их перспективными кандидатами для использования в качестве биомаркеров. Аденомы гипофиза являются частыми интракраниальными образованиями, клиническая картина которых разнообразна и зависит от гормональной активности и особенностей роста опухоли. На дооперативном этапе спрогнозировать агрессивность течения заболевания и оценить возможность применения консервативного лечения бывает тяжело в связи с отсутствием неинвазивных опухолевых биомаркеров. Опубликовано большое количество исследований, посвященных экспрессии микроРНК в аденомах гипофиза с различной гормональной активностью и их связи с патогенетическими механизмами, что отражает интерес к данной области. В данном обзоре подробно рассмотрены результаты исследований по экспрессии микроРНК в СТГ-продуцирующих аденомах гипофиза и их возможная роль в патогенезе акромегалии.

Ключевые слова: микроРНК, акромегалия, аденома гипофиза, октреотид, ланреотид.

(Для цитирования: Луценко А.С., Белая Ж.Е., Пржихалковская Е.Г., Мельниченко Г.А. МикроРНК и их значение в патогенезе СТГ-продуцирующих аденом гипофиза. *Вестник РАМН*. 2017;72 (4):290–298. doi: 10.15690/vramn856)

290

Введение

Эпигенетика — стремительно развивающееся научное направление, изучающее регуляцию экспрессии генов без вмешательства в нуклеотидные последовательности. В настоящее время известно несколько механизмов такой регуляции: ДНК-метилирование, модификации гистонов, ремоделирование хроматина и системы некодирующих молекул РНК [1].

Характеристика микроРНК

Определение

МикроРНК — это малые некодирующие молекулы РНК (длиной 19–25 нуклеотидов), участвующие в пост-транскрипционной регуляции экспрессии генов [2]. Первые они были описаны у нематод *Caenorhabditis elegans* в 1997 г. Первая микроРНК у человека — *let-7* — была открыта в 2000 г. В 2007 г. микроРНК впервые обнаружены

в периферической циркуляции [3]. С момента открытия микроРНК у человека было описано более 1500 представителей этого класса молекул: они принимают участие во многих биологических процессах — апоптозе, пролиферации, дифференцировке клеток и метастазировании опухолей [4].

Биогенез

Последовательности, кодирующие микроРНК, расположены по всему геному и делятся на интронные (расположенные внутри белоккодирующих генов) и межгенные [5]. Межгенные последовательности транскрибируются через собственный промотор (РНК-полимеразой II), а интронные — либо промотором гена, в котором они находятся (РНК-полимеразой II), либо через собственный промотор (РНК-полимеразой III) [6].

Биосинтез начинается с транскрипции в ядре и образования первичной микроРНК (*pri*-микроРНК). Первичная микроРНК представлена шпильчатой структурой длиной от двухсот до нескольких тысяч нуклеотидов

A.S. Lutsenko, Z.E. Belaya, E.G. Przhiyalkovskaya, G.A. Mel'nichenko

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

MicroRNA: Role in GH-Secreting Pituitary Adenoma Pathogenesis

MicroRNA presents small (19–25 nucleotides long) non-coding RNA molecules which regulate gene expression on post-transcriptional level. Numerous studies revealed microRNA's important role in physiological processes. Moreover, its aberrant expression has been described in many pathological conditions including pituitary tumors. Pituitary adenomas are benign intracranial tumors with various clinical presentations depending on the type of hormone secretion. Prediction of the pituitary adenoma aggressive level and treatment response is challenging due to the lack of reliable clinical predictors or non-invasive biomarkers. MicroRNAs in body fluids could potentially be a minimally invasive biomarker for tumor diagnosis and a predictor of treatment response and prognosis. Some studies reveal that microRNA is specific for a different pituitary adenoma subtypes. In the article, we review existing evidence on microRNA expression in GH-secreting tumors and its possible involvement in pathogenesis of somatotroph tumors.

Key words: microRNA, pituitary adenoma, acromegaly, octreotide, lanreotide.

(For citation: Lutsenko AS, Belaya ZE, Przhiyalkovskaya EG, Mel'nichenko GA. MicroRNA: Role in GH-Secreting Pituitary Adenoma Pathogenesis. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017;72 (4):290–298. doi: 10.15690/vramn856)

[2]. Далее рибонуклеаза III (фермент *Drosha*) разрезает двухцепочечную молекулу *pri*-микроРНК с образованием предшественников микроРНК (*pre*-микроРНК). *Pre*-микроРНК связывается с транспортным белком экспортином 5 и переносится в цитоплазму [7].

В цитоплазме *pre*-микроРНК подвергается процессингу другой рибонуклеазой III — *Dicer*. В результате процессинга образуется дуплекс микроРНК — микроРНК*, который связывается с Ago2 — белком семейства Argonaute. Из двух цепей РНК только одна (ведущая) остается связанной с Ago2, тогда как другая («пассажирская») диссоциирует от комплекса и деградирует. Выбор ведущей цепи определяется структурой дуплекса: большую вероятность остаться в комплексе с Ago2 имеет цепь, несущая неспаренный участок на своем 5'-конце. Комплекс Ago2 с единичной цепью РНК и с белком GW182 обозначается как микроРНК-индуцируемый комплекс (miRNA-induced silencing complex, miRISC) [8].

Сайленсинг генов-мишеней

По разным данным, микроРНК могут регулировать до 30–50% всех белоккодирующих генов путем сайленсинга — подавления экспрессии генов-мишеней без изменения последовательности нуклеотидов [9–11]. Определенная микроРНК потенциально имеет несколько генов-мишеней, а один ген может регулироваться несколькими микроРНК [12].

Регуляция экспрессии основана на связывании miRISC с комплементарными участками 3'- или 5'-нетранслируемых регионов мРНК (3'UTR, 5'UTR) и осуществляется тремя путями — репрессией трансляции, деаденилированием мРНК (при наличии частичной комплементарности seed-региона микроРНК и мРНК) и разрезании мРНК (при полной комплементарности). Все три механизма приводят к снижению трансляции белка-мишени [7, 13].

Поскольку микроРНК в большинстве случаев вызывает деградацию целевой матричной РНК или ингибирование трансляции белка, как правило, наблюдается обратная зависимость между уровнем экспрессии микроРНК и ее мишенями на уровне РНК и белков [14].

Внеклеточные микроРНК

Помимо регуляции внутри клетки микроРНК могут поступать за ее пределы и осуществлять свои функции в других клетках [15]. Они обнаруживаются в различных биологических жидкостях у человека, включая кровь, мочу, слюну, спинномозговую жидкость [16].

Вне клетки микроРНК находятся в крови в различных формах [17–19]:

- в мембранных везикулах (экзосомах, микровезикулах), которые защищают их от циркулирующих рибонуклеаз;
- связанные с транспортными белками, такими как белки семейства Argonaute;
- внутри макромолекулярных комплексов, например в липопротеинах высокой плотности.

В настоящее время назначение экзосом и микровезикул изучено не полностью. По данным имеющихся исследований, экзосомы играют важную роль в межклеточном взаимодействии в рамках реакций иммунитета [20] и в биологии опухолей [21, 22].

Внеклеточные микроРНК относительно устойчивы к внешним воздействиям — ферментному расщеплению, замораживанию и разморозке, колебаниям pH, что открывает возможность их использования в качестве биомаркеров [3, 23].

Определение мишеней микроРНК

Поиск генов-мишеней, по сути, является путем к пониманию функций микроРНК. В алгоритмах определения часто используются расчетные методы (*in silico*), во многом потому что они быстрее и дешевле экспериментальных методов [24].

Расчетные методы

Большинство алгоритмов данной категории основано на поиске комплементарности между искомым микроРНК и 3'-нетранслируемым регионом матричной РНК с учетом seed-региона микроРНК [25]. Наиболее часто применяются следующие инструменты: PicTar, miRanda, TargetScanS, DIANA-microT и RNAhybrid. PicTar и TargetScanS описываются как наиболее точные, частота ложноположительных результатов — около 20–30%. Несмотря на то, что в данных программах используются разные критерии поиска, результаты идентичны в 80–90% случаев [26].

Экспериментальные методы и верификация мишеней

Для экспериментального определения целей и их проверки используется множество методов: Northern blot, гибридизация *in situ*, полимеразная цепная реакция в реальном времени (или количественная ПЦР, Quantitative Polymerase Chain Reaction, qRT-PCR), микроРНК микрочип, секвенирование нового поколения [27].

Для верификации взаимодействия микроРНК и целевой матричной РНК на первом этапе часто используют репортерные гены, кодирующие люциферазу. В большинстве случаев 3'-некодируемый регион предполагаемой цели микроРНК встраивают в репортерный ген. Затем конструкция вместе с пре-микроРНК путем трансфекции попадает в клетку. Если изучаемая микроРНК в сравнении с контрольной микроРНК, не имеющей связи с репортерным геном, изменяет сигнал люциферазы, то распознавание мишени состоялось [28]. При наличии определенных преимуществ данный метод не лишен недостатков, которые могут приводить к ложноположительным и ложноотрицательным результатам: использование фрагмента целевого 3'UTR, возможное воздействие репортерного гена на структуру 3'UTR, а также создание высоких внутриклеточных концентраций комплементарных молекул в ходе трансфекции могут способствовать формированию нефизиологических взаимодействий [29]. Принимая во внимание имеющиеся данные, можно сделать вывод о необходимости подтверждения данных, полученных с помощью репортерных генов.

Если целевой транскрипт регулируется предполагаемой микроРНК, повышение экспрессии данной микроРНК должно приводить к снижению экспрессии целевого гена. Повысить экспрессию микроРНК возможно путем использования пре-микроРНК, вирусных микроРНК, плазмид, кодирующих микроРНК, или применяя клеточные линии, стабильно экспрессирующие повышенное количество микроРНК.

МикроРНК и опухоли

Через воздействие на гены-мишени микроРНК участвуют в регуляции многих физиологических и патологических процессов, в том числе связанных с онкогенезом: они могут выступать либо в качестве онкосупрессоров, либо онкогенов [27]. Потенциально микроРНК могут

использоваться для диагностики кардиоваскулярных [30, 31], онкологических [32–34] заболеваний и метаболических заболеваний скелета [35]. Кроме того, микроРНК — уникальные кандидаты для таргетной терапии, так как они обладают возможностью воздействовать на многие молекулы одного сигнального пути одновременно. Возможность их регуляции может способствовать развитию новых подходов к лечению различных заболеваний [24].

МикроРНК и аденомы гипофиза

Опухоли гипофиза — как правило, доброкачественные, интракраниальные образования (аденомы). Их доля среди всех опухолей головного мозга — около 10–15% [36]. Диагноз карциномы гипофиза устанавливается крайне редко и только при наличии отдаленных метастазов, при этом некоторые аденомы гипофиза могут быть крайне агрессивными [37]. Они могут иметь как эндокринные, так и неэндокринные проявления [14]. Помимо симптомов, связанных с гиперпродукцией гормонов, аденомы гипофиза могут приводить к нарушениям, обусловленным ростом и инвазией опухоли в пазухи и в паренхиму головного мозга, компрессией структур мозга и черепных нервов [37].

В настоящее время патогенез опухолей гипофиза изучен не окончательно. Наиболее признанная теория — о генетическом нарушении, которое вызывает неопластическую трансформацию клеток гипофиза, что приводит к формированию гиперплазии и появлению клона опухоли при присоединении активирующих нарушений [38]. Количество данных по новым генам, связанным с патогенезом опухолей гипофиза, увеличивается с каждым годом, что отражает большой интерес к данной области [39]. Наиболее частыми изменениями, наблюдаемыми в 80% аденом гипофиза, являются нарушения регуляторов клеточного цикла. Имеются данные о нарушении экспрессии белков протеинкиназы С-дельта [40], а также циклинов, ингибиторов циклинзависимых киназ, pRb [41]. Кроме того, описывается множество онкогенов (*GNAS*, *PI3KCA*, *PTTG*), онкосупрессорных генов (*GADD45*, *AIP*, *MEN1*, *PRLARIA*, *Reprimo*), структурных белков (*Magma*) и эпигенетических модификаций генов (*FGFR2*, *MEGE-A*, *MEG3*), которые связаны с развитием и прогрессией аденом гипофиза [42, 43].

В настоящее время появляются данные о нарушении экспрессии микроРНК в аденомах гипофиза, их взаимосвязи с гистологическим типом опухоли, характеристиками (размер, инвазия) и ответом на лечение. Также была продемонстрирована связь между экспрессией микроРНК и генами, участвующими в патогенезе аденом гипофиза [44–52].

Акромегалия

Рядом авторов подчеркивается важность изучения экспрессии микроРНК, специфичных для определенных гистотипов аденом [14, 37, 39]. В данном обзоре мы обобщаем данные исследований по экспрессии микроРНК в аденомах гипофиза, секретирующих соматотропный гормон (СТГ), при которых развивается акромегалия.

Акромегалия —тяжелое нейроэндокринное заболевание, обусловленное хронической гиперпродукцией гормона роста (соматотропина, СТГ) у лиц с законченным физиологическим ростом и характеризующееся патологическим диспропорциональным периостальным ростом костей, хрящей, мягких тканей, внутренних органов, а также нарушением морфофункционального

состояния сердечно-сосудистой, легочной системы, периферических эндокринных желез, различных видов метаболизма [53].

По данным различных эпидемиологических исследований, заболеваемость акромегалией составляет около 60–85 случаев на 1 млн человек [54–56]. Причиной в большинстве случаев является СТГ-секретирующая опухоль гипофиза [56].

У пациентов с активной акромегалией повышен риск летальных исходов: стандартизованный коэффициент смертности составляет 0,94–2,5. Данный показатель снижается до популяционных значений (0,44–1,13) при достижении биохимической ремиссии заболевания [57–59].

Ключевыми целями в ведении пациентов с акромегалией являются ранняя диагностика, радикальное лечение и контроль коморбидных состояний [57].

МикроРНК и соматотропиномы

В данном разделе мы подробно остановимся на существующих данных по экспрессии микроРНК в СТГ-продуцирующих аденомах гипофиза.

Различия в экспрессии между соматотропиномами и нормальной тканью гипофиза

Известно, что экспрессия некоторых микроРНК изменена по сравнению с нормальной тканью гипофиза. В первом исследовании по экспрессии микроРНК в аденомах гипофиза, проведенном A. Bottoni и соавт., выявлено снижение экспрессии miR-15a и miR-16-1 в аденомах по сравнению с нормальной тканью гипофиза [45]. Изменения экспрессии микроРНК в тканях соматотропином в различных исследованиях сведены в табл. 1. D'Angelo и соавт. получили данные с помощью miRNA CHIP: экспрессия восемнадцати микроРНК была снижена в соматотропиномах более чем в 2 раза, экспрессия одной микроРНК (miR-320) была значительно повышена — в 13,3 раза. Для проверки полученных результатов проанализирована экспрессия 9 микроРНК (miR-34b, miR-326, miR-374b, miR-432, miR-548c-3p, miR-570, miR-603, miR-633, miR-320) методом количественной ПЦР (qRT-PCR). Для этой части исследования было взято 18 образцов соматотропином. Полученные данные подтвердили результаты исследования на микрочипе: экспрессия 8 указанных микроРНК была снижена, однако экспрессия miR-320 была повышена только в 9 из 18 образцов [60]. В 2013 г. T. Palumbo и соавт. исследовали профиль микроРНК в соматотропиномах, которые развиваются на фоне гиперплазии маммосоматотрофов. Первый этап, проведенный при помощи микрочипа TaqMan microRNA (Applied Biosystems, Фостер-Сити, Калифорния, США), позволил определить повышение экспрессии 5 микроРНК (miR-26b, miR-26a, miR-212, miR-107, miR-103) и снижение экспрессии 12 микроРНК (miR-125b, miR-141, miR-144, miR-164, miR-145, miR-143, miR-15b, miR-16, miR-186, let-7b, let-7a3, miR-128). Вторым этапом проведена проверка полученных данных методом количественной ПЦР (qRT-PCR): наиболее повышена экспрессия miR-26b (в 6 раз) и miR-212 (в 4 раза); наиболее снижена — let-7a3 (в 6 раз), miR-128 (в 7,5 раз) [61]. V. Leone и соавт. описали снижение экспрессии miR-23b и miR-130b в соматотропиномах [62].

При анализе имеющихся данных можно заметить наличие согласующихся и противоречивых результатов. Согласующиеся данные касаются сниженной экспрессии miR-16 [61, 63], miR-145 [47, 61] и miR-125b [47, 61],

Таблица 1. МикроРНК, экспрессия которых изменена в соматотропинах, в сравнении с нормальной тканью гипофиза

Количество образцов соматотропином	МикроРНК	Экспрессия	Метод	Источник
10	miR-15a, miR-16-1	Снижена	Northern blotting	[46]
21	miR-136, miR-15b, miR-184, miR-194, miR-200c, miR-297, miR-29b-1, miR-32, miR-340, miR-365, miR-378, miR-486-5p, miR-491-3p, miR-519d, miR-525-5p, miR-551a, miR-574-5p, miR-657, miR-662, miR-768-3p, miR-885-5p, miR-890, miR-96	Повышена	miRCURY LNA микрочип, qRT-PCR	[48]
	miR-125b, miR-126, miR-145, miR-17, miR-185, miR-192, miR-193a-3p, miR-193a-5p, miR-200b, miR-302c, miR-30a, miR-30b, miR-31, miR-381, miR-490-5p, miR-503, miR-510, miR-542-3p, miR-552, miR-553, miR-612, miR-617, miR-622, miR-625, miR-637, miR-654-3p, miR-769-5p, miR-801, miR-99b	Снижена		
15	miR-155, miR-93	Повышена	МикроРНК-микрочип, qRT-PCR	[50]
7	miR-134, miR-154, miR-299-5p, miR-323-3p, miR-329, miR-369-5p, miR-370, miR-376c, miR-377, miR-410, miR-431, miR-432	Повышена	qRT-PCR	[51]
9	miR-15, miR-16, miR-26a, miR-196a2, Let-7a	Снижена	qRT-PCR	[64]
12	miR-34b, miR-326, miR-374b, miR-432, miR-548c-3p, miR-570, miR-603, miR-633	Снижена	Микрочип miRNACHIP, qRT-PCR	[61]
7, на фоне гиперплазии маммосоматотрофов	miR-26b, miR-26a, miR-212, miR-107, miR-103	Повышена	TaqMan microRNA, qRT-PCR	[62]
	miR-125b, miR-141, miR-144, miR-164, miR-145, miR-143, miR-15b, miR-16, miR-186, let-7b, let-7a3, miR-128	Снижена		
15	miR-23b и miR-130b	Снижена	qRT-PCR	[63]

противоречивые данные — miR-432 (повышена в работе [50], снижена — в [60]), miR-26a (снижена — в [63], повышена — в [61]), miR-15b (повышена — в [47], снижена — в [61]). Однако следует заметить, что сравнение с данными T. Palumbo и соавт. условно, поскольку в этом исследовании изучались соматотропиномы, возникающие на фоне гиперплазии маммосоматотрофов [61], что может свидетельствовать об особом профиле экспрессии микроРНК в данной группе.

Исходя из представленных данных, можно сделать вывод о наличии значительного количества микроРНК, экспрессия которых изменена в соматотропинах. Однако небольшое количество согласующихся данных указывает на необходимость проведения дальнейших исследований на большем количестве образцов и разработку стандартизованных подходов к определению экспрессии микроРНК.

Размер опухоли

В 2005 г. A. Bottoni и соавт. [45], как было описано выше, установлено изменение экспрессии miR-15a и miR-16-1 в аденомах по сравнению с нормальной тканью гипофиза. Помимо этого, уровень экспрессии этих микроРНК обратно коррелировал с размером опухоли. В исследовании Z.-G. Мао и соавт. [47] продемонстрировано различие в экспрессии 9 микроРНК в макроаденомах в сравнении с микроаденомами: экспрессия miR-184, miR-524-5p, miR-629 и miR-766 повышена, а экспрессия miR-124, miR-222, miR-32, miR-744 и miR-765 снижена. В данном исследовании не было получено корреляции miR-15a и miR-16-1 (выявлено снижение экспрессии

miR-15a в макроаденомах, но $p=0,21$), которую ранее описывали A. Bottoni и соавт. [45].

