

ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY
OF MEDICAL SCIENCES



6

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ 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: Scopus, MEDLINE (PubMed), Embase, EBSCO,
РИНЦ (Russian Science Citation Index на платформе Web of Science).
Учредитель — Российская академия 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,
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

2018/ТОМ 73/№6

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»: 117335, г. Москва, ул. Вавилова, д. 81, кор. 1, <http://vestnikramn.spr-journal.ru>
e-mail: vestnikramn@nczd.ru

Отпечатано ООО «Полиграфист и издатель». 119501, Москва, ул. Веерная, 22-3-48. Тел. +7 (499) 737-78-04.

THE RUSSIAN ACADEMY OF 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 Scopus, MEDLINE (PubMed) Embase, EBSCO,
Russian Science Citation Index (Web of Science).
Founder — The Russian Academy of 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,
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

2018/ 73 (6)

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»: 81, cor. 1, Vavilova street, Moscow, 117335, <http://vestnikramn.spr-journal.ru>
e-mail: vestnikramn@nczd.ru

Printed by «PRINTER & PUBLISHER» Ltd, 22-3-48, Veernaya street, Moscow, 119501. Tel. +7 (499) 737-78-04.

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ АКУШЕРСТВА
И ГИНЕКОЛОГИИ**

*И.И. Крукиер, В.В. Авруцкая, М.А. Левкович,
Е.В. Нарезная, Г.В. Смолянинов, Л.Л. Ерджанян,
А.А. Никашина*

Особенности изменения биорегуляторов
и органических кислот в сыворотке крови
и амниотической жидкости женщин
со спонтанными преждевременными родами

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ГЕНЕТИКИ
И МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ**

*А.С. Иванов, И.В. Гармаш, О.С. Аришева, М.А. Маркова, 368
А.С. Мельник, Н.Н. Теребиллина, В.Ю. Баронец,
Д.И. Перегуд, Е.В. Тарасенко, Ж.Д. Кобалава*

Взаимосвязь полиморфных локусов,
расположенных в промоторных областях генов
VEGF (rs699947 и rs2010963), ICAM1 (rs281437)
и ET-1 (rs1800541), с уровнем соответствующих
белковых продуктов в сыворотке крови и риском
развития алкогольного цирроза печени

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
КЛЕТочНОЙ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ
И ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ**

*К.Л. Маркова, И.Ю. Коган, А.Р. Шевелева,
В.А. Михайлова, С.А. Сельков, Д.И. Соколов*
Микровезикулы лейкоцитарного происхождения

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
НЕВРОЛОГИИ И НЕЙРОХИРУРГИИ**

*П.К. Мирошникова, А.В. Люндуп, Н.П. Бацаленко,
М.Е. Крашенинников, Ю. Занг, Н.Б. Фельдман,
В.В. Береговых*

Перспективные нервные кондуиты для
стимуляции регенерации поврежденных
периферических нервов

В.А. Бывальцев, А.А. Калинин, В.Ю. Голобородько
Оптимизация хирургической помощи
и анестезиологического пособия при лечении
многоуровневых дегенеративных заболеваний
поясничного отдела позвоночника у пациентов
с избыточной массой тела и ожирением

**OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY:
CURRENT ISSUES**

361 *I.I. Krukier, V.V. Avrutskaya, M.A. Levkovich,
E.V. Narezhnaya, G.V. Smolyaninov, L.L. Yerdzhanyan,
A.A. Nikashina*

Peculiarities of Changing Bioregulators
and Organic Acids in the Serum of Blood and
Amniotic Fluid of Women with Spontaneous
Preterm Labor

**GENETICS AND MOLECULAR MEDICINE:
CURRENT ISSUES**

368 *A.S. Ivanov, I.V. Garmasch, O.S. Arisheva,
M.A. Markova, A.S. Melnik, N.N. Terebilina,
V. Yu. Baronets, D.I. Peregud, E.V. Tarasenko,
Zh.D. Kobalava*

Association of SNPs in the Promoter
Regions of VEGF (rs699947 и rs2010963),
ICAM1 (rs281437) and ET-1 (rs1800541)
with Serum Levels of Related Proteins
and Alcoholic Liver Cirrhosis Risk

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

378 *K.L. Markova, I.U. Kogan, A.R. Sheveleva,
V.A. Mikhailova, S.A. Selkov, D.I. Sokolov*
Microvesicles of Leukocyte Origin

**NEUROLOGY AND NEUROSURGERY:
CURRENT ISSUES**

388 *P.K. Miroshnikova, A.V. Lyundup,
N.P. Batsalenko, M.E. Krashennnikov, Y. Zhang,
N.B. Feldman, V.V. Beregovykh*

Perspective Nerve Conduits
for Stimulation of Regeneration of Damaged
Peripheral Nerves

401 *V.A. Byvaltsev, A.A. Kalinin, V. Yu. Goloborodko*
Optimization of Surgical Care
and Anesthesia in the Treatment
of Multilevel Degenerative Diseases
of the Lumbar Spine in Patients with Overweight
and Obesity

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПСИХОЛОГИИ И ПСИХИАТРИИ

*М.С. Застрожин, В.В. Смирнов, А.С. Сорокин,
Е.А. Гришина, К.А. Рыжикова, И.А. Бедина,
В.В. Шипицын, Л.М. Савченко, О.Ж. Бузик,
С.Г. Копоров, Е.А. Брюн, Д.А. Сычев*

Влияние активности CYP2D6 на эффективность и безопасность флувоксамина у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью

PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY: CURRENT ISSUES

411 *M.S. Zastrozhin, V.V. Smirnov, A.S. Sorokin,
E.A. Grishina, K.A. Ryzhikova, I.A. Bedina, V.V. Shipitsyn,
L.M. Savchenko, O.Zh. Buzik, S.G. Koporov, E.A. Bryun,
D.A. Sychev*

Influence of CYP3A Activity on the Efficacy and Safety of Fluvoxamine in Patients Depressive Disorders and Comorbid Alcohol Use Disorder

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПЕДИАТРИИ

*А.А. Кубанов, А.Э. Карамова, В.В. Чикин,
Е.В. Богданова, Е.С. Мончаковская*

Эпидемиология и состояние оказания медицинской помощи больным врожденным буллезным эпидермолизом в Российской Федерации

PEDIATRICS: CURRENT ISSUES

420 *A.A. Kubanov, A.E. Karamova, V.V. Chikin,
E.V. Bogdanova, E.S. Monchakovskaya*

Epidemiology and Providing of Healthcare for Patients with Inherited Epidermolysis Bullosa in the Russian Federation

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЭНДОКРИНОЛОГИИ

*А.С. Крыкпаяева, М. Накашима, М.Ж. Еспенбетова,
Ж. Мусажанова, Б.С. Азизов*

Однонуклеотидные полиморфизмы, ассоциированные со спорадическим папиллярным раком щитовидной железы, в казахской популяции

ENDOCRINOLOGY: CURRENT ISSUES

431 *A. Krykpayeva, M. Nakashima, M. Espenbetova,
Z. Mussazhanova, B. Azizov*

SNP Association with Risk for Sporadic Papillary Thyroid Carcinoma in Kazakh Population

И.И. Крукиер¹, В.В. Авруцкая¹, М.А. Левкович¹, Е.В. Нарезная²,
Г.В. Смолянинов¹, Л.Л. Ерджанян¹, А.А. Никашина^{1*}

¹ Ростовский государственный медицинский университет,
Ростов-на-Дону, Российская Федерация

² Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Особенности изменения биорегуляторов и органических кислот в сыворотке крови и амниотической жидкости женщин со спонтанными преждевременными родами

Обоснование. Преждевременные роды в настоящее время являются серьезной проблемой для акушеров-гинекологов. Существует концепция патогенеза преждевременных родов с позиции метаболических нарушений, происходящих на молекулярном уровне. **Цель исследования** — определить уровень биоактивных регуляторов и органических кислот у пациенток с беременностью, закончившейся своевременными или спонтанными преждевременными родами, в сыворотке крови и амниотической жидкости и показать их роль в патогенезе прогнозирования недонашивания беременности и перинатальных исходов. **Методы.** Обследованы 72 женщины, из них 40 (контрольная группа) с физиологическим течением беременности, закончившейся в срок, и 32 (основная группа) с преждевременными родами. Материалом для исследования служили сыворотка крови, взятая у пациенток в первом периоде родов, и амниотическая жидкость, полученная после родов. Продукцию факторов роста TGFβ и TNFα определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Органические кислоты (лимонную и янтарную) определяли методом капиллярного электрофореза. **Результаты.** Продукция TNFα в сыворотке крови женщин со спонтанными преждевременными родами уменьшалась на 38%, а уровень лимонной и янтарной кислот — на 33 и 30% соответственно по сравнению с контрольной группой, а в амниотической жидкости у женщин с данной патологией содержание TNFα и TGFβ было увеличено — соответственно в 2,5 и 2,2 раза, лимонной кислоты — на 79%. **Заключение.** Выявленный дисбаланс показателей TNFα и TGFβ, а также лимонной и янтарной кислот в биологических жидкостях дает возможность считать их предикторами спонтанных преждевременных родов и перинатального поражения центральной нервной системы у новорожденных. **Ключевые слова:** преждевременные роды, цитокины, органические кислоты.

(Для цитирования: Крукиер И.И., Авруцкая В.В., Левкович М.А., Нарезная Е.В., Смолянинов Г.В., Ерджанян Л.Л., Никашина А.А. Особенности изменения биорегуляторов и органических кислот в сыворотке крови и амниотической жидкости женщин со спонтанными преждевременными родами. *Вестник РАМН.* 2018;73(6):361–367. doi: 10.15690/vramn1017)

361

I.I. Krukier¹, V.V. Avrutskaya¹, M.A. Levkovich¹, E.V. Narezhnaya²,
G.V. Smolyaninov¹, L.L. Yerdzhanyan¹, A.A. Nikashina^{1*}

¹ Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

² Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Peculiarities of Changing Bioregulators and Organic Acids in the Serum of Blood and Amniotic Fluid of Women with Spontaneous Preterm Labor

BACKGROUND: Premature birth is currently a serious problem for obstetrician-gynecologists. Most researcher consider this problem from the standpoint of metabolome disturbances. **AIMS:** determination of the level of bioactive regulators and organic acids with physiological and complicated pregnancy, ending in timely and spontaneous preterm labor, in blood serum and amniotic fluid and revealing the presence of their relationship for the development of premature birth and the condition of newborns. **MATERIALS AND METHODS:** 72 women were examined, 40 of them with a physiological pregnancy (control group) and 32 with premature labor (the main group). All studies were carried out in the blood serum and amniotic fluid of women of these groups. The content of TGFβ was determined by the method of solid-phase enzyme immunoassay. Identification and quantitative determination of citric and succinic acids were carried out by the method of capillary electrophoresis. **RESULTS:** TNFα production in the blood serum of women with preterm labor, decreased by 38%, and the level of citric and succinic acids by 33 and 30%, respectively, compared with the control group. In the amniotic fluid the level of TNFα was increased 2.5 times and TGFβ — 2.2 times, citric acid — 79%. **CONCLUSIONS:** The revealed imbalance in the level of cytokines and organic acids studied in that biological fluids can evidently affect the fetal condition, which can be considered as possible markers of perinatal injuries and prognostic indicators of the state of the newborn.

Key words: premature birth, cytokines, citric acid, succinic acid.

(For citation: Krukier II, Avrutskaya VV, Levkovich MA, Narezhnaya EV, Smolyaninov GV, Yerdzhanyan LL, Nikashina AA. Peculiarities of Changing Bioregulators and Organic Acids in the Serum of Blood and Amniotic Fluid of Women with Spontaneous Preterm Labor. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2018;73(6):361–367. doi: 10.15690/vramn1017)

Обоснование

Угроза прерывания беременности на разных сроках до сих пор остается весьма актуальной. Большинство ученых, занимающихся данной проблемой, высказывают мнение о том, что плод в какой-то степени контролирует процесс развития родовой деятельности посредством сигнала, действующего через существующие связи на организм матери. При ухудшении «условий обитания» плода происходит преждевременная (до срока родов) передача сигнала «бедствия» через плодные оболочки к организму матери [1, 2]. Преждевременные роды являются патологическим процессом, и в настоящее время многими исследователями рассматриваются с позиций метаболомных нарушений, происходящих на молекулярном уровне [3]. Исследование амниотической жидкости при угрозе прерывания беременности дает основание для прогноза состояния новорожденного путем определения содержания протеиногенных аминокислот и ангиогенных факторов роста [4].

При нормальном течении беременности резервные возможности организма значительны, но любое осложнение ее свидетельствует о метаболических нарушениях в одном или нескольких звеньях системы «мать–плацента–околоплодная среда–плод». На данный момент нет сомнений, что заболевания зрелого возраста зачастую связаны с проблемами, возникшими в период внутриутробного развития [5].

Современные, высокоточные методы исследования позволили выделить наиболее значимые биологически активные пептиды, контролирующие процессы ангиогенеза, к которым относятся и цитокины.

Известно, что цитокины играют значительную роль и в процессах эмбриогенеза [6]. Важная роль цитокинов определяет их участие в межклеточных и межсистемных взаимодействиях, функциональной активности клеток, а также других процессах. К общим свойствам этих биорегуляторов относятся индуцибельность синтеза и саморегуляция их продукции, а их генерация в биологических жидкостях может изменяться как при физиологических, так и патологических состояниях [7].

В связи с развитием родовой деятельности наиболее часто исследуются провоспалительные цитокины, такие как трансформирующий фактор роста β (transforming growth factor beta, TGF β) и фактор некроза опухоли α (tumor necrosis factor alpha, TNF α).

Доказано, что основным источником энергетического обеспечения клетки является аденозинтрифосфат, синтез которого связан не только с окислительно-восстановительными реакциями, но и с процессом гликолиза, сопряженного в условиях нормы со скоростью функционирования цикла лимонной кислоты. Известна также роль янтарной кислоты, стимулирующей процесс поступления кислорода в клетки. Она нормализует функции всех органов и тканей, снижает уровень стресса, восстанавливает энергообмен и значительно влияет на головной мозг плода и новорожденного [8]. Эти органические кислоты используются в терапии различных осложнений беременности, особенно при наличии гипоксии и гипотрофии плода. Они также нормализуют течение осложненной гестации.

Цель исследования — определить уровень биоактивных регуляторов и органических кислот у пациенток с беременностью, закончившейся своевременными или спонтанными преждевременными родами, в сыворотке

крови и амниотической жидкости и показать их роль в патогенезе прогнозирования недонашивания беременности и перинатальных исходов.

Методы

Дизайн исследования

Нами было проведено одноцентровое одномоментное контролируемое обсервационное рандомизированное исследование. Из 500 беременных, наблюдавшихся в Ростовском НИИ акушерства и педиатрии, в исследование были включены 72 женщины, отобранные случайным образом в результате простой рандомизации с использованием таблицы «случайных чисел».

Обследованы 32 пациентки со спонтанными преждевременными родами (на 30–34-й нед) и 40 с физиологическим течением беременности и родами (в 37–40 нед) и их новорожденные (рис. 1).

Критерии соответствия

Критерии включения:

- первобеременные женщины с одноплодной неосложненной беременностью без экстрагенитальной патологии (контрольная группа);
- первобеременные женщины с одноплодной, осложненной спонтанными преждевременными родами беременностью без экстрагенитальной патологии (основная группа).

Критерии исключения:

- женщины с экстрагенитальной патологией в состоянии декомпенсации, с осложненным течением гестации (преэклампсия);
- беременные, родоразрешение которых проведено оперативным путем;
- женщины, родившие детей с пороками развития.

Условия проведения

Исследование выполнялось на базе клинических и научных подразделений Научно-исследовательского института акушерства и педиатрии Ростовского государственного медицинского университета Минздрава России.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось в период с 2017 по 2018 г.

Описание медицинского вмешательства

Все необходимые и регламентируемые приказом Минздрава России № 572н от 1 ноября 2012 «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)» исследования включали в себя клинические, клинико-лабораторные и клинико-инструментальные методы обследования.

Обследование новорожденных включало оценку состояния ребенка при рождении с учетом особенностей соматического, дыхательного и неврологического статуса по шкале Апгар (Apgar). Состояние мозговой гемодинамики и тяжесть ишемии мозга определяли с помощью церебральной транскраниальной оксиметрии сразу после рождения, а также на 1; 3 и 5-е сут. Сатурация регистрировалась в течение 10–15 мин на церебральном оксиметре FORE-SIGHT (США).



Рис. 1. Дизайн исследования

Исходы исследования

Основной исход исследования

Конечной точкой исследования явилось установление взаимосвязи между изученными показателями ($TGF\beta$, $TNF\alpha$ и лимонной, янтарной кислотами) в амниотической жидкости и сыворотке крови беременных женщин и развитием у них спонтанных преждевременных родов, а также со степенью перинатального поражения центральной нервной системы (ЦНС) у новорожденных.

Дополнительные исходы исследования

Дополнительно проведено обследование детей, рожденных вследствие физиологических или спонтанных преждевременных родов.

Анализ в подгруппах

Обследованы 72 пациентки и их новорожденные, составившие 2 группы — контрольную и основную. В основную группу были включены первородящие первобеременные женщины, роды у которых произошли в сроки с 30-й по 34-ю нед беременности. В контрольную группу вошли первородящие первобеременные женщины, физиологические роды у которых произошли в сроки 37–40 нед.

Методы регистрации исходов

Материалом для исследования служили сыворотка крови, взятая у пациенток в первом периоде родов, и амниотическая жидкость, полученная после родов.

Содержание $TGF\beta$ и $TNF\alpha$ определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа, используя на-

боры фирм R&D system (США) и Cytimmune systems (США), согласно рекомендациям производителя.

Концентрацию лимонной и янтарной кислоты в сыворотке крови и амниотической жидкости определяли методом капиллярного электрофореза с использованием немодифицированного кварцевого капилляра с внешней полиамидной пленкой общей длиной 60 см и внутренним диаметром 75 мкм. Время ввода пробы — 15 сек при давлении 30 Мбар, рабочее напряжение — +20 кВ; использовали прямое спектрофотометрическое детектирование при 200 нм [9]. Исследования проводили на аппарате «Капель-105» (Люмэкс, Санкт-Петербург, Россия).

Обработка полученных данных проводилась на компьютере с программным обеспечением «Мультихром» (АО «Амперсэнд», Россия).

Этическая экспертиза

Исследование было одобрено Этическим комитетом Ростовского НИИ акушерства и педиатрии Минздрава России (протокол № 76/3 от 27 ноября 2017). Информированное согласие подписывали все беременные, принявшие участие в исследовании.

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался.

Методы статистического анализа данных

При проведении статистического исследования полученных данных использовались возможности пакетов прикладных программ (Megastat и Statistica 6.0). При определении статистической обоснованности

различия исследуемых групп применялся параметрический критерий Стьюдента (при нормальном распределении по Хи-квадрату). Данные представлены в виде среднего арифметического (M) ± стандартная ошибка среднего арифметического (m). Максимально допустимый уровень ошибки первого рода был принят за 5% (p=0,05).

Для выявления взаимосвязи между отдельными показателями использовался коэффициент корреляции, который рассчитывался по Спирмену.

Результаты

Объекты (участники) исследования

Всего были обследованы 72 пациентки, составившие 2 группы. Основную группу составили первородящие первобеременные женщины, роды у которых произошли в сроки 30–34 нед беременности (n=32). В контрольную группу вошли первородящие первобеременные женщины с физиологическими родами на 38–40-й нед (n=40). Средний возраст рожениц был сопоставим в обеих группах — 25,6±0,3 года (p<0,05).

Основные результаты исследования

В результате наших исследований были выявлены статистически значимые изменения в уровнях TNFα, лимонной и янтарной кислот в сыворотке крови пациенток (табл. 1): в группе женщин со спонтанными преждевременными родами по сравнению с группой контроля продукция TNFα уменьшилась на 38% (p<0,05), содержание лимонной и янтарной кислоты — на 33 (p<0,05) и 30% (p<0,05) соответственно.

В амниотической жидкости женщин с преждевременными родами (табл. 2) содержание TNFα и TGFβ было существенно увеличено — в 2,5 и 2,2 раза (p<0,001) соответственно.

Показано также, что воздействие некоторых цитокинов на клетки и ткани может способствовать развитию системного воспаления и окислительного стресса [10]. К этим цитокинам относятся TGFβ и TNFα, что в конечном итоге может привести к формированию эндотелиальной дисфункции, а в дальнейшем и к прерыванию беременности.

Таблица 1. Содержание цитокинов и органических кислот в сыворотке крови женщин с физиологической беременностью и преждевременными родами (M±m)

Показатели	Физиологические роды	Преждевременные роды
TGFβ, нг/мл	0,32±0,03	0,33±0,018
TNFα, нг/мл	0,39±0,02	0,24±0,021*
Лимонная кислота, мкг/мл	21,12±0,89	14,65±0,56*
Янтарная кислота, мкг/мл	10,14±0,55	7,1±0,64*

Примечание. * — достоверность отличий от показателей при физиологической беременности (p<0,05).

Таблица 2. Содержание цитокинов и органических кислот в амниотической жидкости женщин с физиологической беременностью и преждевременными родами (M±m)

Показатели	Физиологические роды	Преждевременные роды
TGFβ, нг/мл	0,37±0,02	0,83±0,03*
TNFα, нг/мл	12,09±0,59	30,94±1,47*
Лимонная кислота, мкг/мл	10,17±0,31	17,85±0,55*
Янтарная кислота, мкг/мл	7,49±0,29	9,39±1,45

Примечание. * — достоверность отличий от показателей при физиологической беременности (p<0,05).

Значительное повышение уровня лимонной кислоты наблюдалось в амниотической жидкости беременных женщин основной группы (на 79%; p<0,05) по сравнению с пациентками контрольной группы (рис. 2).

Дополнительные результаты исследования

Дополнительно был проведен анализ состояния детей, родившихся у матерей, участвующих в данном исследовании.

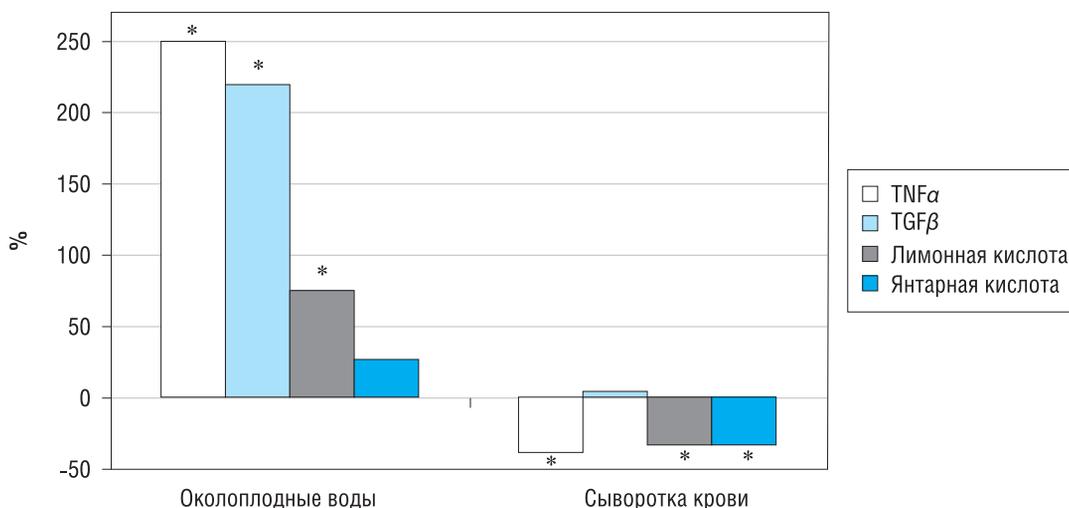


Рис. 2. Динамика цитокинов и органических кислот (в % к контролю) в сыворотке крови и амниотической жидкости женщин с преждевременными родами

Примечание. * — достоверность отличий от показателей при физиологической беременности (p<0,05).

Среди детей, родившихся у женщин основной группы, перинатальное поражение ЦНС гипоксически-ишемического генеза имело место в 64% случаев. Были также зарегистрированы синдром угнетения (43%), синдром мышечной дистонии по гипотоническому типу (41%), снижение сухожильных рефлексов (50%); отмечались рефлексы орально-спинального автоматизма (50%). Наличие перинатального поражения ЦНС гипоксически-ишемического генеза новорожденных сочеталось с повышением TNF α и TGF β в амниотической жидкости в среднем в 2,3 раза ($p<0,01$) и лимонной кислоты на 79% ($p<0,05$) относительно таковых в контрольной группе. В ранее проведенных нами исследованиях было установлено, что продукция TGF β в пуповинной крови новорожденных от спонтанных преждевременных родов была увеличена на 45%, TNF α — на 56%, лимонной кислоты — на 36% [11].

В этой группе матерей и их новорожденных был проведен корреляционный анализ между уровнями TNF α и TGF β в амниотической жидкости и показателями нейросонографии у новорожденных. В результате проведенного анализа была выявлена тесная взаимосвязь уровня TNF α с размерами субарахноидального пространства мозга новорожденного ($r=0,67$; $p<0,01$) и уровня TGF β с желудочковым индексом ($r=0,78$; $p<0,01$), что подтверждает обнаруженные различные по локализации и тяжести церебральные повреждения у новорожденных.

Нежелательные явления

Нежелательных явлений, возникших в результате проведения исследования, не отмечено.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Полученные нами данные об изменении указанных цитокинов и органических кислот в сыворотке крови и амниотической жидкости женщин позволяют оценить прогностическую значимость указанных показателей: так, в сыворотке крови выявлена взаимозависимость между TNF α и лимонной кислотой ($r=0,74$; $p<0,05$), TNF α и янтарной кислотой ($r=0,60$; $p<0,05$), в амниотической жидкости — между TGF β и TNF α ($r=0,87$; $p<0,01$) и TGF β и лимонной кислотой ($r=0,78$; $p<0,05$), что позволяет более эффективно проводить лечебные мероприятия, а также использовать их в качестве дополнительных критериев для оценки состояния новорожденных.

Обсуждение основного результата исследования

Известно, что спонтанные преждевременные роды подвергают плод высокому риску поражения ЦНС ишемически-гипоксического генеза [12]. Именно неизбежные изменения в связи с ростом потребностей плода в трофике и нарушения в гемодинамике матки влекут за собой многогранные отклонения, которые, тем не менее, имеют неспецифический характер и определяют механизм преждевременных родов [13]. Нарушение нормального течения процессов имплантации и плацентации, в регуляции которых принимают участие цитокины (TNF α , TGF β) и органические кислоты (лимонная и янтарная), приводит к различным осложнениям беременности.

Как указывалось выше, содержание TNF α и TGF β в амниотической жидкости пациенток с преждевременными родами было значительно выше контрольных величин. Так, известно, что TGF β играет значимую роль в процессах имплантации, являясь одним из важных

компонентов, обеспечивающих инвазию трофобласта, и повышение его содержания, по-видимому, объясняется необходимостью усиления инвазии; в то же время этот ростовой фактор — ингибитор пролиферации — блокирует клеточный рост, что пагубно сказывается на течении беременности [14]. TGF β также относят к ключевым факторам высокой метаболической активности, стимулирующим дифференцировку клеток.

Очевидно, усиление в амниотической жидкости женщин с преждевременными родами продукции важного биорегулятора, каким является TNF α , вызывает нарушение баланса в меж- и внутриклеточной цитокиновой сети и сказывается на многих биохимических процессах, происходящих в системе «мать–плацента–плод». Такое выраженное увеличение TGF β и TNF α связано с развивающейся дискоординатией родовой деятельности при спонтанных преждевременных родах и является, по-видимому, одним из важных факторов последующего развития аномалии родового акта [14]. TNF α способен также индуцировать активность фосфолипазы A₂, тем самым ускоряя последовательность биохимических реакций арахидоновой кислоты, приводящих к модификации синтеза простагландинов и сократительной активности матки. Эти нарушения связаны, вероятно, с выраженным метаболическим дисбалансом, наблюдаемым у пациенток со спонтанными преждевременными родами [15].

Показано также, что провоспалительные цитокины, к которым относятся TNF α и TGF β , стимулируют адаптивный иммунитет и модулируют регуляцию Т-клеток и индукцию толерантности к ним [16].

Следует отметить, что в сыворотке крови у пациенток с преждевременными родами содержание TNF α достоверно уменьшалось. Интерес представляет тот факт, что TNF α , как известно, вызывающий апоптоз (при высоком его уровне), способен при определенных условиях (уменьшение его продукции) защищать эндотелиальные клетки от апоптоза и тем самым увеличивать их жизнеспособность [17].

Что касается содержания лимонной и янтарной кислот, то они также достоверно снижались в сыворотке крови и, напротив, повышались в амниотической жидкости у данных пациенток. Известно, что изученные нами органические кислоты (лимонная и янтарная) обладают антигипоксическими и антиоксидантными свойствами [18]. Они способны активировать функции органов и тканей, повышать реактивность организма, улучшать течение и исход гестации и обеспечивать рост и развитие плода.

Избыток или недостаток продукции изученных цитокинов может быть одним из звеньев патогенеза данного осложнения гестации, а выявленный дисбаланс в сывороточном и локальном уровнях органических кислот (лимонной и янтарной) подтверждает эту гипотезу.

Следует заключить, что метаболические профили амниотической жидкости и материнской сыворотки крови являются источниками ценной информации о развитии плода и могут быть полезны при диагностике нарушений беременности [19].

Известно также, что повышение уровня TNF α в среде, окружающей эмбрион, может иметь существенное воздействие на развивающийся мозг, приводить к нарушению проницаемости гематоэнцефалического барьера и появлению неврологической симптоматики в период новорожденности [20]. Выявленный дисбаланс в уровне изученных цитокинов в сыворотке крови и амниотической жидкости можно объяснить еще и тем, что TNF α , являясь одним из цитокинов, опосредованно контроли-

рующих открытие кальциевых каналов, изменяет продукцию кальция при развившейся слабости родовых сил и влияет на физиологическое соотношение внеклеточного и внутриклеточного Ca^{2+} [21], что вызывает нарушение сократительной активности миомерия у женщин со спонтанными преждевременными родами.

Нами был проведен корреляционный анализ с целью выявления взаимосвязи и взаимозависимости между изученными показателями (биорегуляторами и органическими кислотами) в сыворотке крови и амниотической жидкости обследованных пациенток. В результате получены следующие коэффициенты корреляции: в сыворотке крови — между TNF α и лимонной кислотой ($r=0,74$; $p<0,05$), TNF α и янтарной кислотой ($r=0,60$; $p<0,05$); в амниотической жидкости — между TGF β и TNF α ($r=0,87$; $p<0,01$), TGF β и лимонной кислотой ($r=0,78$; $p<0,05$). Можно предполагать, что выявленные нами взаимозависимости, приводящие к дисбалансу регуляторных процессов и компенсаторных механизмов, определяют исход беременности, а в последующем — и состояние новорожденного.

Ограничения исследования

К ограничениям исследования необходимо отнести тот факт, что все пациентки наблюдались в Ростовском НИИ акушерства и педиатрии и были представительницами Южного федерального округа. Результаты данного исследования могут быть значимыми на региональном уровне.

Заключение

Гестационный процесс находится под строгим контролем экспрессии цитокинов, в том числе и факторов роста. В этот период (имплантации, плацентации, эмбриогенеза) имеет место высокий уровень ангиогенеза, пролиферации и дифференцировки клеток.

Увеличение экспрессии TNF α и TGF β в маточно-плацентарном комплексе приводит к стимуляции продукции простагландинов E_2 и $F_2\alpha$, которые являются непосредственными индукторами и регуляторами сократительной активности матки, что в свою очередь сопровождается развитием родовой деятельности.

Нами обнаружено многократное усиление продукции TNF α и TGF β (в среднем в 2,3 раза) и содержания лимонной кислоты (в 1,8 раза) в амниотической жидкости, с одной стороны, и уменьшение TNF α (в 1,6 раза), лимонной и янтарной кислот (в среднем в 1,4 раза) в сыворотке крови — с другой, что, по-видимому, способно вызвать отрицательные последствия вплоть до критических состояний в ранние сроки, а также прерывания беременности на 32–34-й нед гестации.

Выявленный дисбаланс между изученными биорегуляторами (TNF α и TGF β) и органическими кислотами (лимонной и янтарной), участвующими в метаболическом обеспечении беременности и родов, по-видимому, сопровождается истощением компенсаторно-приспособительных возможностей организма беременной и способствует развитию спонтанных преждевременных родов.

Несмотря на разнонаправленные изменения TNF α и TGF β и органических кислот как на локальном, так и системном уровнях, проведенный корреляционный анализ позволил обозначить и специфику выявленных связей, и определенные маркеры, позволившие прогнозировать спонтанные преждевременные роды и состояние ЦНС у новорожденных.

Нередко исход повреждений ЦНС у новорожденных зависит не только от локализации и тяжести патологического процесса, но и от ранней диагностики церебральных расстройств и своевременной терапии. Так, нами обнаружено наличие ишемии мозга 1-й степени в 58,2% случаев и 2-й степени — в 41,8% у новорожденных от спонтанных преждевременных родов.

С учетом выявленных патогенетических механизмов критериями ранней диагностики спонтанных преждевременных родов и перинатального поражения ЦНС у новорожденных можно рассматривать высокие уровни TNF α ($>12,7$ нг/мл), TGF β ($>0,4$ нг/мл) и лимонной кислоты ($>10,5$ мкг/мл) в амниотической жидкости.

В ранее проведенных нами исследованиях была установлена высокая продукция TGF β , TNF α и лимонной кислоты в пуповинной крови новорожденных от спонтанных преждевременных родов. Проведенный корреляционный анализ между изученными показателями в пуповинной крови и показателями нейросонограммы обнаружил достаточно высокую корреляционную связь уровня TNF α с размерами субарахноидального пространства мозга новорожденного ($r=0,65$), TGF β — с желудочковым индексом ($r=0,64$).

Таким образом, модификация полученных соотношений (биорегуляторов и органических кислот) в изученных жидкостях позволяет рассматривать их в качестве предикторов преждевременных родов, а также дает возможность для прогноза неврологических повреждений у детей раннего возраста.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках НИР «Определение клинико-диагностических маркеров формирования тяжелых форм акушерской патологии» (2017–2020), финансирование за счет средств госзадания № 056-00144-18-00 от 26.12.2017.

Конфликт интересов. Авторы данной статьи подтверждают отсутствие конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей рукописи.

Участие авторов: концепция и дизайн исследования — Крукиер И.И., Авруцкая В.В.; сбор и обработка материала — Нарезная Е.В., Смолянинов В.Г., Ерджанян Л.Л.; статистическая обработка данных — Никашина А.А.; анализ полученных данных, написание текста статьи — Крукиер И.И., Левкович М.А., Авруцкая В.В. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли одобрили финальную версию перед публикацией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алеев И.А. *Преждевременный разрыв плодных оболочек*. Информационное письмо / Под ред. Радзинского В.Е., Ордианц И.М. — М.: StatusPraesens; 2011. [Aleev IA. *Prezhdevremennyy razryv plodnykh obolochek*. Informationsnoe pis'mo. Ed by Radzinskii V.E., Ordiyants I.M. Moscow: Status Praesens; 2011. (In Russ).]
2. Левкович М.А., Линде В.А., Андреева В.О., и др. Иммуногормональные взаимодействия в генезе невынашивания беремен-

- ности ранних сроков // *Акушерство и гинекология*. — 2012. — №8–1 — С. 10–14. [Levkovich MA, Linde VA, Andreeva VO, et al. Immuno-hormonal interactions in genesis of early pregnancy loss. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2012;(8–1):10–14. (In Russ).]
3. Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Никашина А.А., и др. Посттрансляционная модификация и дифференциальная экспрессия белков при плацентарной недостаточности // *Проблемы репродукции*. — 2016. — Т.22. — №6 — С. 115–119. [Pogorelova TN, Gunko VO, Nikashina AA, et al. Post-translational modifications and differential expression of proteins in placental insufficiency. *Problemy reproduktivnoy*. 2016;22(6):115–119. (In Russ).] doi: 10.17116/repro2016226115-119.
 4. Крукиер И.И., Авруцкая В.В., Нарезная Е.В., и др. Нарушения продукции протеиногенных аминокислот, ангиогенных факторов роста и их значение в перинатальном поражении центральной нервной системы у новорожденных // *Таврический медико-биологический вестник*. — 2016. — Т.19. — №2 — С. 89–92. [Krukier II, Avrutskaya VV, Narezhnaya EV, et al. Breach of production proteinogenic amino acids, angiogenic growth factors and their value in perinatal damage of central nervous system in newborns. *Tavricheskii mediko-biologicheskii vestnik*. 2016;19(2):89–92. (In Russ).]
 5. Barker DJ. The developmental origins of adult disease. *J Am Coll Nutr*. 2004;23(6 Suppl):588S–595S. doi: 10.1080/07315724.2004.10719428.
 6. Погорелова Т.Н., Линде В.А., Крукиер И.И., и др. Молекулярные механизмы регуляции метаболических процессов в плаценте при физиологически протекающей и осложненной беременности. — СПб.: Гиппократ; 2012. 304 с. [Pogorelova TN, Linde VA, Krukier II, et al. *Molekulyarnye mekhanizmy regulyatsii metabolicheskikh protsessov v platsente pri fiziologicheski protekayushchei i oslozhnennoi beremennosti*. St. Petersburg: Gippokrat; 2012. 304 p. (In Russ).]
 7. Сельков С., Павлов О. Роль маточно-плацентарных макрофагов в репродуктивной патологии // *Журнал акушерства и женских болезней*. — 2010. — Т.59. — №1 — С. 122–130. [Selkov S, Pavlov O. The roles of uteroplacental macrophages in reproductive pathologies. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznei*. 2010;59(1):122–130. (In Russ).]
 8. Chinopoulos C. Which way does the citric acid cycle turn during hypoxia? The critical role of α -ketoglutarate dehydrogenase complex. *J Neurosci Res*. 2013;91(8):1030–1043. doi: 10.1002/jnr.23196.
 9. Нарезная Е.В., Крукиер И.И., Авруцкая В.В., и др. Определение глутаминовой кислоты в биологическом материале методом капиллярного зонного электрофореза // *Биомедицинская химия*. — 2015. — Т.61. — №5 — С. 628–631. [Narezhnaya EV, Krukier II, Avrutskaya VV, et al. Determination of glutamic acid in biological material by capillary electrophoresis. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2015;61(5):628–631. (In Russ).] doi: 10.18097/PBMC20156105628.
 10. Torres-Cuevas I, Parra-Llorca A, Sánchez-Illana A, et al. Oxygen and oxidative stress in the perinatal period. *Redox Biol*. 2017;12:674–681. doi: 10.1016/j.redox.2017.03.011.
 11. Левкович М.А., Крукиер И.И., Кравченко Л.В., и др. Состояние цитокинового статуса у новорожденных с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС от матерей с хронической плацентарной недостаточностью, осложненной синдромом задержки развития плода // *Российский иммунологический журнал*. — 2016. — Т.10. — №2–1 — С. 234–235. [Levkovich MA, Krukier II, Kravchenko LV, et al. The state of cytokine status in newborns with perinatal hypoxic-ischemic CNS damage from mothers with chronic placental insufficiency complicated by fetal growth retardation syndrome. *Russian journal of immunology*. 2016;10(2–1):234–235. (In Russ).]
 12. Goda N, Kanai M. Hypoxia-inducible factors and their roles in energy metabolism. *Int J Hematol*. 2012;95(5):457–463. doi: 10.1007/s12185-012-1069-y.
 13. Милованов А.П., Лебеденко Е.Ю., Михельсон А.Ф. Пути снижения акушерских потерь // *Акушерство и гинекология*. — 2012. — №4–1 — С. 74–78. [Milovanov AP, Lebedenko EYu, Mikhelson AF. Ways of reducing obstetric losses. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2012;(4–1):74–78. (In Russ).]
 14. Друккер Н.А., Ермолова Н.В., Авруцкая В.В., и др. Влияние изменений клеточных биоактивных веществ амниотической жидкости на формирование задержки роста плода и развитие преждевременных родов // *Российский вестник акушера-гинеколога*. — 2017. — Т.17. — №6 — С. 14–18. [Drukker NA, Ermolova NV, Avrutskaya VV, et al. Impact of changes in cellular bioactive substances of amniotic fluid on the development of fetal growth restriction and preterm labor. *Rossiiskii vestnik akushera-ginekologa*. 2017;17(6):14–18. (In Russ).] doi: 10.17116/rosakush201717614-18.
 15. Pandey M, Chauhan M, Awasthi S. Interplay of cytokines in preterm birth. *Indian J Med Res*. 2017;146(3):316–327. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_1624_14.
 16. Левкович М.А., Афонин А.А., Левкович А.Ю., и др. Оценка цитокинового баланса околоплодных вод беременных с плацентарной недостаточностью при ранней и отсроченной манифестации церебральной патологии у их новорожденных // *Российский иммунологический журнал*. — 2017. — Т.11. — №3 — С. 408–410. [Levkovich MA, Afonin AA, Levkovich AY, et al. Evaluation of cytokine balance of amniotic fluid in pregnant women with placental insufficiency in early and delayed manifestation of cerebral pathology in their newborns. *Russian journal of immunology*. 2017;11(3):408–410. (In Russ).]
 17. Kinnunen K, Piippo N, Loukovaara S, et al. Lysosomal destabilization activates the NLRP3 inflammasome in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). *J Cell Commun Signal*. 2017;11(3):275–279. doi: 10.1007/s12079-017-0396-4.
 18. Смирнов А.В., Нестерова О.Б., Голубев Р.В. Янтарная кислота и ее применение в медицине. Часть II. Применение янтарной кислоты в медицине // *Нефрология*. — 2014. — Т.18. — №4 — С. 12–24. [Smirnov AV, Nesterova OB, Golubev RV. Succinic acid and its application in medicine. Part II. Application of succinic acid in medicine. *Nephrology*. 2014;18(4):12–24. (In Russ).]
 19. Orczyk-Pawilowicz M, Jawien E, Deja S, et al. Metabolomics of human amniotic fluid and maternal plasma during normal pregnancy. *PLoS One*. 2016;11(4):e0152740. doi: 10.1371/journal.pone.0152740.
 20. Lehnardt S. Innate immunity and neuroinflammation in the CNS: the role of microglia in toll-like receptor-mediated neuronal injury. *Glia*. 2010;58(3):253–263. doi: 10.1002/glia.20928.
 21. Sadlonova V, Franova S, Dokus K, et al. Participation of ВКCa²⁺ and KATP potassium ion channels in the contractility of human term pregnant myometrium in vitro conditions. *J Obstet Gynaecol Res*. 2011;37(3):215–221. doi: 10.1111/j.1447-0756.2010.01340.x.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

*Никашина Анастасия Александровна, к.б.н., н.с. [Anastasiya A. Nikashina, PhD]; Адрес: 344012, ул. Мечникова, д. 43, Ростов-на-Дону, Россия [address: 43, Mechnikova street, 344012 Rostov-on-Don, Russia]; тел.: +7 (863) 227-50-77; e-mail: laigash@yandex.ru, SPIN-код: 6693-3430, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8099-9093>

Крукиер Ирина Ивановна, д.б.н., в.н.с. [Irina I. Krukier, MD PhD]; e-mail: biochem@rniar.ru, SPIN-код: 4975-1350, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4570-6405>

Авруцкая Валерия Викторовна, д.м.н., доцент, гл.н.с. [Valeria V. Avrutskaya, MD, PhD, Assistant professor]; e-mail: v.avrutskaya@rniar.ru, SPIN-код: 9495-9702, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6399-5007>

Левкович Марина Аркадьевна, д.м.н., доцент, в.н.с. [Marina A. Levkovich, MD, PhD, Assistant professor]; e-mail: xlma@mail.ru, SPIN-код: 2964-0480, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8047-7148>

Смолянинов Георгий Валентинович, к.м.н. [Georgii V. Smolianinov, MD, PhD], зав. родильным отделением; e-mail: smolianinov.g.v@gmail.com, SPIN-код: 1849-3132, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4145-4255>

Ерджанян Лиана Леоновна, м.н.с. [Liana L. Yerdzhanian]; e-mail: docerdzhanian@gmail.com, SPIN-код: 3558-9049, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1821-0850>

Нарезная Елена Васильевна, к.х.н., доцент [Elena V. Narezhnaya, PhD]; e-mail: evn@sfned.ru, SPIN-код: 6054-9140, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5381-8728>

А.С. Иванов¹, И.В. Гармаш¹, О.С. Аришева¹, М.А. Маркова¹, А.С. Мельник¹, Н.Н. Теребилина²,
В.Ю. Баронец², Д.И. Перегуд², Е.В. Тарасенко¹, Ж.Д. Кобалава¹

¹ Российский университет дружбы народов, Москва, Российская Федерация

² Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского, Москва, Российская Федерация

Взаимосвязь полиморфных локусов, расположенных в промоторных областях генов VEGF (rs699947 и rs2010963), ICAM1 (rs281437) и ET-1 (rs1800541), с уровнем соответствующих белковых продуктов в сыворотке крови и риском развития алкогольного цирроза печени

368

Обоснование. Неконтролируемое употребление алкоголя может обуславливать развитие цирроза печени, который проявляется фиброзом с образованием узлов-регенератов, повышением давления в системе воротной вены и нарушением функции печени. Дисфункция печеночного эндотелия при формировании портальной гипертензии сопровождается повышением уровня молекул белковой природы, участвующих в функционировании эндотелия, — васкулоэндотелиального фактора роста А (VEGF-A), растворимой формы молекулы межклеточной адгезии (s-ICAM-1) и эндотелина-1 (ET-1). Предполагается, что повышенный уровень VEGF-A, s-ICAM-1 и ET-1 при алкогольном циррозе печени (АЦП) может быть взаимосвязан со строением полиморфных локусов промоторных областей соответствующих генов, что в свою очередь может являться генетическим фактором риска развития цирроза печени. **Цель** — исследовать взаимосвязь носительства вариантных форм полиморфных локусов, расположенных в промоторных областях VEGF-A, ICAM-1 и ET-1, с уровнем соответствующих белков в сыворотке крови и риском развития АЦП. **Методы.** Основную группу составили пациенты с патологической зависимостью от алкоголя, отягощенной циррозом печени (АЦП, n=60). Группу контроля составили лица, страдающие алкогольной зависимостью, без патологии печени (АЗ, n=24). Период наблюдения равнялся периоду госпитализации. Содержание VEGF-A, s-ICAM-1 и ET-1 в сыворотке крови оценивали посредством иммуноферментного анализа. Распределение вариантных форм полиморфных локусов, расположенных в промоторных областях генов VEGF-A (rs699947 и rs2010963), ICAM1 (rs281437) и ET-1 (rs1800541), в исследуемой выборке проводили с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. **Результаты.** Развитие алкогольного цирроза печени сопровождалось значительным повышением концентрации VEGF-A, s-ICAM-1 и ET-1 в сыворотке крови. При этом были выявлены прямые корреляционные отношения между значениями концентрации VEGF-A, s-ICAM-1 и ET-1 в сыворотке крови и диаметром портальной вены у лиц с циррозом печени. Пациенты с АЦП чаще являются носителями аллеля G локуса rs1800541, расположенного в промоторе гена ET-1, по сравнению с лицами, страдающими АЗ без патологии печени, что сопряжено с повышенным риском развития цирроза при алкогольной зависимости. Носительство аллеля С локуса rs699947, а также аллеля С локуса rs2010963, расположенных в промоторе гена VEGF, было связано с повышенным уровнем VEGF-A при АЦП по сравнению носителями данного аллеля в группе АЗ. Кроме того, в группе пациентов с АЦП носители аллеля С, гомозиготного генотипа СС и гетерозиготного генотипа СС локуса rs2010963 по сравнению с носителями аллеля G или гомозиготного генотипа GG соответственно характеризовались повышенным уровнем VEGF-A в сыворотке крови. **Заключение.** Носительство аллеля G локуса rs1800541 (ET-1) является фактором риска развития цирроза печени при злоупотреблении алкоголем. Носительство аллеля С локуса rs699947, а также аллеля С локуса rs2010963, расположенных в промоторе гена VEGF, может определять повышенный уровень VEGF-A в сыворотке крови при АЦП.

Ключевые слова: алкогольный цирроз печени, эндотелиальная дисфункция, генетический полиморфизм, VEGF-A, ICAM-1, ET-1, rs699947, rs2010963, rs281437, rs1800541.

(Для цитирования: Иванов А.С., Гармаш И.В., Аришева О.С., Маркова М.А., Мельник А.С., Теребилина Н.Н., Баронец В.Ю., Перегуд Д.И., Тарасенко Е.В., Кобалава Ж.Д. Взаимосвязь полиморфных локусов, расположенных в промоторных областях генов VEGF (rs699947 и rs2010963), ICAM1 (rs281437) и ET-1 (rs1800541), с уровнем соответствующих белковых продуктов в сыворотке крови и риском развития алкогольного цирроза печени. Вестник РАМН. 2018;73(6):368–377. doi: 10.15690/vramn1059)

Обоснование

Цирроз является осложнением алкогольной болезни печени и относится к поздней стадии фиброза с образованием узлов-регенератов и повышением давления в системе воротной вены. Развитие портальной гипертензии служит неблагоприятным прогностическим факто-

ром и зачастую является причиной смерти [1]. Патогенез портальной гипертензии в основном связан с нарушением проницаемости сосудистой стенки, увеличением сосудистой резистентности к портальному кровотоку и процессом ремоделирования внутрипеченочных сосудов [2, 3]. Предполагается, что ключевым событием в формировании портальной гипертензии является дис-

функция печеночного эндотелия. В норме эндотелий посредством экскреции биоактивных молекул регулирует сосудистую проницаемость, агрегацию и адгезию тромбоцитов и лейкоцитов, воспалительные процессы и пролиферацию гладкомышечных клеток [4]. Дисфункция печеночного эндотелия при формировании портальной гипертензии сопровождается повышением уровня молекул белковой природы, участвующих в функционировании эндотелия, — васкулоэндотелиального фактора роста А (vascular endothelial growth factor A, VEGF-A), растворимой формы молекулы межклеточной адгезии (intercellular adhesion molecule 1, s-ICAM-1) и эндотелина-1 (endothelin 1, ET-1) [5]. Данные полипептиды, регулируя рост сосудов, адгезию лейкоцитов и тонус сосудов, вовлечены в различные аспекты функционирования эндотелия в норме и при патологии [6].

Хорошо известно, что при алкогольной болезни печени содержание VEGF-A, s-ICAM-1 и ET-1 в сыворотке крови значительно повышается [7], однако механизмы, лежащие в основе данного процесса, остаются неизученными. Среди возможных вариаций генома однонуклеотидные замены в промоторном участке гена могут изменять транскрипционную активность конкретного гена, что в свою очередь может лежать в основе изменения

транскрипции и последующего изменения уровня белкового продукта. Известны работы, посвященные исследованию полиморфизмов генов, кодирующих молекулы, вовлеченные в патогенез эндотелиальной дисфункции при поражении печени, в основном в рамках вирусного гепатита С и гепатоцеллюлярной карциномы [8–11]. Эти исследования продемонстрировали связь между экспрессией вариантных аллелей полиморфных локусов ряда подобных генов и развитием цирроза печени различной этиологии. Таким образом, в основе гипотезы настоящего исследования лежало предположение о том, что повышенный уровень VEGF-A, s-ICAM-1 и ET-1 при алкогольном циррозе печени (АЦП) может быть взаимосвязан со строением полиморфных локусов, расположенных в промоторных областях соответствующих генов, что в конечном итоге может являться генетическим фактором риска развития цирроза печени. Подобных исследований ранее не проводилось.

Настоящее исследование было сконцентрировано на полиморфных локусах rs699947 и rs2010963, rs281437 и rs1800541, расположенных в промоторных областях генов VEGF-A, ICAM1 и ET-1 соответственно и способных изменять их транскрипционную активность (табл. 1). Действительно, ранее было продемонстрировано, что

A.S. Ivanov¹, I.V. Garmasch¹, O.S. Arisheva¹, M.A. Markova¹, A.S. Melnik¹, N.N. Terebilina²,
V.Yu. Baronets², D.I. Peregud², E.V. Tarasenko¹, Zh.D. Kobalava¹

¹ RUDN University, Moscow, Russian Federation

² V. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology, Moscow, Russian Federation

Association of SNPs in the Promoter Regions of VEGF (rs699947 и rs2010963), ICAM1 (rs281437) and ET-1 (rs1800541) with Serum Levels of Related Proteins and Alcoholic Liver Cirrhosis Risk

BACKGROUND: Uncontrolled use of alcohol can lead to the development of cirrhosis of the liver, which is manifested by fibrosis with the formation of regenerative nodes, an increase in pressure in the portal vein system and impaired liver function. Hepatic endothelium dysfunction during the formation of portal hypertension is accompanied by an increase in the level of protein molecules involved in the functioning of the endothelium: vascular endothelial growth factor A (VEGF-A), a soluble form of the intercellular adhesion molecule (s-ICAM-1) and endothelin-1 (ET-1). It is assumed that elevated levels of VEGF-A, s-ICAM-1 and ET-1 in alcoholic liver cirrhosis (AHC) may be interconnected with the structure of polymorphic loci, the promoter regions of the respective genes, which in turn may be a genetic risk factor for developing cirrhosis. **AIMS:** Investigate the relationship of carriage of variant forms of polymorphic loci located in the promoter regions of VEGF-A, ICAM-1 and ET-1 with the level of the corresponding proteins in the blood serum and the risk of AHC. **MATERIALS AND METHODS:** The main group consisted of patients with pathological dependence on alcohol, aggravated by cirrhosis of the liver (AHC, n=60). The control group consisted of persons suffering from alcohol abuse, without liver pathology (AA, n=24). The observation period was the period of hospitalization. The serum levels of VEGF-A, s-ICAM-1 and ET-1 were evaluated by enzyme immunoassay. The distribution of variant forms of polymorphic loci located in the promoter regions of the VEGF-A genes (rs699947 and rs2010963), ICAM1 (rs281437) and ET-1 (rs1800541) in the studied sample was performed by real-time PCR. **RESULTS:** The development of alcoholic cirrhosis was accompanied by a significant increase in the concentration of VEGF-A, s-ICAM-1 and ET-1 in serum. At the same time, direct correlations between the concentrations of VEGF-A, s-ICAM-1 and ET-1 in serum and the diameter of the portal vein in persons with liver cirrhosis were revealed. Patients with AHC are often carriers of the G allele of rs1800541 locus, located in the promoter of the ET-1 gene, compared with individuals suffering from control without liver pathology, which is associated with an increased risk of developing cirrhosis in alcohol dependence. The carriage of the C allele rs699947, as well as the C allele rs2010963 located in the promoter of the VEGF gene was associated with an increased level of VEGF-A in the AHC compared to carriers of this allele in the AA group. In addition, in the group of patients with AHC, carriers of allele C, homozygous CC genotype and heterozygous GC genotype of rs2010963 locus compared with carriers of G allele or homozygous GG genotype, respectively, were characterized by elevated serum VEGF-A levels. **CONCLUSION:** Carrier allele G of the rs1800541 locus (ET-1) is a risk factor for liver cirrhosis with alcohol abuse. The carriage of the C allele rs699947, as well as the C allele rs2010963 located in the promoter of the VEGF gene, can determine the elevated serum VEGF-A level in the AHC.

Key words: alcoholic liver cirrhosis, endothelial dysfunction, SNP, VEGF-A, ICAM-1, ET-1, rs699947, rs2010963, rs281437, rs1800541.

(For citation: Ivanov AS, Garmasch IV, Arisheva OS, Markova MA, Melnik AS, Terebilina NN, Baronets VYu, Peregud DI, Tarasenko EV, Kobalava ZhD. Association of SNPs in the Promoter Regions of VEGF (rs699947 и rs2010963), ICAM1 (rs281437) and ET-1 (rs1800541) with Serum Levels of Related Proteins and Alcoholic Liver Cirrhosis Risk. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(6):368–377. doi: 10.15690/vramn1059)

Таблица 1. Характеристика исследованных полиморфных локусов, расположенных в промоторных областях генов *VEGF-A*, *ICAM1* и *ET-1*

Ген (хромосома)	SNP ID	Координаты (вариантные аллели)	Функциональная значимость, источник
<i>VEGF-A</i> (6)	rs699947	NM_003376.5:c.-2055A>C	[12]
	rs2010963	NM_003376.5:c.-94C>G	[13]
<i>ICAM1</i> (19)	rs281437	NM_001544.4:c.-451C>T	Неизвестно
<i>ET-1</i> (6)	rs1800541	NM_001955.4:c.-1644T>G	[14]

носительство аллеля С локуса rs699947 связано с более высоким уровнем продукции VEGF лейкоцитами, стимулированными *in vitro* [12]. Также активность промотора гена *VEGF*, содержащего аллель С локуса rs2010963, значительно выше активности промотора, содержащего аллель G, что было подтверждено на трех клеточных линиях [13]. Данных относительно влияния локуса rs281437 на содержание s-ICAM1 в циркуляторном русле или активность гена *ICAM1* не удалось найти, однако известно, что данный локус связан с высоким риском развития фиброза печени при гепатите С [11]. Уровень мРНК и секретируемого полипептида ET-1 в первичных культурах клеток остеосаркомы, полученных от носителей гомозиготного генотипа GG локуса rs1800541, был наименьшим по сравнению с носителями генотипов TT и TG [14].