Гистотип

В 2007 г. A. Bottoni и соавт. [46] сравнили образцы 33 аденом гипофиза (из них 7 соматотропином) с 6 образцами нормальной ткани гипофиза, используя микроРНК-микрочип (microRNA microarray). Изменения экспрессии 29 микроРНК позволяли спрогнозировать гистотип аденомы, однако из 7 соматотропином были правильно определены только 2, 4 определены как пролактиномы, 1 — как кортикотропинома. Авторы указывают на общий признак соматотропином и пролактином: экспрессия miR-23a и miR-24-2 повышена в образцах обоих гистотипов. Полученный результат авторы объясняют общим происхождением СТГ- и пролактинсекретирующих клеток гипофиза (из соматотрофных стволовых клеток) и частой коэкспрессией пролактина (90% из 69 соматотропином). В исследовании G. Trivellini и соавт. [64] при помощи чипа TaqMan Low-Density (TLDA) выявлено 5 микроРНК, экспрессирующихся только в образцах соматотропином (miR-1, miR-760, miR-196b, miR-188-5p, miR-146b-3p), и 3 микроРНК, экспрессирующихся только в СТГ-, пролактинсекретирующих образцах (miR-205, miR-132, miR-523), повышение экспрессии miR-107 выявлено в образцах гормонально-неактивных аденом, но не обнаружено в СТГ-продуцирующих и в СТГ-, пролактинсекретирующих образцах. Однако при проведении исследований методом количественной ПЦР (qRT-PCR) в двух экспериментах выявлено повышение экспрессии в образцах вышеуказанных типов [64].

МикроРНК и чувствительность к лечению

В исследовании Z.-G. Мао и соавт. [47] также были изучены различия в экспрессии микроРНК в зависимости от ответа на лечение ланреотидом (препаратом из группы аналогов соматостатина пролонгированного действия): 15 пациентов получали лечение в течение 4 мес (начальная доза составляла 60 мг / 28 дней) до оперативного лечения; 6 пациентов не получали медикаментозного лечения. Лучевая терапия не проводилась ни у одного пациента. Пациенты, у которых СТГ снижался более чем на 50% после лечения ланреотидом, считались чувствительными к аналогам соматостатина, при снижении менее чем на 50% — нечувствительными. Оценка ответа на лечение ланреотидом проводилась после второй инъекции. В случае нечувствительности к лечению доза увеличивалась до 90 мг / 28 дней, в случае чувствительности — оставалась прежней. Пациенты, нечувствительные к ланреотиду, продолжали получать лечение, так как оно позволяло уменьшить клинические симптомы — головную боль, слабость и отечность. По-разному экспрессировались 13 микроРНК: в образцах пациентов, получавших лечение, экспрессия восьми из них была повышена (miR-183, miR-193a-5p, miR-222, miR-516b, miR-524-5p, miR-601, miR-629, miR-99b), экспрессия пяти — снижена (miR-124, miR-32, miR-574-5p, miR-744, miR-96) по сравнению с образцами пациентов, не получавших ланреотид. Экспрессия 7 микроРНК отличалась в группе чувствительных к терапии по сравнению с группой нечувствительных: экспрессия двух была повышена (miR-125b, miR-886-5p), экспрессия пяти — снижена (miR-125a-5p, miR-198, miR-503, miR-524-5p, miR-630) [47].

В 2015 г. опубликовано исследование X. Fan и соавт. [65], целью которого было изучить экспрессию рецептора соматостатина 2-го типа (SSTR2) и микроРНК в образцах СТГ-продуцирующих аденом гипофиза (20 образцов) и в нормальной ткани гипофиза (7 образцов). Все пациенты, образцы тканей которых были проанализированы, перед оперативным лечением получали ланреотид. Критерии чувствительности к терапии взяты те же, что и в исследовании Z.-G. Мао и соавт. [47]. Обнаружено, что miR-155, miR-185, miR-297, miR-519d, miR-766 и miR-934 сильнее экспрессируются в образцах пациентов, нечувствительных к ланреотиду, по сравнению с образцами чувствительных пациентов. Экспериментально подтверждено, что целью miR-185 является SSTR2, а в группах нечувствительных к терапии экспрессия SSTR2 ниже. Таким образом, предполагается, что ответ на лечение ланреотидом может быть связан не только с экспрессией SSTR2, но и с экспрессией miR-185 [65]. В исследовании J. Denes и соавт. [66] 26 пациентам после операции был назначен октреотид пролонгированного действия, из них 10 пациентов достигли биохимической ремиссии (однако критериев контроля заболевания в данном исследовании не приведено): из группы с низкой экспрессией арил-гидрокарбонового белка-рецептора (Aryl hydrocarbon receptor interacting protein, AIP) — 1 пациент, из группы с высокой экспрессией AIP — 9. Экспрессия miR-34a была ниже в группе пациентов, отвечающих на терапию, по сравнению с группой нечувствительных пациентов. Продемонстрирована обратная зависимость между экспрессией miR-34a и ответом на лечение октреотидом пролонгированного действия. Экспериментально подтверждено, что целью miR-34a является AIP, что может объяснить полученную корреляцию [66].

МикроРНК и агрессивность роста опухолей

Исследования, приведенные в данном разделе, не фокусировались на изменениях, специфичных для со-

матотропином, однако, учитывая долю соматотропином в исследованных образцах, данные работы необходимо упомянуть.

В 2009 г. Z.R. Qian и соавт. [67] изучили взаимосвязь повышенной экспрессии HMG2 и сниженной экспрессии let-7 в 98 образцах аденом гипофиза (28 соматотропином, 5 пролактосоматотропином, 16 пролактином, 18 кортикотропином, 3 тиреотропиномы, 22 гонадотропиномы, 3 «немых» третьего подтипа и 3 аденомы без гормональной активности). Размер и инвазия опухолей оценивалась по радиологическим и интраоперационным данным, а также с использованием модифицированной классификации Hardy и экспрессии Ki-67. Позитивное иммуногистохимическое окрашивание на HMG2 обнаружено только в 7% (2 из 26) образцов СТГ-секретирующих опухолей и отсутствовало в образцах пролактосоматотропином. Экспрессия let-7 оценивалась методом количественной ПЦР (qRT-PCR): 55 образцов аденом гипофиза различных гистотипов в сравнении с 4 образцами нормальной ткани гипофиза. В противоположность другим типам аденом в соматотропиномах не обнаруживалось снижение экспрессии let-7, отмечалось повышение ее экспрессии в 50% образцов. Повышенная экспрессия HMG2 значительно чаще отмечалась в аденомах IV категории по Hardy и была ассоциирована с повышенной экспрессией Ki-67. Отмечена обратная зависимость экспрессии let-7 и HMG2 [67].

В исследовании K. Zhou и соавт. [68] изучалась экспрессия miR-106b и PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10) в аденомах гипофиза. Целью исследования была проверка гипотезы о том, что miR-106b стимулирует пролиферацию клеток и инвазию аденом гипофиза через сигнальный путь PI3K/AKT посредством регулирующего воздействия на экспрессию PTEN. Было отобрано 55 образцов аденом гипофиза — 29 инвазивных и 26 неинвазивных. Инвазия оценивалась по критериям Hardy-Wilson и Knosp. Результаты не разделены по группам гистотипов, однако авторами приведено их соотношение в изученных образцах (12 соматотропином, 9 пролактином, 8 кортикотропином, 26 гормонально неактивных аденом). Для контроля взяты 8 образцов нормальной ткани гипофиза. Используя количественную ПЦР (qRT-PCR), авторами определено, что экспрессия miR-106b значительно повышена в инвазивных аденомах по сравнению с неинвазивными и с нормальной тканью гипофиза. Значительной разницы между неинвазивными опухолями и нормальной тканью не выявлено. Экспрессия PTEN была значительно снижена в инвазивных аденомах по сравнению с неинвазивными аденомами и с нормальной тканью гипофиза. TargetScan определил 3'UTR PTEN как предполагаемую цель miR-106b, экспериментальные методы установления цели позволили подтвердить, что PTEN — прямая мишень miR-106b. В ходе экспериментов с трансфекцией на клеточных культурах AtT-20 авторы установили, что повышенная экспрессия miR-106b не только усиливает пролиферативную активность клеток, но и увеличивает их инвазию путем супрессии PTEN и активации сигнального пути PI3K/AKT. В случае блокирования miR-106b или активации PTEN пролиферативная активность и инвазия клеток снижались [68].

В работе Ch. Yu и соавт. [69] исследована экспрессия и клиническая значимость miR-26a и гена *PLG1* (Pleomorphic Adenoma Gene 1) в инвазивных аденомах гипофиза. Всего для исследования взято 70 образцов аденом гипофиза — 14 кортикотропином, 16 пролактином, 15 соматотропином, 25 гормонально-неактивных аденом. Из

указанных аденом — инвазивных 31, неинвазивных 39; деление по группам осуществлялось по классификации Hardy. Для контроля взято 12 образцов нормальной ткани гипофиза. Анализ экспрессии miR-26a и *PLAG1* проведен методом количественной ПЦР (qRT-PCR): экспрессия miR-26 была значительно повышена в аденомах в целом по сравнению с нормальной тканью гипофиза. В образцах инвазивных аденом экспрессия miR-26a была значительно выше, а мРНК *PLAG1* — значительно ниже по сравнению с образцами неинвазивных аденом. При помощи белкового иммуноблота (Western Blotting) получены согласующиеся результаты. Дальнейший корреляционный анализ установил обратную зависимость между экспрессией miR-26a и матричной РНК *PLAG1*. Значимой взаимосвязи между miR-26 или *PLAG1* и возрастом, полом, размером опухоли или ее подтипом не обнаружено. Высокая экспрессия miR-26a и низкая экспрессия *PLAG1* ассоциированы с неблагоприятным прогнозом течения заболевания. Высокая экспрессия miR-26a увеличивала риск смерти в 1,833 раза в сравнении с тем же показателем у пациентов с низкой экспрессией данной микроРНК. Повышение экспрессии *PLAG1* имело протективный эффект: в этой группе пациентов риск смерти был ниже на 39,7% [69].

МикроРНК и гены-мишени, потенциально связанные с патогенезом соматотропином

Многие из изученных микроРНК регулируют экспрессию генов, связанных с патогенезом соматотропином. МикроРНК и известные гены-мишени в соматотропинах сведены в табл. 2.

Целью miR-16-1 является RARS. Уровень экспрессии данной микроРНК находится в обратной зависимости с экспрессией RARS и в прямой зависимости с секрецией тРНК-взаимодействующего белка р43, который является онкосупрессором [45].

HMGA (High-mobility group A proteins) — группа негистоновых хромосомных белков, регулирующих транскрипцию путем воздействия на структуру хроматина. Белки HMGA1 и HMGA2 участвуют во многих биологических процессах, в том числе в опухолевой трансфор-

мации клеток. Повышение их экспрессии ассоциируется с высокозлокачественным фенотипом и отражает неблагоприятный прогноз [70]. Мишенью miR-326, miR-432 и miR-570 является HMGA2; miR-34b и miR-548c-3p воздействуют на HMGA1 и HMGA2; цель miR-326 и miR-603 — E2F1 [60]. Указанные мишени являются транскрипционными факторами, участвующими в канцерогенезе [70, 71] и связанными с патогенезом аденом гипофиза [42].

AIP — ген-супрессор опухолей, наследственные мутации которого выявляются при семейных изолированных аденомах гипофиза (Familial Isolated Pituitary Adenoma, FIPA) [72]. Несмотря на то, что соматических мутаций AIP не описано [73], приблизительно половина спорадических соматотропином имеет низкую экспрессию AIP; они так же, как и опухоли с экспрессией мутантного AIP, по большей части инвазивны и имеют низкую чувствительность к лечению аналогами соматостатина [74]. G. Trivellini и соавт. экспериментально подтвердили, что miR-107 регулирует экспрессию AIP в спорадических соматотропинах [64]. В исследовании J. Denes и соавт. экспериментально верифицировано, что целью miR-34a является AIP, а уровень экспрессии данной микроРНК обратно коррелирует с ответом на лечение октреотидом пролонгированного действия [66].

Циркулирующие микроРНК у пациентов с соматотропинами

На момент подачи публикации в литературе отсутствовали данные исследований по циркулирующим микроРНК у пациентов с соматотропинами. Однако в исследовании В. Kelly и соавт. [75] изучались профили экспрессии циркулирующих микроРНК в плазме крови у пациентов, получающих рекомбинантный гормон роста и не получающих такого лечения, в том числе у пациентов с акромегалией. Группы определены следующим образом: 6 человек, получающих заместительную терапию рекомбинантным гормоном роста (1–10 нг/кг в сутки, с целевыми показателями инсулиноподобного фактора

Таблица 2. Гены-мишени для микроРНК, экспрессия которых изменена в соматотропинах

МикроРНК	Экспрессия в соматотропинах	Мишень	Клеточная модель для верификации цели	Регулируемый процесс	Источник
miR-107	Повышена	AIP	GH3	Пролиферация	[65]
miR-34b miR-548c-3p	Снижена	HMGA1 HMGA2	MEG-01	Пролиферация, клеточный цикл	[61]
miR-326	Снижена	HMGA2 E2F2			
miR-570 miR-432	Снижена	HMGA2			
miR-603	Снижена	E2F1			
miR-128	Снижена	BM11	GH3 MtT/S	Пролиферация, инвазия	[62]
miR-26b	Повышена	PTEN			
miR-130b	Снижена	CCNA2	HEK-293	Пролиферация GH3, клеточный цикл	[63]
miR-185	Снижена	SSTR2	GH3	Пролиферация, апоптоз	[66]
miR-34a	Повышена в аденомах с низким уровнем AIP	AIP	GH3	Инвазия	[67]

роста 1, ИРФ-1), 11 пациентов с акромегалией (из которых 4 не получали какого-либо лечения, у 6 отмечалось повышение уровня ИРФ-1), 3 человека без признаков нарушения функции гипофиза или секреции СТГ. Также была изучена вариабельность циркулирующих микроРНК у 1 человека из третьей группы: в течение 2 мес в разное время было взято 15 образцов крови. Исследования на микроРНК-микрочипе и методом количественной ПЦР (qRT-PCR) позволили установить различия между группами, получавшими рекомбинантный гормон роста и не получавшими его (включая пациентов с акромегалией) [75].

Заключение

Поскольку при различных типах аденом клиническая картина заболевания различна, группировка микроРНК, специфичных по признаку гистотипа аденомы, представляется важной задачей. Существующие данные свидетельствуют о большом вкладе микроРНК в онкогенез, прогрессию и агрессивность опухолей, в том числе и СТГ-секретирующих аденом гипофиза. Однако исследования проводятся с применением различных методов определения экспрессии микроРНК и их целей, что за-

трудняет возможность сравнения данных между собой. Таким образом, для получения надежных данных необходимы стандартизация подходов к изучению функций микроРНК и дальнейшее проведение исследований на больших выборках.

В целом результаты приведенных исследований показывают интерес к изучению экспрессии микроРНК, а также к их определению в различных биологических жидкостях у пациентов с опухолями гипофиза. В перспективе такие исследования могут способствовать появлению биомаркеров, которые позволят улучшить диагностику, персонализировать подходы к лечению.

Источник финансирования

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 15-15-30032).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Chen Z, Li S, Subramaniam S, et al. Epigenetic regulation: a new frontier for biomedical engineers. *Annu Rev Biomed Eng.* 2017;19:195–219. doi: 10.1146/annurev-bioeng-071516-044720.
- Gadella MR, Kasuki L, Denes J, et al. MicroRNAs: Suggested role in pituitary adenoma pathogenesis. *J Endocrinol Invest.* 2013;36(10):889–895. doi: 10.1007/BF03346759.
- Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(30):10513–10518. doi: 10.1073/pnas.0804549105.
- Almeida MI, Reis RM, Calin GA. MicroRNA history: Discovery, recent applications, and next frontiers. *Mutat Res.* 2011;717(1–2):1–8. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.03.009.
- Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nature Reviews Genetics.* 2010;11(9):597–610. doi: 10.1038/nrg2843.
- Voglova K, Bezakova J, Herichova I. Progress in micro RNA focused research in endocrinology. *Endocr Regul.* 2016;50(2):83–105. doi: 10.1515/enr-2016-0012.
- Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell.* 2009;136(4):642–655. doi: 10.1016/j.cell.2009.01.035.
- Аушев В.Н. МикроРНК: малые молекулы с большим значением // *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика.* — 2015. — Т.8. — №1 — С. 1–12. [Aushev VN. MicroRNA: small molecules of great significance. *Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaya praktika.* 2015;8(1):1–12. (In Russ).]
- Baek D, Villen J, Shin C, et al. The impact of microRNAs on protein output. *Nature.* 2008;455(7209):64–71. doi: 10.1038/nature07242.
- Chen K, Rajewsky N. Natural selection on human microRNA binding sites inferred from SNP data. *Nat Genet.* 2006;38(12):1452–1456. doi: 10.1038/ng1910.
- Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell.* 2005;120(1):15–20. doi: 10.1016/j.cell.2004.12.035.
- Di Ieva A, Butz H, Niamah M, et al. MicroRNAs as biomarkers in pituitary tumors. *Neurosurgery.* 2014;75(2):181–188. doi: 10.1227/NEU.0000000000000369.
- Beilharz TH, Humphreys DT, Clancy JL, et al. microRNA-mediated messenger RNA deadenylation contributes to translational repression in mammalian cells. *PLoS One.* 2009;4(8):e6783. doi: 10.1371/journal.pone.0006783.
- Wierinckx A, Roche M, Legras-Lachuer C, et al. MicroRNAs in pituitary tumors. *Mol Cell Endocrinol.* Forthcoming 2017. doi: 10.1016/j.mce.2017.01.021.
- Hergenreider E, Heydt S, Treguer K, et al. Atheroprotective communication between endothelial cells and smooth muscle cells through miRNAs. *Nat Cell Biol.* 2012;14(3):249–256. <http://dx.doi.org/10.1038/ncb2441>.
- Weber JA, Baxter DH, Zhang SL, et al. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem.* 2010;56(11):1733–1741. doi: 10.1373/clinchem.2010.147405.
- Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res.* 2011;39(16):7223–7233. doi: 10.1093/nar/gkr254.
- Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(12):5003–5008. doi: 10.1073/pnas.1019055108.
- Wagner J, Riwanto M, Besler C, et al. Characterization of levels and cellular transfer of circulating lipoprotein-bound microRNAs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(6):1392–1400. doi: 10.1161/ATVBAHA.112.300741.
- Tomankova T, Petrek M, Gallo J, Kriegova E. MicroRNAs: emerging regulators of immune-mediated diseases. *Scand J Immunol.* 2012;75(2):129–141. doi: 10.1111/j.1365-3083.2011.02650.x.
- Kucharzewska P, Christianson HC, Welch JE, et al. Exosomes reflect the hypoxic status of glioma cells and mediate hypoxia-dependent activation of vascular cells during tumor development. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(18):7312–7317. doi: 10.1073/pnas.1220998110.
- Peinado H, Lavotshkin S, Lyden D. The secreted factors responsible for pre-metastatic niche formation: old sayings and new thoughts. *Semin Cancer Biol.* 2011;21(2):139–146. doi: 10.1016/j.semcancer.2011.01.002.
- Kroh EM, Parkin RK, Mitchell PS, Tewari M. Analysis of circulating microRNA biomarkers in plasma and serum using