Цель — исследовать взаимосвязь носительства вариантов форм полиморфных локусов, расположенных в промоторных областях *VEGF-A*, *ICAM-1* и *ET-1*, с уровнем соответствующих белков в сыворотке крови и риском развития алкогольного цирроза печени.

Методы

Дизайн исследования

Проводилось когортное многоцентровое одномоментное выборочное исследование «случай-контроль», в котором группа больных с алкогольным циррозом печени сравнивалась с группой лиц, злоупотребляющих алкоголем, без патологии печени.

Критерии соответствия

Критерии включения: лица, злоупотребляющие алкоголем, в возрасте старше 18 лет. Подтверждение алкогольного анамнеза осуществлялось фактом признания злоупотребления алкоголем самим пациентом и/или его родственниками, позитивными ответами на опросники CAGE и AUDIT [15, 16] и клинико-лабораторными признаками хронической алкогольной интоксикации.

Критериями цирроза печени являлись анамнез госпитализаций по этому поводу; наличие портальной гипертензии (спленомегалия, расширение варикозных вен пищевода, асцит с лапароцентезом, наличие в анамнезе кровотечения из варикозных вен пищевода); снижение белково-синтетической функции печени (гипоальбуминемия, гипохолестеринемия, снижение протромбинового индекса, холестеринэстеразы), данных эластометрии (F4 по шкале тяжести печеночного фиброза METAVIR).

Критерии исключения из исследования: выявление антител к вирусам гепатита (серопозитивные реакции), острый или хронический воспалительный процесс, наличие острого алкогольного гепатита, заболевания печени неалкогольной этиологии и онкологических заболеваний.

Условия проведения

Набор пациентов проводился среди лиц, проходивших лечение в Городской клинической больнице имени В.В. Виноградова (Москва) или Национальном научном центре наркологии г. Москвы (филиал Национального медицинского исследовательского центра психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского, Москва).

Продолжительность исследования

Набор пациентов проходил с мая 2017 по апрель 2018 г. Период наблюдения составлял время госпитализации.

Описание медицинского вмешательства

Всем пациентам проводился сбор анамнеза, включая опросники выявления злоупотребления алкоголем, физическое обследование, инструментальное обследование (ультразвуковое исследование органов брюшной полости и почек, фиброэластометрия), а также взятие венозной крови с целью проведения молекулярно-генетического исследования.

Исходы исследования

Основной исход исследования

Определение концентрации молекул VEGF-A, s-ICAM-1 и ET-1 в сыворотке крови, а также установление распределения вариантных форм полиморфных локусов, расположенных в промоторных областях соответствующих генов — *VEGF-A* (rs699947 и rs2010963), *ICAM1* (rs281437), *ET-1* (rs1800541).

Дополнительные исходы исследования

Рутинные клинико-диагностические исследования.

Анализ в подгруппах

Экспериментальные подгруппы не формировались и не анализировались.

Методы регистрации исходов

Проводились рутинные клинико-диагностические исследования: общий анализ крови, биохимический анализ крови с оценкой параметров печеночной и почечной функций (общий белок, альбумин, холестерин, холестеринэстераза, щелочная фосфатаза, аланин- и аспартатамиотрансферазы (АЛТ, АСТ), общий и прямой билирубин, креатинин, мочевины), коагулограмма (международное нормализованное отношение, протромбиновый индекс), общий анализ мочи, ультразвуковое исследование органов брюшной полости (Toshiba Aplio500, Япония); аппаратом FibroScan (Франция) оценивалась плотность печени (в кПа).

Содержание VEGF-A, s-ICAM-1 и ET-1 в сыворотке крови определяли с использованием коммерческих наборов реактивов, основанных на иммуноферментном анализе: Bender MedSystems (Австрия) для VEGF-A и s-ICAM-1, Biomedica (Австрия) для ET-1.

Таблица 2. Сравнительная характеристика исследуемых групп

Показатели	Группы пациентов	
	АЗ (n=24)	АЦП (n=60)
Возраст, лет	48,0±8,5	52,85±10,53
Пол, М/Ж, n (%)	18 (69,3) / 8 (30,7)	35 (67,3) / 17 (32,7)
Индекс массы тела, кг/м ²	27,2±5,0	27,1±3,7
Длительность употребления алкоголя, лет	16,3±8,17	15,0±9,5
Тест CAGE («+» ответы)	3,46±0,5	3,0±0,5
Тест AUDIT («+» ответы)	23,07±4,11	23,0±5,44

Примечание. Количественные показатели представлены в виде целого числа и процентной доли *n* (%), количественные — в виде средней величины со среднеквадратичным отклонением. АЗ/АЦП — группа пациентов с алкогольной зависимостью / алкогольным циррозом печени.

У 76 пациентов из 84 (из них 24 с алкогольной зависимостью, 52 с алкогольным циррозом печени) из цельной крови выделяли тотальную ДНК на колонках с помощью набора реагентов «К-Сорб» (ЕХ-514-100, Синтол, Россия). Распределение аллельных вариантов полиморфных локусов, расположенных в промоторных областях генов, участвующих в функционировании эндотелия, исследовали при помощи полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, используя термоциклер «АНК-48» (Институт аналитического приборостроения РАН, Россия) и наборы реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов VEGF-A (rs699947 и rs2010963) (SNP-Скрин NP-454-100 и NP-453-100 соответственно; Синтол, Россия) и ICAM1 (rs281437), ET-1 (rs1800541) (4351379, Thermo Fisher Scientific, США), согласно рекомендациям производителей.

Этическая экспертиза

Локальный Этический комитет при медицинском институте ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва) одобрил проведение данного исследования (протокол заседания № 21 от 21.04.2017).

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Расчет размера выборки проводился с учетом номограммы Альтмана, устанавливающей связь объема выборки, уровень значимости и мощности статистического критерия, стандартизованную разность.

Методы статистического анализа данных

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения Statistica (версия 8.0 для Windows) с применением стандартных алгоритмов вариационной статистики. Согласно результатам проведенных тестов (критерий Колмогорова–Смирнова, Шапиро–Уилка), распределение переменных в выборках не соответствовало нормальному. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (LQ–UQ). Для оценки различий исследованных показателей между двумя независимыми выборками использовали непараметрический критерий Манна–Уитни, при сравнении более двух независимых выборок предварительно применяли критерий Краскела–Уоллиса. Сравнение частоты аллелей и генотипов проводили с использованием таблицы сопряженности и критерия Пирсона χ^2 с поправкой Йейтса. Количественная оценка влияния непрерывных и дискретных факторов на бинарный параметр проводилась с помощью логистического регрессионного анализа с расчетом отношения шансов. При сравнении двух не-

зависимых выборок статистически значимыми считались результаты при $p < 0,05$; при сравнении показателей двух и более независимых выборок применяли поправку Бонферрони.

Результаты

Объекты (участники) исследования

Обследованы 84 лица, злоупотребляющих алкоголем: группу наблюдения составили 60 пациентов с алкогольным циррозом печени (АЦП), группу контроля — 24 пациента с алкогольной зависимостью (АЗ) без патологии печени или других соматических осложнений. Обе группы были сопоставимы по возрасту, полу, индексу массы тела, длительности употребления, количеству положительных ответов по опросникам. Сопоставимость исследуемых групп представлена в табл. 2.

Среди пациентов с циррозом печени наибольшее количество составили больные с классом С по шкале тяжести циррозов печени Child-Turcotte-Pugh (СТР) — 32/60 (53,3%), класс В выявлен у 17/60 (28,3%), класс А — у 11/60 (18,3%).

У пациентов с алкогольным циррозом печени при обследовании обнаруживались клиничко-лабораторные признаки тромбоцитопении, портальной гипертензии (наличие спленомегалии и асцита, варикозное расширение вен пищевода и передней брюшной стенки, расширение портальной вены), снижения синтетической функции печени, а также минимальная биохимическая активность, преимущественно за счет АСТ, и минимальный холестаза. Клиничко-лабораторная характеристика пациентов с АЦП представлена в табл. 3.

Основные результаты исследования

Уровень молекул белковой природы VEGF-A, s-ICAM-1 и ET-1 в сыворотке крови достоверно повышался при АЦП по сравнению с группой контроля (табл. 4). Более того, значения концентраций VEGF-A, s-ICAM-1 и ET-1 в сыворотке крови достоверно коррелировали с диаметром воротной вены. Наибольшая корреляционная связь наблюдалась с уровнем s-ICAM-1 ($r=0,53$), в то время как с уровнями ET-1 и VEGF-A выявлена незначительная, но статистически значимая положительная корреляция ($r=0,48$ и $r=0,32$ соответственно). Корреляционных отношений между содержанием VEGF-A, s-ICAM-1 и ET-1 в сыворотке крови и наличием спленомегалии, асцита, варикозного расширения вен пищевода и передней брюшной стенки, а также тяжести алкогольного цирроза печени по шкале СРТ и лабораторных

Таблица 3. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с алкогольным циррозом печени

Показатели	АЦП
Плотность печени, кПа	43,0 [17,6; 75]
Класс А по СТР, <i>n</i> (%)	11 (18,3)
Класс В по СТР, <i>n</i> (%)	17 (28,4)
Класс С по СТР, <i>n</i> (%)	32 (53,3%)
Гемоглобин, 120–160 г/л	108 [94; 127]
Лейкоциты, 4–9 тыс./мкл	6,5 [5,2; 8,2]
Тромбоциты, 180–440 тыс./мкл	166,5 [123; 277]
Скорость оседания эритроцитов, <10 мм/ч	35,0 [24; 50]
С-реактивный белок, <10 мг/л	16,8 [15; 35,8]
Аланинаминотрансфераза, 0–38 Ед/л	23,0 [15,1; 34,8]
Аспаратаминотрансфераза, 0–38 Ед/л	42,1 [28,6; 45,1]
Гамма-глутамилтранспептидаза, <50 Ед/л	173,0 [53,5; 294,5]
Билирубин общий, 3–21 мкмоль/л	34,6 [21,1; 66,0]
Щелочная фосфатаза, 40–130 Ед/л	118,0 [91; 189]
Общий белок, 66–83г/л	65,3 [58,4; 73,9]
Альбумин, 35–53 г/л	25,2 [22; 30]
Холестерин, 3,1–5,2 ммоль/л	3,52 [2,59; 5,06]
Холинэстераза, 6400–15500 Ед/л	2,3 [1,9; 2,3]
Протромбиновый индекс, 70–120%	56,0 [39; 57]
Асцит, <i>n</i> (%)	34 (60,8)
Спленомегалия, <i>n</i> (%)	41 (68,3)
Варикозное расширение вен пищевода, <i>n</i> (%)	22 (36,7)
Варикозное расширение вен передней брюшной стенки, <i>n</i> (%)	34 (60,8)
Диаметр воротной вены, мм	13,4 [12,6; 15,1]

Примечание. В квадратных скобках указан интерквартильный диапазон значений LQ–UQ. АЦП — группа пациентов с алкогольным циррозом печени.

Таблица 4. Концентрация молекул VEGF-A, s-ICAM-1 и ET-1 в сыворотке крови при алкогольном циррозе печени

Показатель	Группы пациентов	
	АЗ (<i>n</i> =24)	АЦП (<i>n</i> =60)
VEGF-A, пг/мл	359,4 [251,9; 452,1]	901,6 [420,6; 1264,1]*
s-ICAM, нг/мл	273,0 [172; 415]	970,0 [635; 1129]*
ET-1, фмоль/мл	1,02 [0; 1,06]	1,6 [1,1; 2,8]*

Примечание. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (LQ–UQ). * — по сравнению с группой контроля; статистическая достоверность высчитана с помощью U-критерия Манна–Уитни. АЗ/АЦП — группа пациентов с алкогольной зависимостью / алкогольным циррозом печени.

признаков снижения синтетической функции печени обнаружено не было.

У пациентов с алкогольным циррозом печени по сравнению с группой контроля достоверно чаще встречался аллель G полиморфного локуса rs1800541, расположенного в промоторе гена *ET-1*. Кроме того, расчет величины отношения шансов показал, что носительство аллеля G локуса rs1800541 в условиях злоупотребления алкоголем является независимым фактором развития цирроза печени (табл. 5). Различий распределения частоты вариантных форм локусов, расположенных в промоторах генов *VEGF-A* и *ICAM-1*, между исследованными выборками не обнаружено (см. табл. 5).

Носительство аллеля C, но не аллеля A локуса rs699947, расположенного в промоторе гена *VEGF*, было связано с повышенным уровнем соответствующего белкового продукта у пациентов с АЦП по сравнению с носителями данного аллеля в группе контроля (табл. 6). Уровень VEGF-A в сыворотке крови у носителей аллеля C локуса rs2010963, расположенного в промоторе соответствующего гена, у пациентов с АЦП был достоверно выше как по сравнению с носителями данного аллеля в группе контроля, так и с носителями аллеля G в группе АЦП (см. табл. 6). Кроме того, в группе алкогольного цирроза печени носители гомозиготного генотипа CC и гетерозиготного генотипа GC локуса rs2010963 по сравнению

Таблица 5. Частота встречаемости вариантов полиморфных локусов, расположенных в промоторных областях генов *VEGF-A*, *ICAM-1* и *ET-1*, у пациентов с алкогольным циррозом печени

Генотипы/аллели	A3 (n=24)	AЦП (n=52)	OШ	χ^2	p
VEGF-A (rs699947, A>C)			-	-	-
CA, n (%)	12 (50,0)	29 (55,8)	1 ^{ref}	-	-
AA, n (%)	4 (16,7)	10 (19,2)	1,034 (0,27–3,96)	0,085	0,77
CC, n (%)	8 (33,3)	13 (25,0)	0,68 (0,22–2,04)	0,17	0,68
C, n (%)	28 (58,3)	55 (52,9)	1 ^{ref}	-	-
A, n (%)	20 (41,7)	49 (47,1)	1,24 (0,63–2,5)	0,2	0,65
VEGF-A (rs2010963, C>G)			-	-	-
GC, n (%)	10 (41,7)	25(48,1)	1 ^{ref}	-	-
GG, n (%)	12 (50)	25 (48,1)	0,83 (0,3–2,28)	0,01	0,092
CC, n (%)	2 (8,3)	2 (3,8)	0,4 (0,049–3,2)	0,095	0,76
C, n (%)	14 (29,2)	29 (23,9)	1 ^{ref}	-	-
G, n (%)	34 (70,8)	75 (76,1)	1,07 (0,5–2,28)	0,001	0,98
ICAM-1 (rs281437, C>T)			-	-	-
CT, n (%)	12 (50)	21 (40,4)	1 ^{ref}	-	-
CC, n (%)	12 (50)	29 (55,8)	1,38 (0,52–3,67)	0,16	0,69
TT, n (%)	0	2 (3,8)	-	-	-
C, n (%)	36 (75)	79 (77,1)	1 ^{ref}	-	-
T, n (%)	12 (25)	25 (22,9)	0,95 (0,43–2,1)	0,006	0,94
ET-1 (rs1800541, T>G)			-	-	-
TT, n (%)	20 (83,3)	32 (61,5)	1 ^{ref}	-	-
TG, n (%)	4 (16,7)	19 (36,5)	2,97 (0,89–9,99)	2,36	0,25
GG, n (%)	0	1 (1,9)	-	-	-
T, n (%)	44 (91,7)	63 (79,8)	1 ^{ref}	-	-
G, n (%)	4 (8,3)	21 (20,2)*	3,67 (1,18–11,45)	4,49	0,035

Примечание. A3/AЦП — группа пациентов с алкогольной зависимостью / алкогольным циррозом печени. OШ — отношение шансов (1^{ref} — референсный аллель/генотип).

373

Таблица 6. Взаимосвязь носительства вариантных форм полиморфных локусов, расположенных в промоторных областях генов *VEGF-A*, *ICAM-1* и *ET-1*, с уровнем соответствующих белковых продуктов в сыворотке крови при алкогольном циррозе печени

Аллель/генотип	A3 (n=24)	AЦП (n=52)	p ^{1*}	p ²
VEGF-A (rs699947, A>C), пг/мл			-	-
CA	379,1 [251,2–452,1]	931,5 [481,3–1258,2]	0,023	19,12 (0,002)
AA	278,6 [192,6–364,6]	1143,6 [443,4–1493,0]	0,013	
CC	354,2 [352,2–356,6]	549,8 [331,3–1362,8]	0,05	
C	354,2 [350,2–360,4]	457,2 [311,2–959,0]	0,003*	
A	337,0 [192,6–447,0]	557,2 [311,2–1051,0]	0,013	
VEGF-A (rs2010963 G/C), пг/мл			-	-
GC	251,2 [191,2–311,2]	944,6 [422,8–1264,0]#	0,05	20,03 (0,0012)
GG	364,6 [354,2–447,0]	684,1 [412,6–1252,4]	0,056	
CC	0,0	2055,3 [1894,6–2216,0]#	-	
C	251,2 [191,2–311,2]	562,6 [311,2–1021,6]#	0,003*	
G	364,6 [354,2–447,0]	430,8 [311,2–886,4]	0,13	

Таблица 6. Взаимосвязь носительства вариантных форм полиморфных локусов, расположенных в промоторных областях генов *VEGF-A*, *ICAM-1* и *ET-1*, с уровнем соответствующих белковых продуктов в сыворотке крови при алкогольном циррозе печени (*Окончание*)

Аллель/генотип	A3 (n=24)	AЦП (n=52)	p^{1*}	p^2
ICAM-1 (rs281437 C/T), нг/мл			-	-
CT	351,0 [212,0–564,0]	895,0 [641,0–1129,0]	0,0005*	16,79 (0,002)
CC	172,0 [160,0–390,0]	870,0 [628,0–1139,0]	0,00004*	
TT	-	755,8	-	
C	281,5 [171,5–415,0]	524,0 [243,0–1005,0]	0,00003*	16,41 (0,0009)
T	172,0 [160,0–390,0]	636,0 [231,0–1061,0]	0,0005*	
ET-1 (rs1800541 T/G), фмоль/мл			-	-
TG	0,9 [0,0–1,1]	1,5 [1,18–2,7]	0,04	11,76 (0,019)
TT	1,02 [0,49–1,13]	1,9 [0,7–2,97]	0,015	
GG	-	1,3	-	
G	0,8 [0,43–1,1]	1,4 [0,5–2,28]	0,039	10,49 (0,015)
T	1,02 [0,49–1,3]	1,3 [0,9–2,4]	0,015	

Примечание. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (LQ–UQ). # — по сравнению с носителями различных генотипов или аллеля в группе АЦП. p^{1*} — достоверность различий согласно U-критерию Манна–Уитни (с учетом поправки Бонферрони: $p < 0,005$ для генотипов и $p < 0,008$ для аллелей) по сравнению с группой контроля при носительстве одинакового генотипа или аллеля; p^2 — достоверность различий между всеми генотипами и всеми аллелями одного локуса согласно H-критерию Краскела–Уоллиса. A3/АЦП — группа пациентов с алкогольной зависимостью / алкогольным циррозом печени.

374

с носителями гомозиготного генотипа GG характеризовались повышенным уровнем VEGF-A в сыворотке крови (см. табл. 6).

Уровень s-ICAM-1 у пациентов с АЦП был достоверно выше по сравнению с группой контроля, независимо от носительства вариантной формы полиморфного локуса rs281437, расположенного в промоторе соответствующего гена (см. табл. 6).

Несмотря на то, что носительство аллеля G локуса rs1800541, расположенного в промоторе гена *ET-1*, связано с риском развития цирроза печени при алкогольной зависимости, связи вариантов данного локуса с концентрацией ET-1 в сыворотке крови не выявлено (см. табл. 6).

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Развитие цирроза печени на фоне патологической зависимости от алкоголя сопровождалось значительным повышением концентрации VEGF-A, s-ICAM-1 и ET-1 в сыворотке крови. При этом были выявлены прямые корреляционные отношения между значениями концентрации VEGF-A, s-ICAM-1 и ET-1 в сыворотке крови и диаметром портальной вены у лиц с циррозом печени. Пациенты с АЦП чаще являются носителями аллеля G локуса rs1800541, расположенного в промоторе гена *ET-1*, по сравнению с лицами, страдающими алкогольной зависимостью без патологии печени, что сопряжено с повышенным риском развития цирроза при алкогольной зависимости. Носительство аллеля C локуса rs699947, а также аллеля C локуса rs2010963, расположенных в промоторе гена *VEGF*, было связано с повышенным уровнем VEGF-A при АЦП по сравнению с носителями данного аллеля в группе A3. Кроме того, в группе пациентов с алкогольным циррозом печени носители аллеля C, гомозиготного генотипа CC и гетерозиготного генотипа GC

локуса rs2010963 по сравнению с носителями аллеля G или гомозиготного генотипа GG соответственно характеризовались повышенным уровнем VEGF-A в сыворотке крови.

Обсуждение основного результата исследования

VEGF-A является хорошо известным медиатором ангиогенеза: участвуя в проницаемости микрососудистой стенки, он обеспечивает выход плазменных белков и лейкоцитов в перисинусоидальное пространство, опосредуя развитие портальной гипертензии [17, 18].

В доступной литературе найдено небольшое число исследований изменения концентрации VEGF-A при циррозе печени. При сравнении уровня VEGF-A между группой цирроза печени (криптогенного и вирусного генеза) и здоровыми лицами было выявлено снижение концентрации VEGF-A при развитии цирроза печени [19], что послужило основанием не считать VEGF-A индикатором прогрессирования заболевания печени. Однако более поздние результаты опровергли данное утверждение. Выявлено значительное увеличение содержания VEGF-A в сыворотке крови при циррозе, в том числе вирусной природы, по сравнению со здоровыми людьми [20]. Данных об уровнях VEGF-A при алкогольном циррозе печени крайне мало. На азиатской популяции больных циррозом печени различной этиологии, включая алкогольную, были продемонстрированы высокие уровни концентрации VEGF-A в плазме крови. Причем концентрация VEGF-A была достоверно выше в группе алкогольного цирроза печени по сравнению с циррозом неалкогольной этиологии. Наши данные также показывают достоверно высокие уровни VEGF-A при циррозе печени алкогольного генеза.

s-ICAM-1 считают надежным маркером повреждения эндотелия [5]. При отсутствии патологии печени молекула s-ICAM-1 экспрессируется на поверхности синусоидального эндотелия в небольшом количестве. Нормальный уровень s-ICAM-1 сохраняется и при ал-

кольном стеатозе [21]. Развитие алкогольного цирроза способствует усилению экспрессии s-ICAM-1 в сосудах печени по сравнению со здоровыми добровольцами [22]. Гиперэкспрессия адгезивных молекул при алкогольном циррозе печени подтверждена в других исследованиях. Так, Y. Mándi с соавт. [23] исследовали концентрацию s-ICAM-1 у больных алкогольным циррозом печени. Было выявлено, что концентрации s-ICAM-1 при циррозе печени были достоверно выше по сравнению с непьющими добровольцами. В российском исследовании также было показано достоверное увеличение концентрации s-ICAM-1 в случае алкогольного фиброза 4-й степени по сравнению с нулевой степенью фиброза на фоне злоупотребления алкоголем [24]. В нашем исследовании продемонстрировано достоверное повышение концентраций данного маркера при алкогольном циррозе печени.

Менее изученным является ET-1. Повышение ET-1 ухудшает кровообращение в печени, активирует звездчатые клетки. Последние, в свою очередь, вырабатывают эндотелин, что запускает патогенетический круг при заболевании печени. По данным I. Alam и соавт. [25], концентрация ET-1 повышалась при алкогольном циррозе печени по сравнению с непьющими лицами, а ее уровень коррелировал с тяжестью цирроза и выраженностью асцита. Наши данные также подтверждают высокие уровни ET-1 при циррозе печени, однако мы не выявили ассоциаций уровня ET-1 с тяжестью цирроза и наличием асцита.

Стоит отметить, что в большинстве исследований в качестве контрольной группы выступали здоровые лица, мы же отбирали больных, страдающих алкоголизмом без выраженной патологии печени. Однако наши результаты также демонстрируют достоверно высокие концентрации белков, участвующих в функционировании эндотелия, при циррозе печени по сравнению с пьющими лицами без патологии печени. Кроме того, мы не выявили связи между маркерами повреждения эндотелия, тяжестью алкогольного цирроза печени по шкале Child-Turcotte-Pugh и такими клиническими проявлениями портальной гипертензии, как асцит, расширение вен пищевода и передней брюшной стенки, спленомегалия, а также с лабораторными признаками снижения синтетической функции печени. Исключением стала корреляционная связь между концентрацией исследованных полипептидов и размером воротной вены. Наибольший коэффициент корреляции обнаружен по отношению к уровню s-ICAM-1. В исследовании R. Vuha и соавт. [26] было показано повышение концентрации s-ICAM-1 при алкогольном циррозе печени в зависимости от градиента давления в системе воротной вены.

Литературные данные относительно вклада генетических факторов в регуляцию концентрации VEGF-A, s-ICAM-1 и ET-1 крайне скудны. Так, S. Nurdjanah с соавт. [8] не выявили связи между локусом rs2010963 гена *VEGF-A* и его сывороточным уровнем у больных с вирусным циррозом печени. Другой группой авторов тоже не обнаружено различия между распределением генотипов локуса rs699947 гена *VEGF-A* у пациентов с циррозом печени различной этиологии в сравнении со здоровыми лицами и больными хроническим гепатитом [27]. Согласно данным, полученным в настоящей работе, носительство аллеля С локуса rs699947 и аллеля С локуса rs2010963, расположенных в промоторе гена *VEGF*, у пациентов с АЦП сопровождалось более высокими уровнями VEGF-A в сыворотке крови, что хорошо согласуется с известными данными о связи данных вариантных аллелей с высокой продукцией VEGF [12, 13].

Локус rs281437 гена *ICAM-1* преимущественно изучен при хронической HCV-инфекции [10, 11]. При алкогольном циррозе печени полиморфизм указанного гена не изучался. В нашем исследовании различные варианты полиморфного локуса rs281437 гена *s-ICAM-1* у пациентов с алкогольным циррозом печени не показали ассоциаций ни с риском развития алкогольного цирроза печени, ни с уровнем сывороточных концентраций s-ICAM-1 у данной группы пациентов.

Имеются данные об изучении локуса rs1800541, расположенного в промоторе гена *ET-1*, на пациентах с сахарным диабетом, заболеваниями сердечно-сосудистой системы, где были получены ассоциации с риском развития и тяжестью заболевания [28]. Мы впервые изучили полиморфный локус гена *ET-1* у больных с АЦП. По нашим данным, носительство аллеля G полиморфного локуса гена *ET-1* rs1800541 ассоциируется с развитием цирроза печени без выявленного достоверного влияния на уровень ET-1 у лиц, злоупотребляющих алкоголем.

Ограничения исследования

Отсутствие групп пациентов без алкогольной зависимости не позволяет исключить вероятность справедливости выявленных закономерностей при формировании цирроза печени неалкогольного генеза, однако подобные изыскания не являлись исходной целью исследования.

Заключение

Носительство аллеля G локуса rs1800541 (*ET-1*) является фактором риска развития цирроза печени при злоупотреблении алкоголем, при этом данный локус не взаимосвязан с концентрацией ET-1 в сыворотке крови при АЦП. Напротив, носительство аллеля С локуса rs699947, а также аллеля С локуса rs2010963, расположенных в промоторе гена *VEGF*, может определять повышенный уровень VEGF-A в сыворотке крови при АЦП несмотря на то, что данные локусы не являются факторами риска АЦП. Теоретически, после проведения дополнительных исследований типирование по локусам rs1800541 (*ET-1*), а также rs699947 и rs2010963 (*VEGF*) может быть включено в состав скрининговых панелей поиска факторов риска развития АЦП и/или фенотипических особенностей течения заболевания.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Работа выполнялась при частичной поддержке гранта РФФИ № 16-06-00064-ОГН.

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

Участие авторов. Иванов А.С. — набор пациентов, заполнение базы данных, статистический анализ, подбор литературы, написание текста статьи, внесение поправок в статью после редактирования; Гармаш И.В. — набор пациентов, редактирование текста статьи; Аришева О.С. — набор пациентов, подбор литературы для текста статьи, редактирование текста статьи, внесение информации в текст; Маркова М.А. — подбор литературы для текста

статьи, внесение правок в текст статьи; Мельник А.С. — набор пациентов, заполнение базы данных, статистический анализ, подбор литературы; Теребилина Н.Н. — набор пациентов, проведение лабораторного определения уровней маркеров ЭД, редактирование статьи; Баронец В.Ю. — набор пациентов, проведение лабораторного определения уровней маркеров ЭД, редактирование статьи; Перегуд Д.И. — проведение генотипирования, редак-

тирование статьи, коррекция статистического анализа; Тарасенко Е.В. — коррекция статистического анализа генов, редактирование статьи; Кобалава Ж.Д. — научный руководитель исследования, выбор темы, плана работы, редактирование текстового материала. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

ЛИТЕРАТУРА

- Mehta G, Gustot T, Mookerjee RP, et al. Inflammation and portal hypertension — the undiscovered country. *J Hepatol.* 2014;61(1):155–163. doi: 10.1016/j.jhep.2014.03.014.
- Mookerjee RP, Lackner C, Stauber R, et al. The role of liver biopsy in the diagnosis and prognosis of patients with acute deterioration of alcoholic cirrhosis. *J Hepatol.* 2011;55(5):1103–1111. doi: 10.1016/j.jhep.2011.02.021.
- Henderson NC, Iredale JP. Liver fibrosis: cellular mechanisms of progression and resolution. *Clin Sci.* 2007;112(5):265–280. doi: 10.1042/CS20060242.
- Lerman A, Zeiher AM. Endothelial function: cardiac events. *Circulation.* 2005;111(3):363–368. doi: 10.1161/01.CIR.0000153339.27064.14.
- Петухов В.А. Эндотелиальная дисфункция: современное состояние вопроса // *Consilium Medicum. Хирургия* — 2008. — № 1. — С. 3–7. [Petuhov VA. Endothelial dysfunction: current status. *Consilium Medicum. Surgery.* 2008;(1):3–7. (In Russ).]
- Shibuya M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases. *J Biochem.* 2013;153(1):13–19. doi: 10.1093/jb/mvs136.
- Панченко Л.Ф., Теребилина Н.Н., Пирожков С.В., и др. Сывороточные маркеры фиброза и эндотелиальной дисфункции у больных алкоголизмом с различной степенью фиброза печени // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* — 2015. — Т.59. — №3 — С. 18–27. [Panchenko LF, Terebilina NN, Pirozhkov SV, et al. Serum markers of fibrosis and endothelial dysfunction in alcohol patients with varying degrees of liver fibrosis. *Patologicheskaya fiziologiya i ehksperimental'naya terapiya.* 2015;59(3):18–27. (In Russ).] doi: 10.25557/0031-2991.2015.03.18-27.
- Ratnasari N, Nurdjanah S, Sadewa AH, Hakimi M. The role of vascular endothelial growth factor -634 G/C and its soluble receptor on chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Arab J Gastroenterol.* 2016;17(2):61–66. doi: 10.1016/j.ajg.2016.06.005.
- Wu LM, Xie HY, Zhou L, et al. A single nucleotide polymorphism in the vascular endothelial growth factor gene is associated with recurrence of hepatocellular carcinoma after transplantation. *Arch Med Res.* 2009;40(7):565–570. doi: 10.1016/j.arcmed.2009.07.011.
- Дудина К.Р., Царук К.А., Шутько С.А., и др. Ассоциация полиморфизма гена ICAM-1 с прогрессирующим течением гепатита С // *Лечащий врач.* — 2014. — №12 — с. 67. [Dudina KR, Caruk KA, Shut'ko SA, et al. Association of the polymorphism of the gene ICAM-1 with a progressive course of hepatitis C. *Lechaschiy Vrach.* 2014;(12):67. (In Russ).]
- Rizk NM, Derbala MF. Genetic polymorphisms of ICAM 1 and IL28 as predictors of liver fibrosis severity and viral clearance in hepatitis C genotype 4. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2013;37(3):262–268. doi: 10.1016/j.clinre.2012.09.012.
- Shahbazi M, Fryer AA, Pravica V, et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with acute renal allograft rejection. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13(1):260–264.
- Chen CF, Liou SW, Wu HH, et al. Regulatory SNPs Alter the gene expression of diabetic retinopathy associated secretary factors. *Int J Med Sci.* 2016;13(9):717–723. doi: 10.7150/ijms.16345.
- Zang X, Zhou Y, Huang Z, Zhang C. Endothelin-1 single nucleotide polymorphisms and risk of pulmonary metastatic osteosarcoma. *PLoS One.* 2013;8(9):e73349. doi: 10.1371/journal.pone.0073349.
- Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Павлов Ч.С., и др. Клинические рекомендации Российской общества по изучению печени по ведению взрослых пациентов с алкогольной болезнью печени // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии.* — 2017. — Т.27. — №6 — С. 20–42. [Ivashkin VT, Maevskaya MV, Pavlov ChS, et al. Management of adult patients with alcoholic liver disease: clinical guidelines of the Russian Scientific Liver Society. *Russian journal of gastroenterology, hepatology, coloproctology.* 2017;27(6):20–42. (In Russ).]
- European Association for the Study of Liver. EASL clinical practical guidelines: management of alcoholic liver disease. *J Hepatol.* 2012;57(2):399–420. doi: 10.1016/j.jhep.2012.04.004.
- Iwakiri Y. Endothelial dysfunction in the regulation of cirrhosis and portal hypertension. *Liver Int.* 2012;32(2):199–213. doi: 10.1111/j.1478-3231.2011.02579.x.
- Bosisio D, Salvi V, Gagliostro V, Sozzani S. Angiogenic and antiangiogenic chemokines. *Chem Immunol Allergy.* 2014;99:89–104. doi: 10.1159/000353317.
- Assy N, Paizi M, Gaitini D, et al. Clinical implication of VEGF serum levels in cirrhotic patients with or without portal hypertension. *World J Gastroenterol.* 1999;5(4):296–300.
- Abdelmoaty MA, Bogdady AM, Attia MM, Zaky NA. Circulating vascular endothelial growth factor and nitric oxide in patients with livercirrhosis: a possible ssociatio with liver function impairment. *Indian J Clin Biochem.* 2009;24(4):398–403. doi: 10.1007/s12291-009-0071-5.
- Fisher N, Afford S, Adams DH. Adhesion molecules and alcoholic liver disease. *Hepatogastroenterol.* 1996;43(11):1113–1116.
- Adams DH, Burra P, Hubscher SG, et al. Endothelial activation and circulating vascular adhesion molecules in alcoholic liver disease. *Hepatology.* 1994;19(3):588–594. doi: 10.1002/hep.1840190308.
- Mándi Y, Nagy I, Krenács L. Relevance of ICAM-1 to alcoholic liver cirrhosis. *Pathobiology.* 1996;64(1):46–52. doi: 10.1159/000164005.
- Балашова А.А., Аришева О.С., Гармаш И.В., и др. Цитокины и алкогольная болезнь печени // *Клиническая фармакология и терапия.* — 2017. — Т.26. — №1 — С. 41–46. [Balashova AA, Arisheva OS, Garmash IV, et al. Cytokines and alcoholic liver disease. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya.* 2017;26(1):41–46. (In Russ).]
- Alam I, Bass NM, Bacchetti P, et al. Hepatic tissue endothelin-1 levels in chronic liver disease correlate with disease severity and ascites. *Am J Gastroenterol.* 2000;95(1):199–203. doi: 10.1111/j.1572-0241.2000.01684.x.
- Bruha R, Vitek L, Petrtý J, et al. Effect of carvedilol on portal hypertension depends on the degree of endothelial activation and inflammatory changes. *Scand J Gastroenterol.* 2006;41(12):1454–1463. doi: 10.1080/00365520600780403.
- Abman SH. Role of endothelin receptor antagonists in the treatment of pulmonary arterial hypertension. *Annu Rev Med.* 2009;60:13–23. doi: 10.1146/annurev.med.59.110106.212434.
- Zhu G, Carlsen K, Carlsen KH, et al. Polymorphisms in the endothelin-1 (EDN1) are associated with asthma in two populations. *Genes Immun.* 2008;9(1):23–29. doi: 10.1038/sj.gene.6364441.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Иванов Александр Сергеевич*, аспирант [*Alexandr S. Ivanov*, MD]; адрес: 117292, Москва, ул. Вавилова, д. 61 [address: 117292, Moscow, ul. Vavilova, 61], тел.: +7 (499) 134-65-91, e-mail: aleks_iv90@mail.ru, SPIN-код: 2352-6452, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6850-0800>

Гармаш Ирина Владимировна, к.м.н., доцент [*Irina V. Garmasch*, MD, PhD, associate professor]; e-mail: igarmasch@bk.ru, SPIN-код: 3023-5147, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2950-3563>

Аришева Ольга Сергеевна, к.м.н., ассистент [*Olga S. Arisheva*, MD, PhD, assistant of professor]; e-mail: olga.arisheva@yandex.ru, SPIN-код: 7556-0455, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2964-0568>

Маркова Мария Анатольевна, к.м.н., доцент [*Mariya A. Markova*, MD, PhD, associate professor]; e-mail: markova-maria@yandex.ru, SPIN-код: 5862-6143, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6409-4075>

Мельник Анна Сергеевна [*Anna S. Mel'nik*, MD]; e-mail: ann-garmash@yandex.ru, SPIN-код: 7672-4422, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4057-5058>

Теребиллина Наталья Николаевна, к.м.н. [*Natalya N. Terebilina*, MD, PhD]; e-mail: n.terebilina@mail.ru, SPIN-код: 3830-1244, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5356-0728>

Баронец Валерия Юрьевна, ст.н.с. [*Valeria Y. Baronets*, MD, Senior Scientist]; e-mail: biochn@mail.ru, SPIN-код: 7948-3499, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9715-4473>

Перегуд Даниил Игоревич, к.м.н., с.н.с. [*Daniil I. Peregud*, MD, PhD, Senior Scientist]; e-mail: peregud_d@yahoo.com, SPIN-код: 3572-9652, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2733-9640>

Тарасенко Екатерина Владимировна, к.б.н., доцент [*Ekaterina V. Tarasenko*, MD, PhD, associate professor]; e-mail: tarasenko_ev@inbox.ru, SPIN-код: 7155-2735, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0665-9741>

Кобалава Жанна Давидовна, д.м.н., профессор [*Zhanna D. Kobalava*, MD, PhD, Doctor of science, professor]; e-mail: kobalava_zhd@rudn.university, SPIN-код: 9828-5409, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5873-1768>

К.Л. Маркова, И.Ю. Коган, А.Р. Шевелева, В.А. Михайлова, С.А. Сельков, Д.И. Соколов

Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

Микровезикулы лейкоцитарного происхождения

Микровезикулы — новый объект биологических исследований. Они представляют собой субклеточные структуры размером от 100 до 1000 нм и обнаружены практически во всех биологических жидкостях человека. Их источниками являются различные клетки организма. Микровезикулы обладают разнообразным внутренним составом и несут широкий спектр молекул на своей поверхности, что определяет их участие в физиологических и патологических процессах. Предполагается их роль в качестве биологических маркеров заболеваний, чем и обусловлен интерес к ним. В настоящее время в мировой литературе достаточно много данных о микровезикулах тромбоцитов и эндотелиальных клеток, при этом данных о микровезикулах лейкоцитов практически нет. В связи с этим целью настоящего обзора было суммирование данных о микровезикулах лейкоцитов. В обзоре представлены данные о клетках-источниках, внутреннем и поверхностном составе микровезикул лейкоцитов, их взаимодействии с различными клетками организма, вовлеченности в физиологические и патологические процессы. Дальнейшее изучение микровезикул позволит уточнить их роль в норме и при патологиях, возможность использования в качестве маркеров заболеваний и переносчиков различных биологически активных молекул.

Ключевые слова: микровезикулы, везикулы, лейкоциты, лимфоциты.

(Для цитирования: Маркова К.Л., Коган И.Ю., Шевелева А.Р., Михайлова В.А., Сельков С.А., Соколов Д.И. Микровезикулы лейкоцитарного происхождения. Вестник РАМН. 2018;73(6):378–387. doi: 10.15690/vramn1031)

378

Введение

Микровезикулы, представляющие собой субклеточные структуры размером, по разным данным, от 100 до 1000 нм, обнаружены практически во всех биологических жидкостях человека. Их источниками являются различные клетки организма. Микровезикулы обладают разнообразным внутренним составом и несут широкий спектр молекул на своей поверхности. Содержимое и рецепторный аппарат микровезикул определяет их участие в физиологических и патологических процессах. Клетки взаимодействуют за счет прямых контактов друг с другом (лиганд-рецепторные взаимодействия), а также за счет локальной и дистанционной передачи секретлируемых молекул (цитокины и гормоны). Помимо этого, важным элементом межклеточных коммуникаций являются процессы, происходящие внутри самих клеток, так как они опосредуют биосинтез медиаторных молекул, проведение сигналов в клетке. Установлено, что клетки способны передавать друг другу рецепторные

молекулы вместе с фрагментами плазматической мембраны, например при образовании иммунного синапса [1]. Механизмы, опосредующие данные взаимодействия, недостаточно изучены, однако полагают, что в подобных клеточных коммуникациях принимают участие субклеточные образования — внеклеточные везикулы.

Внеклеточные везикулы (extracellular vesicles, EV) — гетерогенная популяция мембранных везикул. Они образуются клетками различного происхождения во время их жизнедеятельности, активации и при апоптозе [2, 3]. В зависимости от размера и способа образования в настоящее время везикулы подразделяют на экзосомы (30–120 нм), микровезикулы (МВ), или эктосомы (100–1000 нм), апоптотические тельца (800–5000 нм), однако некоторые исследователи выделяют дополнительные подтипы EV, такие как нановезикулы, гигантские онкосомы, гигантские мембранные везикулы, уни- и мультиламеллярные везикулы. Классификация и деление везикул по размерам обсуждается, так как нет строгих критериев и методов их получения и детекции [2, 3].

K.L. Markova, I.U. Kogan, A.R. Sheveleva, V.A. Mikhailova, S.A. Selkov, D.I. Sokolov

The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott,
Saint-Petersburg, Russian Federation

Microvesicles of Leukocyte Origin

Microvesicles are a new field of biological research. They are subcellular structures ranging in size from 100 to 1000 nm and found in practically all human biological fluids. Their sources are different cells. Microvesicles have a diverse internal composition and carry a wide spectrum of molecules on their surface, which determines their participation in physiological and pathological processes. Their assumed role of biological markers of diseases has aroused great interest. At the present time, there is a lot of data in the world literature about microvesicles of platelets and endothelial cells, and there is practically no data about microvesicles of leukocytes. In this regard, the purpose of the given review was to summarize the data about microvesicles of leukocytes. The review presents data about source cells, internal and superficial composition of leukocytes' microvesicles, their interaction with various cells, and involvement in physiological and pathological processes. Further study of microvesicles will make it possible to clarify their role in normal and pathological conditions, the possibility of using them as vectors of diseases and carriers of various biologically active molecules.

Key words: microvesicles, vesicles, leukocytes, lymphocytes.

(For citation: Markova KL, Kogan IU, Sheveleva AR, Mikhailova VA, Selkov SA, Sokolov DI. Microvesicles of Leukocyte Origin. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2018;73(6):378–387. doi: 10.15690/vramn1031)

Внеклеточные везикулы обнаружены в различных биологических жидкостях человека: в плазме крови, моче, плевральной жидкости, синовиальной жидкости, слюне, грудном молоке, эякуляте, назальном лаваже как в норме, так и при патологии [4]. Они могут быть также получены из содержимого атеросклеротической бляшки [5]. Внеклеточные везикулы содержат различные поверхностные и внутриклеточные молекулы — белки, липиды, гликолипиды, гликопротеины и нуклеиновые кислоты, включая ДНК, мРНК и некодирующие РНК. Таким образом, внеклеточные везикулы имеют потенциал для доставки информации окружающим клеткам и тканям [2, 6].

Микровезикулы описаны впервые в 1967 г. П. Вульфом (P. Wolf) и колл., которые обнаружили маленькие тромбоцитарные фрагменты в плазме крови. Долгое время считалось, что микровезикулы — это клеточный дебрис («остатки» полуразрушенных клеток). Последующее их изучение показало, что слушивание (shedding) везикул с мембраны встречается как у нормальных, так и опухолевых клеток. Микровезикулы образуют клетки крови, эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки и эпителиальные клетки. Их количество в циркуляции зависит от баланса скорости их образования клетками и скорости очищения от них. Исследования, проведенные на мышах, показывают, что поглощение циркулирующих микровезикул происходит в селезенке. У здоровых людей циркулирует более 80% микровезикул тромбоцитарного происхождения, а микровезикулы лейкоцитов и эндотелиальных клеток составляют минорную часть [2].

Считается, что микровезикулы могут передавать различные биологически активные молекулы от одной клетки к другой или выступать в качестве субклеточного вектора, распространяющего сигналы окружающим клеткам. Микровезикулы представляют собой источник большого количества различных иммунологически активных молекул, которые, воздействуя на клетки, могут регулировать различные процессы, происходящие в организме, в том числе воспаление, коагуляцию, презентацию антигенов, апоптоз, то есть могут участвовать в патогенезе различных заболеваний и воспалительных процессов [7–9].

Микровезикулы могут передавать клеткам-реципиентам хемокиновые и цитокиновые рецепторы, арахидоновую кислоту. Они могут проявлять противовоспалительные свойства, индуцируя апоптоз иммунных клеток и/или способствуя продукции ими противовоспалительных медиаторов [7]. Микровезикулы демонстрируют и провоспалительную активность посредством увеличения восприимчивости клеток к новым стимулам, межклеточного переноса рецепторов и встраивания их в плазматическую мембрану клеток-реципиентов [4], путем активизации системы комплемента, а также способствуют привлечению и миграции лейкоцитов в патологический очаг.

Образование везикул и взаимодействие с клеткой-реципиентом

Образование везикул, или везикуляция, — постоянный и естественный процесс, однако показано, что при активации клеток или при апоптозе образование везикул усиливается [2]. При исследовании везикуляции на клеточных линиях обнаружено, что стимуляция иммунных клеток фактором некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor alpha, TNF α) и интерлейкином 1 бета (interleukin 1 beta, IL1 β), активированным фактором комплемента C5a,

конканавалином, а также воздействие факторов, индуцирующих апоптоз клеток (форболовый эфир, иономицин, УФ-облучение), увеличивают уровень внеклеточных везикул в среде. Ранее отмечено, что опухолевые клетки постоянно образуют внеклеточные везикулы [7].

Образование каждого из типов везикул происходит за счет различных механизмов. Процесс образования экзосом является наиболее изученным — он опосредуется клеточным комплексом ESCRT (endosomal sorting complex required for transport). Формирование экзосом начинается с того, что в цитозоле клетки в мультивезикулярном теле образуются интралюминарные везикулы, затем происходит слияние мультивезикулярного тела с плазматической мембраной клетки и выход экзосом во внеклеточное пространство. Основными маркерами экзосом являются мембранные белки (cluster of differentiation) CD81, CD63, а также ген 101 (Tsg101) [2, 3]. Апоптотические тельца образуются на последних этапах апоптоза, опосредованных действием каспаз. При апоптозе происходит конденсация ядерного хроматина, сжатие ядра и образование ядерных фрагментов, которые перемещаются к плазматической мембране и высвобождаются в виде апоптотических телц. Отличительной чертой апоптотических телц от других типов внеклеточных везикул является проницаемая мембрана [3].

Наименее изученной популяцией внеклеточных везикул являются микровезикулы. Формирование микровезикул происходит за счет механизма отпочковывания (blebbing) плазматической мембраны клетки. Данный механизм недостаточно изучен: например, неизвестно, каким образом содержимое попадает в везикулу, однако обнаружено, что процесс образования сопровождается сжатием и потерей асимметрии плазматической мембраны клетки, реорганизацией цитоскелета. Это в свою очередь приводит к перераспределению фосфолипидов и экспонированию фосфатидилсерина на внешней части (внешний листок) мембраны, который связывается с аннексином V. Помимо фосфатидилсерина микровезикулы несут на поверхность мембраны различные рецепторы, адгезионные молекулы клетки-источника [10]. В зависимости от участка мембраны, на котором происходит отпочковывание, микровезикулы могут иметь различные свойства и состав [2, 3, 7]. У клеток в состоянии покоя фосфатидилсерин локализован на внутреннем листке мембраны и регулируется АТФ-зависимой аминокислот-липид-транслоказой. При нарушении асимметрии мембраны клетки данный фермент теряет свои функции [7]. Последние исследования показали, что процесс образования микровезикул зависит от уровня кальция в клетке. При увеличении концентрации внутриклеточного кальция за счет выхода из кальциевых депо в процессе жизнедеятельности клетки или при обработке клеток различными хелатирующими веществами происходит активация Ca²⁺-зависимой цистеиновой протеазы кальпаина, которая разрушает белки цитоскелета, в частности белок талин. Вследствие этого плазматическая мембрана отделяется от цитоскелета, и в данных местах происходит отпочковывание мембраны и образование микровезикулы [7, 11, 12]. Помимо этого, важным участником процесса ремоделирования цитоскелета клетки является Rho-ассоциированная киназа 1 (ROCK-1), которая фосфорилирует легкие цепи миозина, вследствие чего увеличивается его сократимость [7]. Везикуляция чаще всего происходит в той области плазматической мембраны, где содержатся липидные рафты, и обусловлена липидным составом мембраны; факторами, модулирующими

деформацию и изгиб; текучестью мембраны и изменением структуры цитоскелета. Обогащение холестерина плазматической мембраны приводит к увеличению образования микровезикул. Церамиды также важны для изгиба мембраны, что способствует образованию МВ. Некоторые исследователи предполагают, что образование микровезикул является конечной точкой активационного каскада и/или началом апоптоза клетки [12].

Механизмы взаимодействия микровезикул с клеткам-реципиентами остаются практически неизученными. Однако описывают несколько видов взаимодействий EV с клетками-мишенями, при помощи которых везикулы могут доставлять свое содержимое: кавеолин- и клатрининдуцированный эндоцитоз, макропиноцитоз и эндоцитоз липидных рафтов, фагоцитоз [3]. После попадания везикул в клетку они могут поглощаться эндосомально-лизосомальной системой клетки и затем соединиться с мембранами органелл и цитозольным содержимым клетки-реципиента. Они также способны сливаться с самой мембраной клетки-реципиента, чтобы высвободить свое содержимое непосредственно или при помощи рецепторов во внутреннюю среду клетки. Везикулы в результате лиганд-рецепторного взаимодействия с клеткой-мишенью могут высвободить свое содержимое во внеклеточное пространство и тем самым активировать как клетку-мишень, так и соседние клетки. Наконец, везикулы могут взаимодействовать с клеткой-мишенью без слияния с ней, а при помощи лиганд-рецепторных механизмов, запуская сигнальные каскады в клетке [2]. Таким образом, везикулы функционируют как системы, передающие информацию клеткам в их тканевой среде при помощи различных механизмов [4]. Имеются данные о том, что низкий pH в среде способствует слиянию мембран микровезикул с клетками-реципиентами, а гепарансульфаты-протеогликаны, наоборот, снижают слияние микровезикул с мембраной клетки-мишени. Таким образом, механизмы взаимодействия везикул и клеток-реципиентов зависят от различных факторов — состава сред, микроокружения, от типа клеток-источников, рецепторно-лигандного репертуара на них, а также от содержимого самих везикул [2].

Методы изучения везикул

Несмотря на возрастающий научный и клинический интерес к данным объектам исследования, на сегодняшний момент только разрабатываются протоколы для получения и детекции везикул. Изучение свойств везикул осложнено тем, что их размер ниже разрешающей способности приборов. Однако существуют методы, при помощи которых уже сейчас возможно исследование состава, размера и свойств везикул.

Основным методом выделения везикул является дифференциальное центрифугирование. Образцы, из которых получают микровезикулы, центрифугируют при 20 000 g, для получения экзосом используют ультрацентрифуги и режим центрифугирования от 100 000 g. Вся работа с везикулами осуществляется при низких температурах, так как объекты неустойчивы к перепадам температуры. Основными методами для изучения размеров, морфологии и фенотипа везикул являются трансмиссионная электронная микроскопия, атомно-силовая микроскопия, метод динамического светорассеяния, проточная цитофлуориметрия [13, 14].

Микровезикулы лейкоцитов

Микровезикулы лейкоцитарного происхождения остаются наименее изученной популяцией МВ, что может быть связано с тем, что они составляют минорную часть микровезикул в кровотоке при физиологических условиях. Однако при патологиях их уровень в плазме крови резко возрастает. Данный факт интересен для их изучения, так как микровезикулы лейкоцитов могут служить маркером развития различных заболеваний [2]. В связи с этим изучение свойств популяции МВ лейкоцитарного происхождения является весьма актуальным.

Установлено, что нейтрофилы, дендритные клетки, макрофаги, тучные клетки, Т- и В-лимфоциты способны образовывать микровезикулы [15] (табл.). Эффект МВ на клетку-мишень зависит от их молекулярного состава — как поверхностного, так и внутреннего. Они могут содержать мембранные, цитоплазматические и ядерные компоненты исходной клетки и обычно сохраняют поверхностные маркеры родительских клеток [12]. Иммунологический эффект микровезикул лейкоцитарного происхождения включает в себя широкий спектр механизмов активации и подавления иммунных реакций. Микровезикулы могут оказывать биологические эффекты на клетки-источники (аутокринное воздействие) и клетки-реципиенты либо воздействуя на клеточные рецепторы/лиганды, либо путем переноса содержимого белков, липидов, мРНК или микроРНК, антигенов, запуская сигнальные каскады внутри клеток. Таким образом, микровезикулы действуют как своеобразные «контейнеры», передающие информацию от родительских клеток клеткам-мишеням в зависимости от микроокружения, стимула и клетки источника [12]. В связи с этим идентификация специфических молекулярных маркеров в составе или на поверхности микровезикул, полученных из лейкоцитов, может быть полезна для исследований по использованию МВ в качестве терапевтических агентов [15].

Микровезикулы нейтрофилов

Клетки врожденного иммунитета осуществляют неспецифическую защиту организма от различных патогенов. В ходе иммунного ответа активированные лейкоциты образуют микровезикулы. Нейтрофилы — самая многочисленная популяция лейкоцитов (40–75%), циркулирующих в кровотоке у человека, однако количество микровезикул нейтрофилов незначительно, и их уровень возрастает при воспалительных процессах, протекающих в организме, а также при сильных физических нагрузках. Установлено, что микровезикулы нейтрофилов участвуют в регуляции активности клеток, участвующих в воспалении и других иммунных реакциях [12].