- quantitative reverse transcription-PCR (qRT-PCR). *Methods*. 2010;50(4):298–301. doi: 10.1016/j.ymeth.2010.01.032.
24. Rossi S, Calin GA. Bioinformatics, non-coding RNAs and its possible application in personalized medicine. *Adv Exp Med Biol*. 2013;774:21–37. doi: 10.1007/978-94-007-5590-1_2.
 25. Ritchie W, Rasko JE, Flamant S. MicroRNA target prediction and validation. *Adv Exp Med Biol*. 2013;774:39–53. doi: 10.1007/978-94-007-5590-1_3.
 26. Doran J, Strauss WM. Bio-informatic trends for the determination of miRNA-target interactions in mammals. *DNA Cell Biol*. 2007;26(5):353–360. doi: 10.1089/dna.2006.0546.
 27. Wang J, Chen JY, Sen S. MicroRNA as biomarkers and diagnostics. *J Cell Physiol*. 2016;231(1):25–30. doi: 10.1002/jcp.25056.
 28. Varendi K, Matlik K, Andressoo JO. From microRNA target validation to therapy: lessons learned from studies on BDNF. *Cell Mol Life Sci*. 2015;72(9):1779–1794. doi: 10.1007/s00018-015-1836-z.
 29. Didiano D, Hobert O. Perfect seed pairing is not a generally reliable predictor for miRNA-target interactions. *Nat Struct Mol Biol*. 2006;13(9):849–851. doi: 10.1038/nsmb1138.
 30. Kuwabara Y, Ono K, Horie T, et al. Increased microRNA-1 and microRNA-133a levels in serum of patients with cardiovascular disease indicate myocardial damage. *Circ Cardiovasc Genet*. 2011;4(4):446–454. doi: 10.1161/circgenetics.110.958975.
 31. Швангирадзе Т.А., Бондаренко И.З., Трошина Е.А., и др. Профиль микроРНК, ассоциированных с ИБС, у пациентов с сахарным диабетом 2 типа // *Ожирение и метаболизм*. — 2016. — Т.13. — №4 — С. 34–38. [Shvangiradze T, Bondarenko I, Troshina E, et al. Profile of microRNAs associated with coronary heart disease in patients with type 2 diabetes. *Obesity and metabolism*. 2016;13(4):34–38. (In Russ).] doi: 10.14341/omet2016434-38.
 32. Farazi TA, Hoell JI, Morozov P, Tuschl T. MicroRNAs in human cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2013;774:1–20. doi: 10.1007/978-94-007-5590-1_1.
 33. Chi YD, Zhou DM. MicroRNAs in colorectal carcinoma - from pathogenesis to therapy. *J Exp Clin Cancer Res*. 2016;35:43. doi: ARTN 4310.1186/s13046-016-0320-4.
 34. Khoshnevisan A, Parvin M, Ghorbanmehr N, et al. A significant upregulation of miR5-886-p in high grade and invasive bladder tumors. *Urol J*. 2015;12(3):2160–2164.
 35. Гребенникова Т.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., и др. Эпигенетические аспекты остеопороза // *Вестник Российской академии медицинских наук*. — 2015. — Т.70. — №5 — С. 541–548. [Grebennikova TA, Belaya ZE, Rozhinskaya LY, et al. Epigenetic aspects of osteoporosis. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2015;70(5):541–548. (In Russ).] doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1440.
 36. Asa SL, Ezzat S. The pathogenesis of pituitary tumours. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(11):836–849. doi: 10.1038/nrc926.
 37. Li XH, Wang EL, Zhou HM, et al. MicroRNAs in human pituitary adenomas. *Int J Endocrinol*. 2014;2014:435171. doi: 10.1155/2014/435171.
 38. Melmed S. Pathogenesis of pituitary tumors. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;7(5):257–266. doi: 10.1038/nrendo.2011.40.
 39. Gentilin E, Degli Uberti E, Zatelli MC. Strategies to use microRNAs as therapeutic targets. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2016;30(5):629–639. doi: 10.1016/j.beem.2016.10.002.
 40. Gentilin E, Di Pasquale C, Gagliano T, et al. Protein Kinase C Delta restrains growth in ACTH-secreting pituitary adenoma cells. *Mol Cell Endocrinol*. 2016;419:252–258. doi: 10.1016/j.mce.2015.10.025.
 41. Quereda V, Malumbres M. Cell cycle control of pituitary development and disease. *J Mol Endocrinol*. 2009;42(2):75–86. doi: 10.1677/Jme-08-0146.
 42. Jiang X, Zhang X. The molecular pathogenesis of pituitary adenomas: an update. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2013;28(4):245–254. doi: 10.3803/EnM.2013.28.4.245.
 43. Tagliati F, Gagliano T, Gentilin E, et al. Magma overexpression inhibits staurosporine induced apoptosis in rat pituitary adenoma cell lines. *PLoS One*. 2013;8(9):e75194. doi: 10.1371/journal.pone.0075194.
 44. Wang C, Su Z, Sanai N, et al. microRNA expression profile and differentially-expressed genes in prolactinomas following bromocriptine treatment. *Oncol Rep*. 2012;27(5):1312–1320. doi: 10.3892/or.2012.1690.
 45. Bottoni A, Piccin D, Tagliati F, et al. miR-15a and miR-16-1 down-regulation in pituitary adenomas. *J Cell Physiol*. 2005;204(1):280–285. doi: 10.1002/jcp.20282.
 46. Bottoni A, Zatelli MC, Ferracin M, et al. Identification of differentially expressed microRNAs by microarray: a possible role for microRNA genes in pituitary adenomas. *J Cell Physiol*. 2007;210(2):370–377. doi: 10.1002/jcp.20832.
 47. Mao ZG, He DS, Zhou J, et al. Differential expression of microRNAs in GH-secreting pituitary adenomas. *Diagn Pathol*. 2010;5:79. doi: 10.1186/1746-1596-5-79.
 48. Amaral FC, Torres N, Saggioro F, et al. MicroRNAs differentially expressed in ACTH-secreting pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(1):320–323. doi: 10.1210/jc.2008-1451.
 49. Butz H, Liko I, Czirjak S, et al. MicroRNA profile indicates down-regulation of the TGFbeta pathway in sporadic non-functioning pituitary adenomas. *Pituitary*. 2011;14(2):112–124. doi: 10.1007/s11102-010-0268-x.
 50. Cheunsuchon P, Zhou Y, Zhang X, et al. Silencing of the imprinted DLK1-MEG3 locus in human clinically nonfunctioning pituitary adenomas. *Am J Pathol*. 2011;179(4):2120–2130. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.07.002.
 51. D'Angelo D, Esposito F, Fusco A. Epigenetic mechanisms leading to overexpression of HMGA proteins in human pituitary adenomas. *Front Med (Lausanne)*. 2015;2:39. doi: 10.3389/fmed.2015.00039.
 52. Лапшина А.М., Хандаева П.М., Белая Ж.Е., и др. Роль микроРНК в онкогенезе опухолей гипофиза и их практическая значимость // *Терапевтический архив*. — 2016. — Т.88. — №8 — С. 115–120. [Lapshina AM, Khandaeva PM, Belaya ZhE, et al. Role of microRNA in oncogenesis of pituitary tumors and their practical significance. *Ter Arkh*. 2016;88(8):115–120. (In Russ).] doi: 10.17116/terarkh2016888115-120.
 53. Молитвослова Н.Н. Акромегалия: современные достижения в диагностике и лечении // *Проблемы эндокринологии*. — 2011. — №1 — С. 46–59 [Molivoslovova NN. Acromegaly: recent progress in diagnostics and treatment. *Problems of endocrinology*. 2011;(1):46–59. (In Russ).] doi: 10.14341/probl201157146-59.
 54. Burton T, Le Nestour E, Neary M, Ludlam WH. Incidence and prevalence of acromegaly in a large US health plan database. *Pituitary*. 2016;19(3):262–267. doi: 10.1007/s11102-015-0701-2.
 55. Dal J, Feldt-Rasmussen U, Andersen M, et al. Acromegaly incidence, prevalence, complications and long-term prognosis: a nationwide cohort study. *Eur J Endocrinol*. 2016;175(3):181–190. doi: 10.1530/EJE-16-0117.
 56. Katznelson L, JL, Cook DM, et al. American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and treatment of acromegaly — 2011 update. *Endocr Pract*. 2011;17 Suppl 4:1–44. doi: 10.4158/ep.17.s4.1.
 57. Ntali G, Karavitaki N. Recent advances in the management of acromegaly. *F1000Res*. 2015;4:1426. doi: 10.12688/f1000research.7043.1.
 58. Holdaway IM, Bolland MJ, Gamble GD. A meta-analysis of the effect of lowering serum levels of GH and IGF-I on mortality in acromegaly. *Eur J Endocrinol*. 2008;159(2):89–95. doi: 10.1530/EJE-08-0267.
 59. Mercado M, Gonzalez B, Vargas G, et al. Successful mortality reduction and control of comorbidities in patients with acromegaly followed at a highly specialized multidisciplinary clinic. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(12):4438–4446. doi: 10.1210/jc.2014-2670.
 60. D'Angelo D, Palmieri D, Mussnich P, et al. Altered microRNA expression profile in human pituitary GH adenomas: down-regu-

- lation of miRNA targeting HMGA1, HMGA2, and E2F1. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(7):E1128–1138. doi: 10.1210/jc.2011-3482.
61. Palumbo T, Faucz FR, Azevedo M, et al. Functional screen analysis reveals miR-26b and miR-128 as central regulators of pituitary somatotroph tumor growth through activation of the PTEN-AKT pathway. *Oncogene.* 2013;32(13):1651–1659. doi: 10.1038/onc.2012.190.
 62. Leone V, Langella C, D'Angelo D, et al. miR-23b and miR-130b expression is downregulated in pituitary adenomas. *Mol Cell Endocrinol.* 2014;390(1–2):1–7. doi: 10.1016/j.mce.2014.03.002.
 63. Palmieri D, D'Angelo D, Valentino T, et al. Downregulation of HMGA-targeting microRNAs has a critical role in human pituitary tumorigenesis. *Oncogene.* 2012;31(34):3857–3865. doi: 10.1038/onc.2011.557.
 64. Trivellin G, Butz H, Delhove J, et al. MicroRNA miR-107 is overexpressed in pituitary adenomas and inhibits the expression of aryl hydrocarbon receptor-interacting protein in vitro. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2012;303(6):E708–E719. doi: 10.1152/ajpendo.00546.2011.
 65. Fan X, Mao Z, He D, et al. Expression of somatostatin receptor subtype 2 in growth hormone-secreting pituitary adenoma and the regulation of miR-185. *J Endocrinol Invest.* 2015;38(10):1117–1128. doi: 10.1007/s40618-015-0306-7.
 66. Denes J, Kasuki L, Trivellin G, et al. Regulation of aryl hydrocarbon receptor interacting protein (AIP) protein expression by MiR-34a in sporadic somatotropinomas. *PLoS One.* 2015;10(2):e0117107. doi: 10.1371/journal.pone.0117107.
 67. Qian ZR, Asa SL, Siomi H, et al. Overexpression of HMGA2 relates to reduction of the let-7 and its relationship to clinicopathological features in pituitary adenomas. *Mod Pathol.* 2009;22(3):431–441. doi: 10.1038/modpathol.2008.202.
 68. Zhou K, Zhang TR, Fan YD, et al. MicroRNA-106b promotes pituitary tumor cell proliferation and invasion through PI3K/AKT signaling pathway by targeting PTEN. *Tumor Biology.* 2016;37(10):13469–13477. doi: 10.1007/s13277-016-5155-2.
 69. Yu CT, Li JX, Sun FN, et al. Expression and clinical significance of miR-26a and pleomorphic adenoma gene 1 (PLAG1) in invasive pituitary adenoma. *Med Sci Monit.* 2016;22:5101–5108. doi: 10.12659/MSM.898908.
 70. Fedele M, Fusco A. HMGA and cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1799(1–2):48–54. doi: 10.1016/j.bbagr.2009.11.007.
 71. Knoll S, Emmrich S, Putzer BM. The E2F1-miRNA cancer progression network. *Adv Exp Med Biol.* 2013;774:135–147. doi: 10.1007/978-94-007-5590-1_8.
 72. Vierimaa O, Georgitsi M, Lehtonen R, et al. Pituitary adenoma predisposition caused by germline mutations in the AIP gene. *Science.* 2006;312(5777):1228–1230. doi: 10.1126/science.1126100.
 73. Raitila A, Georgitsi M, Karhu A, et al. No evidence of somatic aryl hydrocarbon receptor interacting protein mutations in sporadic endocrine neoplasia. *Endocr Relat Cancer.* 2007;14(3):901–906. doi: 10.1677/Erc-07-0025.
 74. Kasuki Jomori de Pinho L, Vieira Neto L, Armondi Wildemberg LE, et al. Low aryl hydrocarbon receptor-interacting protein expression is a better marker of invasiveness in somatotropinomas than Ki-67 and p53. *Neuroendocrinology.* 2011;94(1):39–48. doi: 10.1159/000322787.
 75. Kelly BN, Haverstick DM, Lee JK, et al. Circulating microRNA as a biomarker of human growth hormone administration to patients. *Drug Test Anal.* 2014;6(3):234–238. doi: 10.1002/dta.1469.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Луценко Александр Сергеевич, научный сотрудник отделения нейроэндокринологии и остеопатий
ФГБУ «Эндокринологический научный центр»

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, тел.: +7 (495) 668-20-79 доб. 54-06, e-mail: some91@mail.ru,
SPIN-код: 4037-1030, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9314-7831>

Белая Жанна Евгеньевна, доктор медицинских наук, заведующая отделением нейроэндокринологии и остеопатий
ФГБУ «Эндокринологический научный центр»

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, тел.: +7 (495) 668-20-79 доб. 54-06,
e-mail: jannabelaya@gmail.com, SPIN-код: 4746-7173, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6674-6441>

Пржиялковская Елена Георгиевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения
нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр»

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, тел.: +7 (495) 668-20-79 доб. 54-06,
e-mail: przhialkovskaya.elena@gmail.com, SPIN-код: 9309-3256, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9119-2447>

Мельниченко Галина Афанасьевна, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор Института
клинической эндокринологии ФГБУ «Эндокринологический научный центр»

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, тел.: +7 (499) 124-58-32, e-mail: teofrast2000@mail.ru,
SPIN-код: 8615-0038, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5634-7877>

DOI: 10.15690/vramn788

В.А. Бывальцев^{1, 2, 3, 4}, И.А. Степанов¹, Е.Г. Белых¹, А.А. Калинин^{1, 2}, Л.А. Бардонова¹¹ Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Российская Федерация² Дорожная клиническая больница на ст. Иркутск-Пассажирский, Иркутск, Российская Федерация³ Иркутский научный центр хирургии и травматологии, Иркутск, Российская Федерация⁴ Иркутская государственная академия последипломного образования, Иркутск, Российская Федерация

Плагиат и академическая добросовестность в науке

Обзор представляет собой анализ современных литературных данных, посвященных проблеме плагиата и нарушений принципов академической добросовестности в науке, а также методам борьбы с ними. Академическая добросовестность включает в себя совокупность духовных ценностей, таких как честность, справедливость, доверие, уважение и ответственность, а также идеалов, которые должны соблюдаться всеми участниками научно-образовательного процесса. Нарушения принципов академической добросовестности представляют собой ряд некорректных действий со стороны любого участника научно-образовательного процесса. Плагиат является элементом неправомерного поведения в научной сфере. Сам термин «научный плагиат» объединяет категории очевидного и неочевидного научного плагиата. Особое место в науке занимает проблема самоплагиата и мозаичного плагиата. Разработанные стратегии и рекомендации по борьбе с нарушениями принципов академической добросовестности должны содержать стратегии и рекомендации по повышению степени академической образованности всех участников научно-образовательного процесса. Современным и эффективным методом борьбы с плагиатом является онлайн-проверка текста рукописи на оригинальность, хотя и он не лишен недостатков. Борьба с академической нечестностью должна носить государственный масштаб, не просто с усвоением знаний и умений, а с формированием профессиональных и общекультурных ценностей на всех уровнях научно-образовательного процесса. Необходимо дальнейшая разработка универсальных обучающих модулей, в которых каждому начинающему ученому будут разъяснены цели академической добросовестности, наиболее частые причины, подталкивающие к ее нарушению, их виды, как с ними бороться и возможные последствия. Такие информационные материалы должны быть легкодоступными, а ознакомление и контроль за ними являться неотъемлемой частью современного российского академического образования.

Ключевые слова: академическая добросовестность, академическая нечестность, плагиат, мозаичный плагиат, самоплагиат, методы борьбы.

(Для цитирования: Бывальцев В.А., Степанов И.А., Белых Е.Г., Калинин А.А., Бардонова Л.А. Плагиат и академическая добросовестность в науке. *Вестник РАМН*. 2017; 72(4):299–304. doi: 10.15690/vramn788)

Введение

Для определения принципов этических норм в образовательной сфере западных стран повсеместно используется понятие «Academic Integrity», которое при до-

словном переводе означает «академическая целостность», а при смысловом может звучать, например, как «академическая добросовестность» и «академическая честность». Соответствующая терминология в российском информационном поле еще не сформировалась, и раз-

V.A. Byvaltsev^{1, 2, 3, 4}, I.A. Stepanov¹, E.G. Belykh¹, A.A. Kalinin^{1, 2}, L.A. Bardonova¹¹ Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation² Railway Clinical Hospital on the station Irkutsk-Passazhirskiy of Russian Railways Ltd., Irkutsk, Russian Federation³ Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russian Federation⁴ Irkutsk State Academy of Postgraduate Education, Irkutsk, Russian Federation

Plagiarism and Academic Integrity in Science

The review presents an analysis of contemporary literary data on the problem of plagiarism and violations of the standard codes of scholarly conduct and ethical principles, as well as methods to combat them. Academic integrity includes a set of spiritual values such as honesty, justice, trust, respect, and responsibility, as well as ideal samples which all the participants of the scientific and educational processes should follow. Violations of the principles of academic integrity are a number of incorrect actions performed by any participant of scientific or educational process. Plagiarism is an element of misconduct in academic sphere. The category of scientific plagiarism includes obvious and unobvious scientific plagiarism. The specific aspects of the problem are self-plagiarism and mosaic plagiarism. The developed anti-violation strategies and recommendations should provide guidelines and instructions for improving the level of academic knowledge of all the participants of scientific and educational processes. A modern and effective method for combating plagiarism is online text detection for originality, although this technique is not free from shortcomings. The fight against academic misconduct should be carried out on the national level: including but not limited with gaining new knowledge, training skills, and formation of professional and general cultural values at all the levels of scientific and educational processes. Further development of universal training modules which provide information on the goals of academic integrity, the most frequent reasons that lead to its violation, types of violations, how to deal with them, and possible consequences is requested. Such reference data should be widely available; introduction of new knowledge and control on implementation of its key provisions should be an integral part of modern Russian academic education.

Key words: academic integrity, scientific misconduct, plagiarism, mosaic plagiarism, self-plagiarism, methods of counteraction.

(For citation: Byvaltsev VA, Stepanov IA, Belykh EG, Kalinin AA, Bardonova LA. Plagiarism and Academic Integrity in Science. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017; 72(4):299–304. doi: 10.15690/vramn788)

ными авторами используются разные трактовки [1, 2]. Под термином «академическая добросовестность» принято понимать совокупность духовных ценностей, таких как честность, справедливость, доверие, уважение и ответственность, а также идеалов, которые должны соблюдаться всеми участниками научно-образовательного процесса [3]. «Академическая добросовестность включает в себя обеспечение честности и справедливости в научных исследованиях, преподавании и обучении со стороны ученых, преподавателей и студентов. Все участники научно-образовательного процесса должны уважать труд и заслуги своих коллег, быть открытыми для общения, отвечать за свои действия и соблюдать прозрачность во всех сферах научной деятельности». Академическая добросовестность обеспечивает доверие общества к авторитету современной науки на всех ее уровнях, включая процесс исследования и получение результатов [2].

Нарушения принципов академической добросовестности представляют собой ряд некорректных действий со стороны любого участника научно-образовательного процесса [4]. Примерами недобросовестного научного поведения являются плагиат, самоплагиат, мошенничество на экзаменах или итоговых аттестациях, сговор, оплата третьей стороне для выполнения научной работы, фальсификация полученных данных в исследовании, недобросовестное поведение научных экспертов, рецензентов и т.д. Все перечисленные примеры недобросовестного поведения в научно-образовательной деятельности не только подрывают авторитет современной науки [5–8], но и грозят нарушителю снятием с рассмотрения дипломной работы, диссертации, а также отчислением из вуза, аспирантуры, докторантуры.

Важно отметить, что обман и плагиат являются наиболее серьезными нарушениями академической добросовестности в науке, так как при этом страдает сама идея оригинального исследования, что в конечном итоге не только не приносит пользы научному обществу, но и вредит ему [9].

Цель настоящего обзора — анализ современных литературных данных о состоянии проблемы плагиата и нарушений принципов академической добросовестности в науке, а также методах борьбы с ними.

Плагиат в научных работах студентов

Под термином «плагиат» принято понимать присвоение научных идей, результатов или текстов без корректного указания источника заимствования [10]. Плагиат является элементом неправомерного поведения в научной сфере. К таким формам неправомерного поведения можно отнести научный плагиат, подтасовку научных сведений, продуцирование псевдонаучных продуктов. Категорию научного плагиата можно разложить на категории очевидного и неочевидного научного плагиата, когда для рассмотрения требуется обязательное участие эксперта.

Понятие очевидного научного плагиата объединяет в свою очередь следующие категории:

- 1) присвоения авторства элементов чужого научного произведения в части, касающейся его формы, в собственном произведении;
- 2) заимствования элементов чужого научного произведения с использованием правил научного цитирования (указанием автора, названия и источника произведения), доля которого, например, по объему превышает 50% общего объема собственного произведения;

- 3) заимствование элементов своего научного произведения (самозаимствование), доля которого, например, по объему превышает 70% общего объема нового собственного произведения.

Категория неочевидного научного плагиата включает в себя следующие виды заимствований:

- 1) самоплагиат;
- 2) мозаичный плагиат;
- 3) перефразирование (рерайтинг);
- 4) плагиат с участием «авторов-призраков» [11, 12].