Подобно другим популяциям микровезикул, нейтрофильные образуются как из апоптотических, так и активированных нейтрофилов, их состав зависит от стимулов, используемых при активации клеток-источников. J. Dalli и соавт. разделяют соединения-стимулы для образования микровезикул нейтрофилов на три категории: бактериальные продукты [18], «факторы организма-хозяина», цитокины и экзогенные соединения. Микровезикулы нейтрофилов, образованные нейтрофилами в результате активации бактериями, способны уменьшать бактериальный рост [11]. Побочные продукты жизнедеятельности бактерий, такие как эндотоксин и fMLP (N-формилметионин) [45], являются мощными индукторами образования микровезикул нейтрофилов. К медиаторам организма-хозяина можно отнести

Таблица. Функции микровезикул лейкоцитарного происхождения

Микровезикулы	Взаимодействие микровезикул с различными клетками	Патология
Микровезикулы нейтрофилов	Активация комплемента по классическому пути; фиксация C3-, C4-фрагментов [16]; антимикробная активность; хемотаксис нейтрофилов и лейкоцитов [17]; усиление продукции эндотелиальными клетками IL8, IL6 и экспрессии MCP-1, ICAM-1, VCAM-1, E-селектина, TF [12]. Снижение экспрессии STAT1, NF- κ B в эндотелиальных клетках [18]. Принимают участие в фибринолизе и ремоделировании тканей [5, 19]. Блокируют фагоцитоз и активацию макрофагов, а также их реакцию на липополисахарид и зимозан [20]. Способствуют уменьшению секреции IFN γ и TNF α и увеличению секреции TFG β НК-клетками [21]. Изменяют морфологию и снижают фагоцитарную активность дендритных клеток. Снижают пролиферацию Т-клеток [22]. Уменьшают адгезию нейтрофилов к HUVEC [23]	Острый и хронический васкулит; IgA-нефропатия и тубулоинтерстициальный нефрит; системная красная волчанка; антифосфолипидный синдром [12]; сепсис [24]
Микровезикулы моноцитов	Передача TF нейтрофилам, которые в свою очередь приобретают прокоагулянтную активность [25]. Проангиогенные свойства [26]. Способствуют пролиферации эндотелия, активируют лимфоцит и ангиогенез атеросклеротической бляшки [27]. Индукция окислительного и нитрозативного стресса в эндотелиальных клетках [28]. Активируют эндотелиальные клетки, стимулируют образование ими микровезикул. Регулируют экспрессию TF, фактора фон Виллебранда, ICAM-1, VCAM-1 и E-селектина на эндотелиальных клетках [28–30]. Стимулируют продукцию IL8 и MCP-1 эндотелиальными клетками. Вызывают апоптоз клеток гладкой мускулатуры сосудов [31]. Индуцируют продукцию эпителиальными клетками легкого провоспалительных цитокинов и хемокинов [8]. Принимают участие в коагуляции [32]	Атеросклероз; сахарный диабет 2-го типа [8]; гипертония [33]; диабетическая ретинопатия [34]. Безалкогольный гепатоз печени и безалкогольный стеатогепатит [35]. Церебральная малярия [36]; ВИЧ-инфекция [8]. Ревматоидный артрит [8]; псориаз [37]. Полимиозит; дерматомиозит [38]; антифосфолипидный синдром [39]. Серповидноклеточная анемия [24]; рак легких; ночная пароксизмальная гемоглобинурия и сепсис [37]
Микровезикулы лимфоцитов	В-клеточные везикулы могут усиливать антигенную презентацию, доставляя МНС II класса фолликулярным дендритным клеткам [7]. CD56 ⁺ и содержащие перфорин внеклеточные везикулы от НК-клеток обладают цитотоксическими свойствами [13, 40]. Везикулы Т-лимфоцитов опосредуют киллинг клеток за счет Fas/FasL и TRAIL [7]. Т-лимфоцитарные микровезикулы вызывают повышение экспрессии синтазы оксида азота и циклооксигеназы-2 в гладкомышечных клетках [41]. Индуцируют рост сосудов <i>in vitro</i> ; регулируют экспрессию ICAM-1, RhoA, VEGF и синтазы NO эндотелиальными клетками [42]. Способствуют увеличению продукции эндотелиальными клетками активных форм кислорода, повышению экспрессии CD36 и снижению экспрессии VEGFR2 на эндотелиальных клетках [43]. Вызывают дегрануляцию тучных клеток и секрецию ими IL8 и онкостатина М [40]	Аутоиммунные заболевания [38]; преэклампсия [9]; лейкемия [44]

381

различные факторы гуморальной защиты иммунитета — TNF α [12], белки комплемента [20], IL8 [45] и фактор активации тромбоцитов; экзогенные соединения — активатор протеинкиназы С, РМА, иономицин и ингибитор синтазы оксида азота, L-NAME [12]. TNF α является мощным активатором образования микровезикул нейтрофилов, механизм опосредован NF- κ B и/или каспаза 8-зависимыми путями. Каспаза 8 активирует каспазу 3, которая в свою очередь активирует кальпаин посредством расщепления кальпастина — ингибитора кальпаина, вследствие чего происходит повышение концентрации кальция и образование МВ [11]. В целом, большинство этих факторов используют и в условиях *in vitro* для изучения свойств микровезикул.

Помимо классификации стимулов, активирующих нейтрофилы, разработана классификация микровезикул нейтрофилов по их эффекту в отношении бактерий [46]. С. Тiмаг и колл. показали, что они обладают антибактериальным эффектом, но этот эффект зависит от стимула активации [11]. Микровезикулы нейтрофилов из периферической крови человека разделяют на 3 категории: s-МВ (спонтанное образование), р-МВ (стимуляция форболовым эфиром) и b-МВ (индукция бактериями). Для субпопуляций микровезикул нейтрофилов характерна различная степень антибактериальных свойств: s-МВ не обладают заметными антибактериальными свойствами,

р-МВ обладают умеренными антибактериальными свойствами, а b-МВ наиболее эффективны при предупреждении бактериального роста. Протеомный анализ субпопуляций микровезикул нейтрофилов показал, что антибактериальными белками (миелопероксидаза, лактоферрин) обогащены b-МВ, что может обуславливать их дифференциальное воздействие на рост бактерий. Поверхностные маркеры b-МВ включали интегрины CD11b и CD18. В связи с этим предложен механизм проявления антибактериальных свойств b-МВ, в котором b-МВ присоединяются к бактериям через интегрины, что приводит к образованию агрегатов b-МВ и бактерий, однако агрегирование бактерии b-МВ не имело бактерицидного эффекта, но вместо этого предотвращало их рост, т.е. было бактериостатическим. Этот антибактериальный эффект снижался при обработке b-МВ водой или сапонином и зависел от Ca²⁺, энергии (глюкозы).

Влияние микровезикул нейтрофилов на бактерии отличается от эффектов нейтрофильных внеклеточных ловушек (neutrophil extracellular trap, NET), что подтверждается несколькими фактами. Образование NET является более длительным процессом (2–4 ч), тогда как максимальное образование b-МВ происходит в течение 20 мин. Производство NET зависит от активных форм кислорода, тогда как образование и активность b-МВ не зависят от окислительного взрыва. NET не требуют энергии или

других клеточных структур, тогда как b-MB зависят от ремоделирования цитоскелета и уровня глюкозы. Таким образом, авторами предполагается важная иммунологическая роль микровезикул нейтрофилов в улавливании бактерий. Важным аспектом является то, что микровезикулы свободно движутся в системной циркуляции, обладают способностью прикрепляться к бактериям в крови или тканях [11].

Взаимодействие микровезикул нейтрофилов с клетками

Микровезикулы нейтрофилов экспрессируют фосфатидилсерин на наружном листке мембраны, а также L-селектин, который необходим для их адгезии [5]. Показано, что данные микровезикулы активируют комплемент по классическому пути, фиксируют C3-, C4-фрагменты [16], а опсонизированные MB связываются с эритроцитами через рецептор комплемента 1, что может играть роль в их секвестрации. Микровезикулы нейтрофилов содержат в своем составе эластазу, миелопероксидазу и протеиназу 3, могут оказывать целенаправленную антимикробную активность, а микровезикулы нейтрофилов, транспортирующие эластазу, металлопротеиназу 9 или протеиназу 3, способствуют локальному разрушению тканей [45]. Они способны оказывать аутокринное воздействие на хемотаксис нейтрофилов [17]. Обнаружено, что микровезикулы нейтрофилов усиливают хемотаксис нейтрофилов вследствие экспрессии L- и P-селектина на своей поверхности. Они могут вызывать увеличение экспрессии тромбоцитами P-селектина [19]. Микровезикулы нейтрофилов, содержащие Mac-1, взаимодействуют с урокиназой, плазминогеном и металлопротеиназой 2 и 5, что указывает на их вовлеченность в фибринолиз и ремоделирование тканей [5, 19]. Микровезикулы нейтрофилов, выделенные из периферической крови пациентов с сепсисом, активировали JNK1-протеинкиназу семейства MAPK в эндотелиальных клетках, что приводило к секреции ими IL6 и MCP-1 [12]; микровезикулы нейтрофилов индуцировали также экспрессию эндотелиальными клетками IL8 и молекул адгезии. Кроме того, было обнаружено, что MB нейтрофилов связываются с эндотелиальными клетками через CD18, что приводит к увеличению экспрессии ICAM-1, а также увеличению количества активных форм кислорода в эндотелиальных клетках [47]. Микровезикулы нейтрофилов способны увеличивать экспрессию тканевого фактора (tissue factor, TF) эндотелиальными клетками, что в свою очередь приводит к образованию фактора свертываемости крови Ха [12]. Все эти факты являются показателями того, что микровезикулы нейтрофилов обладают провоспалительной активностью. Вместе с тем следует отметить, что, по данным других исследователей, микровезикулы нейтрофилов, культивируемые с эндотелиальными клетками, снижают уровень экспрессии STAT1, NF-κB, CCL8 и CXCL6 в эндотелиальных клетках, что приводит к противовоспалительным процессам и уменьшению воспалительных реакций [18]. K. Lim и соавт. продемонстрировали, что ингибирование образования микровезикул нейтрофилов приводит к увеличению сосудистой проницаемости [48].

Имеются данные о взаимодействии микровезикул нейтрофилов с клетками моноцитарно-макрофагальной линии. Контакт микровезикул нейтрофилов с макрофагом блокирует фагоцитоз. Микровезикулы нейтрофилов также блокируют реакцию макрофагов на зимозан и липополисахарид (ЛПС) [20]. В частности, они блокируют активацию макрофагов путем ингибирования фосфори-

лирования транскрипционного фактора каппа-би (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF-κB) и его ядерной транслокации. Предполагается, что экспрессия фосфатидилсерина на MB нейтрофилов является механизмом активации рецептора тирозинпротеинкиназы MER (MERTK) на макрофагах, поскольку блокада фосфатидилсерина блокирует активацию MERTK. При этом его экспрессия на других клеточных микровезикулах не приводила к активации этого пути. Установлено, что микровезикулы нейтрофилов способствуют уменьшению секреции гамма-интерферона (interferon gamma, IFNγ) и TNFα, одновременно увеличивая секрецию трансформирующего ростового фактора бета 1 (transforming growth factor beta-1, TGF-β1) активированными IL2 естественными киллерами [21]. При культивировании с дендритными клетками, полученными из моноцитов, микровезикулы нейтрофилов приводили к изменению морфологии дендритных клеток, снижению их фагоцитарной активности и повышенной секреции TGF-β1 [22]. В этом же исследовании в присутствии микровезикул нейтрофилов, ЛПС и макрофагов последние демонстрировали сниженные способности индуцировать пролиферацию Т-клеток [22]. Было обнаружено, что в присутствии MB нейтрофилов уменьшается адгезия нейтрофилов к эндотелиальным клеткам пупочной вены человека (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) [23]. Независимо от клетки-мишени MB нейтрофилов, положительные по аннексину V, проявляют иммуносупрессивный эффект.

Участие микровезикул нейтрофилов в патологических процессах

При исследовании пациентов с различными заболеваниями почек количество микровезикул нейтрофилов было значительно увеличено у пациентов с острым и хроническим васкулитом, IgA-нефропатией и тубулоинтерстициальным нефритом, а также у пациентов, которые подвергались гемодиализу. У пациентов с системной красной волчанкой и антифосфолипидным синдромом уровень микровезикул нейтрофилов также увеличивался, что может быть связано с увеличением скорости генерации плазмينا. При инфекционных процессах наблюдается увеличение количества MB: к примеру, в плазме людей, больных пневмонией, уровень нейтрофильных MB был значительно выше по сравнению со здоровыми пациентами. Было показано, что повышение только циркулирующих микровезикул нейтрофилов может быть независимым маркером атеросклероза [12, 18]. При этом вопрос о том, является ли их увеличение постоянным или изменяется с течением заболевания, остается открытым [5, 12].

Сепсис — заболевание, характеризующееся острым системным воспалительным ответом и нарушенными иммунными реакциями, а также эндотелиальной дисфункцией и генерализованным протромботическим состоянием, приводящим к тромбозу микрососудов, полиорганной недостаточности и нередко к смерти [24]. У пациентов с сепсисом медиаторами образования MB нейтрофилов являются бактерии и факторы, полученные из клеток хозяина.

Повышение уровня нейтрофильных микровезикул может вызвать повышенную коагуляцию и адгезию тромбоцитов, приводящую к микротромбозам, повышенному воспалению сосудистой сети [19] и увеличению количества активных форм кислорода. Следовательно, при избыточном уровне микровезикул нейтрофилов обладают иммуносупрессивными свойствами [24].

Микровезикулы моноцитов

Субпопуляции моноцитов отличаются по экспрессии CD14 и CD16 на своей поверхности: классические моноциты — CD14⁺⁺ CD16⁻, промежуточная популяция — CD14⁺ CD16⁺, неклассические — CD14⁺ CD16⁺⁺. Их функции, секреторная активность и количество в циркуляции различны [49], но все популяции моноцитов образуют микровезикулы, количество которых соотносится с количеством клеток-источников, то есть моноцитов классического подтипа в кровотоке больше, и, соответственно, больше их микровезикул [8].

При физиологических условиях микровезикулы моноцитов образуются из циркулирующих моноцитов при их активации или апоптозе. Микровезикулы моноцитов составляют второй по величине пул тромбогенных МВ после тромбоцитарных микровезикул [26]. В условиях *in vitro* образование микровезикул происходит при активации моноцитов ЛПС, ионофорами кальция, гистамином, Р-селектин-Ig-химерными молекулами [10]. На микровезикулах моноцитов снижена экспрессия рецепторов CD45, так как их нет на липидных рафтах [8]. Стимуляция клеток различными агентами приводит к образованию моноцитарных микровезикул с различным содержанием. Обработка клеток линии ТНР-1 Р-селектином-Ig приводит к образованию микровезикул на 60% клеток, негативных по аннексину V. Обработка той же линии клеток ЛПС приводит к образованию 40% МВ моноцитов, негативных по аннексину V. Состав содержимого также меняется в зависимости от активирующего агента: в микровезикулах моноцитов после активации моноцитов ЛПС обнаружено 408 уникальных белков, а после активации Р-селектином-Ig — 52 уникальных и 100 одинаковых белков для обеих групп [10]. ЛПС-стимулированные микровезикулы моноцитов в основном содержат митохондриальные и ядерные белки, связанные с метаболизмом и энергетическими процессами, происходящими в клетке, а после активации моноцитов Р-селектином-Ig — содержат белки плазматической мембраны, участвующие в сигнальной трансдукции и межклеточных коммуникациях [10]. Следовательно, в зависимости от характера стимула на клетку образуются микровезикулы с различными, в том числе заданными свойствами. В связи с этим изучение протеомного состава МВ важно для оценки их функций.

Обнаружено, что микровезикулы моноцитов одновременно содержат TF, активированный протеин С и тромбомодулин на своей поверхности, и тем самым проявляют как про- [32], так и антикоагулянтную активность [8]. Микровезикулы моноцитов также экспрессируют эндотелиальный рецептор протенина С (ЕРСR), тем самым способствуя активации антикоагулянтного белка С при помощи тромбин-тромбомодулинового комплекса [50]. Микровезикулы, полученные из моноцитов, адгезированных на фибронектине, экспрессируют ингибитор TF (TFPI), а МВ, полученные при активации моноцитов ЛПС, экспрессируют TF. TF⁺ микровезикул моноцитов могут взаимодействовать с нейтрофилами, передавая тканевой фактор, благодаря чему нейтрофилы приобретают прокоагулянтную активность [25]. Микровезикулы, образованные клетками линии ТНР-1, экспрессируют CD15, который опосредует их связывание с Р-селектином на активированных тромбоцитах [5]. Микровезикулы моноцитов, захваченные активированными тромбоцитами внутрь тромба с помощью механизма взаимодействия Р-селектина/гликопротеинового лиганда Р-селектина 1 (PSGL-1), приводят к накоплению TF и в конечном итоге усиливают отложение фибрина. Моноцитарные

МВ, несущие TF и PSGL-1, связываются с Р-селектином на поверхности эндотелиальных клеток. Моноцитарные микровезикулы индуцируют образование сосудов, что может указывать на их ангиогенное действие [26]. Микровезикулы, полученные из макрофагов, расположенных внутри атеросклеротической бляшки, экспрессируют CD40-лиганд (CD40L) и стимулируют пролиферацию эндотелиальных клеток после связывания с CD40. Они также опосредуют активацию лимфоцитов и ангиогенез внутри сосудистой бляшки [27]. Активация лимфоцитов поддерживается за счет экспрессии белков локуса HLA I класса и HLA II класса МВ моноцитов в сосудистой бляшке [51]. Микровезикулы моноцитов вызывают апоптоз гладкомышечных клеток, передавая им каспазу 1 [31]. Они способны индуцировать окислительный и нитрозативный стресс в эндотелиальных клетках и регулировать экспрессию TF и фактора фон Виллебранда на них [29].

Взаимодействие микровезикул моноцитов с клетками

Микровезикулы моноцитов обладают как провоспалительным, так и противовоспалительным действием. Их провоспалительная активность показана при действии на эндотелиальные клетки, фибробласты, моноциты и гладкомышечные клетки. Микровезикулы моноцитов, индуцированные ЛПС, содержат TNF α , IL6, IL8 и способствуют активации эндотелиальных клеток и образованию ими МВ. Помимо этого, моноцитарные микровезикулы индуцируют транслокацию NF-kB в ядро эндотелиальных клеток, что приводит к продукции ими IL8 и MCP-1 [29]. Эти цитокины рекрутируют лейкоциты в очаг воспаления. Микровезикулы моноцитов инактивируют внутриклеточные сигнальные пути в эндотелии за счет фосфорилирования ERK1/2 и деградации I κ B α . Это приводит к транслокации NF-kB в ядро эндотелиальных клеток, экспрессии ICAM-1, VCAM-1 и Е-селектина на них, что также влияет на привлечение лейкоцитов в очаг воспаления [30]. Микровезикулы моноцитов обладают аутокринным действием, индуцируя экспрессию моноцитами TNF α и IL6, что в свою очередь приводит к их активации [52]. При этом противовоспалительное действие микровезикул моноцитов опосредовано модификацией сигнальных путей в эндотелиальных клетках. Они снижают экспрессию pSrc (tyr416) в них, уменьшая проницаемость сосудов и повышая плотность эндотелиального монослоя. Таким образом, моноцитарные микровезикулы способствуют ограничению воспалительного процесса и сохранению (локализации) инфекционного очага. Микровезикулы моноцитов способствуют увеличению продукции оксида азота (NO) эндотелием, опосредованно через PI3-киназу и ERK1/2-зависимый путь. NO опосредует образование пероксинитрита (ONOO⁻), который в высоких концентрациях может индуцировать гибель клеток через апоптоз и некроз. Микровезикулы моноцитов могут вызвать апоптоз клеток гладкой мускулатуры сосудов благодаря тому, что являются источниками активной каспазы-1, NLRP3 и ASC [31]. Показано, что моноцитарные микровезикулы способствуют активации транскрипционного фактора NF-kB в альвеолярных эпителиальных клетках, тем самым индуцируют секрецию ими провоспалительных цитокинов и хемокинов [8, 30, 52, 53].

Свертывание крови играет важную роль в локализации воспалительного процесса и инфекционного очага [32, 54]. Основными компонентами микровезикул моноцитов, которые участвуют в коагуляции, являются TF

и фосфатидилсерин, активирующие факторы VII, IX, X и протромбин. Микровезикулы моноцитов прикрепляются и сливаются с тромбоцитами, передавая TF для инициирования свертывания крови [54]. Эта передача опосредована взаимодействием между PSGL-1 на МВ моноцитов и Р-селектином на тромбоцитах. Существуют факторы, повышающие активность TF на МВ, например обработка Δ^9 -тетрагидроканнабиолом, стимуляция моноцитов ЛПС, предотвращающая деградацию мРНК TF на моноцитах. Экспрессия TF на моноцитах в свою очередь зависит от уровней TNF α и IL1 β [8, 52].

Участие микровезикул моноцитов в развитии различных патологических состояний

Исследования микровезикул моноцитов показали, что они вовлечены в процессы, связанные с нарушением обмена веществ: атеросклероз и сахарный диабет 2-го типа (СД2). При атеросклерозе наблюдается повышение уровня микровезикул данного типа в крови [8]. В исследованиях на мышах показано, что моноцитарные микровезикулы способствуют образованию бляшек на стенках кровеносного сосуда [55]. Показано, что уровень микровезикул моноцитов повышен у пациентов с гипертонией [33]. Количество микровезикул моноцитов в кровотоке увеличивается у пациентов с СД2 по сравнению со здоровыми пациентами, при этом у пациентов, страдающих диабетом с осложнениями (нефропатия, нейропатия и ретинопатия), обнаружены более высокие концентрации МВ моноцитов по сравнению с больными диабетом без осложнений. В связи с этим уровень микровезикул моноцитов может быть показателем прогрессирования заболевания. Предполагается, что при диабетической ретинопатии микровезикулы моноцитов могут быть причиной образования микрососудистых тромбов, приводящих к блокировке глазных капилляров [34], нарушению или потере зрения. У пациентов с неалкогольным гепатозом печени и неалкогольным стеатогепатитом также наблюдался высокий уровень циркулирующих микровезикул, происходящих как из классических CD14⁺ CD16⁻, так и неклассических CD14⁺ CD16⁺⁺ моноцитов. Таким образом, микровезикулы моноцитов могут быть диагностическим маркером для оценки тяжести и прогрессирования этих заболеваний, не требующим биопсии [35]. Кроме того, повышенный уровень микровезикул из неклассических моноцитов указывает на их активацию, поэтому понимание различных функций моноцитарных МВ может потенциально привести к раскрытию патогенеза болезни. Полагают, что моноцитарные микровезикулы вовлечены в патогенез некоторых инфекционных заболеваний. У пациентов с церебральной малярией уровень МВ моноцитов выше по сравнению с пациентами с неосложненной малярией и пациентами с тяжелой анемией. Моноцитарные микровезикулы могут быть биомаркером прогрессирования дегенерации мозга у пациентов с церебральной малярией [36]. Они также играют роль в развитии вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Поверхностный белок CCR5, являющийся корцептором для связывания ВИЧ, экспрессируется главным образом на Т-лимфоцитах и макрофагах. Модели *in vitro* показали, что микрочастицы мононуклеарных клеток периферической крови, трансфицированные в эпителиальные клетки яичника китайского хомячка, передают CCR5 клеткам, которые обычно не экспрессируют CCR5. Таким образом, перенос поверхностного рецептора приводит к тому, что клетки становятся более восприимчивыми к ВИЧ-инфекции. Таким обра-

зом, понимание функций моноцитарных микровезикул может помочь в создании новых методов лечения, которые будут использоваться в сочетании с высокоактивной антиретровирусной терапией для борьбы с ВИЧ-инфекцией [8].

Полагают, что роль моноцитарных микровезикул в развитии аутоиммунных заболеваний, в частности ревматоидного артрита, заключается в том, что они индуцируют образование матриксных металлопротеиназ синовиальными фибробластами, в результате чего происходит разрушение белков внеклеточного матрикса и повреждение соединительной ткани [56]. Это приводит к синовитам и дальнейшему воспалению. Кроме того, моноцитарные микровезикулы индуцируют секрецию фибробластами провоспалительных цитокинов — IL6, IL8, MCP-1 и MCP-2. Это приводит к ухудшению течения болезни, поскольку активируется еще больше моноцитов, которые образуют микровезикулы, и цикл повторяется, приводя в конечном итоге к повреждению костей и хрящей. Было показано, что уровень микровезикул моноцитов повышен у пациентов с псориазом [37], однако роль, которую они играют в этом заболевании, неясна. Они могут просто быть биомаркерами псориаза, но могут также потенциально способствовать развитию метаболических заболеваний, к которым пациенты с псориазом имеют предрасположенность, например к атеросклерозу. Помимо этого, уровень микровезикул моноцитов повышен при полимиозите, дерматомиозите [38] и антифосфолипидном синдроме [39]. Однако отмечено, что у пациентов с нейропсихиатрическими проявлениями системной красной волчанки уровень моноцитарных микровезикул снижался по мере увеличения тяжести заболевания. Повышенный уровень МВ моноцитов также наблюдался при серповидноклеточной анемии [24], раке легких [6], ночной пароксизмальной гемоглобинурии и сепсисе [37]. Предполагается, что роль микровезикул моноцитов в развитии рака легких обусловлена их проангиогенными свойствами [6]. Тем не менее прямая причинно-следственная связь не определена.

Таким образом, микровезикулы моноцитов можно рассматривать в качестве биомаркеров некоторых заболеваний, однако поскольку их вклад в патогенез заболеваний остается плохо изученным, неизвестно, можно ли рассматривать терапию, нацеленную на них, как способ лечения.

Микровезикулы лимфоцитов

Лимфоциты составляют 25–40% лейкоцитов крови [57]. Данных о микровезикулах, образуемых лимфоцитами, в литературе очень мало. Установлено, что уровень лимфоцитарных микровезикул повышен при различных патологиях, например у пациентов с аутоиммунными заболеваниями [38]. Было показано, что В-клеточные везикулы иммунологически активны, они могут усиливать антигенную презентацию, доставляя МНС II класса фолликулярным дендритным клеткам [7], а везикулы Т-лимфоцитов опосредуют киллинг клеток за счет содержания на поверхности экзосом Fas-лиганда (FasL) и TRAIL [7]. Обнаружено, что Т-лимфоцитарные микровезикулы, несущие на своей поверхности FasL, взаимодействуют с гладкомышечными клетками и активируют в них NF- κ B, тем самым вызывая повышение экспрессии синтазы NO и циклооксигеназы 2 в них. Показано, что при обработке форболовым эфиром, актиномицином D и фитогемагглютинином Т-лимфоциты образуют микро-

везикулы, несущие ген белка Sonic Hedgehog (Shh), данные микровезикулы индуцируют рост сосудов *in vitro* через активацию киназы ФАК и регуляцию экспрессии ICAM-1, RhoA, VEGF и синтеза NO эндотелием [42, 58]. Другими исследователями показано, что обработка Т-лимфоцитов актиномицином D может приводить к образованию ими микровезикул с антиангиогенными свойствами. Такие микровезикулы способствуют увеличению продукции эндотелиальными клетками активных форм кислорода, повышению экспрессии CD36 и снижению экспрессии VEGFR2 [43]. Т-лимфоцитарные микровезикулы вызывают дегрануляцию тучных клеток и секрецию ими IL8 и онкостатина М [40].

Данных о микровезикулах, образуемых НК-клетками, практически нет, однако некоторыми исследователями показано, что экзосомы НК-клеток обладают цитотоксическими свойствами [59], вероятно, их микровезикулы обладают сходными свойствами. Также в настоящее время при помощи метода проточной цитофлуориметрии активно изучается фенотип и количественное содержание микровезикул в периферической крови как в норме, так и при патологиях. Обнаружено, что часть микровезикул, выделенных из периферической крови, экспрессируют маркеры НК-клеток — CD45, CD16, CD56. Показано, что в периферической крови женщин с преэклампсией уровень микрочастиц НК-клеток меньше, чем у здоровых беременных [9]. Изучение микровезикул линейных культур при помощи проточной цитофлуориметрии показало, что НК-клетки линии NK-92 образуют микровезикулы размером от 200 до 1000 нм, часть из них экспрессируют CD95, и интенсивность экспрессии возрастает при предварительном культивировании НК-клеток с TNF α [60].

Заключение

Суммируя приведенные выше данные, описанные в литературе, можно отметить, что внеклеточные везикулы, и в частности микровезикулы, являются весьма перспективным объектом исследования при различных физиологических и патологических процессах.

Научный и медицинский интерес к микровезикулам объясняется потенциальной возможностью их использования в качестве биологических маркеров заболеваний и универсального адресного средства доставки биологически активных веществ. В связи с этим для объединения специалистов в области микровезикул созданы Международное общество внеклеточных микровезикул (www.isev.org), Рабочие группы по стандартизации исследований микровезикул (www.isth.org, isac-net.org), База данных внеклеточных микровезикул (microvesicles.org).

Дополнительная информация

Источник финансирования. Публикация настоящей статьи осуществлена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-04-00679.

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

Участие авторов. Авторы принимали равноценное участие в подготовке материала, сборе и анализе литературы, написании текста обзора литературы; все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи до публикации.