Распространенность проблемы плагиата (в различных его формах) среди студентов и аспирантов зависит от методологии изучения данного вопроса, при этом многие исследователи используют так называемую методику самоотчета, т.е. внутривизуовского контроля научных работ на предмет плагиата. Используя эту методику, исследователи получили абсолютно различные данные о распространенности плагиата в научных работах студентов США, Австралии, а также ряда стран Западной Европы. Так, согласно результатам исследования McCabe с соавт. [9], 19% дипломных работ студентов технологического университета содержали плагиат. В исследовании K. Ellegy [13] объем интеллектуального заимствования составил 26%, в работе H. Marsden с соавт. [14] — 81%. Позже учеными была модифицирована методика регистрации плагиата, которая заключалась в выделении отдельных групп студентов, для которых английский язык являлся дополнительным в изучении. При этом S. Marshall и M. Garry [15] пришли к заключению о том, что плагиат в группах студентов с дополнительным изучением английского языка выявлялся достоверно чаще, чем в группе без его изучения (47 против 16%). D. Pecora [16] в своем наблюдении наглядно продемонстрировал, что 76% выпускников американских университетов, для которых английский язык не является родным, при написании итогового эссе некорректно заимствуют до 70% исходного текста, т.е. цитируют авторов различных работ без указания ссылок на последних. К сожалению, в доступной нам отечественной литературе мы не нашли подобных исследований. Тем не менее в работе А. Никитова с соавт. [17] отмечено, что проблема плагиата в Российской Федерации также является предельно актуальной. Авторы подчеркивают, что в последнее время правительство нашей страны и Министерство образования в частности уделяют большое внимание борьбе с плагиатом в научных работах. Так, в Приказе Минобрнауки России от 12 декабря 2011 г. № 2817 «Об утверждении Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук» введено требование о наличии в диссертационном совете «системы проверки использования заимствованного материала без ссылки на автора и/или источник заимствования по направлениям деятельности диссертационного совета» [17].

Принято считать, что соискатели научной степени, имеющие стаж работы в научной сфере не менее 15 лет, хорошо знакомы с понятием академической добросовестности и плагиата [18]. Однако немногие из них подготовлены к решению поставленных задач и нарушают политику академической добросовестности. J. Gilmore с соавт. [19], исследуя научные труды в области медицины и биотехнологии, заявили о содержании в них плагиата. M. McCullough и M. Holmberg [20] сообщают, что распространенность дублирования данных, опубликованных ранее другими специалистами в диссертационных исследованиях, составила не менее 27%. S. Segal с соавт.

[21] при исследовании научных трудов резидентов ряда европейских клиник установили, что не менее 5% рукописей содержали плагиат. Согласно отчету Фордхемского университета (Нью-Йорк, США) «Стандарты политики академической добросовестности» (Standards of Academic Integrity Policy), один из пяти аспирантов не имел представления о понятии академической добросовестности, а двое из пяти заявляли о том, что не осведомлены о соблюдении политики академической добросовестности в их учебном заведении [1].

Плагиат в научных работах ученых

Высокая распространенность проблемы плагиата среди обучающихся, а также результаты многочисленных исследований, подтверждающих недостаточный уровень обучения в высших учебных заведениях, делают факты нарушения академической добросовестности в рядах ученых обыденным явлением [19, 20, 22]. Опрос 4160 молодых исследователей и 3600 ученых показал, что 33% респондентов отмечали факты нарушения академической добросовестности в том или ином виде [23].

Средства массовой информации постоянно освещают проблему плагиата, приводя конкретные примеры нарушения академической добросовестности, тем самым подрывая репутацию не только ученых, но и крупных научно-исследовательских институтов [24–27]. Совсем недавно в прессе были опубликованы результаты проверки докторской диссертации бывшего министра обороны Германии Карла-Теодора цу Гуттенберга (Karl-Theodor zu Guttenberg) на предмет плагиата. Результаты проверки подтвердили наличие плагиата в его работе, после чего министр был вынужден подать в отставку [24]. Чуть позже проверка диссертационного исследования заместителя председателя Европарламента госпожи Сильваны Кох-Мерин (Sylvana Koch-Merlin) также показала наличие плагиата ранее опубликованной другими специалистами информации [25]. Пожалуй, самый громкий скандал в средствах массовой информации коснулся крупного южнокорейского специалиста по клонированию доктора Хванг Ву Сук (Hwang Woo Suk). Ученого также уличили в плагиате и решением Верховного суда Южной Кореи приговорили к двум годам лишения свободы с упразднением всех его заслуг и должностей [26]. К сожалению, и в нашей стране встречаются факты нарушения академической добросовестности среди ученых. Так, заместитель мэра г. Омска Т.А. Выжевитова была лишена ученой степени по причине несоответствия требованиям «Положения о присуждении ученых степеней» [17].

Сложности в определении понятия «плагиат»

Многие исследования подтвердили, что у молодых ученых часто возникают сложности в обнаружении плагиата и сохранении оригинальности при написании научных работ [27]. В своем наблюдении М. Roig [28] показал, что более 40% студентов при самостоятельной проверке произвольного текста на предмет плагиата не смогли справиться с данным заданием. Ряд авторов утверждает, что большинство студентов не имеют представления о методах выявления плагиата в научных работах и не могут качественно перефразировать текст при его цитировании

[29]. Стоит отметить, что не только студенты, которые дополнительно изучают английский язык, должны обучаться принципам академической добросовестности в науке, но также и те студенты, для которых английский язык является родным. Однако при этом обучение принципам академической добросовестности является крайне простой задачей и во многом зависит от студентов/аспирантов, а именно от их возраста, воспитания, психоинтеллектуального и физического развития, а также от действия внешних факторов (авторитет преподавателя в научной среде, статус университета и т.п.) [30, 31].

Студенты, аспиранты, преподаватели и даже ученые часто задаются вопросом: «В каком случае некорректно оформленное заимствование становится серьезным нарушением принципов академической добросовестности». I. Masic [32] в своей работе отразил три основных аспекта, на которые должны обращать внимание эксперты при выявлении плагиата. При этом в зависимости от «серьезности» плагиата должны приниматься и ответные меры в отношении авторов рукописей [33]. Первый аспект, так называемый студенческий, заключается в присвоении чужой работы и предоставлении ее как своей собственной. К примеру, плагиат в данном аспекте носит самый «серьезный» характер. Вторым аспектом принято называть «степень плагиата», который заключается в полном перефразировании чужой работы и ее присвоении, что также является «серьезным» нарушением принципов академической добросовестности [34]. Третьим аспектом, именуемым «ответственность за плагиат», является так называемый мозаичный плагиат — заимствование идеи и мнения из первоначального источника и дословное цитирование нескольких слов или фраз без указания подлинного автора [35]. Этот вид заимствования, как правило, трудно выявляется экспертами или не обнаруживается вовсе и не относится к «серьезным» нарушениям принципов академической добросовестности [36].

Не менее важной проблемой является наказание авторов за плагиат. Так, согласно Стандартам политики академической добросовестности, отчисление, увольнение или лишение всех научных заслуг ученых также является нарушением принципов академической добросовестности со стороны уполномоченных органов управления [1]. Все это требует поиска новых методов борьбы с академической недобросовестностью.

Особое место в науке занимает проблема самоплагиата. Под самоплагиатом в научном сообществе понимается повторная публикация самим автором значительных по объему и идентичных (или очень близких) по форме и содержанию научных текстов без указания на то, что эти тексты уже были опубликованы им ранее (или одновременно) [37, 38]. Примерами самоплагиата могут служить как повторная публикация одной и той же статьи (с незначительными изменениями в названии и содержании), так и публикация статьи, содержащей значительные отрывки из ранее опубликованных работ без размещения ссылок на последние [39]. Тем не менее ряд авторов из различных стран мира по-разному трактует данное определение, но при этом все они при описании данного термина опираются на принципы академической добросовестности [40, 41]. Согласно законодательству Австралии, самоплагиатом принято называть использование более 10% информации из предыдущих исследований автора [41]. В Российской Федерации законодательством не обозначено данное понятие. Результаты исследования Т. Bretag [42] показали, что более 60% авторов хотя бы в одной публикации использовали самоплагиат.

Методы борьбы с плагиатом: перспективы

В настоящее время большинство научных экспертов сходит к мнению, что в первую очередь необходимо начать обучение принципам академической добросовестности на уровне университетов [43, 44]. Борьба с плагиатом в научных работах студентов и аспирантов должна включать в себя разработку стратегий и рекомендаций по повышению степени их академической образованности [45]. Разработанные стратегии и рекомендации также должны содержать и меры наказания за нарушение принципов академической добросовестности в зависимости от их «серьезности». Одним из современных и эффективных методов борьбы с плагиатом является онлайн-проверка текста рукописи на оригинальность. Наиболее распространенными онлайн-программами для проверки англоязычных рукописей являются Grammarly [46], iThenticate [47] и SafeAssign [48]. В нашей стране активно используется программа «Антиплагиат» [49]. С каждым годом все больше университетов и научно-исследовательских институтов мира обращаются за помощью к указанным программам во избежание интеллектуального заимствования в научных трудах своих студентов и сотрудников [50], хотя и эти программы не лишены недостатков. Так, указанные онлайн-программы имеют доступ не ко всем электронным вариантам научных работ, что не позволяет их сравнивать с проверяемой рукописью, также не учитываются прямые переводы текста с иностранных языков и выполненные перефразирования текстов.

Рассматривая проблему дублирования ранее опубликованной другими специалистами данных с точки зрения науки, стоит отметить, что это не только вопрос качества научного продукта. Плагиат является своего рода уровнем академической культуры человека, препятствующим процессу обучения и рождению новых научных идей [51]. В связи с этим учебные заведения с целью борьбы с нарушением принципов академической добросовестности должны работать над укреплением культуры и духовности своих студентов и сотрудников путем проведения различного рода круглых столов и конференций, направленных на обсуждение существующих проблем, а не ограничиваться только введением санкций. По определению Т. Bertram Gallant и М. Kalichman [52], выявление одного случая плагиата в учебном заведении указывает на то, что данная проблема носит более масштабный характер и отражает истинное состояние науки во всем университете. Исходя из данного определения, современная наука требует глобального и всестороннего подхода к борьбе с плагиатом, когда обучаться принципам академической добросовестности в первую очередь должны консультанты, ученые, рецензенты, редакторы и эксперты по науке при правительстве страны, опыт которых будет служить примером студентам и аспирантам [53].

На наш взгляд, решение проблемы с недобросовестным представлением научной информации необходимо начинать как можно раньше — до того, как свершился факт плагиата, и вести профилактическую работу на протяжении всего периода научной деятельности. Склонность к достижению цели «любой ценой» велика, но нельзя забывать о том, что однажды «запятнанная» репутация никогда не восстановит прежнего доверия. В связи с чем хотелось бы отметить важность и ответственность профессорско-преподавательского состава за правильное воспитание способов представления результатов работы молодых ученых.

Перспективным выглядит и такой метод борьбы с проблемой плагиата и академической нечестности среди студентов и аспирантов, как написание различного рода микропроектов, эссе, междисциплинарных и курсовых заданий, а также ситуативно-аналитических работ. При этом каждая работа должна быть проверена научным руководителем и/или локальной экспертной комиссией на предмет ее соответствия принципам академической добросовестности [21]. Это позволит обучающимся научиться самостоятельно обобщать, мыслить, анализировать полученные знания и получать ценный опыт работы в научной сфере, следуя принципам академической добросовестности. Немаловажную роль в борьбе с академической нечестностью играют так называемые универсальные обучающие модули, направленные на подробное изучение принципов академической добросовестности. Указанные методы обучения активно используются в ряде высших учебных заведений и медицинских научно-исследовательских институтов России в качестве вступительных испытаний в ординатуру или аспирантуру. Более того, борьба с нарушениями принципов добросовестности должна проводиться и на академическом уровне — среди ученых.

Заключение

Плагиат в науке является актуальной проблемой и серьезным нарушением принципов академической добросовестности, так как при этом утрачивают свое значение оригинальность и сама идея научных исследований. Интеллектуальное заимствование затрагивает все уровни научно-образовательного процесса, начиная от студентов и аспирантов и заканчивая профессорско-преподавательским составом любого института. А потому борьба с академической нечестностью должна носить государственный масштаб не просто путем накопления знаний и умений, но и методом формирования профессиональных и общекультурных ценностей на всех уровнях научно-образовательного процесса. Также целесообразным является организация локальных групп контроля кодекса академической добросовестности в каждом высшем учебном заведении или научно-исследовательском институте. Безусловно, необходима дальнейшая разработка универсальных обучающих модулей, в которых каждому начинающему ученому будут разъяснены цели академической добросовестности, наиболее частые причины, подталкивающие к ее нарушению, их виды, методы их искоренения, а также возможные последствия. Такой информационный материал должен быть легкодоступным, а ознакомление и контроль исполнения являться неотъемлемой частью современного российского академического образования.

Источник финансирования

Поисково-аналитическая работа проведена на личные средства авторов без дополнительной финансовой поддержки.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. lo.unisa.edu.au [Internet]. Exemplary Academic Integrity Project. Resources on academic integrity [cited 2017 Jul 9]. Available from: <https://lo.unisa.edu.au/course/view.php?id=6751§ion=6>.
2. academicintegrity.org [Internet]. International Center for Academic Integrity, Fundamental Values Project [cited 2017 Jul 9]. Available from: <http://www.academicintegrity.org/icai/resources-2.php>.
3. Anderson MS, Shaw MA, Steneck NH, et al. *Research integrity and misconduct in the academic profession*. In: Paulsen MB, editor. *Higher education: handbook of theory and research*. New York: McGraw-Hill; 2013. p. 217–261.
4. Cross M. Policing plagiarism. *BMJ*. 2007;335(7627):963–964. doi: 10.1136/bmj.39388.668773.47.
5. Masic I. Plagiarism in scientific research and publications and how to prevent it. *Mater Sociomed*. 2014;26(2):141–146. doi: 10.5455/msm.2014.26.141-146.
6. Ryan G, Bonanno H, Krass I, et al. Undergraduate and postgraduate pharmacy students' perceptions of plagiarism and academic honesty. *Am J Pharm Educ*. 2009;73(6):105. doi: 10.5688/aj7306105.
7. Merlo DF, Vahakangas K, Knudsen LE. Scientific integrity: critical issues in environmental health research. *Environ Health*. 2008;7 Suppl 1:S9. doi: 10.1186/1476-069X-7-S1-S9.
8. Howard RM, Robillard AE, editors. *Pluralizing plagiarism: identities, contexts, pedagogies*. Portsmouth, NH: Boynton/Cook Publishers Inc.; 2008. 677 p.
9. McCabe DL, Trevino LK, Butterfield KD. Cheating in academic institutions: a decade of research. *Ethics Behav*. 2001;11(3):219–232. doi: 10.1207/S15327019eb1103_2.
10. Абрамова Н.Ю. Проблема плагиата в научных работах // *Научная периодика: проблемы и решения*. — 2011. — №2 — С. 25–28. [Abramova NYu. The issue of plagiarism in research papers. *Nauchnaya periodika: problemy i resheniya*. 2011;(2):25–28. (In Russ.)]
11. Нестеров А.В. Плагиат в научной сфере // *Право интеллектуальной собственности*. — 2014. — №1 — С. 4–7. [Nesterov AV. Plagiarism in the sphere of science. *Pravo intelektual'noi sobstvennosti*. 2014;(1):4–7. (In Russ.)]
12. Scanlon PM, Neumann DR. Internet plagiarism among college students. *J Coll Stud Dev*. 2002;43(3):374–385.
13. Ellery K. An investigation into electronic-source plagiarism in a first-year essay assignment. *Assess Eval High Educ*. 2008;33(6):607–617. doi: 10.1080/02602930701772788.
14. Marsden H, Carroll M, Neill JT. Who cheats at university? A self-report study of dishonest academic behaviours in a sample of Australian university students. *Aust J Psychol*. 2005;57(1):1–10. doi: 10.1080/00049530412331283426.
15. Marshall S, Garry M. NESB and ESB students' attitudes and perceptions of plagiarism. *IJEI*. 2006;2(1):26–37.
16. Pecorari D. Good and original: Plagiarism and patchwriting in academic second-language writing. *J Second Lang Writ*. 2003;12(4):317–345. doi: 10.1016/j.jslw.2003.08.004.
17. Никитов А.В., Орчаков О.А., Чехович Ю.В. Плагиат в работах студентов и аспирантов: проблема и методы противодействия // *Университетское управление: практика и анализ*. — 2012. — №5 — С. 61–68. [Nikitov AV, Orchakov OA, Chekhovich YuV. Plagiarism in works of undergraduate and graduate students: problem and methods of counteraction. *Universitetskoe upravlenie: praktika i analiz*. 2012;(5):61–68. (In Russ.)]
18. Lovitts BE. Being a good course taker is not enough: a theoretical perspective on the transition to independent research. *Studies in Higher Education*. 2005;30(2):137–154. doi: 10.1080/03075070500043093.
19. Gilmore J, Strickland D, Timmerman B, et al. Weeds in the flower garden: an exploration of plagiarism in graduate students' research proposals and its connection to enculturation, ESL, and contextual factors. *IJEI*. 2010;6(1):13–28.
20. McCullough M, Holmberg M. Using the Google search engine to detect word-for-word plagiarism in Master's theses: a preliminary study. *Coll Stud J*. 2005;39(3):435–441. doi: 10.1080/13614570601136255.
21. Segal S, Gelfand BJ, Hurwitz S, et al. Plagiarism in residency application essays. *Ann Intern Med*. 2010;153(2):112–120. doi: 10.7326/0003-4819-153-2-201007200-00007.
22. Mahmud S, Bretag T. Postgraduate research students and academic integrity: 'It's about good research training'. *Journal of Higher Education Policy and Management*. 2013;35(4):432–443. doi: 10.1080/1360080x.2013.812178.
23. Barrett R, Malcolm J. Embedding plagiarism education in the assessment process. *IJEI*. 2006;2(1):38–45.
24. Chanock K. When students reference plagiarised material — what can we learn (and what can we do) about their understanding of attribution? *IJEI*. 2008;4(1):3–16.
25. Cameron C, Zhao H, McHugh MK. Perspective: publication ethics and the emerging scientific workforce: understanding “plagiarism” in a global context. *Acad Med*. 2012;87(1):51–54. doi: 10.1097/ACM.0b013e31823aad7.
26. Baždarić K. Plagiarism detection: quality management tool for all scientific journals. *Croatian Med. J.* 2012;53(1):1–3. doi: 10.3325/cmj.2012.53.1.
27. Butler D. Plagiarism scandal grows in Iran. *Nature*. 2009;462(7274):704–705. doi: 10.1038/462704a.
28. Roig M. Plagiarism and paraphrasing criteria of college and university professors. *Ethics Behav*. 2001;11(3):307–323. doi: 10.1207/S15327019eb1103_8.
29. Mavrincac M, Brumini G, Bilic-Zulle L, Petrovecki M. Construction and validation of attitudes toward plagiarism questionnaire. *Croat Med J.* 2010;51(3):195–201. doi: 10.3325/cmj.2010.51.195.
30. Van der Weyden MB. Preventing and processing research misconduct: a new Australian code for responsible research. *Med J Aust*. 2006;184(9):430–431.
31. Anderson MS, Steneck NH. The problem of plagiarism. *Urol Oncol*. 2011;29(1):90–94. doi: 10.1016/j.urolonc.2010.09.013.
32. Masic I. Plagiarism in scientific publishing. *Acta Inform Med*. 2012;20(4):208–213. doi: 10.5455/aim.2012.20.208-213.
33. Mehić B. Plagiarism and self-plagiarism. *Bosn J Basic Med Sci*. 2013;13(3):139.
34. Yeo S. First-year university science and engineering students' understanding of plagiarism. *Higher Education Research and Development*. 2007;26(2):199–216. doi: 10.1080/07294360701310813.
35. lo.unisa.edu.au [Internet]. Exemplary Academic Integrity Project. Academic integrity policy toolkit [cited 2017 Jul 9]. Available from: <https://lo.unisa.edu.au/course/view.php?id=6751§ion=9>.
36. Juyal D, Thawani V, Thaledi S. Plagiarism: an egregious form of misconduct. *N Am J Med Sci*. 2015;7(2):77–80. doi: 10.4103/1947-2714.152084.
37. Aronson JK. Plagiarism — please don't copy. *Br J Clin Pharmacol*. 2007;64(4):403–405. doi: 10.1111/j.1365-2125.2007.03042.x.
38. Котляров И.Д. Самоплагиат в научных публикациях // *Научная периодика: проблемы и решения*. — 2011. — №4 — С. 6–12. [Kotlyarov ID. Plagiarism in scientific publications. *Nauchnaya periodika: problemy i resheniya*. 2011;(4):6–12 (In Russ.)]
39. publicationethics.org [Internet]. COPE. Promoting integrity in research and its publication [cited 2017 Jul 9]. Available from: <https://publicationethics.org/>.
40. Carver JD, Dellva B, Emmanuel PJ, Parchure R. Ethical considerations in scientific writing. *Indian J Sex Transm Dis*. 2011;32(2):124–128. doi: 10.4103/0253-7184.85425.
41. Harirforoosh S, Bossaer JB, Brown SD, et al. Plagiarism among applicants for faculty positions. *Am J Pharm Educ*. 2011;75(10):211. doi: 10.5688/ajpe7510211.
42. Bretag T. *Publish or perish: ramifications for online academic publishing*. Ch. 2. In: Wankel LA, Wankel Ch, editors. *Misbehavior online*

- in higher education*. Book series: Cutting-edge technologies in higher education. Vol. 5. Emerald Publishing Limited; 2012. p. 11–24. doi: 10.1108/S2044-9968(2012)0000005004.
43. Habibzadeh F, Shashok K. Plagiarism in scientific writing: words or ideas? *Croat Med J*. 2011;52(4):576–577. doi: 10.3325/cmj.2011.52.576.
 44. Juyal D, Thawani V, Thaledi S. Rise of academic plagiarism in India: reasons, solutions and resolution. *Lung India*. 2015;32(5):542–543. doi: 10.4103/0970-2113.164151.
 45. Wong SS, Lim SW, Quinlan KM. Integrity in and beyond contemporary higher education: what does it mean to university students? *Front Psychol*. 2016;7:1094. doi: 10.3389/fpsyg.2016.01094.
 46. Grammarly.com [Internet]. Member Login page [cited 2017 Jul 9]. Available from: <https://www.grammarly.com/1>.
 47. iThenticate.com [Internet]. iThenticate: Plagiarism Detection Software [cited 2017 Jul 9]. Available from: <http://www.ithenticate.com/>.
 48. blackboardinfo [Internet]. SafeAssign™. Plagiarism prevention service [cited 2017 Jul 9]. Available from: <http://blackboardinfo.newark.rutgers.edu/safeassign.html>.
 49. Antiplagiat.ru [интернет]. Интернет-сервис «Антиплагиат» [доступ от 2.07.2017]. [Internet service “Antiplagiat”. (In Russ.)] Доступ по ссылке <http://www.antiplagiat.ru>.
 50. Tucci V, Galwankar S. JETS policy on plagiarism and academic dishonesty. *J Emerg Trauma Shock*. 2011;4(1):3–6. doi: 10.4103/0974-2700.76818.
 51. Marusić M, Marusić A. Threats to the integrity of the Croatian Medical Journal. *Croat Med J*. 2007;48(6):779–785. doi: 10.3325/cmj.2007.6.779.
 52. Gallant TD, Kalichman M. Academic ethics: a systems approach to understanding misconduct and empowering change in the academy. Ch. 3. In: Gallant TD, editor. *Creating the ethical academy: a systems approach to understanding misconduct and empowering change in the academy*. NY: Routledge; 2010. p. 117–125.
 53. Sharma OP. Ethics in Science. *Indian J Microbiol*. 2015;55(3):341–344. doi: 10.1007/s12088-015-0532-x.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Бывальцев Вадим Анатольевич, доктор медицинских наук, главный нейрохирург Департамента здравоохранения ОАО «РЖД», заведующий курсом нейрохирургии Иркутского государственного медицинского университета, заведующий научно-клиническим отделом нейрохирургии Иркутского научного центра хирургии и травматологии, профессор кафедры травматологии, ортопедии и нейрохирургии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования

Адрес: 664082, Иркутск, ул. Боткина, д. 10, тел.: +7 (3952) 63-85-28, e-mail: byval75vadim@yandex.ru, SPIN-код: 5996-6477, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4349-7101>

Степанов Иван Андреевич, аспирант курса нейрохирургии Иркутского государственного медицинского университета

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, д. 14, тел.: +7 (951) 632-66-35, e-mail: edmoilers@mail.ru, SPIN-код: 5485-5316, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9039-9147>

Белых Евгений Георгиевич, ассистент курса нейрохирургии Иркутского государственного медицинского университета, аспирант Иркутского научного центра хирургии и травматологии

Адрес: 664082, Иркутск, ул. Боткина, д. 10, тел.: +7 (3952) 63-85-28, e-mail: e.belykh@yandex.ru, SPIN-код: 4191-8687, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2060-5739>

Калинин Андрей Андреевич, кандидат медицинских наук, доцент курса нейрохирургии Иркутского государственного медицинского университета, врач-нейрохирург Центра нейрохирургии Дорожной клинической больницы на ст. Иркутск-Пассажирский ОАО «РЖД»

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, д. 14, тел.: +7 (3952) 63-85-28, e-mail: andrei_doc_v@mail.ru, SPIN-код: 9707-8291, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9039-9147>

Бардонова Людмила Андреевна, аспирантка курса нейрохирургии Иркутского государственного медицинского университета

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, д. 14, тел.: +7 (908) 656-36-10, e-mail: lyudmila15@ibox.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8468-0471>

DOI: 10.15690/vramn823

А.А. Баранов, Л.С. Намазова-Баранова, Р.Н. Терлецкая, Е.В. Антонова

Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

Проблемы детской инвалидности в современной России

Создание системы ранней профилактики инвалидности у детей и поддержка семей, воспитывающих детей-инвалидов и детей с ограниченными возможностями здоровья, входят в число основных приоритетов государственной социальной политики Российской Федерации. Существует ряд проблем, требующих незамедлительного решения. Уровень детской инвалидности в нашей стране характеризуется стагнацией процесса. Возрастная и гендерная структура детской инвалидности практически не меняется. Анализ ее нозологической структуры показывает, что психические расстройства и расстройства поведения, болезни нервной системы и врожденные аномалии развития стабильно составляют более 60% среди болезней, обусловивших инвалидность детей всех возрастных групп. Произошло снижение распространенности общей инвалидности по большинству классов болезней (при травмах, заболеваниях мочеполовой системы, органов дыхания, костно-мышечной системы, органов пищеварения) и рост инвалидности, обусловленной новообразованиями и болезнями эндокринной системы. Предполагается недоучет детской инвалидности, связанный с различными причинами, а именно с социальной мотивированностью семьи, сложностями юридического оформления, жесткими требованиями службы медико-социальной экспертизы, недостаточной осведомленностью о критериях инвалидности медицинских специалистов. Среди факторов риска формирования инвалидности наиболее обсуждаемыми являются достижения перинатологии, приводящие к улучшению выхаживания недоношенных и маловесных новорожденных, и широкое применение вспомогательных репродуктивных технологий. Важной частью всех профилактических мероприятий, направленных на снижение генетического груза популяции, является пренатальная и преимплантационная диагностика. Представляется целесообразным расширением скрининга на врожденные и наследственные болезни обмена в неонатальном периоде, включение в него наиболее распространенных нозологических форм редких болезней. В решении проблем профилактики детской инвалидности следует отдавать приоритет развитию служб планирования деторождения, совершенствованию антенатальной и перинатальной помощи, профилактической работе со здоровыми детьми, но имеющими отклонения в развитии, внедрению скринирующих программ на разные виды патологии, развитию медико-генетической службы.

Ключевые слова: дети-инвалиды, детская инвалидность, факторы риска, профилактика, государственная социальная политика.

(Для цитирования: Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Терлецкая Р.Н., Антонова Е.В. Проблемы детской инвалидности в современной России. Вестник РАМН. 2017;72 (4):305–312. doi: 10.15690/vramn823)

305

Введение

Детская инвалидность является одним из ведущих показателей, характеризующих положение детей в стране, уровень развития и эффективность деятельности госу-

дарственных и негосударственных систем, оказывающих помощь данному контингенту населения [1].

В Национальной стратегии действий в интересах детей на 2012–2017 гг. (утвержденной Указом Президента Российской Федерации № 761 от 1 июня 2012 г.) в каче-

A.A. Baranov, L.S. Namazova-Baranova, R.N. Terletskaia, E.V. Antonova

National Medical Research Center of Children's Health,
Moscow, Russian Federation

Problems of Children's Disability in Modern Russia

Creation of system of early prophylaxis of children disability and support of the families bringing up disabled children and children with limited opportunities are among the main priorities of the Russian Federation state social policy. There are a number of problems requiring immediate solutions. Dynamics of children's disability in our country is characterized by process stagnation. The age and gender structure of children's disability practically doesn't change. The analysis of its nosological structure shows that alienations and disorders of behavior, illness of a nervous system and congenital anomalies of development steadily occupy more than 60% among the illnesses which caused disability of children of all age groups. There was a decrease in the prevalence of total disability in most classes of diseases, such as injuries, diseases of the genitourinary system, respiratory system, musculoskeletal system, digestive system and growth of disability caused by neoplasms and diseases of the endocrine system. The underestimation of children's disability bound to various reasons is supposed: social motivation of a family, complexity of legal veneering, strict requirements of service of medico-social examination, insufficient medical experts awareness on criteria of disability. Among disability formations risk factors the most discussed are the achievements of perinatology leading to improvement of nursing of prematurely born and small newborns, and wide uses of auxiliary genesial technologies. An important part of all preventive measures aimed at reducing the genetic load of population is prenatal and preimplantation diagnosis. It seems appropriate to extend the screening to congenital and hereditary metabolic diseases in neonatal period, including the most common nosological forms of infrequent illnesses. In solving problems of childhood disability prevention a priority should be given to development of services of family planning; improving antenatal and perinatal care; preventive work with healthy but having deviations in development children; development of medical genetic services; implementation of programs of different types of pathology screening.

Key words: disabled children, children's disability, risk factors, prophylaxis, state social policy.

(For citation: Baranov AA, Namazova-Baranova LS, Terletskaia RN, Antonova EV. Problems of Children's Disability in Modern Russia. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2017;72 (4):305–312. doi: 10.15690/vramn823)

стве основных задач по направлению «Равные возможности для детей, нуждающихся в особой заботе государства» установлены:

- создание системы ранней профилактики инвалидности у детей;
- всесторонняя поддержка семей, воспитывающих детей-инвалидов и детей с ограниченными возможностями здоровья;
- создание современной комплексной инфраструктуры реабилитационно-образовательной помощи детям-инвалидам и детям с ограниченными возможностями здоровья, внедрение таких детей в среду обычных сверстников, обеспечение их нормального жизнеустройства в будущей взрослой жизни¹.

Решение названных задач и достижение поставленных целей входят в число основных приоритетов государственной социальной политики Российской Федерации. Регулярно проводятся мероприятия стратегического характера, направленные на формирование комплексного подхода и принятие основополагающих решений по отдельным аспектам проблем профилактики инвалидности детей, реабилитации и организации санаторно-курортного лечения детей-инвалидов.

Так, на заседании Комиссии при Президенте Российской Федерации по делам инвалидов 15 июля 2015 г. обсуждались основные задачи по формированию системы комплексной реабилитации детей-инвалидов, 16 сентября 2016 г. — вопросы обеспечения их техническими средствами реабилитации; на заседании президиума Государственного совета Российской Федерации 26 августа 2016 г. обсуждались меры по повышению инвестиционной привлекательности санаторно-курортного комплекса в Российской Федерации, 31 августа 2016 г. распоряжением Правительства Российской Федерации № 1839-р утверждена Концепция развития ранней помощи в Российской Федерации на период до 2020 г.

Координационный совет при Президенте Российской Федерации по реализации Национальной стратегии действий в интересах детей на 2012–2017 гг., обсудив вопросы профилактики инвалидности и организации санаторно-курортного лечения детей в Российской Федерации, 15 ноября 2016 г. обратился к Президенту Российской Фе-

дерации с предложением о формировании перечня поручений Президента Российской Федерации. Вместе с тем, несмотря на принимаемые государством меры, существует ряд проблем, требующих незамедлительного решения. В настоящее время среди проблем детской инвалидности приоритетными являются ее учет и профилактика.

Состояние и тенденции детской инвалидности в России

Начиная с середины 2000-х годов отмечается постоянное снижение как абсолютного числа детей-инвалидов, так и уровня общей детской инвалидности (рис. 1). В 2011–2013 гг. этот процесс приостановился.

В 2015 г., по данным годового отчета федерального статистического наблюдения № 19 «Сведения о детях-инвалидах» в Российской Федерации, было зарегистрировано 540,6 тыс. детей-инвалидов в возрасте 0–17 лет, что составило 190,6 на 10 000 детского населения соответствующего возраста. Максимальные показатели приходились на возраст 15–17 (256,6 на 10 000) и 10–14 (254,6 на 10 000) лет.

По данным Пенсионного фонда Российской Федерации, в Федеральном регистре лиц, имеющих право на получение государственной социальной помощи, на 01.01.2016 в России было зарегистрировано 612 000 детей-инвалидов (347 000 мальчиков и 265 000 девочек). Такая разница в показателях объясняется отсутствием единой межведомственной государственной системы статистического учета и отчетности параметров, характеризующих уровень и структуру инвалидности у детей. По сравнению с 2000 г. уровень впервые установленной инвалидности в России изменился мало: в 2000 — 25,2, в 2015 — 26,4 случая на 10 000 детского населения в возрасте до 18 лет.

Следует отметить, что возрастная и гендерная структура детской инвалидности практически не меняется. Наибольшая доля детей-инвалидов приходится на возрастную группу 10–14 лет (рис. 2).

Основной причиной для признания ребенка инвалидом служит заболевание, которое приводит к невозможности ребенком вести жизнь, обычную в его возрасте.

Среди всех заболевших доля детей-инвалидов невелика. Так, по данным 2015 г., при всех случаях психических

¹ Доступно на: <http://www.studfiles.ru/preview/2239484/page:2/>

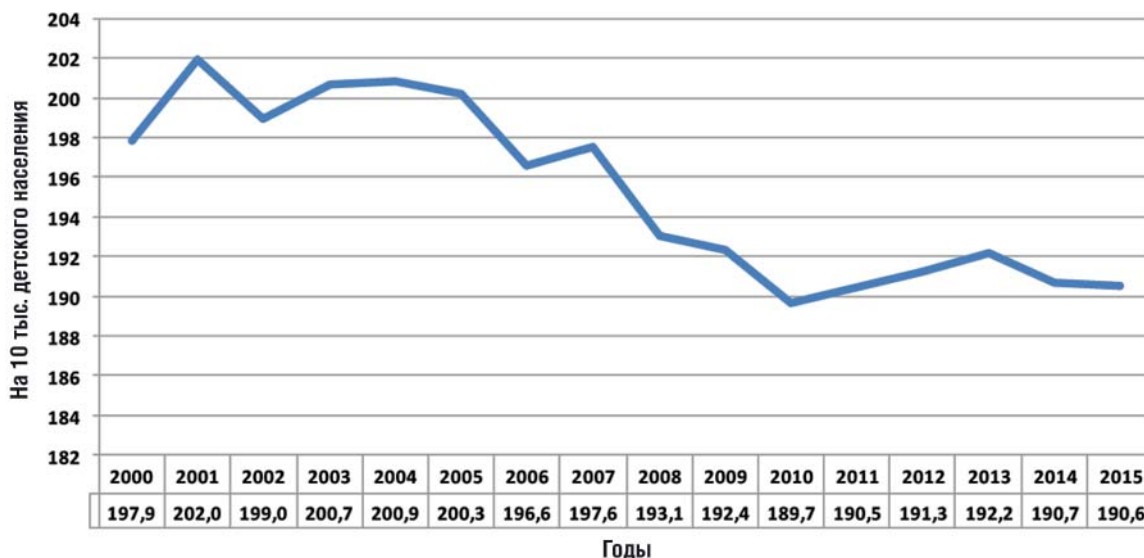


Рис. 1. Распространенность инвалидности среди детей в возрасте 0–17 лет в Российской Федерации (на 10 000 населения соответствующего возраста)

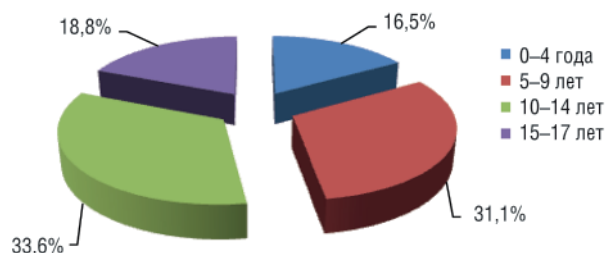


Рис. 2. Возрастная структура детской инвалидности в Российской Федерации, 2015 г.

расстройств инвалидность устанавливается в 14,4%, при всех врожденных аномалиях развития — в 10,1%, при новообразованиях — в 6,6%, при болезнях нервной системы — в 4,7%, при эндокринных заболеваниях — в 2,7% случаев. При патологии, относящейся к другим классам болезней, инвалидность формируется реже чем в 2% случаев. Следует отметить, что до 2010 г. по частоте формирования инвалидности на первом месте находились врожденные аномалии развития, деформации и хромосомные нарушения.

Считается, что постоянный рост общей заболеваемости детского населения в нашей стране приведет к росту распространенности инвалидности [2]. Однако не были установлены параллели между показателями заболеваемости и инвалидности. Более того, уровень распространенности инвалидности «не реагирует» и на интенсивное снижение детской смертности [1–3]. Анализ структуры детской инвалидности свидетельствует о том, что наибольшая доля приходится на психические расстройства и расстройства поведения, болезни нервной системы и врожденные аномалии развития, которые постоянно составляют около 2/3 причин, обусловивших инвалидность детей всех возрастов (рис. 3); 1/5 составляют инфекционно-соматические заболевания (болезни органов дыхания, костно-мышечной и мочеполовой систем, эндокринные заболевания и др.). Распределение заболеваний по ранговым местам сохраняется в течение всего периода наблюдения.

За период 2005–2015 гг. произошло снижение распространенности общей инвалидности по большинству классов болезней: наиболее выраженное при травмах (на 50%), заболеваниях мочеполовой системы (на 42,9%), органов дыхания (на 42,3%), костно-мышечной системы (на 34,1%), органов пищеварения (на 29,2%). Важным представляется тенденция к снижению формирования инвалидности при врожденных аномалиях развития (на

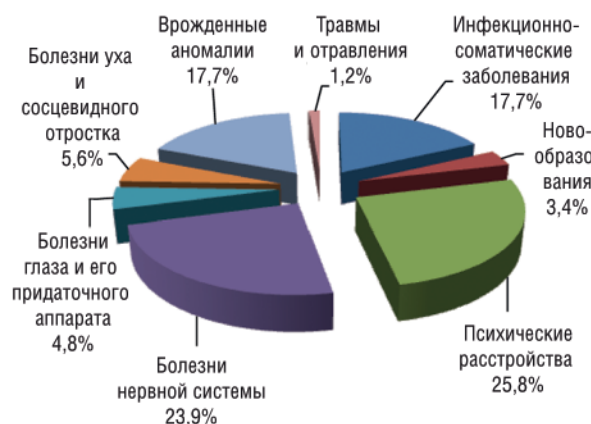


Рис. 3. Структура причин общей инвалидности детей в возрасте 0–17 лет в Российской Федерации, 2015 г.

8,7%). Вместе с этим наблюдается рост распространенности инвалидности, обусловленной новообразованиями (на 17,3%), болезнями эндокринной системы (на 16,1%), уха и сосцевидного отростка (на 8,2%) и такими лидирующими причинами, как болезни нервной системы (на 8,1%), психические расстройства и расстройства поведения (на 3,5%).

Среди психических расстройств наибольший удельный вес имеет умственная отсталость (66,6%), затем следуют психозы (16,7%), где более половины (54,8%) приходится на детский аутизм. Следует отметить, что с 2011 г. наблюдается рост психозов среди детей-инвалидов (с 5,7 на 10 000 населения в 2011 г. до 8,2 в 2015; рис. 4). В структуре болезней нервной системы наибольшая доля приходится на церебральный паралич и другие паралитические синдромы (61,8%), что составляет 28,1 на 10 000 населения. Однако в динамике за последние 5 лет наблюдается тенденция к увеличению этого показателя с 27,0 на 10 000 населения в 2011 г. до 28,1 в 2015 (рис. 5). Наиболее значимыми среди врожденных пороков развития являются врожденные аномалии системы кровообращения (24,7%), затем следуют хромосомные нарушения, не классифицированные в других рубриках (12,6%), и аномалии нервной системы (11,0%) (рис. 6). На долю этих трех основных классов заболеваний в 2015 г. приходилось 67,4% причин инвалидности детей.