ЛИТЕРАТУРА

- Daubeuf S, Aucher A, Bordier C, et al. Preferential transfer of certain plasma membrane proteins onto T and B cells by trogocytosis. *PLoS One*. 2010;5(1):e8716. doi: 10.1371/journal.pone.0008716.
- Sedgwick AE, D'Souza-Schorey C. The biology of extracellular microvesicles. *Traffic*. 2018;19(5):319–327. doi: 10.1111/tra.12558.
- Todorova D, Simoncini S, Lacroix R, et al. Extracellular vesicles in angiogenesis. *Circ Res*. 2017;120(10):1658–1673. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.309681.
- Sokolov DI, Ovchinnikova OM, Korenkov DA, et al. Influence of peripheral blood microparticles of pregnant women with preeclampsia on the phenotype of monocytes. *Transl Res*. 2016;170:112–123. doi: 10.1016/j.trsl.2014.11.009.
- Angelillo-Scherrer A. Leukocyte-derived microparticles in vascular homeostasis. *Circ Res*. 2012;110(2):356–369. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.233403.
- György B, Szabó T, Pásztói M, et al. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. *Cell Mol Life Sci*. 2011;68(16):2667–2688. doi: 10.1007/s00018-011-0689-3.
- Distler JH, Huber LC, Gay S, et al. Microparticles as mediators of cellular cross-talk in inflammatory disease. *Autoimmunity*. 2006;39(8):683–690. doi: 10.1080/08916930601061538.
- Halim AT, Ariffin NA, Azlan M. Review: the multiple roles of monocytic microparticles. *Inflammation*. 2016;39(4):1277–1284. doi: 10.1007/s10753-016-0381-8.
- Mikhailova VA, Ovchinnikova OM, Zainulina MS, et al. Detection of microparticles of leukocytic origin in the peripheral blood in normal pregnancy and preeclampsia. *Bull Exp Biol Med*. 2014;157(6):751–756. doi: 10.1007/s10517-014-2659-x.
- Bernimoulin M, Waters EK, Foy M, et al. Differential stimulation of monocytic cells results in distinct populations of microparticles. *J Thromb Haemost*. 2009;7(6):1019–1028. doi: 10.1111/j.1538-7836.2009.03434.x.
- Timar CI, Lorincz AM, Csepanyi-Komi R, et al. Antibacterial effect of microvesicles released from human neutrophilic granulocytes. *Blood*. 2013;121(3):510–518. doi: 10.1182/blood-2012-05-431114.
- Johnson BL, Kuethe JW, Caldwell CC. Neutrophil derived microvesicles: emerging role of a key mediator to the immune response. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2014;14(3):210–217. doi: 10.2174/1871530314666140722083717.
- van der Pol E, Hoekstra AG, Sturk A, et al. Optical and non-optical methods for detection and characterization of microparticles and exosomes. *J Thromb Haemost*. 2010;8(12):2596–2607. doi: 10.1111/j.1538-7836.2010.04074.x.
- van der Pol E, Coumans FA, Grootemaat AE, et al. Particle size distribution of exosomes and microvesicles determined by transmission electron microscopy, flow cytometry, nanoparticle tracking analysis, and resistive pulse sensing. *J Thromb Haemost*. 2014;12(7):1182–1192. doi: 10.1111/jth.12602.
- Pugholm LH, Baek R, Sondergaard EK, et al. Phenotyping of leukocytes and leukocyte-derived extracellular vesicles. *J Immunol Res*. 2016;2016:6391264. doi: 10.1155/2016/6391264.
- Gasser O, Schifferli JA. Microparticles released by human neutrophils adhere to erythrocytes in the presence of complement. *Exp Cell Res*. 2005;307(2):381–387. doi: 10.1016/j.yexcr.2005.03.011.
- Yang JM, Gould SJ. The cis-acting signals that target proteins to exosomes and microvesicles. *Biochem Soc Trans*. 2013;41(1):277–282. doi: 10.1042/BST20120275.

18. Dalli J, Montero-Melendez T, Norling LV, et al. Heterogeneity in neutrophil microparticles reveals distinct proteome and functional properties. *Mol Cell Proteomics*. 2013;12(8):2205–2219. doi: 10.1074/mcp.M113.028589.
19. Pluskota E, Woody NM, Szpak D, et al. Expression, activation, and function of integrin alphaMbeta2 (Mac-1) on neutrophil-derived microparticles. *Blood*. 2008;112(6):2327–2335. doi: 10.1182/blood-2007-12-127183.
20. Gasser O, Schifferli JA. Activated polymorphonuclear neutrophils disseminate anti-inflammatory microparticles by ectocytosis. *Blood*. 2004;104(8):2543–2548. doi: 10.1182/blood-2004-01-0361.
21. Pliyev BK, Kalintseva MV, Abdulaeva SV, et al. Neutrophil microparticles modulate cytokine production by natural killer cells. *Cytokine*. 2014;65(2):126–129. doi: 10.1016/j.cyto.2013.11.010.
22. Eken C, Gasser O, Zenhausern G, et al. Polymorphonuclear neutrophil-derived ectosomes interfere with the maturation of monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol*. 2008;180(2):817–824. doi: 10.4049/jimmunol.180.2.817.
23. Dalli J, Norling LV, Renshaw D, et al. Annexin I mediates the rapid anti-inflammatory effects of neutrophil-derived microparticles. *Blood*. 2008;112(6):2512–2519. doi: 10.1182/blood-2008-02-140533.
24. Torgersen C, Moser P, Luckner G, et al. Macroscopic postmortem findings in 235 surgical intensive care patients with sepsis. *Anesth Analg*. 2009;108(6):1841–1847. doi: 10.1213/ane.0b013e318195e11d.
25. Egorina EM, Sovershaev MA, Olsen JO, Osterud B. Granulocytes do not express but acquire monocyte-derived tissue factor in whole blood: evidence for a direct transfer. *Blood*. 2008;111(3):1208–1216. doi: 10.1182/blood-2007-08-107698.
26. Aharon A, Tamari T, Brenner B. Monocyte-derived microparticles and exosomes induce procoagulant and apoptotic effects on endothelial cells. *Thromb Haemost*. 2008;100(5):878–885. doi: 10.1160/th07-11-0691.
27. Leroyer AS, Rautou PE, Silvestre JS, et al. CD40 ligand+ microparticles from human atherosclerotic plaques stimulate endothelial proliferation and angiogenesis a potential mechanism for intraplaque neovascularization. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(16):1302–1311. doi: 10.1016/j.jacc.2008.07.032.
28. Mastronardi ML, Mostefai HA, Soleti R, et al. Microparticles from apoptotic monocytes enhance nitrosative stress in human endothelial cells. *Fundam Clin Pharmacol*. 2011;25(6):653–660. doi: 10.1111/j.1472-8206.2010.00898.x.
29. Essayagh S, Xuereb JM, Terrisse AD, et al. Microparticles from apoptotic monocytes induce transient platelet recruitment and tissue factor expression by cultured human vascular endothelial cells via a redox-sensitive mechanism. *Thromb Haemost*. 2007;98(4):831–837. doi: 10.1160/th07-02-0082.
30. Wen B, Combes V, Bonheure A, et al. Endotoxin-induced monocyte microparticles have contrasting effects on endothelial inflammatory responses. *PLoS One*. 2014;9(3):e91597. doi: 10.1371/journal.pone.0091597.
31. Sarkar A, Mitra S, Mehta S, et al. Monocyte derived microvesicles deliver a cell death message via encapsulated caspase-1. *PLoS One*. 2009;4(9):e7140. doi: 10.1371/journal.pone.0007140.
32. Del Conde I, Shrimpton CN, Thiagarajan P, Lopez JA. Tissue-factor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation. *Blood*. 2005;106(5):1604–1611. doi: 10.1182/blood-2004-03-1095.
33. Nomura S, Kanazawa S, Fukuhara S. Effects of efonidipine on platelet and monocyte activation markers in hypertensive patients with and without type 2 diabetes mellitus. *J Hum Hypertens*. 2002;16(8):539–547. doi: 10.1038/sj.jhh.1001447.
34. Ogata N, Nomura S, Shouzu A, et al. Elevation of monocyte-derived microparticles in patients with diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract*. 2006;73(3):241–248. doi: 10.1016/j.diabres.2006.01.014.
35. Kornek M, Lynch M, Mehta SH, et al. Circulating microparticles as disease-specific biomarkers of severity of inflammation in patients with hepatitis C or nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2012;143(2):448–458. doi: 10.1053/j.gastro.2012.04.031.
36. Pankoui Mfonkeu JB, Gouado I, Fotso Kuate H, et al. Elevated cell-specific microparticles are a biological marker for cerebral dysfunction in human severe malaria. *PLoS One*. 2010;5(10):e13415. doi: 10.1371/journal.pone.0013415.
37. Takeshita J, Mohler ER, Krishnamoorthy P, et al. Endothelial cell-, platelet-, and monocyte/macrophage-derived microparticles are elevated in psoriasis beyond cardiometabolic risk factors. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(1):e000507. doi: 10.1161/JAHA.113.000507.
38. Baka Z, Senolt L, Vencovsky J, et al. Increased serum concentration of immune cell derived microparticles in polymyositis/dermatomyositis. *Immunol Lett*. 2010;128(2):124–130. doi: 10.1016/j.imlet.2009.12.018.
39. Nagahama M, Nomura S, Kanazawa S, et al. Significance of anti-oxidized LDL antibody and monocyte-derived microparticles in anti-phospholipid antibody syndrome. *Autoimmunity*. 2003;36(3):125–131. doi: 10.1080/0891693031000079257.
40. Shefler I, Salamon P, Reshef T, et al. T cell-induced mast cell activation: a role for microparticles released from activated T cells. *J Immunol*. 2010;185(7):4206–4212. doi: 10.4049/jimmunol.1000409.
41. Tesse A, Martinez MC, Hugel B, et al. Upregulation of proinflammatory proteins through NF-kappaB pathway by shed membrane microparticles results in vascular hyporeactivity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(12):2522–2527. doi: 10.1161/01.ATV.0000189298.62240.5d.
42. Soleti R, Benameur T, Porro C, et al. Microparticles harboring Sonic Hedgehog promote angiogenesis through the upregulation of adhesion proteins and proangiogenic factors. *Carcinogenesis*. 2009;30(4):580–588. doi: 10.1093/carcin/bgp030.
43. Yang C, Mwaikambo BR, Zhu T, et al. Lymphocytic microparticles inhibit angiogenesis by stimulating oxidative stress and negatively regulating VEGF-induced pathways. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;294(2):R467–476. doi: 10.1152/ajpregu.00432.2007.
44. Handunnetti S, Polliack A, Tam CS. Microvesicles in chronic lymphocytic leukemia: ready for prime time in the clinic? *Leuk Lymphoma*. 2017;58(6):1281–1282. doi: 10.1080/10428194.2017.1298756.
45. Gasser O, Hess C, Miot S, et al. Characterisation and properties of ectosomes released by human polymorphonuclear neutrophils. *Exp Cell Res*. 2003;285(2):243–257. doi: 10.1016/s0014-4827(03)00055-7.
46. Lacy P. A new way of trapping bugs: neutrophil microvesicles. *Blood*. 2013;121(3):420–421. doi: 10.1182/blood-2012-11-467803.
47. Hong Y, Eleftheriou D, Hussain AA, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies stimulate release of neutrophil microparticles. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23(1):49–62. doi: 10.1681/ASN.2011030298.
48. Lim K, Sumagin R, Hyun YM. Extravasating neutrophil-derived microparticles preserve vascular barrier function in inflamed tissue. *Immune Netw*. 2013;13(3):102–106. doi: 10.4101/in.2013.13.3.102.
49. Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood*. 2010;116(16):e74–80. doi: 10.1182/blood-2010-02-258558.
50. Mezziani F, Delabranche X, Asfar P, Toti F. Bench-to-bedside review: circulating microparticles — a new player in sepsis? *Crit Care*. 2010;14(5):236. doi: 10.1186/cc9231.
51. Mayr M, Grainger D, Mayr U, et al. Proteomics, metabolomics, and immunomics on microparticles derived from human atherosclerotic plaques. *Circ Cardiovasc Genet*. 2009;2(4):379–388. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.108.842849.
52. Bardelli C, Amoroso A, Federici Canova D, et al. Autocrine activation of human monocyte/macrophages by monocyte-derived microparticles and modulation by PPARgamma ligands. *Br J Pharmacol*. 2012;165(3):716–728. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01593.x.
53. Neri T, Armani C, Pegoli A, et al. Role of NF-kappaB and PPAR-gamma in lung inflammation induced by monocyte-derived microparticles. *Eur Respir J*. 2011;37(6):1494–1502. doi: 10.1183/09031936.00023310.

54. Aleman MM, Gardiner C, Harrison P, Wolberg AS. Differential contributions of monocyte- and platelet-derived microparticles towards thrombin generation and fibrin formation and stability. *J Thromb Haemost.* 2011;9(11):2251–2261. doi: 10.1111/j.1538-7836.2011.04488.x.
55. Hoyer FF, Giesen MK, Nunes Franca C, et al. Monocytic microparticles promote atherogenesis by modulating inflammatory cells in mice. *J Cell Mol Med.* 2012;16(11):2777–2788. doi: 10.1111/j.1582-4934.2012.01595.x.
56. Distler JH, Jungel A, Huber LC, et al. The induction of matrix metalloproteinase and cytokine expression in synovial fibroblasts stimulated with immune cell microparticles. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(8):2892–2897. doi: 10.1073/pnas.0409781102.
57. Ярилин А.А. *Иммунология*. Учебник. — М.: ГЭОТРА-Медиа; 2010. — 752 с. [Yarilin AA. *Immunologiya*. Uchebnik. Moscow: GEOTRA-Media; 2010. 752 p. (In Russ).]
58. Agouni A, Mostefai HA, Porro C, et al. Sonic hedgehog carried by microparticles corrects endothelial injury through nitric oxide release. *FASEB J.* 2007;21(11):2735–2741. doi: 10.1096/fj.07-8079com.
59. Lugini L, Cecchetti S, Huber V, et al. Immune surveillance properties of human NK cell-derived exosomes. *J Immunol.* 2012;189(6):2833–2842. doi: 10.4049/jimmunol.1101988.
60. Михайлова В.А., Белякова К.Л., Вязьмина Л.П., и др. Определение микровезикул, образуемых НК-клетками, методом проточной цитофлуориметрии // *Медицинская иммунология*. — 2018. — Т.20. — №2 — С. 251–254. [Mikhailova VA, Belyakova KL, Vyazmina LP, et al. Evaluation of microvesicles formed by natural killer (NK) cells using flow cytometry. *Medical Immunology (Russia)*. 2018;20(2):251–254. (In Russ).] doi: 10.15789/1563-0625-2018-2-251-254.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

***Соколов Дмитрий Игоревич**, д.б.н. [*Dmitriy I. Sokolov*, D.Sc (biology)]; **адрес**: 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3 [address: 3, Mendeleyevskaya line, 199034 Saint-Petersburg, Russia]; **e-mail**: falcojuggler@yandex.ru, **SPIN-код**: 3746-0000, **ORCID**: <http://orcid.org/0000-0002-5749-2531>

Маркова Ксения Львовна [*Kseniia L. Markova*]; **e-mail**: kseniyabelyakova129@gmail.com, **SPIN-код**: 4917-8153, **ORCID**: <http://orcid.org/0000-0003-2748-3543>

Коган Игорь Юрьевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН [*Igor U. Kogan*, Professor]; **e-mail**: ikogan@mail.ru, **SPIN-код**: 6572-6450, **ORCID**: <http://orcid.org/0000-0002-7351-6900>

Шевелева Анастасия Романовна [*Anastasia R. Sheveleva*]; **e-mail**: anastasiasheveleva075@gmail.com, **SPIN-код**: 1741-9092, **ORCID**: <http://orcid.org/0000-0003-2126-880X>

Михайлова Валентина Анатольевна, к.б.н. [*Valentina A. Mikhailova*, PhD]; **e-mail**: mva_spb@mail.ru, **SPIN-код**: 1749-5100, **ORCID**: <http://orcid.org/0000-0003-1328-8157>

Сергей Алексеевич Сельков, д.м.н., профессор [*Sergey A. Selkov*, MD, Professor]; **e-mail**: selkovsa@mail.ru, **SPIN-код**: 7665-0594, **ORCID**: <http://orcid.org/0000-0003-1560-7529>

П.К. Мирошникова¹, А.В. Люндуп¹, Н.П. Бацаленко¹, М.Е. Крашенинников¹,
Ю. Занг², Н.Б. Фельдман¹, В.В. Береговых¹

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

² Институт регенеративной медицины, Университет Уэйк Форест, Северная Каролина, США

Перспективные нервные кондуиты для стимуляции регенерации поврежденных периферических нервов

Повреждение нерва — тяжелая травма, обусловленная полным или частичным нарушением целостности нервного ствола и соответствующим разобщением центральной нервной системы и денервированной ткани. «Золотым стандартом» в лечении протяженных поврежденных периферических нервов является использование аутографтов нервных волокон, однако при их применении появляются патологические нарушения в донорской зоне, и результаты хирургического лечения далеко не всегда удовлетворительны. В настоящее время альтернативой традиционному методу считается использование нервных кондуитов для направленной регенерации аксонов. В данной работе были проанализированы результаты применения нервных кондуитов из различных материалов и с различными биологически активными компонентами в доклинических и клинических исследованиях, а также в клинической практике. Сравнивали эффективность регенерации, на основе анализа подбирали кондуит, наиболее подходящий для успешной регенерации нерва, в том числе для создания иннервированных тканеинженерных конструкций. В данном обзоре обобщены исследования по нервным кондуитам из различных материалов с разнообразными заданными свойствами при помощи определенных факторов, используемых для лечения поврежденных периферической нервной системы; показаны достоинства и недостатки их применения, что позволяет разработать и создать кондуит, отвечающий всем требованиям современной регенеративной медицины.

Ключевые слова: регенерация периферических нервов, нервный проводник, нервный кондуит, повреждения периферических нервов, нейроинженерная конструкция.

(Для цитирования: Мирошникова П.К., Люндуп А.В., Бацаленко Н.П., Крашенинников М.Е., Занг Ю., Фельдман Н.Б., Береговых В.В. Перспективные нервные кондуиты для стимуляции регенерации поврежденных периферических нервов. *Вестник РАМН*. 2018;73(6):388–400. doi: 10.15690/vramn1063)

Введение

Основными причинами повреждения периферических нервов являются автомобильные аварии, удаления опухолей и другие травмы, при этом частота сочетанных дефектов нервов при травмах любого генеза составляет 4,5% [1]. В США ежегодно регистрируется более 200 000 операций по восстановлению поврежденных нервов [2].

Последствиями подобных повреждений являются хронические функциональные нарушения денервированных тканей, а также развитие нейропатического болевого синдрома, что часто приводит к инвалидизации и потере трудоспособности. Особым видом повреждений периферических нервов является повреждение возвратного гортанного нерва, приводящего к нейропатическому парезу гортани и нарушению голосообразования (фонации)

P.K. Miroshnikova¹, A.V. Lyundup¹, N.P. Batsalenko¹, M.E. Krashennnikov¹,
Y. Zhang², N.B. Feldman¹, V.V. Beregovykh¹

¹ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

² Institute for Regenerative Medicine, Wake Forest University, North Carolina, USA

Perspective Nerve Conduits for Stimulation of Regeneration of Damaged Peripheral Nerves

Nerve damage is a common severe trauma caused by a complete or partial disruption of the integrity of the nerve trunk and appropriate dissociation of the CNS and denervated tissue. «Golden standard» in the treatment of extensive injuries of peripheral nerves is the use of autografts of nerve fibers, but when they are used, pathological disturbances appear in the donor zone and the results of surgical treatment are not always satisfactory. Currently, an alternative to the traditional method is the use of nerve conduits (conductors) for directed regeneration of axons. In this work, the results of the application of nerve conductors from various materials and with various biologically active components in preclinical and clinical studies, as well as conduits used in clinical practice, were analyzed. The efficiency of regeneration was compared, on the basis of the analysis the conductor most suitable for successful nerve regeneration was selected, including approaches for creating innervated tissue engineered constructs. In this work, we have collected research on nerve conductors from various materials with various prescribed properties using certain factors used to treat damage to the peripheral nervous system, showing all the advantages and disadvantages of their use, which makes it possible to develop and create a conduit that meets all the requirements of modern regenerative medicine.

Key words: peripheral nerve regeneration, nerve conduit, peripheral nerve damage, neuro-engineered construct.

(For citation: Miroshnikova PK, Lyundup AV, Batsalenko NP, Krashennnikov ME, Zhang Y, Feldman NB, Beregovykh VV. Perspective Nerve Conduits for Stimulation of Regeneration of Damaged Peripheral Nerves. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(6):388–400. doi: 10.15690/vramn1063)

и дыхательной функции, значительно снижающего качество жизни больных. Подобные повреждения возникают при операциях на щитовидной железе с частотой 0–13% и являются главной причиной дисфонии.

Травматическое повреждение периферических нервов, несмотря на известную способность аксонов регенерировать и реиннервировать ткани, приводит к стойкому снижению функции, при этом полное восстановление происходит только в 10% случаев [3]. В основном это связано с медленным и неполноценным регенераторным потенциалом поврежденного аксона [4], а также с необходимостью направленного роста аксона от проксимального конца волокна к дистальному. Хирургические вмешательства выполняются во все сроки после травмы, при этом нейрографию, т.е. прямое сшивание концов нерва без использования нервных кондуитов, можно выполнять только в случаях протяженности дефекта менее 5 мм [5]. «Золотым стандартом» в лечении протяженных повреждений периферических нервов является применение аутографтов нервных волокон, однако необходимо отметить, что при этом появляются патологические нарушения в донорской зоне, и результаты хирургического лечения далеко не всегда удовлетворительны [6]. В настоящее время альтернативой традиционному методу считается использование нервных кондуитов (nerve guidance conduit) для направленной регенерации аксонов [7, 8].

Нервный кондуит (нервный проводник, искусственный нервный графт) — это искусственное изделие, имплантируемое в организм, предназначенное для направленного роста аксона и способствующее регенерации поврежденного нерва. Различные варианты кондуитов были предложены еще в XIX веке, но их использование до второй половины XX века было спорным, т.к. параллельно развивались хирургические методики мобилизации и натяжения нервных волокон, от которых отказались позднее, когда стало понятно, что натяжение нервов значительно снижает их регенерацию. С середины 1980-х годов нервные кондуиты начинают регистрировать как медицинские изделия, и они становятся доступными в клинической практике [9]. В настоящее время в США объем рынка восстановления периферических нервов составляет более 1,6 млрд долларов [10].

Идеальный нервный кондуит должен обеспечивать полное функциональное и структурное восстановление денервированной ткани, быть биосовместимым, обладать достаточной прочностью, эластичностью и создавать оптимальные условия для ускоренного и направленного роста аксонов, защищать растущий аксон от контакта с клетками иммунной системы. Огромную актуальность создания периферической иннервации вызывает развитие такого направления регенеративной медицины, как тканевая инженерия, когда *in vitro* создаются искусственные конструкции, имитирующие нативные ткани и обычно состоящие из биodeградируемой матрицы с иммобилизованными клетками [11], но без иннервации. При этом периферические аксоны функционально полноценной ткани контролируют специфические взаимодействия клеток между собой и внеклеточным матриксом [12]. В последние годы были предложены подходы к иннервации тканеинженерных конструкций, связанные с использованием нейрональных прогениторов кишки для искусственных гладкомышечных сфинктеров [13] и нейронов ганглия заднего корешка для биоэквивалентов кожи.

Анатомия периферических нервов

Нейроны соединены в сложные коммуникационные сети для передачи информации от периферических рецепторов сенсорных нейронов в центральной нервной системе (головного и спинного мозга), а также с целью передачи команд из центральной нервной системы на эффекторные органы, такие как скелетные мышцы, иннервируемые мотонейронами. Периферический нерв состоит из аксона нейрона, шванновских клеток (ШК), фибробластов, а также элементов кровоснабжения нерва. В периферических нервах аксоны сгруппированы в фасцикулы, окруженные соединительной тканью (эндоневрий). Нейрон и его клетка-мишень постоянно информированы о статусе связи между ними за счет anterogradного и retrogradного транспорта сигнальных молекул внутри аксона и трансмембранного транспорта медиаторов в синапсе. ШК с миелиновой оболочкой аксонов поддерживают и направляют аксоны во время регенерации нерва после его травмы, при этом прогноз восстановления периферических нервов лучше там, где повреждение ШК минимально [14].

Ответ на повреждение

Ранняя стадия повреждения периферических нервов характеризуется разрушением участка аксона, отделенного от основной части нейрона (валлерова дегенерация). Этот процесс начинается с гранулярной дезинтеграции цитоскелета аксона. В течение 48 ч ШК разрушают миелиновую оболочку и фагоцитируют дебрис дистальной части аксона. Затем мигрируют макрофаги и секретируют цитокины, стимулирующие пролиферацию ШК и фибробластов. ШК делятся и образуют протяженные цепочки клеток — ленты Бюнгнера, которые являются направляющими для роста аксона. В конусе роста аксона происходит секреция протеиназ, расщепляющих сформированный цепочками ШК матрикс, что позволяет аксону продвигаться к целевому органу [15]. При этом ШК определенного проростового фенотипа секретируют нейротрофины NGF и GDNF, стимулирующие и ускоряющие рост аксона. Данную межклеточную коммуникацию обеспечивают внеклеточные везикулы [16]: так, например, экзосомы из ШК увеличивают регенерацию аксона на 50%, при этом аксоны селективно инкорпорируют экзосомы из ШК [17]. Также ШК передают в регенерирующие аксоны рибосомы и мРНК [18].

Нейротрофические факторы

Существует три основных семейства нейротрофических факторов — классические нейротрофины, нейротрофины глиальных клеток и семейство инсулиноподобных факторов роста. Классические нейротрофины включают фактор роста нервов, нейротрофический фактор мозга (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) и нейротрофины 3–7 (NT3, 4, 5, 6, 7) [19]. Фактор роста нервов NGF продуцируется клетками Меркеля–Ранвье, меланоцитами, гладкомышечными клетками, клетками кровеносных сосудов и др. NGF (nerve growth factor) взаимодействует с высокоаффинным рецептором p140 нейротрофной тирозинкиназы (TrkA), который экспрессируется симпатическими нейронами и нейронами малого диаметра заднего корешка. При повреждении нерва ШК и фибробласты синтезируют и экспрессируют NGF. NGF усиливает прорастание аксонов и рост нейронов как *in vitro*, так и *in vivo*, участвует в реализации термо-, механо- и болевой чувствительности. BDNF стимулирует

рост мононейронов и обеспечивает их выживаемость при аксонотомии. NT3 в основном экспрессируется мышечными волокнами, клетками Меркеля–Ранвье, нервно-сухожильным веретеном (сухожильный орган Гольджи) и специфически связывается с рецептором нейротрофной тирозинкиназы С (TrkC). NT3 стимулируют регенерацию аксонов и образование миелиновой оболочки [20].

Глиальные клетки синтезируют такие факторы, как глиальный нейротрофический фактор (GDNF; способствует образованию нервно-мышечных связей, индуцирует ремоделирование иннервации мышц, связывается с собственным рецептором и с рецептором нейротрофной тирозинкиназы c-Ret) [21] и цилиарный нейротрофический фактор (CNTF; стимулирует симпатические и моторные нейроны). Инсулиноподобные факторы роста I и II близки к инсулину по структуре и функции, связываются с рецептором IGFI, который экспрессируется во всей нервной системе, стимулируя пролиферацию всех типов клеток.

Также цитокины семейства интерлейкина 6 (IL6) могут стимулировать рост нейронов (табл. 1) [22].

Скорость прорастания периферических нервов

Средняя скорость восстановления пересеченных периферических нервов у человека составляет 2,5 см в месяц, этот процесс в основном связан со скоростью роста аксона. Так, например, моторное и сенсорное восстановление поврежденного лучевого нерва на уровне предплечья происходит через 9–12 мес, а на уровне плечевого сплетения — через 2–3 года [23]. В случае протяженных дефектов критический размер диастаза, который самостоятельно не восстанавливается, составляет 3 см [24]. Диастаз между концами периферических нервов величиной более 2,5–3,0 см является показанием к нейроаутопластике, так как нервы при таких разрывах не способны регенерировать без стороннего вмешательства. В этом случае для лечения повреждений периферических нервов используют аутологичные нервные трансплантаты (аутографты) или искусственные кондуиты-проводники. Скорость восстановления при использовании аутографтов или искусственных кондуитов составляет 2,2 см в месяц, полное восстановление, соответственно, происходит в течение 2–3 лет. Но такая скорость прорастания характерна именно при критическом размере диастаза [25].