В структуре причин первичной инвалидности первые ранговые места стабильно занимают врожденные

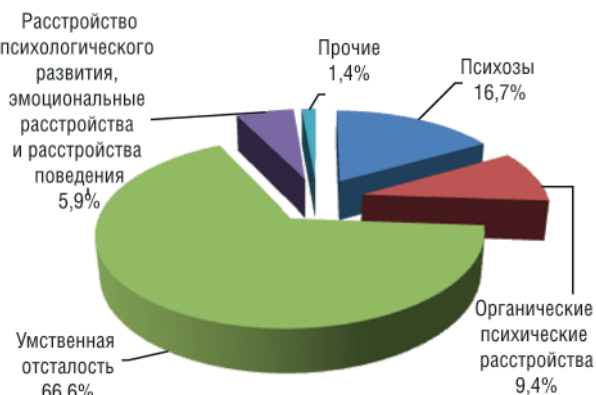


Рис. 4. Структура психических расстройств и расстройств поведения у детей-инвалидов в возрасте 0–17 лет в Российской Федерации, 2015 г.



Рис. 5. Структура болезней нервной системы у детей-инвалидов в возрасте 0–17 лет в Российской Федерации, 2015 г.

Примечание. ЦНС — центральная нервная система.

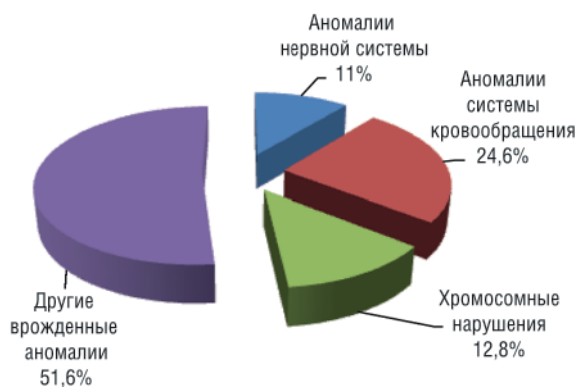


Рис. 6. Структура врожденных аномалий у детей-инвалидов в возрасте 0–17 лет в Российской Федерации, 2015 г.

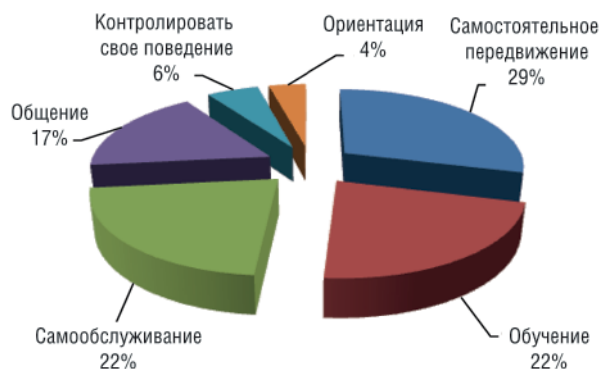


Рис. 7. Структура инвалидности детей в возрасте 0–17 лет по видам ограничения жизнедеятельности в Российской Федерации

аномалии развития, деформации и хромосомные нарушения, психические расстройства и расстройства поведения, болезни нервной и эндокринной систем. В связи с сокращением впервые установленной инвалидности, обусловленной врожденными аномалиями развития (с 5,8 на 10 000 детского населения в 2005 г. до 4,4 в 2015), на первое место переместились психические расстройства и расстройства поведения.

Структура общей инвалидности по ведущему ограничению жизнедеятельности остается постоянной. Анализ средних показателей свидетельствует, что чаще всего отмечается ограничение жизнедеятельности в связи с нарушением способности самостоятельно передвигаться (в среднем 29% случаев), к самообслуживанию (22%), обучению (22%), общению (17%), реже — с нарушением способности контролировать свое поведение (6%) и ориентироваться (4%) (рис. 7).

Проблемы определения и учета детской инвалидности

Вопрос о соответствии статистических данных об инвалидности и ее истинной распространенности поднимается многими зарубежными и отечественными авторами. По данным Европейской академии по изучению проблем детской инвалидности, ее уровень должен составлять 2,5 на 100 детей (наиболее тяжелые состояния — 1/100) [4]. Самый высокий показатель инвалидности в нашей стране среди детей в возрасте 0–15 лет имел место в 2002 г. — 195,2, а среди подростков в возрасте 15–17 лет — в 2004 г. — 200,8 на 10 000 детей соответствующего возраста, т.е. не превышал 2,0 на 100 детей. Более того, по мнению Европейской академии по изучению

проблем детской инвалидности, общее число случаев детей с ограниченными возможностями и детей-инвалидов достигает 10%. В России дети с ограниченными возможностями пока не учитываются [1].

По расчетам экспертов Европейского регионального бюро Всемирной организации здравоохранения в странах Восточной Европы, к которым относится Россия, число детей-инвалидов должно быть на уровне не менее 3% всего детского населения [4]. Доля детей-инвалидов среди всего детского населения РФ в 2015 г. составила 2%. По нашим расчетам, исходя из общей численности детского населения (на 01.2016 г. — 28 357 975 человек), число детей, недоучтенных в категории «дети-инвалиды», — не менее 275–280 000 человек, имеющих ограничения жизнедеятельности чаще вследствие соматической патологии, не признаются инвалидами и не обеспечены государством мерами социальной защиты.

Социальная мотивированность семьи в получении статуса инвалида для ребенка определяется множеством причин. Оказывает влияние разное отношение родителей к тому, что их ребенок будет считаться инвалидом. Можно полагать, что некоторые семьи не заинтересованы в установлении инвалидности ребенку, так как это может отразиться на перспективе его жизненного маршрута. Кроме этого, не все семьи готовы пройти сложную процедуру установления инвалидности, сопровождаемую непосильными хлопотами, необходимостью неоднократных посещений бюро медико-социальной экспертизы. Стоит упомянуть сельских жителей, для которых малодоступны квалифицированные медицинские услуги, не говоря о педиатрических бюро медико-социальной экспертизы, куда родителям с ребенком-инвалидом бывает трудно добраться как по финансовым, так и физическим причинам [1].

Недоучет детской инвалидности связан в том числе и с концентрацией детей с наиболее тяжелыми формами умственной отсталости в интернатах, где они находятся на полном государственном обеспечении, не нуждаются в оформлении социальных пенсий по инвалидности и, соответственно, не учитываются официальной статистикой. На учет детской инвалидности влияет уровень развития медицины и здравоохранения, определяющий качество диагностики и ее доступность.

Несмотря на введение в России критериев инвалидности, сопоставимых на международном пространстве, которые основаны на Международной классификации нарушений, ограничений жизнедеятельности и социальной недостаточности, система учета инвалидности практически не изменилась: событие попадает под наблюдение только при его юридическом оформлении [5]. С другой стороны, медицинские специалисты (это наиболее частый канал попадания ребенка в бюро медико-социальной экспертизы) все еще недостаточно осведомлены о критериях инвалидности, что также ограничивает возможность получить этот статус и следующую за ним поддержку государства. Педиатры имеют недостаточный уровень подготовки по вопросам нормального и отклоняющегося развития детей разного возраста, что тоже оказывает влияние на своевременность предположения о формировании нарушений развития и ограничений жизнедеятельности, а следовательно, и на своевременное направление ребенка в бюро медико-социальной экспертизы [1].

При установлении инвалидности детям в службе медико-социальной экспертизы действуют жесткие требования, сокращающие возможность установить инвалидность даже там, где есть ограничения. Значительной проблемой в сфере детской инвалидности является ши-

рокая практика учреждений медико-социальной экспертизы лишения ребенка статуса «инвалид» после лечения высокоэффективными дорогостоящими препаратами. Отмена бесплатного обеспечения указанными препаратами приводит к прогрессированию заболевания, снижению качества жизни ребенка и повторному установлению инвалидности [1].

Некоторые факторы риска формирования инвалидности у детей

Достижения медицинской науки привели не только к повышению эффективности лечения и реабилитации при многих заболеваниях, но и способствовали появлению ряда факторов риска формирования инвалидности у детей, некоторые из которых представлены далее.

Так, в настоящее время многие исследователи считают, что развитие перинатологии, повышение выживаемости новорожденных привело к росту инвалидирующих расстройств у выживших детей [6–10]. Частота инвалидности среди таких детей увеличивается по мере снижения массы тела: среди новорожденных с массой тела 1000 г и ниже тяжелые инвалидирующие расстройства отмечаются в 28% случаев, а менее грубые — в 44% [11–13].

В связи с переходом на новые критерии регистрации рождения, рекомендованные Всемирной организацией здравоохранения, а также с улучшением выхаживания недоношенных и маловесных новорожденных их число увеличивается. В Российской Федерации доля недоношенных детей, родившихся с низкой, очень низкой и экстремально низкой массой тела, среди всех родившихся живыми в настоящее время составляет 11,8%. При этом следует учитывать, что в стране еще крайне неразвита сеть перинатальных центров (на 2015 г. — 60 учреждений).

По свидетельству Европейской академии по изучению проблем детской инвалидности, при тяжелых врожденных аномалиях инвалидность формируется у 75% детей, а при прочих пороках — в 33% [4]. По другим данным, случаи ранней и тяжелой инвалидности в результате врожденных аномалий регистрируются у 7 детей из 1000 [14, 15]. Показано, что причинами отставания в умственном и физическом развитии в большинстве случаев (до 65%) являются врожденные аномалии и хромосомные нарушения, связанные с поражением центральной нервной системы в антенатальном периоде развития. Среди них, прежде всего, детский церебральный паралич — 35%, эпилепсия — 20,1%, а также наследственные дегенеративные заболевания центральной нервной системы [1]. Среди врожденных аномалий развития, являющихся обусловившими инвалидность заболеванием, отмечается высокий уровень аномалий костно-мышечной и мочеполовой систем [16].

Немаловажной составной частью всех профилактических мероприятий, направленных на снижение генетического груза популяции, являются пренатальная и преимплантационная диагностика, позволяющие снизить риск рождения ребенка с наследственным заболеванием. В настоящее время пренатальная диагностика проводится инвазивными и неинвазивными методами исследования, информируя будущую мать о выявленных болезнях вынашиваемого плода с 9-й недели беременности, тогда как преимплантационная диагностика позволяет отобрать генетически здоровых эмбрионов на ранних стадиях гаметогенеза. Недостаточная информированность врачей и населения страны, прежде всего женщин, о реальных возможностях пренатальной и преимплантационной диа-

гностики не позволяет использовать эти профилактические возможности в полной мере.

Результаты скринингового ультразвукового исследования плода и проб на биохимический скрининг в Российской Федерации в 2012–2014 гг. показали, что охват данным исследованием беременных женщин был довольно высоким, составляя более 97%. Число плодов с выявленными врожденными пороками развития не превышало 2%. Отклонения при проведении проб на биохимический скрининг регистрировались в 4–5% случаев.

Своевременное выявление таких состояний в настоящее время может обеспечить неонатальный скрининг — самый эффективный метод диагностики и профилактики наследственных заболеваний. В нашей стране охват неонатальным скринингом достигает 95%. За период 2008–2015 гг. проведено 65,9 млн скрининговых тестов и выявлено более 10 000 новорожденных с врожденными и наследственными заболеваниями. Чаще всего обнаруживались врожденный гипотиреоз и фенилкетонурия.

Охват аудиологическим скринингом в последние годы увеличился и стал превышать 99%. За указанный период проведено 6,2 млн исследований, выявлено 19,6 тыс. новорожденных с нарушением слуха, доля которых среди обследованных колебалась от 0,1% в 2008 г. до 0,5% в 2011 г.

Как показывает отечественная и зарубежная практика, целесообразно проведение более широкого скрининга на врожденные и наследственные болезни обмена в неонатальном периоде, в частности на наиболее распространенные нозологические формы редких болезней [16].

В связи с этим, руководствуясь перечнем жизнеугрожающих и хронических прогрессирующих редких (орфанных) заболеваний, приводящих к сокращению продолжительности жизни граждан или их инвалидности, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации № 403 от 26 апреля 2012 г., массовый неонатальный скрининг предлагается дополнить следующими наследственными болезнями: «тирозинемия, болезнь «кленового сиропа», другие виды нарушений обмена аминокислот с разветвленной цепью (изовалериановая, метилмалоновая, пропионовая ацидемии), нарушения обмена жирных кислот, гомоцистинурия, глютарикацидурия, другие сфинголипидозы (болезнь Фабри, мукополисахаридозы (тип I, тип II, тип VI))»².

Кроме того, список скринируемых нозологий важно дополнить болезнью Гоше и болезнью Помпе, при которых применяется патогенетическая терапия с помощью препаратов, зарегистрированных на территории Российской Федерации. Все эти состояния необходимо выявлять в неонатальном периоде, на доклинической стадии, что позволит в подавляющем большинстве случаев не допустить тяжелую инвалидизацию больных детей, сократив количество госпитализаций и их продолжительность вплоть до перевода детей на амбулаторное лечение [17–19].

В настоящее время растет частота использования вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) при женском бесплодии. Так, если в 2011 г. в Российской Федерации на 1 млн населения было выполнено 398,3 циклов ВРТ, то в 2012 г. уже 438,7 [20].

Как свидетельствуют данные литературы, у детей, родившихся в результате экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), на 30–40% чаще, чем в общей по-

² Доступно на: <http://www.zakonprost.ru/content/base/part/1053068>

пуляции, регистрируются «большие» пороки развития [21–26]. В Китае при обследовании около 100 000 детей, рожденных с помощью ЭКО, были выявлены высокие риски врожденных аномалий системы кровообращения, нервной, костно-мышечной, пищеварительной и мочеполовой систем. При оценке здоровья 27 000 детей, родившихся после использования ВРТ в Дании, у 7% новорожденных установлены врожденные пороки развития при частоте 1–5% в популяции [27]. Аналогичные данные были получены отечественными исследователями: пороки развития отмечены у 6,6% новорожденных при популяционной частоте 5,27% [28].

Следует отметить, что среди детей, рожденных при использовании ВРТ, госпитализированных в клинику Национального медицинского исследовательского центра здоровья детей Минздрава России, в 14,6% случаев отмечалось тяжелое сочетанное поражение центральной нервной системы, в 27,6% — пороки развития (в том числе множественные), в 5,4% — наследственные заболевания, в 23,7% — тяжелые сочетанные инфекции [29].

Среди экологических факторов в Российской Федерации большое значение по-прежнему имеет природный дефицит йода, который охватывает около 50% территорий страны. В связи с прекращением йодной профилактики нарастает напряженность зобной эндемии, отрицательно сказывающейся на здоровье детей: это, прежде всего, задержка умственного, физического и полового развития. Весьма неблагоприятным является сочетание йодного дефицита с антропогенными загрязнениями, которое может усиливать влияние зобной эндемии, способствовать развитию опухолевых процессов в щитовидной железе, что и имело место на территориях, подвергшихся радиационному загрязнению в результате аварии на Чернобыльской АЭС [30, 31].

Представляет интерес исследование, в котором было показано, что распространенность инвалидности у детей снижается на 16% при отсутствии наследственной отягощенности, на 12% при отсутствии вредных привычек, на 7% при исключении труда на вредном производстве среди родителей, на 6% при проведении у беременных женщин профилактики анемии. Сокращение числа преждевременных родов, использование современных перинатальных технологий при выхаживании маловесных детей снижает у них на 10% частоту тяжелых форм инвалидности на первом году жизни [32].

Развитие реабилитационной помощи детям раннего возраста с соматической и психоневрологической патологией в 76–98% случаев способствует нормализации неврологического статуса. Около 80% родителей, занимающихся в «Школах здоровья», овладевая методами абилитации, успешно применяют их в домашних условиях, обеспечивая непрерывность процесса и повышая ее эффективность [17].

При адекватной догестационной подготовке супружеских пар отмечается снижение частоты фолатзависимых врожденных пороков развития — дефектов нервной трубки, а также йодной недостаточности у новорожденных детей. Установлено, что йодная профилактика среди беременных, кормящих женщин и детей раннего возраста приводит к снижению среди последних случаев перинатальных поражений центральной нервной системы на 20% и общей заболеваемости на 30% [33]. Внедрение в деятельность многопрофильных педиатрических учреждений организационной модели «Пренатальный консилиум» с привлечением врача-педиатра, генетика, хирурга-неонатолога, специалиста по ультразвуковой диагностике и других позволяет в пренатальном периоде

выявить у беременной врожденную патологию будущего ребенка и провести в раннем неонатальном периоде коррекцию порока. Это дает возможность предотвратить формирование инвалидности у детей в результате врожденных аномалий в 98% случаев [34].

Заключение

Учитывая причины формирования инвалидности и ее структуру по обусловившему заболеванию, при разработке стратегических направлений в решении проблем детской инвалидности в вопросах ее профилактики в деятельности службы охраны материнства и детства следует отдавать приоритет развитию медико-генетической службы; совершенствованию антенатальной и перинатальной помощи; внедрению скринирующих программ на разные виды патологии в возрастных периодах, являющихся критическими для развития той или иной патологии; развитию системы медицинской помощи детям, страдающим хроническими заболеваниями и имеющим нарушения здоровья и ограничения возможностей, но официально не признанными инвалидами.

Изучение закономерностей формирования инвалидизирующих состояний при различных заболеваниях позволит:

- лучше определить реальное число детей с ограничениями жизни и социальной недостаточностью, которые, по сути, являются инвалидами и требуют поддержки со стороны государства и общества;
- планировать развитие реабилитационной помощи детям, страдающим хроническими формами заболеваний;
- разрабатывать адекватные реабилитационные программы для детей-инвалидов;
- формировать и проводить превентивную политику (меры по профилактике инвалидности и меры, нацеленные на выход из нее).

Наряду с этим весьма важным представляется раннее выявление инвалидизирующих состояний, задержек умственного и психомоторного развития у детей. Возможность решения данной проблемы связана не только с квалификацией педиатрических кадров и работников службы медико-социальной экспертизы, но и с действующими критериями инвалидности у детей.

Представляется, что в научном плане необходимо изучить вопросы неучтенной детской инвалидности и качества жизни как детей-инвалидов, так и имеющих хронические заболевания. Это позволит обосновать мероприятия по расширению услуг на государственном уровне и улучшению положения детей, страдающих тяжелыми хроническими заболеваниями и имеющих сложные дефекты развития. Будет достигнуто понимание проблем детей-инвалидов, увиденных их собственными глазами.