Динамика регенерации нерва при использовании нервных кондуитов

Использование нервных кондуитов в виде трубки для соединения концов поврежденных периферических нервов приводит к развитию последовательных фаз восста-

новления: 1-е сут — жидкостная фаза, когда происходит заполнение полости трубки аксоплазматической жидкостью с нейротрофическими факторами; 2–6-е сут — матриксная фаза, в которой отмечается формирование матрикса с преимущественным содержанием фибрина; 7–14-е сут — клеточная фаза, характеризующаяся миграцией ШК, а также клеток периневрия и эндотелия; 15–21-е сут — аксональная фаза, во время которой происходит удлинение аксонов.

При использовании нервных кондуитов, в частности Avance Nerve Graft (США), показатели скорости роста становятся выше. Так, для нормального восстановления поврежденного нерва с размером дефекта 30 мм требуется 17 мес [26].

В настоящее время возрастает исследовательский интерес к разработке новых подходов для восстановления поврежденных периферических нервов, в том числе с помощью клеточных технологий. Новые подходы также могут быть применены для усовершенствования современных тканеинженерных конструкций путем их иннервации, что будет способствовать большему соответствию нативным тканям и позволит улучшить клинические результаты. В соответствии с Федеральным законом Российской Федерации от 23.06.2016 № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах», нервные кондуиты с клеточным компонентом относятся к биомедицинским клеточным продуктам.

Клинические и доклинические исследования

В табл. 2 представлен обзор по коммерческим продуктам, применяемым в лечении повреждений периферических нервов. Производители используют различные материалы: поливиниловый спирт, полигликоевую кислоту, подслизистую тонкого кишечника свиньи, коллаген. Некоторые из представленных на рынке коммерческих продуктов широко уже используются в клинической практике. В табл. 3 приводятся завершённые исследования с некоторыми из представленных коммерческих продуктов.

Клиническая практика

D. Schmauss и соавт. (2014) [27] опубликовали результаты о достаточно успешно проведенных операциях у 45 пациентов с различными по длине повреждениями пальцевых нервов. Использовался коммерческий продукт NeuroGen. Исследовали 20 реконструированных нервов у 16 пациентов со средним наблюдением 58,1 (диапазон 29,3–93,3) мес. Обнаружено улучшение чувствительности

Таблица 1. Эффекты нейротрофических факторов

Нейротрофические факторы	Эффекты
BDNF, NT-3, NT-4/5, GDNF	Восстановление моторного нейрона
BDNF, NT-3, NT-4/5, GDNF	Рост моторного нейрона
NGF, NT-4/5, GDNF	Восстановление сенсорного нейрона
NGF, BDNF, NT-3	Рост сенсорного нейрона
NGF, NT-3	Регенерация спинного мозга
NGF, NT-3, NT-4/5, GDNF	Регенерация периферических нервов
NGF, NT-3, GDNF	Рост сенсорного нерва в переходной зоне PNS-CNS

Примечание. BDNF — нейротрофический фактор мозга, NT-3 — нейротрофин-3, NT-4/5 — нейротрофин-4/5, GDNF — глиальный нейротрофический фактор, NGF — фактор роста нервов.

Таблица 2. Зарегистрированные медицинские изделия

Дата регистрации FDA	Название продукта	Материал	Деградация	Диаметр, мм	Длина	Компания
1999	Neurotube ¹	Полигликолевая кислота	3 мес	2,3–8	2–4 см	Synovis Micro Companies Alliance Inc., США
2001	NeuraGen	Коллаген 1-го типа	36–48 мес	1,5–7	2–3 см	Integra Life Sciences Corp., США
2004	NeuraWrap	Коллаген 1-го типа	36–48 мес	3–10	2–4 см	
2001	Neuroflex	Коллаген 1-го типа	4–8 мес	2–6	2,5 см	Collagen Matrix Inc., США
2001	NeuroMatrix	Коллаген 1-го типа	4–8 мес	2–6	2,5 см	
2006	NeuroMend	Коллаген 1-го типа	4–8 мес	4–12	2,5–5 см	
2003	AxoGuard Nerve Connector	Свиная подслизистая тонкого кишечника	3 мес	1,5–7	10 см	Cook Biotech Products Inc., США
2003	AxoGuard Nerve Protector	Свиная подслизистая тонкого кишечника	3 мес	2–10	2–4 см	
2000–2001	Salubridge	Поливиниловый спирт	Нерезорбируемый	2–10	6,35 см	Salumedica™ L.C.C., США
2010	SaluTunnel Nerve Protector	Поливиниловый спирт	Нерезорбируемый	2–10	6,35 см	
2015 (разрешение к применению)	Avance Nerve Graft	Децеллюляризованный аллогraft нерва	Нет данных о сроках резорбции	1–5	15–70 мм	AxoGen Inc., США

391

Таблица 3. Клинические исследования

Число пациентов, n	Размер дефекта	Исследуемый кондуит	Результаты	Ссылка
45	Повреждения различной длины (до 26 мм), пальцевой нерв	Коллагеновые кондуиты (NeuroGen)	Среднее время восстановления нервов — 58 мес. При дефектах <10 мм наиболее высокая чувствительность наблюдалась через 12 мес. Процесс регенерации не прекращается после 12 мес	[27]
98	Повреждения нервов различной длины в руках	Аутографт (56 нервных повреждений) РНА-кондуит (46 нервных повреждений)	Результаты не показали существенной разницы между двумя группами. В контрольной группе отличные результаты были получены в 43% случаев, хорошие — в 43%, плохие — в 14%. В нервах с имплантированными кондуитами отличные результаты были получены в 44% случаев, хорошие — в 30%, плохие — в 26%. Нервы с дефектами 4 мм или менее имели лучшую чувствительность	[28]
43	Повреждения нервов различной длины в руках	1. Коллагеновый кондуит 2. Аутографт	Использование коллагенового кондуита способствовало восстановлению сенсорных и моторных функций, которые были эквивалентны результатам восстановления поврежденных нервов с помощью аутографтов (срок наблюдения 24 мес)	[29]
42	Повреждения пальцевого нерва от 4 до 25 мм	1. Аутогенная вена 2. РНА-кондуит	Восстановление с помощью аутогенной вены эквивалентно РНА-кондуиту. Меньшее количество послеоперационных осложнений	[30]

Таблица 3. Клинические исследования (Окончание)

Число пациентов, n	Размер дефекта	Исследуемый кондуит	Результаты	Ссылка
4	Локтевой нерв у 2 пациентов, срединный — у 1 пациента, лучевой — у 1 пациента	Кондуит NeuraGen Integra	Все пациенты с дефектами нервов, прооперированные с применением кондуита, находились под динамическим наблюдением в течение 1–1,5 лет. Электрофизиологическая и количественная клиническая функциональная оценка показала аналогичные результаты лечения пациентов данной группы в сравнении результатами классической аутонервной пластики	[31]
26	Повреждения языковых нервов и нижнего альвеолярного нерва	Трансплантат Avance Nerve в качестве внеклеточного матричного каркаса	100%-ное улучшение чувствительности при лечении в течение 90 дней после травмы по сравнению с 77% при лечении после 90 дней	[26]

в 13 случаях. Три случая имели одинаковые значения, тогда как четыре случая показали ухудшение чувствительности. Улучшение чувствительности было связано со значительно более короткой длиной нервного дефекта: результаты были значительно лучше, если диастаз составлял <10 мм. Результаты свидетельствуют, что долговременное восстановление чувствительности с помощью нервного кондуита зависит от длины дефекта с лучшими результатами при <10 мм. Регенерация нерва после тубулизации, по-видимому, не прекращается через 12 мес. Среднее время полного восстановления — 58 мес.

R. Weber и соавт. (2000) [28] проводили операции у 98 пациентов с повреждениями периферических нервов рук. Часть пациентов получила аутографт, часть — PGA-кондуит (полигликолевая кислота). Существенных различий между эффективностью регенерации с различными кондуитами не выявлено.

M. Voeckstyns и соавт. (2013) [29] проводили операции у 44 пациентов с повреждениями периферических нервов в руках (срединный, лучевой, локтевой), использовали коллагеновые кондуиты и аутографты. Использование коллагеновых кондуитов способствовало восстановлению сенсорных и моторных функций.

B. Rinker и J. Liao (2011) [30] проводили операции у 42 пациентов с повреждениями пальцевого нерва, использовали аутогенную вену и PGA-кондуиты: восстановление с помощью аутогенной венозной трубки эквивалентно восстановлению с помощью PGA-кондуита. Из 42 пациентов 37 прошли сенсорную оценку в 6-месячный контроль. Средний возраст в этой группе составил 35 лет. Дефекты нервов варьировали от 4 до 25 мм (в среднем 10 мм). Исследовательские группы не различались существенно по возрасту, времени операции, размерам дефектов, истории болезни. В настоящее время PGA-кондуиты и венозные аутотрансплантаты обеспечивают одинаково эффективные средства для восстановления дефекта периферического нерва.

I. Ханнанова и соавт. (2017) [31] использовали NeuraGen Integra для лечения четырех пациентов с дефектами периферических нервов. Размер дефекта — 2–3 см. Динамическое наблюдение происходило в течение 1,5 лет. Электрофизиологическая и количественная клиническая функциональная оценки показали высокую эффективность регенерации нервов. Клетки не применялись.

J. Zuniga (2017) [26] использовал Avance Nerve Graft в качестве внеклеточного матричного каркаса у 26 пациентов разного пола и возраста с повреждениями языковых нервов и нижнего альвеолярного нерва. Сенсорный анализ проводился до операции и через 3, 6 и 12 мес после

хирургического вмешательства. В общей сложности 21 испытуемый с 23 травмами нервов имел достаточные послеоперационные контрольные данные. Улучшение сенсорной функции было зарегистрировано в 87% реконструированных нервов. Субъекты были сгруппированы по размеру дефекта на 2 категории — от 8 до 20 мм и от 30 до 70 мм. Показано нейросенсорное улучшение для 14 травм с дефектом от 8 до 20 мм в 86% случаев по сравнению с 89% при дефектах от 30 до 70 мм. Нейрочувствительное улучшение произошло по всем длинам дефектов, включая длинные (70 мм), при этом в 6 (5 нормальных, 1 умеренный) из 7 нервов показано улучшение нарушенных нейросенсорных функций. Гендерный фактор не оказал влияния на восстановление нейросенсоров. У женщин сенсорное улучшение произошло в 10 из 12 нервов, реконструированных обработанным аллотрансплантатом нерва, а у мужчин — в 10 из 11. При оценке результатов по возрастным группам улучшение чувствительности наблюдалось в 3 случаях из 4 в педиатрической когорте (возраст от 9 до 18 лет), в 10 из 11 во взрослой когорте (от 19 до 49 лет) и в 5 из 6 в старшей возрастной когорте (от 50 до 67 лет). В целом настоящие результаты показали, что обработанные аллотрансплантаты нерва могут быть успешно использованы для восстановления дефектов длиной до 70 мм. Эти результаты согласуются с результатами исследований других типов периферических нервов, реконструированных с использованием обработанных аллотрансплантатов нерва.

Доклиническая практика

Чтобы попытаться понять, какие нервные кондуиты наиболее эффективны, был проведен анализ литературы, относящейся к моделям животных (доклиническим моделям), используемым при оценке имплантатов нерва *in vivo*.

В доклинической практике для создания моделей повреждения периферических нервов используют крыс, мышей, кроликов, собак, кошек, обезьян, овец, свиней с разными размерами дефектов на различных периферических нервах.

Крысы более устойчивы к наркозу, более дешевые, более простые в манипуляциях. У крыс самой популярной моделью является повреждение седалищного нерва, на котором возможен протяженный дефект, более адекватный для клинических случаев. При этом у крыс также повреждают медианный нерв из плечевого сплетения, так как повреждение седалищного нерва приводит к параличу задней конечности, частичному ухудшению функции верхней конечности крысы. После поврежде-

ния медианного нерва сохраняются чувствительность и двигательная функция в предплечье. Таким образом, крысы распознают переднюю лапу как свою «собственную». Также функциональный анализ седалищного нерва после операции представляет собой сложный и дорогой процесс. Функциональный тест, используемый для анализа медианного нерва, легко выполняется с помощью электронного баланса.

В табл. 4 представлены данные по доклиническим исследованиям кондуитов как альтернативного использования аутографтов.

Можно выделить несколько концептуальных подходов в развитии кондуитов.

Сосудистый кондуит

Со второй половины XX века и до настоящего времени в клинической практике используются венозные и арте-

риальные сосуды для вставки в место повреждения [51]. Основными недостатками данного подхода являются дополнительное повреждение в донорской зоне, перегибы и отсутствие каркасной функции, ограничение по длине диастаза нерва (для венозных кондуитов длина дефекта не должна превышать 3 см) [52].

W. Meng и соавт. (2017) [53] оценивали эффективность аутологичного венозного кондуита, поддерживаемого сосудистым стентом, при регенерации повреждения 10 мм малоберцового нерва у кроликов. Регенерацию нервов и функциональное восстановление оценивали с помощью электрофизиологических исследований, сравнения соотношения мышечной массы между левой и правой икроножной мышцей задней конечности, морфологических наблюдений, электронной микроскопии через 12 нед после операции. Группа В (венозный кондуит) имела самый низкий результат для рефлекса торможения, тогда как

Таблица 4. Доклинические исследования

№ п/п	Вид животного	Модель повреждения	Кондуит	Результаты	Ссылки
1	Кролики New Zeland White	Повреждение малоберцового нерва, 2–4 мм	Кондуит PHB + GGF в альгинате. Кондуит PHB + альгинат. Кондуит PHB	Добавление GGF усиливает регенерацию. Анализ проводили на 21, 42 и 63-й дни после операции	[32]
2	Кролики New Zeland White	Повреждение лицевого нерва, 5 мм	Коллагеновые кондуиты + НСК	НСК усиливают регенерацию лицевого нерва. Срок наблюдения 12 нед	[33]
3	Крысы SD	Повреждение седалищного нерва, 10 мм	PLGA-кондуиты + NGF, PLGA-кондуиты + физиологический раствор	Кондуит PLGA способствует регенерации нервов. Между действием NGF и физиологического раствора не было выявлено существенных различий. Срок наблюдения 16 нед	[34]
4	Крысы SD	Повреждение седалищного нерва, 10 мм	Кондуит P (LLA-CL) с NGF. Кондуит P (LLA-CL). Аутографт	Кондуит P (LLA-CL) благоприятно влияет на регенерацию нерва, добавление NGF усиливает этот эффект, практически сопоставим с «золотым стандартом». Заживление происходило в течение 12 нед	[35]
5	Крысы Lewis	Повреждение седалищного нерва, 15 мм	Кондуит ПВХ. Аутографт	Нет существенной разницы между регенерацией с биогенным кондуитом и аутографтом. Срок наблюдения 4 нед	[36]
6	Крысы SD	Повреждение седалищного нерва, 10 мм	PHB-кондуит с ADSC	ADSC, имплантированные в PHB-кондуит, значительно усиливают эффективность регенерации	[37]
7	Крысы Wistar albino	Повреждение большеберцового нерва, 10 мм	Аутографт. Коллагеновый кондуит	Эффективность регенерации нерва при помощи коллагенового кондуита приближается к эффективности аутографта (максимальный срок наблюдения 90 сут)	[38]
8	Крысы SD	Повреждение седалищного нерва, 15 мм	PLGA-кондуиты Neurolac	Как двигательные, так и сенсорные функции восстановились во всех экспериментальных группах. Срок наблюдения 20 нед	[39]
9	Крысы SD	Повреждение седалищного нерва, 10 мм	PLGA-кондуиты с EMSCs. Аутографт. PLGA-кондуиты	В группах с аутографтом и группах кондуитов с клетками были наилучшие показатели эффективности регенерации, так как EMSCs дифференцируются в шванновские клетки, которые способствуют продвижению регенерации аксонов. Наблюдения в течение 4 мес	[40]
10	Крысы Wistar	Повреждение седалищного нерва, 10 мм	Кондуит + МСК. Кондуит + шванновские клетки. Аутографт	Кондуиты со шванновскими клетками эффективнее, чем с МСК (3 нед)	[41]

Таблица 4. Доклинические исследования (Окончание)

№ п/п	Вид животного	Модель повреждения	Конduit	Результаты	Ссылки
11	Крысы Sprague Dawley	Повреждение седалищного нерва, 15 мм	Силиконовый conduit + ионы C ⁻ + FGF. Силиконовый conduit + ионы C ⁻ . Силиконовый conduit + FGF	Силиконовый conduit, внутренняя поверхность которого имплантирована ионами C ⁻ , обработанный также FGF, показал самую высокую эффективность восстановления нерва по сравнению с другими группами. Анализы проводили на 12-й и 24-й нед после операции	[42]
12	Крысы Lewis	Повреждение седалищного нерва, 10 мм	Конduit PHEMA-MMA. Конduit PHEMA-MMA + FGF. Конduit PHEMA-MMA + NT-3. Конduit PHEMA-MMA + BDNF. Коллагеновый conduit. Аутографт	Добавление факторов роста улучшает регенерацию. Кондуиты с FGF продемонстрировали регенерацию, сравнимую с эффективностью аутографтов (8 нед)	[43]
13	Крысы SD	Повреждение седалищного нерва, 13 мм	Силиконовые кондуиты + NGF	Кондуиты с NGF более эффективны, чем пустые кондуиты. Высвобождение факторов роста усиливает регенерацию периферического нерва (6 нед)	[44]
14	Крысы SD	Повреждение седалищного нерва, 10 мм	Кондуиты PHB + LIF	LIF улучшил регенерацию при операции после 2 мес, и через 4 мес результаты восстановления статистически сопоставимы с нервным трансплантатом	[45]
15	Крысы	Повреждение седалищного нерва, 20 мм	PPE с градиентом фактора роста нервов NGF	Долгосрочный стимулирующий эффект NGF на морфологическую регенерацию периферических нервов. Срок наблюдения 3 мес	[46]
16	Крысы SD	Повреждение седалищного нерва, 13 мм	PCL + градиент NGF	Группа кондуитов с градиентом NGF показала значительно более высокую скорость регенерации нерва, чем другие группы. Наблюдение проводили на 12-й и 24-й нед	[47]
17	Крысы Wistar	Повреждение седалищного нерва, 10 мм	Силиконовый conduit, заполненный СВФ	Высокая эффективность регенерации нервов у животных с conduitом + СВФ и более быстрое восстановление регенерированных аксонов. Наблюдение проводили в течение 8-й и 12-й нед после операции	[48]
18	Собаки Бигли	Повреждение малоберцового нерва, 30 мм	Нервный conduit из коллагена	Результаты этого исследования показали детальный процесс морфологического, электрофизиологического и функционального восстановления регенерированного нерва. Восстановление в течение 52 нед	[49]
19	Крысы SD	Повреждение седалищного нерва, 10 мм	Конduit PGA. Аутографт. Коллагеновый conduit	Результаты восстановления поврежденных нервов при помощи коллагеновых кондуитов и аутографтов оказались сопоставимыми, и показатель эффективности регенерации был значительно лучше, чем показатель эффективности регенерации поврежденных нервов, который восстанавливали с помощью PGA-кондуитов	[50]

Примечание. PHB — полигидроксibuтират, GGF — глиальный фактор роста, HCK — нервные стволовые клетки, PLGA — поли(молочно-со-гликолевая кислота), NGF — фактор роста нервов, P (LLA-CL) — полимолочная кислота капролактон, ПВХ — поливинилхлорид, ADSC — быстродействующие стволовые клетки, EMSCs — эктомезенхимальные стволовые клетки, MCK — мезенхимальные стромальные клетки, FGF — фактор роста фибробластов, PHEMA-MMA — поли(2-гидроксиэтилметакрилат-со-метилметакрилат), NT-3 — нейротрофин-3, BDNF — нейротропный фактор мозга, LIF — фактор ингибирования лейкемии, PPE — полифенилэфир, PCL — поликапролактон, СВФ — стромально-васкулярная фракция, PGA — полигликолевая кислота.

у группы А (аутологичный трансплантат) был самый высокий результат рефлекса торможения.

Тубуляризованные кондуиты из природных и синтетических материалов / кондуиты с дополнительными направляющими внутри

Т. Waitayawinyu и соавт. (2007) [50] применили модель повреждения седалищного нерва крысы 10 мм: 15 крыс с кондуитом из PGA, 15 крыс с сегментом аутогенного нервного трансплантата, 15 крыс с кондуитами из коллагена. Через 15 нед регенерацию нервов оценивали путем измерения изометрической силы сокращения мышц, подсчета аксонов, веса мышечной массы и гистологии. Коллагеновые кондуиты и ауто-трансплантаты дали сопоставимые результаты, которые были значительно лучше, чем регенерация с PGA-кондуитами.

Целью исследования А. Luis и соавт. (2007) [39] была проверка *in vivo* двух различных нервных кондуитов: одного из PLGA [поли(молочно-со-гликолевая кислота)], выполненного в новой пропорции двух полимеров Poly (L-лактид):Poly (гликолид) (90:10), второго — из DL-лактида (epsilon-caprolactone) и сополиэфира (Neurolac), способствующего регенерации нервов через 10-миллиметровый дефект крысиного седалищного нерва. Молекулярное и сенсорное функциональное восстановление оценивали на протяжении всего периода заживления (20 нед), а с восстановленными нервами проводили морфологический анализ. Как двигательные, так и сенсорные функции были одинаковыми во всех экспериментальных группах восстановления нервов. При сравнении между двумя типами кондуитов не было обнаружено существенных различий.

С. Sanan и соавт. (2008) [38] подвергали две группы крыс экспериментальной резекции большеберцовых и малоберцовых нервов. Первой группе проводили регенерацию при помощи аутографта. У второй группы регенерация проводилась с коллагеновым кондуитом. Через 90 дней животных умерщвляли, сегменты нерва удаляли и секционировали для микроскопии. Для получения каждого количественного параметра применялись три различные стратегии выборки, то есть размеры малых, средних и больших ступеней. Между этими стратегиями отбора проб нет существенных различий в отношении общего количества миелинизированных нервных волокон, площади поперечного сечения аксонов и толщины миелина.

Н. Okamoto и соавт. (2009) [49] использовали кондуит из коллагена с направляющими волокнами при повреждении малоберцового нерва размером 30 мм у собак-библей. Хотя функциональное восстановление происходило в течение 52 нед, морфологический анализ показал, что нужен более длительный период времени для полной регенерации периферического нерва.

В. Penna и соавт. (2011) [36] использовали модель повреждения седалищного нерва крысы 15 мм. Имплантировали кондуит из поливинилхлорида (ПВХ) длиной 19 мм. После имплантации вокруг кондуита из ПВХ, так называемого биогенного кондуита, образовался соединительный слой ткани. Толщина стенки биогенных кондуитов увеличивалась в течение 4 нед после имплантации. Биогенные кондуиты показали наибольшее количество сосудов на поперечное сечение через 4 нед. Результаты анализа не показали существенной разницы между регенерацией с биогенным кондуитом и аутографтом. Поперечная площадь нерва и количество аксонов

в биогенной группе были значительно ниже, чем в группе с аутографтом.

Кондуиты с факторами роста и белками внеклеточного матрикса

А. McКау и соавт. (2003) [45] на модели повреждения седалищного нерва крысы 10 мм использовали фактор ингибирования лейкемии (LIF), который действует как «фактор травмы», потенциально увеличивая восстановительный потенциал. LIF повысил эффективность регенерации. Таким образом, экзогенный LIF может сыграть потенциальную роль в развитии подходов к регенерации периферических нервов.

Р. Midha и соавт. (2003) [43] использовали для регенерации хирургически созданных 10-миллиметровых дефектов на седалищном нерве крысы пористые кондуиты длиной 12 мм с внутренним диаметром 1,3 мм и внешним диаметром 1,8 мм из поли(2-гидроксиэтилметакрилат-со-метилметакрилат) — PHEMA-MMA. Внутренний просвет кондуитов был заполнен коллагеновой матрицей или матрицей, заполненной либо нейротропином-3 — нейротрофическим фактором мозга, либо фактором роста фибробластов. Регенерацию нервов через кондуиты с увеличенным коэффициентом роста оценивали через 8 нед после восстановления гистоморфометрическим анализом. Кондуиты были биостабильны и биосовместимы и поддерживали регенерацию нервов более чем в 90% случаев. Регенерация нервов была лучше с кондуитами, в которые были добавлены факторы роста, по сравнению с пустыми кондуитами и теми, которые содержали только коллагеновый гель (отрицательный контроль). Кондуиты, заполненные фактором роста фибробластов (FGF), продемонстрировали регенерацию, сравнимую с ауто-трансплантатами (положительный контроль) и показали значительно лучшую регенерацию, чем другие группы. Время наблюдения — 8 нед.

А. Lee и соавт. (2003) [44] разработали новую систему доставки факторов роста, чтобы обеспечить устойчивую доставку фактора роста нервов (NGF). Эта система доставки использует гепарин для иммобилизации NGF и замедления его диффузии из матрицы фибрина. Ранее эта система улучшала рост нейритов *in vitro*, и в этом исследовании оценена способность этой системы доставки улучшать регенерацию нервов по кондуитам. Протестировано влияние контролируемой доставки NGF на регенерацию периферического нерва при дефекте седалищного нерва 13 мм у крыс. Гепаринсодержащая система доставки изучалась в сочетании с тремя дозами NGF, результаты сравнивались с положительным контролем (изо-трансплантаты) и отрицательными контролями (только один фибрин, только NGF и пустые кондуиты). Нервные волокна обрабатывали через 6 нед после операции для гистоморфометрического анализа. Результаты этого исследования показывают, что включение новой системы доставки, обеспечивающей контролируемое высвобождение факторов роста, усиливает регенерацию периферического нерва и значительно влияет на усиление регенерации нервных волокон при коротких дефектах.

Р. Mohanna и соавт. (2003) [32] разработали нервный кондуит из поли-3-гидроксибутирата (PHB), заполненный глиальным фактором роста (GGF), суспендированным в альгинатном гидрогеле. Использовали кондуит PHB, содержащий либо GGF в альгинатном гидрогеле, либо только альгинат, либо пустой кондуит PHB, на повреждении 2–4 см малоберцового нерва кролика. Ткани анализировали на 21, 42 и 63-й дни после операции.

периферического нерва ($n=12$, расстояние зазора 10 мм) и группа С — биологический канал хитина, соединяющий дефект периферического нерва с нервными волокнами в каналах ($n=12$, расстояние зазора 10 мм). Электрохимическое, гистологическое исследование и подсчет повторных миелинизированных аксонов были проведены на 6-й и 12-й нед после операции. Скорость нервной проводимости и подсчет повторных миелиновых аксонов группы А были лучше, чем у групп В и С, а в группе С лучше, чем в группе В.

Р. Erba и соавт. (2010) [37] использовали модель повреждения седалищного нерва у крысы (дефект 10 мм). ADSC (быстродействующие стволовые клетки), трансплантированные в искусственный нервный конduit (PHB), стимулируют рост аксонов от проксимального нервного конца и вызывают бо́льшую пролиферацию шванновских клеток в дистальный конец. Эти результаты свидетельствуют о том, что любой регенерирующий эффект трансплантированных ADSC, скорее всего, опосредуется начальным повышением высвобождаемых факторов роста и/или косвенным воздействием на эндогенную активность стволовых клеток.

Р. Mohammadi и соавт. (2015) [48] изучили влияние трансплантации некультивированной стромально-васкулярной фракции (СВФ) на регенерацию седалищного нерва: 10-миллиметровый дефект седалищного нерва соединяли с помощью силиконового кондуита, заполненного СВФ. В контрольной группе силиконовый конduit заполняли только фосфатно-буферным солевым раствором. Поведенческие и функциональные исследования подтвердили более быстрое восстановление регенерированных аксонов у животных с СВФ, чем в контрольной группе. Масса мышечной массы у животных с СВФ была значительно больше, чем в контрольной группе. Морфометрические индексы регенерированного волокна показали, что количество и диаметр миелиновых волокон значительно выше у животных со стромально-васкулярной фракцией, чем в контрольной группе. Трансплантация СВФ в сочетании с силиконовым кондуитом может рассматриваться как легкодоступный источник стромальных клеток, который улучшает функциональное восстановление седалищного нерва. Наблюдения проводили в течение 8-й и 12-й нед после операции.