Источник финансирования

Работа выполнена на личные средства авторского коллектива.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Баранов А.А., Альбицкий В.Ю., Зелинская Д.И., и др. *Инвалидность детского населения России*. — М.: Центр развития межсекторальных программ; 2008. — 240 с. [Baranov AA, Al'bitsky VYu, Zelinskaya DI, Terletskaya RN. *Invalidnost' detskogo naseleniya Rossii*. Moscow: Tsentr razvitiya mezhsektoral'nykh program; 2008. 240 p. (In Russ).]
- Максимова Т.М. Социальный градиент в формировании здоровья детей // *Здравоохранение Российской Федерации*. — 2003. — №2 — С. 43–46. [Maksimova TM. *Sotsial'nyi gradient v formirovaniy zhdopov'ya detei. Zdravookhr Ross Fed.* 2003;(2):43–46. (In Russ).]
- Основные тенденции здоровья детского населения России* / Под ред. Баранова А.А., Альбицкого В.Ю. — М.: Союз педиатров России; 2011. — 116 с. [Osnoynye tendentsii zdorov'ya detskogo naseleniya Rossii. Ed by Baranov A.A., Al'bitsky V.Yu. Moscow: Soyuz pediatrov Rossii; 2011. 116 p. (In Russ).]
- ЮНИСЕФ. *Проблемы детской инвалидности в переходный период в странах ЦВЕ/СНГ и Балтии. Доклад ЮНИСЕФ*. — М.; 2005. — 70 с. [UNICEF. *Problemy detskoj invalidnosti v perekhodnyi period v stranakh TsVE/SNG i Baltii. Doklad UNICEF*. Moscow; 2005. 70 p. (In Russ).]
- Иванова А.Е., Кондракова Э.В. Состояние здоровья и инвалидность // *Общественное здоровье и профилактика заболеваний*. — 2006. — №2 — С. 15–27. [Ivanova AE, Kondrako-va EV. *Sostoyanie zdorov'ya i invalidnost'.* *Obshchestvennoe zdorov'e i profilaktika zabolevaniy.* 2006;(2):15–27. (In Russ).]
- Askie LM, Darlow BA, Davis PG, et al. Effects of targeting lower versus higher arterial oxygen saturations on death or disability in preterm infants. *The Cochrane Database Syst Rev.* 2017;11(4):CD011190. doi: 10.1002/14651858.
- Mahoney K, Bajuk B, Oei J, et al. Risk of neurodevelopmental impairment for outborn extremelypreterm infants in an Australian regional network. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017;30(1):96–102. doi: 10.3109/14767058.2016.1163675.
- Kim DY, Park HK, Kim NS, et al. Neonatal diffusion tensor brain imaging predicts later motor outcome in preterm neonates with white matter abnormalities. *Ital J Pediatr.* 2016;42(1):104. doi: 10.1186/s13052-016-0309-9.
- Joseph RM, Korzeniewski SJ, Allred EN, et al. Extremely low gestational age and very low birthweight for gestational age are risk factors for autism spectrum disorder in a large cohort study of 10-year-old children born at 23–27 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;216(3):1–16. doi: 10.1016/j.ajog.2016.11.1009.
- Smithers-Sheedy H, McIntyre S, Gibson C, et al. A special supplement: findings from the Australian Cerebral Palsy Register, birth years 1993 to 2006. *Dev Med Child Neurol.* 2016;58(2):5–10. doi: 10.1111/dmcn.13026.
- Барашнев Ю.И. *Перинатальная неврология*. — М.: Триада-Х; 2011. — 672 с. [Barashnev YuI. *Perinatal'naya nevrologiya*. Moskva: Triada-Kh; 2011. 672 p. (In Russ).]
- Намазова-Баранова Л.С., Деев И.А., Кобякова О.С., и др. Особенности соматической патологии у детей с низкой, очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении в различные возрастные периоды жизни // *Бюллетень Сибирской медицины*. — 2016. — Т.15. — №4 — С. 140–149. [Namazova-Baranova LS, Deyev IA, Kobyakova OS, et al. *Features of somatic pathology in children with low, very low and extremely low birth weight at different ages of life (review of the world literature).* *Bulletin of the Siberian medicine.* 2016;15(4):140–149. (In Russ).] doi: 10.20538/1682-0363-2016-4-140-149.
- Wilson-Costello D, Friedman H, Minich N, et al. Improved survival rates with increased neurodevelopmental disability for extremely low birth weight infants in the 1990s. *Pediatrics.* 2005;115(4):997–1003. doi: 10.1542/peds.2004-0221.
- Альбицкий В.Ю., Юсупова А.Н., Шарапова Е.И., Волков И.М. *Репродуктивное здоровье и поведение женщин России*. — Казань: Медицина; 2001. [Al'bitskii VYu, Yusupova AN, Sharapova EI, Volkov IM. *Reproduktivnoe zdorov'e i povedenie zhenshchin Rossii*. Kazan: Meditsina; 2001. (In Russ).]
- Бочков Н.П., Катосова Л.Д., Титенко Н.В., Филиппова Т.В. Экологические изменения и наследственность человека // *Клиническая медицина*. — 1990. — Т.68. — №5 — С. 25–32. [Bochkov NP, Katosova LD, Titenko NV, Filippova TV. *Ekologicheskie izmeneniya i nasledstvennost' cheloveka. Klinicheskaya meditsina.* 1990;68(5):25–32. (In Russ).]
- Андреева Л.П., Кулешов Н.П., Мутовин Г.Р., и др. Наследственные и врожденные болезни: вклад в детскую заболеваемость и инвалидность, подходы к профилактике // *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. — 2007. — Т.86. — №3 — С. 8–14. [Andreeva LP, Kuleshov NP, Mutovin GR, et al. *Nasledstvennye i vrozhdennye bolezni: vklad v detskuyu zaboлеваemost' i invalidnost', podkhody k profilaktike. Pediatrya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo.* — 2007. — Т.86. — №3 — С. 8–14. (In Russ).]
- Кузенкова Л.М., Намазова-Баранова Л.С., Подклетнова Т.В., и др. Болезнь Фабри: особенности заболевания у детей и подростков // *Вопросы современной педиатрии*. — 2015. — Т.14. — №3 — С. 341–348. [Kuzenkova LM, Namazova-Baranova LS, Podkletnova TV, et al. *Fabry disease: symptoms in children and teenagers. Current pediatrics.* 2015;14(3):341–348. (In Russ).] doi: 10.15690/vsp.v14i3.1369.
- Осипова Л.А., Кузенкова Л.М., Намазова-Баранова Л.С., и др. Нейропатические мукополисахаридозы: патогенез и будущее терапевтических подходов // *Вопросы современной педиатрии*. — 2015. — Т.14. — №5 — С. 539–547. [Osipova LA, Kuzenkova LM, Namazova-Baranova LS, et al. *Neuropathic types of mucopolysaccharidoses: pathogenesis and emerging treatments. Current pediatrics.* 2015;14(5):539–547. (In Russ).] doi: 10.15690/vsp.v14i5.1436.
- Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Гундобина О.С., и др. Ведение детей с болезнью Гоше. Современные клинические рекомендации // *Педиатрическая фармакология*. — 2016. — Т.13. — №3 — С. 244–250. [Baranov AA, Namazova-Baranova LS, Gundobina OS, et al. *Managing children with Gaucher disease: modern clinical recommendations. Pediatric pharmacology.* 2016;13(3):244–250. (In Russ).] doi: 10.15690/pf.v13i3.1574.
- Корсак В.С., Смирнова А.А., Шурыгина О.В. ВРТ в России по данным регистра 2012 г // *Проблемы репродукции*. — 2014. — №3–4 — С. 5–7. [Korsak VS, Smirnov AA, Shurygina OV. *ART in Russia according to the register of 2012. Problemy reproduksii.* 2014;(3–4):5–7. (In Russ).]
- Davies MJ, Moore VM, Willson KJ, et al. Reproductive technologies and the risk of birth defects. *N Engl J Med.* 2012;366(19):1803–1813. doi: 10.1056/NEJMoa1008095.
- Wen J, Jiang J, Ding C, et al. Birth defects in children conceived in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 2012;97(6):1331–1337. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.02.053.
- Sandin S, Nygren KG, Iliadou A, et al. Autism and mental retardation among offspring born after in vitro fertilization. *JAMA.* 2013;310(1):75–84. doi: 10.1001/jama.2013.7222.
- Lu Y, Wang N, Jin F. Long-term follow-up of children conceived through assisted reproductive technology. *J Zhejiang University Science B.* 2013;14(5):359–371. doi: 10.1631/jzus.B1200348.
- Iwashima S, Ishikawa T, Itoh H. Reproductive technologies and the risk of congenital heart defects. *Hum Fertil (Camb).* 2017;20(1):14–21. doi: 10.1080/14647273.2016.1254352.
- Chaabane S, Sheehy O, Monnier P, et al. Ovarian stimulators, intrauterine insemination, and assisted reproductive technologies use and the risk of major congenital malformations—the ATRISK

- Study. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2016;107(3):136–147. doi: 10.1002/bdrb.21178.
27. Fedder J, Loft A, Parner ET, et al. Neonatal outcome and congenital malformations in children born after ICSI with testicular or epididymal sperm: a controlled national cohort study. *Hum Reprod.* 2013;28(1):230–240. doi: 10.1093/humrep/des377.
 28. Савельева Г.М., Курцер М.А., Карачунская Е.М., и др. Здоровье детей, рожденных после ЭКО // *Акушерство и гинекология.* — 2010. — №5 — С. 49–54. [Savelyeva GM, Kurtser MA, Karachunskaya YeM, et al. Health of babies born after in vitro fertilization. *Akush Ginekol (Mosk).* 2010;(5):49–54 (In Russ).]
 29. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Беляева И.А., и др. Медико-социальные проблемы вспомогательных репродуктивных технологий с позиции педиатрии // *Вестник Российской академии медицинских наук.* — 2015. — Т.70. — №3 — С. 307–314. [Baranov AA, Namazova-Baranova LS, Belyaeva IA, et al. Medical and social problems of assisted reproductive technologies from the perspective of pediatrics. *Annals of the Russian academy of medical sciences.* 2015;70(3):307–314. (In Russ).] doi: 10.15690/vramn.v70i3.1326.
 30. Терлецкая Р.Н., Цымлякова Л.М. Результаты длительного мониторинга за состоянием здоровья детей, подвергшихся радиационному воздействию в результате аварии на Чернобыльской АЭС / IX Международный симпозиум «Мониторинг, аудит и информационное обеспечение в системе медико-экологической безопасности»; 27 апреля — 4 мая, 2002; Коста-Даурада, Испания. — С. 67–69. [Terletskaia RN, Tsymlyakova LM. Rezul'taty dlitel'nogo monitoringa za sostoyaniem zdorov'ya detei, podverghshikhся radiatsionnomu vozdeistviyu v rezul'tate avarii na Chernobyl'skoi AES. (Conference proceedings) IX Mezhdunarodnyi simpozium «Monitoring, audit i informatsionnoe obespechenie v sisteme mediko-ekologicheskoi bezopasnosti»; 2002 apr 27 — may 4; Costa-Dorado, Spain. pp. 67–69. (In Russ).]
 31. Шилин Д.Е. *Заболевания щитовидной железы у детей и подростков в условиях йодной недостаточности и радиационного загрязнения среды*: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. — М.; 2002. [Shilin DE. *Zabolevaniya shchitovidnoi zhelezy u detei i podrostkov v usloviyakh iodnoi nedostatochnosti i radiatsionnogo zagryazneniya sredy.* [dissertation abstract] Moscow; 2002. (In Russ).] Доступно по: <http://search.rsl.ru/ru/record/01000770328>. Ссылка активна на 03.04.2017.
 32. Чепель Т.В. Пути и возможности первичной профилактики инвалидности детей и подростков // *Вестник общественного здоровья и здравоохранения Дальнего Востока России.* — 2010. — №1 — С. 4. [Chepel' TV. Puti i vozmozhnosti pervichnoi profilaktiki invalidnosti detei i podrostkov. *Vestnik obshchestvennogo zdorov'ya i zdravookhraneniya Dal'nego Vostoka Rossii.* 2010;(1):4. (In Russ).]
 33. Цуркан С.В. Технологии ранней профилактики детской инвалидности от врожденных пороков развития // *Социальные аспекты здоровья населения.* — 2011. — Т.20. — №4 — С. 18. [Tsurkan SV. Early prevention of infants' disability due to congenital malformation. *Sotsial'nye aspekty zdorov'ya naseleniya.* 2011;20(4):18. (In Russ).]
 34. Кучеров Ю.И., Стыгар А.М., Жиркова Ю.В., Борисова Н.И. Пренатальный консилиум при пороках развития плода // *Детская хирургия.* — 2016. — Т.20. — №4 — С. 211–215. [Kuchеров YuI, Stygar AM, Zhirkova YuV, Borisova NI. Prenatal consilium for fetal malformations. *Pediatric surgery.* 2016;20(4):211–215. (In Russ).] doi: 10.18821/1560-9510-2016-20-4-211-215.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Баранов Александр Александрович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2/62, тел.: +7 (499) 134-30-83, e-mail: baranov@nczd.ru, SPIN-код: 3570-1806, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3874-4721>

Намазова Баранова Лейла Сеймуровна, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор НИИ педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2/62, тел.: +7 (495) 967-14-14, e-mail: namazova@nczd.ru, SPIN-код: 1312-2147, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2209-7531>

Терлецкая Римма Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории социальной педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2/62, тел.: +7 (495) 967-15-71, e-mail: rterletskaia@nczd.ru, SPIN-код: 1761-4180, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-6313-3810>

Антонова Елена Вадимовна, доктор медицинских наук, заведующая отделом прогнозирования и планирования научных исследований ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2/62, тел.: +7 (495) 967-15-66, e-mail: antonova@nczd.ru, SPIN-код: 3554-1124, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-1660-3346>

Игорь Валентинович Бухтияров



28 августа 2017 г. отмечает 55-летний юбилей заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН, профессор Игорь Валентинович Бухтияров — директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова».

Игорь Валентинович — видный ученый в области

медицины труда, военной, экологической, авиационной, космической и морской медицины, военной эргономики — родился в г. Кривой Рог Днепропетровской области УССР. После окончания Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (Ленинград, 1985 г.) начал службу в научно-исследовательских учреждениях Минобороны, последовательно пройдя все этапы научной и административной карьеры от младшего научного сотрудника ГосНИИИ авиационно-космической медицины МО СССР (Москва) до начальника ГосНИИИ военной медицины Минобороны РФ (Москва).

Вся научная деятельность Игоря Валентиновича в научно-исследовательских учреждениях Минобороны была посвящена исследованию проблем физиологии военного труда, в частности гигиеническому нормированию, разработке средств и методов защиты организма человека от воздействий физических факторов экстремальных величин, таких как угловые и линейные ускорения, ударные перегрузки, виброакустические факторы, микроклиматические параметры. Он успешно разрабатывал теоретические и прикладные проблемы учета человеческого фактора при создании, испытаниях и эксплуатации образцов новой техники, применении медицинских средств защиты от воздействия неблагоприятных профессиональных и экологических факторов. Основные результаты, полученные в исследованиях за этот период, были обобщены в кандидатской (1990) и докторской диссертации (1999) по специальности «авиационная, космическая и морская медицина».

После увольнения из рядов Вооруженных сил РФ (в 2011 г.) Игорь Валентинович был избран на должность заместителя директора по научной работе в Научно-исследовательском институте медицины труда РАМН, с 2012 г. по настоящее время является директором данного учреждения. Профессиональный опыт, энергия, управленческий талант и организаторские способности позволяют ему добиваться заметных успехов на этом высоком и ответственном посту.

В настоящее время основное внимание в своих исследованиях И.В. Бухтияров уделяет разработке вопросов научного обоснования стратегии развития медицины труда и Концепции государственной политики по

сохранению здоровья работающего населения России на период до 2020 г. и дальнейшую перспективу. Под его руководством Институт продолжает развивать профилактическое направление отечественной медицины, по-прежнему остается научным и методическим центром страны по комплексному изучению влияния производственно-профессиональных факторов на здоровье работающих и разработке научно обоснованных мер улучшения условий труда, сохранения и укрепления здоровья работников.

Игорь Валентинович внес существенный научный вклад в разработку ряда комплексных оригинальных исследований:

- по гармонизации национальных нормативных правовых актов в области гигиены труда, охраны здоровья и безопасности на рабочем месте с международными стандартами;
- изучению проблем научного обоснования дифференцированного нормирования физико-химических факторов экстремальных величин и условий труда лиц опасных профессий; неблагоприятного влияния на здоровье человека сочетанных воздействий производственных и непроизводственных физических факторов;
- разработке и внедрению в практику здравоохранения новых медицинских технологий по профилактике, диагностике, лечению и реабилитации лиц с профессиональными заболеваниями от воздействия вредных производственных факторов;
- разработке критериев профессиональных рисков для совершенствования системы профилактики неблагоприятного влияния факторов производственной среды и трудового процесса, а также медико-санитарного обеспечения работников.

В настоящее время И.В. Бухтияров в рамках федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности» является руководителем (с российской стороны) совместного с Международным агентством по изучению рака исследовательского проекта (2013–2018) «Крупномасштабное историческое когортное исследование оценки риска смерти от онкологических заболеваний органов дыхания среди работников, занятых добычей и обогащением хризотилового асбеста».

Много сил Игорь Валентинович отдает реорганизации и совершенствованию научной деятельности Института, подготовке молодых научных кадров, развитию материально-технической базы. Он успешно сочетает плодотворную научную и педагогическую, научно-организационную деятельность (ведет преподавательскую работу как профессор, 2001; заведующий кафедрой авиационно-космической медицины, с 2017 г. — кафедра медицины труда, авиационно-космической и водолазной медицины медико-профилактического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России). Под

его руководством и консультациях выполнено 25 кандидатских и 3 докторские диссертации. При активном участии И.В. Бухтиярова к работе на кафедре привлечены высококвалифицированные специалисты — авиационные врачи, психофизиологи и другие специалисты с большим стажем научно-исследовательской и преподавательской работы.

И.В. Бухтияров опубликовал 298 научных работ, из них 19 монографий. Он автор 2 свидетельств и патентов РФ (индекс Хирша — 8).

В настоящее время Игорь Валентинович является главным редактором журнала «Медицина труда и промышленная экология», членом редколлегии журнала «Авиакосмическая и экологическая медицина», Председателем Научного совета РАН по медико-экологическим проблемам здоровья работающих. В мае 2017 г. Высшей аттестационной комиссией при Минобрнауки России (ВАК) назначен Председателем диссертационного совета Д.001.012.02 (специальность 14.02.04 «медицина труда») на базе ФГБУ «НИИ МТ».

И.В. Бухтияров — главный внештатный специалист-профпатолог Минздрава России, вице-президент Ассоциации врачей и специалистов медицины труда, член Международной комиссии по медицине труда (ИСОМ). В 2016 г. избран членом-корреспондентом Российской академии наук по специальности «медицина труда».

Научные труды и достижения Игоря Валентиновича высоко оценены государством — он является заслуженным деятелем науки РФ. Имеет государственные награды — медаль Ордена «За заслуги перед Отечеством». Его профессионализм, компетентность и преданность делу, а при военной собранности — скромность, простота и чуткость снискали заслуженное уважение всех, кто работает с ним.

Редакция журнала «Вестник РАМН», многочисленные ученики, друзья и коллеги желают Игорю Валентиновичу крепкого здоровья, благополучия, новых успехов в его многогранной плодотворной научной и общественной деятельности, новых значительных успехов во всех его делах и начинаниях на благо медицинской науки и процветания Отечества!

Владимир Иосифович Коненков



12 июля исполнилось 70 лет академику Российской академии наук, заслуженному деятелю науки Российской Федерации, научному руководителю Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии профессору Владимиру Иосифовичу Коненкову.

Владимир Иосифович родился в 1947 г. в Германской Демократической Республике (г. Гера) в семье военнослужащего. В 1971 г. окончил лечебный факультет Новосибирского государственного медицинского института. По окончании института работал младшим, затем старшим научным сотрудником, руководителем лаборатории в Институте клинической и экспериментальной медицины, впоследствии в Институте клинической иммунологии СО РАМН. С 1993 г. Владимир Иосифович был избран заместителем директора по науке ИКИ СО РАМН, с 2001 г. — заместителем председателя по научной работе Сибирского отделения РАМН. С 2004 по 2015 г. являлся директором Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии (НИИКЭЛ), с 2015 г. — научным руководителем организации.

Кандидатская диссертация (1977 г.) В.И. Коненкова была посвящена роли сывороточных факторов в активации цитотоксических реакций лимфоцитов при ревматизме, докторская (1986 г.) — иммуногенетике нарушений иммунитета при диффузных заболеваниях соединительной ткани. В 1991 г. В.И. Коненкову присвоено ученое звание «профессор» по специальности «аллергология и иммунология». В 1997 г. он избран членом-корреспондентом РАМН, в 2004 г. — академиком РАМН по специальности «иммунология», с 2014 г. он академик РАН.

Академик В.И. Коненков — известный специалист в области клинической лимфологии, клинической иммунологии и иммуногенетики. Результаты его работ хорошо известны и высоко оценены как российскими, так и зарубежными учеными и широко обсуждаются на регулярных научных конгрессах в разных странах.

В.И. Коненков — автор более 450 статей в ведущих отечественных и зарубежных журналах, более 400 публикаций в материалах различных научных форумов, 18 монографий, включая двухтомное «Руководство по клинической иммунологии, аллергологии, иммуногенетике и иммунофармакологии», «Функциональные свойства лимфоидных клеток», «Проблемы лимфоангиологии», «Лимфология». Результаты его исследований активно внедряются в клиническую практику и защищены 22 патентами Российской Федерации и 4 авторскими свидетельствами.

В.И. Коненковым создана школа высококвалифицированных специалистов в области клинической иммунологии и иммуногенетики. Им подготовлены 32 специалиста, получивших ученую степень доктора или кандидата медицинских наук. Ученики Владимира Иосифовича работают во многих научных центрах России и за ее пределами.

Исследования В.И. Коненкова связаны с выявлением генетических механизмов формирования патологического процесса, изучением генетической детерминированности функциональных свойств лимфоидных клеток, во многом реализующих защитные свойства лимфатической системы. Под руководством ученого проводятся пионерные исследования по молекулярно-генетическим механизмам регуляции межклеточных взаимодействий в ходе воспалительных процессов при различных заболеваниях человека. Исследованиями структуры регуляторных участков генов интерлейкинов, продуцируемых лимфоидными клетками, доказано, что от их вариантов напрямую зависит уровень продукции провоспалительных цитокинов, что предопределяет исход взаимодействия организма человека с инфекционными агентами и характер течения заболевания. Создана уникальная система иммуногенетического прогноза предрасположенности человека к заболеваниям онкологической, дисметаболической, аллергической, аутоиммунной и инфекционно-воспалительной природы. Определены генетические предикторы ответа на терапию генно-инженерными препаратами при ревматических заболеваниях.

В.И. Коненковым внесен заметный вклад в изучение закономерностей регуляции ангио- и лимфангиогенеза при эндокринной, сердечно-сосудистой и аутоиммунной патологии. Определен вклад генетических факторов в развитие нарушений процесса ангиогенеза в условиях ишемии. Выявлены комбинированные генетические признаки, включающие варианты генов ангиогенных факторов роста, цитокинов и матриксных металлопротеиназ, ассоциированные с высокой и низкой предрасположенностью к развитию ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда, сосудистых осложнений сахарного диабета, возрастной макулярной дегенерации и других заболеваний. Разработаны новые подходы к терапевтическому ангиогенезу при хронической сердечной недостаточности, синдроме диабетической стопы на основе клеточных технологий.

Широкое признание получили результаты исследований ученого по проблемам экологии, в которых впервые была доказана генетическая природа реакций организма человека на воздействие таких экстремальных экологических факторов, как проживание в приполярных регионах и радиационные воздействия ядерных производств и ядерных полигонов. Под руководством Владимира Иосифовича в экспедиционных исследованиях впервые были получены данные об иммуногенетической структуре монголоидов Таймыра, Чукотки, Тувы и Алтая, во-

шедшие в мировые банки данных создания единых схем эволюции и миграции населения планеты.

В.И. Коненков принимает активное участие в международных многоцентровых клинических исследованиях. В качестве члена Европейской Федерации иммуногенетиков участвует в международных научных программах, проводя комплексные сравнительные исследования по проблемам популяционной иммуногенетики. Владимир Иосифович является членом Европейской антиревматической лиги (European League Against Rheumatism), членом Международного общества лимфологов.

Знаком признания научной и общественной деятельности академика РАМН В.И. Коненкова является его избрание в руководящие органы научных обществ, а также в редакционные советы многих российских научно-медицинских журналов. Владимир Иосифович ведет значительную научно-организационную работу, исполняя обязанности члена Объединенного ученого совета СО РАН по медицинским наукам, члена Президиума Российского научного общества иммунологов, члена Президиума Российской ассоциации по остеопорозу, члена Правления Российской ассоциации ревматологов, Председателя Правления Сибирского общества ревматологов, члена Правления Российского общества лимфологов, члена Экспертного совета при главном специалисте-ревматологе Минздравсоцразвития РФ, заместителя Председателя защитного совета Д001.01.01 при НИИКИ по специальности «аллергология и иммунология», члена совета ДМ001.045.01 при НИИ медицинской генетики.

В.И. Коненков — член редакционных советов научных журналов «Цитокины и воспаление», «Научно-практическая ревматология», «Российский журнал иммунологии», «Медицинская иммунология», «Иммунопатология.

Аллергология. Инфектология», «Сибирский научный медицинский журнал», «Хирургия, морфология, лимфология», «Проблемы клинической медицины», «Вестник лимфологии», «Остеопороз и остеопатии».

Владимир Иосифович проявил себя талантливым организатором и руководителем актуальных научных направлений в области современной иммунологии и лимфологии, а результаты его научных изысканий способствуют успешному решению важных прикладных и фундаментальных проблем медицинской науки и здравоохранения. Его высокий профессионализм, широкая эрудиция, умение достигать максимальных результатов в решении поставленных задач снискали заслуженное уважение научного сообщества в России и за ее пределами.

За достигнутые трудовые успехи и многолетнюю добросовестную работу В.И. Коненков награжден медалью Ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени, медалью им. П. Эрлиха Европейской академии естествознания, орденом Пирогова Европейской академии естествознания, Золотой медалью «За выдающиеся достижения в области иммунологии» от Президиума Российского научного общества иммунологов, медалью Российского научного медицинского общества терапевтов за многолетнюю безупречную работу и активное участие в деятельности Российского научного медицинского общества терапевтов, почетным знаком «Золотая сигма» Сибирского отделения РАН за многолетний творческий труд и большой вклад в развитие науки.

Редколлегия журнала «Вестник РАМН», коллектив НИИ клинической и экспериментальной лимфологии сердечно поздравляют Владимира Иосифовича с юбилеем и желают ему крепкого здоровья, счастья, долгих лет жизни, оптимизма, дальнейших творческих и трудовых успехов!

Владимир Викторович Кутырев



30 августа исполнилось 65 лет со дня рождения видного учено-микробиолога, генетика и эпидемиолога академика РАН Владимира Викторовича Кутырева.

В 1975 г. Владимир Викторович с отличием окончил лечебный факультет Саратовского медицинского института, в 1978 г. — целевую аспирантуру по специальности «микробиология» при Всесоюзном научно-исследовательском противочумном институте «Микроб». В 1979 г. защитил кандидатскую диссертацию, в 1992 г. — докторскую. За время работы в институте прошел все этапы профессионального становления от младшего научного сотрудника до заведующего лабораторией молекулярной микробиологии. В 1997 г. был назначен директором Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб».

Труды В.В. Кутырева — одного из ведущих ученых в области микробиологии возбудителей особо опасных инфекционных болезней — известны не только в России, но и за рубежом. Основными направлениями его научной деятельности являются изучение молекулярно-генетической организации генов, кодирующих синтез факторов патогенности; молекулярно-генетических механизмов, обеспечивающих патогенные свойства микроорганизмов; молекулярных основ взаимодействия патогенных бактерий с организмом хозяина и переносчиков, а также создание современных средств и методов диагностики опасных инфекционных болезней на основе достижений молекулярной микробиологии.

Ученым выполнен большой цикл работ по изучению факторов патогенности микроорганизмов на модели возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы и других возбудителей особо опасных инфекций. Им впервые выдвинуто и экспериментально обосновано положение о возможности генетического моделирования патогенности возбудителя чумы и экспериментально подтверждена роль плазмидных и хромосомных генов в развитии острого инфекционного процесса. Согласно современным данным об экологии возбудителя обоснована гипотеза о механизме вертикальной трансмиссии возбудителя чумы из почвенного биоценоза природных очагов и его роли в энзоотии высококонтагиозного заболевания. Установлена способность чумного микроба к образованию биопленок и сохранению в почвенных амебах, обеспечивающая возможность его длительного существования и воспроизводства в почве нор грызунов. Гипотеза носит универсальный характер, поскольку позволяет на молекулярном уровне объяснить механизмы природной очаговости бактериальных инфекций.

Под руководством и при личном участии Владимира Викторовича на основе полногеномного секвенирования свыше 90 штаммов возбудителя чумы усовершенствована система молекулярной идентификации штаммов чумного микроба по внутривидовой, филогенетической и очаговой принадлежности. Определена современная популяционная структура вида и на ее основе разработана новая

подвидовая классификация возбудителя чумы. Проведен молекулярно-генетический анализ штаммов геновариантов возбудителя холеры с повышенной вирулентностью и высокой адаптационной способностью, завезенных на территорию России. Усовершенствована нормативная база доклинической оценки сибиреязвенных вакцин, разработана технологическая схема получения лиофилизированной формы прототипа рекомбинантной сибиреязвенной вакцины, проведено ее комплексное исследование на соответствие требованиям к лекарственным иммунобиологическим препаратам. За разработку и внедрение в практику новых средств специфической профилактики, диагностики и лечения сибирской язвы ученому присуждена Государственная премия Российской Федерации 2002 года в области науки и техники.

Проведенные под руководством и при личном участии В.В. Кутырева исследования позволили разработать принципы и приемы молекулярного мониторинга за возбудителями особо опасных инфекций бактериальной природы. Внесен существенный вклад в формирование трехуровневой системы молекулярного мониторинга за возбудителями опасных инфекций, направленной на совершенствование эпидемиологического надзора за возникающими и возвращающимися инфекционными болезнями, а также на обеспечение готовности специализированных медицинских противоэпидемических формирований к противодействию биотеррористическим угрозам.

Под руководством Владимира Викторовича разработан и создан мобильный комплекс лабораторий специализированных противоэпидемических бригад (СПЭБ) Роспотребнадзора различного профиля на базе автошасси, позволяющий выполнять в автономных условиях весь спектр исследований, необходимых для оценки эпидемиологической и санитарно-гигиенической обстановки в зоне чрезвычайной ситуации. В.В. Кутырев является разработчиком современной тактики применения СПЭБ Роспотребнадзора при реагировании на чрезвычайные ситуации (ЧС) в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения, позволяющей в зависимости от характера ЧС варьировать личным составом и материально-техническими ресурсами СПЭБ. Разработана и научно обоснована модель реагирования на возникшую за рубежом ЧС в области общественного здравоохранения, имеющую международное значение (на примере болезни, вызванной вирусом Эбола) и угрожающую возникновением ЧС на территории Российской Федерации.

Мобильный комплекс СПЭБ Роспотребнадзора в 2014–2015 гг. успешно работал на территории Гвинеиской Республики во время эпидемии лихорадки Эбола и был включен Всемирной организацией здравоохранения в международную систему ответных мер. За заслуги в оказании гуманитарной помощи по организации комплекса противоэпидемических мероприятий и диагностики лихорадки Эбола на территории Гвинеиской Республики ряд сотрудников института был награжден государственными наградами Российской Федерации, а В.В. Кутырев — удостоен Ордена Дружбы. В соответствии с Распоряжением Правительства о научно-техническом сотрудничестве с Гвинеиской Республикой помощь Российской Федерации этой стране продолжается. В 2017 году Роспотребнадзор при содействии ОК «РУСАЛ» в рамках государственно-частного партнерства

организовал Российско-Гвинейский научно-исследовательский центр эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней. В создании и организации работы этого уникального для Западной Африки центра принимали непосредственное участие сотрудники института «Микроб».

С учетом научно-практического опыта при ликвидации эпидемии болезни, вызванной вирусом Эбола, в условиях тропического климата осуществлена модернизация мобильного комплекса СПЭБ Роспотребнадзора, разработан мобильный комплекс СПЭБ второго поколения. Опыт РосНИПЧИ «Микроб» по созданию лабораторий мобильного комплекса СПЭБ Роспотребнадзора был реализован при разработке мобильных лабораторий для стран СНГ в рамках выполнения программы по оказанию материально-технической и методической поддержки реализации требований Международных медико-санитарных правил на территории государств-участников СНГ в соответствии с Распоряжением Правительства Российской Федерации.

В.В. Кутырев принимал непосредственное участие в разработке ряда целевых комплексных программ, посвященных изучению эпидемиологии, микробиологии, генетики и иммунологии возбудителей особо опасных инфекционных заболеваний, в т.ч. федеральной программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2014 гг.)».

Под руководством В.В. Кутырева на основе новейших достижений в области молекулярной биологии, исследований генетических основ патогенности и иммуногенности возбудителей созданы и усовершенствованы средства бактериологической, иммунологической и геномной диагностики, а также профилактики особо опасных бактериальных и вирусных инфекций. Институт «Микроб» выпускает иммунобиологические лекарственные средства, в т.ч. антирабический иммуноглобулин — единственный в Российской Федерации препарат для экстренной профилактики бешенства. В 2010 г. В.В. Кутыреву присвоено почетное звание «Заслуженный изобретатель Российской Федерации».

Под руководством В.В. Кутырева в институте «Микроб» создана научно-организационная школа, представители которой возглавляют ведущие научные уч-

реждения Роспотребнадзора, в т.ч. ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» (канд. мед. наук Р.А. Максютин), ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии (академик РАН А.И. Дятлов), Ставропольский НИПЧИ (член-корреспондент РАН А.Н. Куличенко), Волгоградский НИПЧИ (докт. мед. наук А.В. Топорков).

В.В. Кутырев — автор и соавтор свыше 500 научных публикаций, в т.ч. 10 монографий, 10 руководств и учебных пособий, более 40 патентов на изобретения и полезные модели, а также целого ряда нормативных и методических документов федерального уровня.

Большое внимание Владимир Викторович уделяет подготовке научных кадров и педагогической деятельности: под его руководством защищены 12 докторских и 11 кандидатских диссертаций, он возглавляет кафедру микробиологии, вирусологии и иммунологии ГОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского».

Важное место в деятельности В.В. Кутырева занимает научно-организационная и научно-общественная работа. Владимир Викторович — Председатель Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации. С 2000 г. он возглавляет Координационный совет по проблемам санитарной охраны территорий государств-участников Содружества Независимых Государств от завоза и распространения особо опасных инфекционных болезней. Является председателем двух диссертационных советов по защите докторских и кандидатских диссертаций, экспертом РАН, членом бюро Ученого совета Роспотребнадзора, членом Правления Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. В.В. Кутырев — член редакционного совета журналов «Вопросы вирусологии», «Здоровье населения и среда обитания», «Анализ риска здоровью», член редакционной коллегии Журнала микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии и Саратовского научно-медицинского журнала, главный редактор журнала «Проблемы особо опасных инфекций».

Редколлегия журнала «Вестник РАМН», ученики, коллеги и друзья желают Владимиру Викторовичу крепкого здоровья, благополучия, дальнейших творческих успехов на благо отечественной медицинской науки, здравоохранения и образования!

Валерий Павлович Пузырёв



27 июля 2017 г. исполнилось 70 лет Валерию Павловичу Пузырёву — одному из ведущих медицинских генетиков России, академику РАН, заслуженному деятелю науки РФ, организатору и директору НИИ медицинской генетики Томского научного центра СО РАН, научному руководителю ФГБНУ

«Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», заведующему кафедрой медицинской генетики Сибирского государственного медицинского университета.

Валерий Павлович родился в Мурманске. В 1965 г. поступил в Новосибирский государственный медицинский институт на лечебный факультет. Аспирантуру по медицинской генетике окончил досрочно и в 1974 г. был зачислен ассистентом кафедры факультетской терапии. После защиты диссертации и присуждения ученой степени кандидата медицинских наук был избран по конкурсу на должность доцента этой же кафедры. В 1979 г. по инициативе академика В.П. Казначеева молодому ученому предложили на базе Института клинической и экспериментальной медицины СО АМН СССР организовать первую в Сибири лабораторию медицинской генетики, руководителем которой он впоследствии был избран. Спустя два года Валерий Павлович получил приглашение в Томск для организации профильного отдела Института медицинской генетики АМН СССР (Москва), торжественное открытие которого состоялось в 1982 г. Под его руководством молодой коллектив Отдела приступил к полномасштабным исследованиям в области популяционной генетики народонаселения Сибири (коренное и пришлое население), изучения закономерностей распространения и накопления груза наследственных (менделевских) болезней, патогенетики широко распространенных заболеваний многофакторной природы, цитогенетики онтогенеза человека. По инициативе В.П. Пузырёва была открыта областная медико-генетическая консультация, создано отделение Всесоюзного общества медицинских генетиков, введено преподавание медицинской генетики студентам Томского государственного университета.

В 1986 г. на правительственном уровне было принято решение о преобразовании Отдела медицинской генетики в НИИ медицинской генетики Томского научного центра АМН СССР. Все эти годы, вплоть до начала реформирования Томских институтов СО РАН в 2015 г., Валерий Павлович был директором учреждения. Под его руководством были определены основные направления научных исследований Института, сформирован коллектив молодых ученых, создана материально-техническая база. Открытая при Институте по инициативе ученого

Генетическая клиника (1994) способствовала развитию в Сибирском регионе современной медико-генетической службы. Институту был придан статус Федерального центра по медицинской генетике Минздрава России.

Научные работы Валерия Павловича посвящены вопросам популяционной и эволюционной генетики, генетической эпидемиологии и геномным исследованиям многофакторных заболеваний. На основании генетико-демографических и популяционных исследований груза наследственной патологии человека (менделевской, хромосомной и многофакторной) у коренного населения Крайнего Севера и Сибири показано значение отдельных эволюционных факторов в закономерностях их распространения (отбора, объясняющего невысокие частоты менделевских болезней; дрейфа — в высоком накоплении субтотальной делеции гетерохроматина Y-хромосомы, «эффекта родоначальника» — в формировании «якутских наследственных болезней»). В.П. Пузырёвым обосновано положение о том, что генетическая структура популяций, характеризующихся ограниченной численностью и малым эффективно-репродуктивным размером, является самостоятельным фактором, определяющим особенности изменчивости патогенетически важных количественных признаков. Под его руководством впервые начато исследование генетического разнообразия народонаселения Сибири по митохондриальному геному (этногеномика). За цикл работ «Наследственный полиморфизм человека и генетические основы патологии» награжден Дипломом и премией им. С.Н. Давиденкова Президиума РАМН (2000).

Генетика широко распространенных заболеваний многофакторной природы, в частности генетическая кардиология, — одно из основных направлений исследований, развиваемых Валерием Павловичем Пузырёвым. Коллектив авторов под его руководством открыл новые полиморфизмы генов наследственной гипертрофической кардиомиопатии и изучил частоту их вариантов в сибирских популяциях; представил новые данные по структуре наследственной компоненты подверженности артериальной гипертонии, коронарному атеросклерозу, аритмиям сердца. Валерием Павловичем предложена концепция «синтропных генов», лежащих в основе распространенных болезней с наследственной предрасположенностью. Эти воззрения проверены и уточнены в исследованиях по генетике болезней сердечно-сосудистого континуума, бронхиальной астмы, сахарного диабета, рассеянного склероза, хронической обструктивной болезни легких, туберкулеза, клещевого энцефалита. Предложены панели генетических маркеров, использование которых может быть полезным в развитии персонализированной медицины. За фундаментальные исследования в области генетической кардиологии В.П. Пузырёв награжден Дипломом лауреата Премии Российского кардиологического общества (2016).

Валерий Павлович вместе с сотрудниками Института является участником нескольких международных проектов — GABRIEL (мультидисциплинарное исследование

генетических и средовых причин астмы у европейцев), CHERISH (улучшение диагностики умственной недостаточности у детей Восточной Европы и Центральной Азии), ADAMS (генетическое исследование болезней Альцгеймера, шизофрении, алкоголизма и нарушения памяти). Научный коллектив учреждения под его руководством неоднократно подтверждал статус Научной школы грантами Президента РФ. Среди учеников В.П. Пузырёва — доктора наук, успешно развивающие актуальные научные направления в области медицинской генетики: Л.П. Назаренко (генетическая эпидемиология), В.А. Степанов (эволюционная генетика), И.Н. Лебедев (цитогенетика и эпигенетика), М.Б. Фрейдин (иммуногенетика), Н.Р. Максимова (молекулярная генетика наследственных болезней), С.Ю. Никулина (генетическая кардиология) и др. Валерий Павлович подготовил 12 докторов и 38 кандидатов наук. Он является автором более 820 научных работ, в том числе 14 монографий, редактором периодического издания «Наследственность и здоровье».

В 1999 г. по инициативе Валерия Павловича в Сибирском государственном медицинском университете создана первая в Сибири кафедра медицинской генетики, базой которой для студентов и врачей являются Институт медицинской генетики и его Генетическая клиника. Совместно с Н.П. Бочковым и С.А. Смирнихиной написан учебник «Клиническая генетика». При участии академика подготовлено Национальное руководство «Наследственные болезни» (соредакторы Н.П. Бочков и Е.К. Гинтер), вышедшее в свет в 2012 г. (его краткий вариант — в 2017). Монография «Патологическая анатомия генома человека» (в соавторстве с В.А. Степановым), отмеченная дипломом и премией им. А.А. Баева, признана лучшей книгой 1997 года и рекомендована в качестве учебника для аспирантов и научных сотрудников. В.П. Пузырёв занимается также освещением страниц истории меди-

цинской генетики. Им представлен анализ и обзор трудов В.М. Флоринского, оказавших влияние на становление исследований по наследственности человека и евгеники в России.

Валерий Павлович наряду с научно-исследовательской и педагогической деятельностью ведет активную научно-организационную и общественную работу: он член Президиума СО РАН и бюро Объединенного ученого совета по медицинским наукам, член Ученого совета СибГМУ, председатель Диссертационного совета по специальности «Генетика», член многих редакционных советов научных журналов, в том числе «Генетика», «Медицинская генетика», «Вавиловский журнал генетики и селекции», «Бюллетень СО РАМН», «Вестник Якутского научного центра», «Трансляционная медицина», «Сибирский научный медицинский журнал», член Американского и Европейского обществ генетики человека, в 2011–2014 гг. был заместителем по науке Председателя Президиума СО РАМН. В настоящее время Валерий Павлович занимает должность советника ректора Санкт-Петербургского государственного университета по координации проекта «Российский геном», вице-президента Вавиловского общества генетиков и селекционеров.

В.П. Пузырёв награжден орденами Почета, Дружбы, знаком отличия «За заслуги перед Томской областью». Он заслуженный деятель науки РФ, заслуженный деятель науки Республики Бурятия и Республики Тыва, Почетный профессор Таджикского института последипломной подготовки кадров.

Бюро Отделения медицинских наук РАН, редакция журнала «Вестник РАМН», коллеги, ученики сердечно поздравляют Валерия Павловича с юбилеем, желают ему отличного здоровья, счастья, неиссякаемой бодрости и творческой активности, новых идей, успехов в трудовой деятельности!