Наиболее сложными моделями регенерации аксонов являются модели дефектов нервов у животных с сахарным диабетом, при котором снижается секреция нейротрофинов, нарушается пролиферация и дифференцировка шванновских клеток [54].

Таблица 5. Результаты экспериментов доклинических исследований с наиболее высокой эффективностью восстановления периферического нервного волокна

Биол. агент	Материал	Силикон	Коллаген	PLGA	P (LLA-CL)	PPE	PLA
NGF		++ [44]	-	++ [34]	+++ [35]	+++ [46]	+++ [47]
EMSCs		-	-	+++ [40]	-	-	-
Шванновские клетки		-	+++ [41]	-	-	-	-
FGF		+++ [42]	-	-	-	-	-

Примечание. PLGA — поли(молочно-со-гликолевая кислота), P (LLA-CL) — полимолочная кислота с капролактоном, PPE — полиэфир, PLA — полилактид, NGF — фактор роста нервов, EMSCs — эктомезенхимальные стволовые клетки, FGF — фактор роста фибробластов.

Так, Н. Lee и соавт. (2015) [55] применили для регенерации периферического нерва комбинированное лечение — имплантацию в 10-миллиметровый дефект седалищного нерва силиконовой трубки и пероральное введение лумброкиназы (пептиды экстракта земляного червя) в модели индуцированного стрептозоцином сахарного диабета у крыс. В данной работе было показано, что пероральное применение пептидов в дозе 600 мкг/кг стимулирует *in vitro* секрецию IL1, NGF, фактора роста тромбоцитов (PDGF) и трансформирующего ростового фактора бета (TGF β) в сегментах иссеченного седалищного нерва и вызывает *in vivo* достоверное увеличение скорости проводимости нерва (nerve conductive velocity, NCV).

L. Stenberg и соавт. (2015) [56] на полигенной модели сахарного диабета у крыс линии Goto-Kakizaki также было показано, что при реконструкции 10-миллиметрового дефекта седалищного нерва кондуитом из хитозана удлинение аксона было даже больше, чем у контрольных крыс породы Вистар, что у авторов коррелировало только с высоким дооперационным уровнем глюкозы.

Обсуждение

В табл. 5 представлены лучшие результаты по восстановлению периферического нервного волокна в моделях с размерами дефектов более 10 мм с оценкой по трехбалльной шкале, где «+++» — высокая эффективность, приближающаяся к эффективности аутографтов, «++» — средняя эффективность.

Полученные в этих исследованиях результаты восстановления сравнимы с эффективностью восстановления с применением аутографтов, поскольку дефекты от 10 мм у крыс восстанавливаются полностью быстрее вследствие более высокой, чем у человека, скорости роста аксонов [57].

Наиболее изучаемыми полимерами до настоящего момента остаются коллагены и полилактогликолиды, которые имеют среднюю эффективность при изолированном применении и потенциал для улучшения свойств за счет использования комбинаций с различными биологически активными соединениями.

Из цитокинов наиболее эффективными являются NGF и FGF по сравнению с другими группами факторов, влияющими на рост аксонов. При этом FGF демонстрирует более качественную миелинизацию восстановленного нервного волокна, вероятно, за счет стимуляции пролиферации шванновских клеток.

Наилучшими результатами по сравнению с «пустыми» и заполненными различными молекулами кондуитами обладали исследования с применением кондуитов с клеточным компонентом, особенно с культивированными ШК.

Исследовать эффективность регенерации на животных моделях с дефектами периферических нервов меньше 10 мм нецелесообразно, поскольку такие повреждения регенерируют самостоятельно. Наилучшие результаты в моделях с дефектами более 10 мм демонстрировали следующие комбинации: Силикон+FGF, Коллаген+ШК, P(LLA-CL)+NGF, EMSC+PLGA, PHEMMA-MMA+FGF, PCL/PLA+NGF, PLA+NGF, PPE+NGF, при этом во всех представленных исследованиях был проведен контроль с аутографтом, эффективность регенерации сравнивали с контрольной группой. Следует отметить, что данные комбинации были практически так же эффективны, как и использование аутографтов при размерах дефектов до 20 мм; при дефекте более 20 мм требовалось более длительное время восстановления.

Таким образом, лучшими кондуитами для протяженных дефектов (более 30 мм) могли бы быть кондуиты из коллагеновой трубки с градиентом нейротрофинов и клеточным компонентом (шванновскими клетками или их аналогами).

Заключение

В настоящее время для лечения протяженных повреждений периферических нервов применяют аутографты нервов, но при этом появляются патологические нарушения в донорской зоне, и результаты хирургического лечения далеко не всегда удовлетворительны. Альтернативой традиционному методу является использование нервных кондуитов: в клинической практике доступно 11 коммерческих продуктов. Среди искусственных нервных конду-

итов, проанализированных в обзоре, особенно высокую степень эффективности регенерации и функционального восстановления проявили кондуиты с клеточным компонентом. Из-за различных исходных параметров в дизайне экспериментов с использованием кондуитов сопоставимость исследований очень ограничена. Наиболее перспективными подходами для трансляции в клинические исследования являются не просто кондуиты, а нейроинженерные конструкции, включающие клеточный компонент, обеспечивающий контролируемый синтез нейротрофинов. Лучшие результаты по экспериментальному восстановлению поврежденных периферических нервов были продемонстрированы на животных моделях с применением коллагенового кондуита в комбинации со шванновскими клетками. В ближайшем будущем планируется изучение безопасности и эффективности использования таких кондуитов в клинических исследованиях. Если результаты будут превосходить существующие технологии, то это станет новым этапом в развитии хирургического лечения поврежденных периферических нервов.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Настоящая работа выполнена при поддержке соглашения о субсидии Минобрнауки РФ № 14.614.21.0001 (уникальный идентификатор RFMEFI61417X0001).

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

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

ЛИТЕРАТУРА

- Dornseifer U, Matiasek K, Fichter MA, et al. Surgical therapy of peripheral nerve lesions: current status and new perspectives. *Zentralbl Neurochir.* 2007;68(3):101–110. doi: 10.1055/s-2007-984453.
- Ichihara S, Inada Y, Nakamura T. Artificial nerve tubes and their application for repair of peripheral nerve injury: an update of current concepts. *Injury.* 2008;39 Suppl 4:29–39. doi: 10.1016/j.injury.2008.08.029.
- Scholz T, Krichevsky A, Sumarto A, et al. Peripheral nerve injuries: an international survey of current treatments and future perspectives. *J Reconstr Microsurg.* 2009;25(6):339–344. doi: 10.1055/s-0029-1215529.
- English AW, Wilhelm JC, Ward PJ. Exercise, neurotrophins, and axon regeneration in the PNS. *Physiology (Bethesda).* 2014;29(6):437–445. doi: 10.1152/physiol.00028.2014.
- Johnson EO, Soucacos PN. Nerve repair: experimental and clinical evaluation of biodegradable artificial nerve guides. *Injury.* 2008;39 Suppl 3:S30–36. doi: 10.1016/j.injury.2008.05.018.
- Sinis N, Kraus A, Tselis N, et al. Functional recovery after implantation of artificial nerve grafts in the rat — a systematic review. *J Brachial Plex Peripher Nerve Inj.* 2009;4:19. doi: 10.1186/1749-7221-4-19.
- Maquet V, Martin D, Malgrange B, et al. Peripheral nerve regeneration using bioresorbable macroporous polylactide scaffolds. *J Biomed Mater Res.* 2000;52(4):639–651. doi: 10.1002/1097-4636(20001215)52:4<639::aid-jbm8>3.0.co;2-g.
- Alluin O, Wittmann C, Marqueste T, et al. Functional recovery after peripheral nerve injury and implantation of a collagen guide. *Biomaterials.* 2009;30(3):363–373. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.09.043.
- Kehoe S, Zhang XF, Boyd D. FDA approved guidance conduits and wraps for peripheral nerve injury: a review of materials and efficacy. *Injury.* 2012;43(5):553–572. doi: 10.1016/J.Injury.2010.12.030.
- ir.axogeninc.com [Internet]. Press Releases [cited 2018 Nov 19]. Available from: <https://ir.axogeninc.com/press-releases/detail/852/axogen-advances-its-platform-for-nerve-repair-at-annual>
- Людуп А.В., Медведев Ю.А., Баласанова К.В., и др. Методы тканевой инженерии костной ткани в челюстно-лицевой хирургии // *Вестник Российской академии медицинских наук.* — 2013. — Т.68. — №5 — С. 10–15. [Lyundup AV, Medvedev YuA, Balasanova KV, et al. Methods of tissue engineering of bone tissue in maxillofacial surgery. *Annals of the Russian academy of medical sciences.* 2013;68(5):10–15. (In Russ.)] doi: 10.15690/vramn.v68i5.658.
- Martorina F, Casale C, Urciuolo F, et al. In vitro activation of the neuro-transduction mechanism in sensitive organotypic human skin model. *Biomaterials.* 2017;113:217–229. doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.10.051.
- Zakhem E, El Bahrawy M, Orlando G, Bitar KN. Biomechanical properties of an implanted engineered tubular gut-sphincter com-

- plex. *J Tissue Eng Regen Med*. 2017;11(12):3398–3407. doi: 10.1002/term.2253.
14. Massing MW, Robinson GA, Marx CE, et al. *Applications of proteomics to nerve regeneration research*. In: Alzate O, editor. *Neuroproteomics*. Series *Frontiers in Neuroscience*. Ch. 15. Boca Raton, FL, USA: CRC Press/Taylor & Francis; 2010. doi: 10.1201/9781420076264.ch15.
 15. Palispis WA, Gupta R. Surgical repair in humans after traumatic nerve injury provides limited functional neural regeneration in adults. *Exp Neurol*. 2017;290:106–114. doi: 10.1016/j.expneurol.2017.01.009.
 16. Tkach M, Théry C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go. *Cell*. 2016;164(6):1226–1232. doi: 10.1016/j.cell.2016.01.043.
 17. Lopez-Verrilli MA, Picou F, Court FA. Schwann cell-derived exosomes enhance axonal regeneration in the peripheral nervous system. *Glia*. 2013;61(11):1795–1806. doi: 10.1002/glia.22558.
 18. Court FA, Hendriks WT, MacGillavry HD, et al. Schwann cell to axon transfer of ribosomes: toward a novel understanding of the role of glia in the nervous system. *J Neurosci*. 2008;28(43):11024–11029. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2429-08.2008.
 19. Boyd JG, Gordon T. Neurotrophic factors and their receptors in axonal regeneration and functional recovery after peripheral nerve injury. *Mol Neurobiol*. 2003;27(3):277–324. doi: 10.1385/mn:27:3:277.
 20. Gyorkos AM, McCullough MJ, Spitsbergen JM. Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) expression and NMJ plasticity in skeletal muscle following endurance exercise. *Neuroscience*. 2014;257:111–118. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.10.068.
 21. Yang P, Wen H, Ou S, et al. IL-6 promotes regeneration and functional recovery after cortical spinal tract injury by reactivating intrinsic growth program of neurons and enhancing synapse formation. *Exp Neurol*. 2012;236(1):19–27. doi: 10.1016/j.expneurol.2012.03.019.
 22. Sebben AD, Lichtenfels M, da Silva JL. Peripheral nerve regeneration: cell therapy and neurotrophic factors. *Rev Bras Ortop*. 2015;46(6):643–649. doi: 10.1016/S2255-4971(15)30319-0.
 23. Höke A. A (heat) shock to the system promotes peripheral nerve regeneration. *J Clin Invest*. 2011;121(11):4231–4234. doi: 10.1172/JCI59320.
 24. Nectow AR, Marra KG, Kaplan DL. Biomaterials for the development of peripheral nerve guidance conduits. *Tissue Eng Part B Rev*. 2012;18(1):40–50. doi: 10.1089/ten.TEB.2011.0240.
 25. neurosklif.ru [интернет]. Отделение нейрохирургии НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского/Заболевания. Повреждения периферических нервов верхних и нижних конечностей [доступ от 21.10.2018]. Доступ по ссылке <http://neurosklif.ru/Diseases/PeripheralNerves>.
 26. Zuniga JR. Sensory outcomes after reconstruction of lingual and inferior alveolar nerve discontinuities using processed nerve allograft — a case series. *J Oral Maxillofac Surg*. 2015;73(4):734–744. doi: 10.1016/j.joms.2014.10.030.
 27. Schmauss D, Finck T, Lioudaki E, et al. Is nerve regeneration after reconstruction with collagen nerve conduits terminated after 12 months? The long-term follow-up of two prospective clinical studies. *J Reconstr Microsurg*. 2014;30(8):561–568. doi: 10.1055/s-0034-1375237.
 28. Weber RA, Breidenbach WC, Brown RE, et al. A randomized prospective study of polyglycolic acid conduits for digital nerve reconstruction in humans. *Plast Reconstr Surg*. 2000;106(5):1036–1045. doi: 10.1097/00006534-200109150-00056.
 29. Boeckstyns ME, Sørensen AI, Viñeta JF, et al. Collagen conduit versus microsurgical neurotaphy: 2-year follow-up of a prospective, blinded clinical and electrophysiological multicenter randomized, controlled trial. *J Hand Surg Am*. 2013;38(12):2405–2411. doi: 10.1016/j.jhssa.2013.09.038.
 30. Rinker B, Liao JY. A prospective randomized study comparing woven polyglycolic acid and autogenous vein conduits for reconstruction of digital nerve gaps. *J Hand Surg Am*. 2011;36(5):775–781. doi: 10.1016/j.jhssa.2011.01.030.
 31. Ханнанова И.Г., Галлямов А.Р., Богов А.А., Журавлев М.Р. Первый опыт применения кондукта для замещения дефекта периферического нерва // *Практическая медицина*. — 2017. — №8 — С. 161–163. [Khannanova IG, Gallyamov AR, Bogov AA, Zhuravlev MR. First experience of using conduit for replacement of a peripheral nerve defect. *Prakticheskaya meditsina*. 2017;(8):161–163. (In Russ).]
 32. Mohanna PN, Young RC, Wiberg M, Terenghi G. A composite poly-hydroxybutyrate-glia growth factor conduit for long nerve gap repairs. *J Anat*. 2003;203(6):553–565. doi: 10.1046/j.1469-7580.2003.00243.x.
 33. Zhang P, Xue F, Kou Y, et al. The experimental study of absorbable chitin conduit for bridging peripheral nerve defect with nerve fasciculi in rats. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*. 2008;36(4):360–371. doi: 10.1080/10731190802239040.
 34. de Boer R, Knight AM, Borntraeger A, et al. Rat sciatic nerve repair with a poly-lactic-co-glycolic acid scaffold and nerve growth factor releasing microspheres. *Microsurgery*. 2011;31(4):293–302. doi: 10.1002/micr.20869.
 35. Liu JJ, Wang CY, Wang JG, et al. Peripheral nerve regeneration using composite poly(lactic acid-caprolactone)/nerve growth factor conduits prepared by coaxial electrospinning. *J Biomed Mater Res A*. 2011;96(1):13–20. doi: 10.1002/jbm.a.32946.
 36. Penna V, Munder B, Stark GB, Lang EM. An in vivo engineered nerve conduit—fabrication and experimental study in rats. *Microsurgery*. 2011;31(5):395–400. doi: 10.1002/micr.20894.
 37. Erba P, Mantovani C, Kalbermatten DF, et al. Regeneration potential and survival of transplanted undifferentiated adipose tissue-derived stem cells in peripheral nerve conduits. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010;63(12):e811–e817. doi: 10.1016/j.bjps.2010.08.013.
 38. Canan S, Bozkurt HH, Acar M, et al. An efficient stereological sampling approach for quantitative assessment of nerve regeneration. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2008;34(6):638–649. doi: 10.1111/j.1365-2990.2008.00938.x.
 39. Luis AL, Rodrigues JM, Lobato JV, et al. Evaluation of two biodegradable nerve guides for the reconstruction of the rat sciatic nerve. *Biomed Mater Eng*. 2007;17(1):39–52.
 40. Nie X, Zhang YJ, Tian WD, et al. Improvement of peripheral nerve regeneration by a tissue-engineered nerve filled with ectomesenchymal stem cells. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2007;36(1):32–38. doi: 10.1016/j.ijom.2006.06.005.
 41. Shimizu S, Kitada M, Ishikawa H, et al. Peripheral nerve regeneration by the in vitro differentiated-human bone marrow stromal cells with Schwann cell property. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;359(4):915–920. doi: 10.1016/j.bbrc.2007.05.212.
 42. Ikeguchi R, Kakinoki R, Matsumoto T, et al. Basic fibroblast growth factor promotes nerve regeneration in a C-⁻ion-implanted silicon chamber. *Brain Res*. 2006;1090(1):51–57. doi: 10.1016/j.brainres.2006.03.015.
 43. Midha R, Munro CA, Dalton PD, et al. Growth factor enhancement of peripheral nerve regeneration through a novel synthetic hydrogel tube. *J Neurosurg*. 2003;99(3):555–565. doi: 10.3171/jns.2003.99.3.0555.
 44. Lee AC, Yu VM, Lowe JB, et al. Controlled release of nerve growth factor enhances sciatic nerve regeneration. *Exp Neurol*. 2003;184(1):295–303. doi: 10.1016/S0014-4886(03)00258-9.
 45. McKay Hart A, Wiberg M, Terenghi G. Exogenous leukaemia inhibitory factor enhances nerve regeneration after late secondary repair using a bioartificial nerve conduit. *Br J Plast Surg*. 2003;56(5):444–450. doi: 10.1016/S0007-1226(03)00134-6.

46. Xu X, Yee WC, Hwang PY, et al. Peripheral nerve regeneration with sustained release of poly(phosphoester) microencapsulated nerve growth factor within nerve guide conduits. *Biomaterials*. 2003;24(13):2405–2412. doi: 10.1016/S0142-9612(03)00109-1.
47. Oh SH, Kang JG, Kim TH, et al. Enhanced peripheral nerve regeneration through asymmetrically porous nerve guide conduit with nerve growth factor gradient. *J Biomed Mater Res A*. 2018;106(1):52–64. doi: 10.1002/jbm.a.36216.
48. Mohammadi R, Sanaei N, Ahsan S, et al. Stromal vascular fraction combined with silicone rubber chamber improves sciatic nerve regeneration in diabetes. *Chin J Traumatol*. 2015;18(4):212–218. doi: 10.1016/j.cjtee.2014.10.005.
49. Okamoto H, Hata K, Kagami H, et al. Recovery process of sciatic nerve defect with novel bioabsorbable collagen tubes packed with collagen filaments in dogs. *J Biomed Mater Res A*. 2010;92(3):859–868. doi: 10.1002/jbm.a.32421.
50. Waitayawinyu T, Parisi DM, Miller B, et al. A comparison of polyglycolic acid versus type I collagen bioabsorbable nerve conduits in a rat model: an alternative to autografting. *J Hand Surg Am*. 2007;32(10):1521–1529. doi: 10.1016/j.jhsa.2007.07.015.
51. Chiu DT, Janecka I, Krizek TJ, et al. Autogenous vein graft as a conduit for nerve regeneration. *Surgery*. 1982;91(2):226–233. doi: 10.1097/00006534-198305000-00106.
52. Chiu DT, Strauch B. A prospective clinical evaluation of autogenous vein grafts used as a nerve conduit for distal sensory nerve defects of 3 cm or less. *Plast Reconstr Surg*. 1990;86(5):928–934. doi: 10.1097/00006534-199011000-00015.
53. Meng WK, Huang Z, Tan Z, et al. [Vein nerve conduit supported by vascular stent in the regeneration of peripheral nerve in rabbits. (In Chinese).] *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2017;48(5):687–692.
54. Apfel SC. Neurotrophic factors in peripheral neuropathies: therapeutic implications. *Brain Pathol*. 1999;9(2):393–413. doi: 10.1111/j.1750-3639.1999.tb00234.x.
55. Lee HC, Hsu YM, Tsai CC, et al. Improved peripheral nerve regeneration in streptozotocin-induced diabetic rats by oral lumbrokinase. *Am J Chin Med*. 2015;43(2):215–230. doi: 10.1142/S0192415X15500147.
56. Stenberg L, Kodama A, Lindwall-Blom C, Dahlin LB. Nerve regeneration in chitosan conduits and in autologous nerve grafts in healthy and in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Eur J Neurosci*. 2016;43(3):463–473. doi: 10.1111/ejn.13068.
57. Angius D, Wang H, Spinner RJ, et al. A systematic review of animal models used to study nerve regeneration in tissue-engineered scaffolds. *Biomaterials*. 2012;33(32):8034–8039. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.07.056.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

***Люндуп Алексей Валерьевич**, к.м.н. [*Alexey V. Lyundup*, MD, PhD]; Адрес: 119991, Москва, ул. Трубечкая, д. 8, стр. 2 [address: 8 bld. 2, Trubetskaya street, 119991 Moscow, Russia]; e-mail: lyundup@gmail.com, SPIN-код: 4954-3004, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0102-5491>

Мирошникова Полина Константиновна [*Polina K. Miroshnikova*]; e-mail: p_miroshnikova96@mail.ru, SPIN-код: 8363-3697, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0248-5393>

Крашенинников Михаил Евгеньевич, к.м.н. [*Mikhail E. Krasheninnikov*, MD, PhD]; e-mail: krashen@rambler.ru, SPIN-код: 3212-8481, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3574-4013>

Бацаленко Николай Петрович [*Nikolay P. Batsalenko*, MD]; e-mail: morbus007@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9793-8182>

Занг Юаньянь, PhD, профессор [*Yuan Yuan Zhang*, MD, PhD, Professor]; e-mail: fyyzhang2016@gmail.com, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5708-9718>

Фельдман Наталия Борисовна, д.м.н., профессор [*Nataliya B. Feldman*, MD, PhD, Professor]; e-mail: n_feldman@mail.ru; SPIN-код: 3176-3205, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6098-2788>

Береговых Валерий Васильевич, академик РАН, докт. техн. н., профессор [*Valery V. Beregovykh*, PhD, Professor]; SPIN-код: 5940-7554, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0210-4570>

В.А. Бывальцев^{1, 2, 3, 4}, А.А. Калинин^{1, 2}, В.Ю. Голобородько^{1, 2}¹ 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

Оптимизация хирургической помощи и анестезиологического пособия при лечении многоуровневых дегенеративных заболеваний поясничного отдела позвоночника у пациентов с избыточной массой тела и ожирением

Обоснование. Оказание хирургической помощи при лечении дегенеративных заболеваний поясничного отдела позвоночника у пациентов с избыточным весом и ожирением сопряжено со значимыми рисками проведения анестезиологического пособия и развития периоперационных осложнений. **Цель исследования** — провести анализ результатов внедрения комбинации методик оказания хирургической помощи и анестезиологического пособия при лечении многоуровневых дегенеративных заболеваний поясничного отдела позвоночника у пациентов с избыточной массой тела и ожирением. **Методы.** Изучены результаты хирургического лечения 86 пациентов, выделено 2 группы. В основной группе ($n=37$) использованы минимально инвазивные хирургические технологии и оригинальный хирургический доступ, инфильтрация паравертебральной мускулатуры бупивакаином с эпинефрином, мультимодальная анестезия с применением дексметомидина. Группу сравнения ($n=49$) составили пациенты, у которых применялась методика традиционной открытой транспедикулярной фиксации в сочетании с задним межтеловым спондилодезом без вышеуказанной комбинации методик оказания хирургической помощи и анестезиологического пособия. Наблюдение и клиническую оценку проводили в раннем (во время госпитализации) и отдаленном (в среднем через 36 мес) послеоперационном периодах. **Результаты.** У пациентов основной группы отсутствовали изменения гемодинамики и получены лучшие результаты по скорости восстановления психомоторных функций. Применение местных анестетиков значимо уменьшило локальный болевой синдром ($p<0,05$) и потребность в анальгетиках ($p=0,002$). При сравнении результатов в основной группе выявлены значимо лучшие показатели длительности вмешательства, объема кровопотери, времени активизации, сроков стационарного лечения, отдаленных клинических параметров выраженности болевых ощущений по визуальной аналоговой шкале в нижних конечностях, функционального состояния по ODI, субъективной удовлетворенности проведенной операцией по шкале Маснав ($p=0,01$). Количество послеоперационных осложнений в основной группе составило 8%, в группе сравнения — 18% ($p=0,006$). **Заключение.** Анализ результатов внедрения комбинации методик оказания хирургической помощи и анестезиологического пособия при лечении многоуровневых дегенеративных заболеваний поясничного отдела позвоночника у пациентов с избыточной массой тела и ожирением, включающей минимально инвазивные хирургические технологии, инфильтрацию паравертебральной мускулатуры бупивакаином с эпинефрином, мультимодальную анестезию с применением дексметомидина, показал ее высокую периоперационную безопасность, низкое число осложнений, а также лучшие клинические исходы в раннем и отдаленном послеоперационном периодах.

Ключевые слова: ожирение, избыточный вес, дегенеративные заболевания поясничного отдела позвоночника, задняя ригидная стабилизация, бупивакаин, эпинефрин, дексметомидин.

(Для цитирования: Бывальцев В.А., Калинин А.А., Голобородько В.Ю. Оптимизация хирургической помощи и анестезиологического пособия при лечении многоуровневых дегенеративных заболеваний поясничного отдела позвоночника у пациентов с избыточной массой тела и ожирением. *Вестник РАМН.* 2018;73(6):401–410. doi: 10.15690/vramn996)

Введение

Избыточный вес и ожирение являются актуальной проблемой современного здравоохранения [1, 2]. Отмечается неуклонный рост числа пациентов с увеличенным индексом массы тела (ИМТ), которые имеют клинически значимую патологию поясничного отдела позвоночника за счет повышенной осевой нагрузки на позвоночный столб и биомеханического стресса, сопровождаемых многоуровневой дегенерацией позвоночных сегментов [3, 4].

Выполнение хирургических вмешательств при дегенеративных заболеваниях поясничного отдела позвоночника у пациентов с избыточным весом и ожирением

сопряжено с рядом сложностей, имеющих комплексный характер. Так, у большинства пациентов с повышенным ИМТ часто встречается отягощение соматической патологией — сердечно-сосудистыми заболеваниями, сахарным диабетом и системными заболеваниями соединительной ткани [5, 6]. Имеются риски и при выполнении анестезиологического пособия: низкая функциональная емкость легких сопровождается меньшим безопасным безгипоксическим периодом после индукции анестезии перед интубацией [7]; высокий риск аспирации связан с часто встречающимся гастроэзофагеальным рефлюксом [8]; трудности с периоперационным дозированием анестетиков предопределены конституционально боль-

шой площадью распространения препаратов [9]. Также имеются существенные технические ограничения при выполнении хирургического доступа за счет значимой глубины операционной раны, что сопровождается увеличением длительности оперативного вмешательства и продолжительности наркоза [5, 10], частым развитием инфекции послеоперационной раны и значимым послеоперационным болевым синдромом [11, 12], ограничивающим раннюю активизацию, с высокими рисками гипостатических и тромбоэмболических осложнений [13, 14].

Все вышеперечисленное отражает высокую значимость данной проблемы. Публикации, посвященные возможностям и ограничениям минимально инвазивных спинальных операций у пациентов с избыточной массой тела и ожирением, немногочисленны и отражают сравнительный анализ технических аспектов проведения дорзальных традиционных хирургических методик и малотравматичных способов трансфораминального межтелового спондилодеза [15–18]. При этом исследований возможности комплексного периоперационного управления болевым синдромом при выполнении декомпрессивно-стабилизирующих вмешательств у пациентов с увеличенным ИМТ ранее не проводилось.

Цель исследования: анализ результатов внедрения комбинации методик — хирургической помощи и анестезиологического пособия — при лечении многоуров-

невых дегенеративных заболеваний поясничного отдела позвоночника у пациентов с избыточной массой тела и ожирением.

Методы

Дизайн исследования

Выполнено открытое наблюдательное контролируемое нерандомизированное одноцентровое проспективное исследование.

Критерии соответствия

Критерии включения

В исследование включены пациенты в возрасте от 40 до 70 лет (минимальный и максимальный возраст пациентов) с избыточной массой тела (ИМТ >25 кг/м²), наличием болевого синдрома в нижней части спины и корешковой клинической симптоматики, с двухуровневыми стенозирующими дегенеративными заболеваниями поясничного отдела позвоночника на уровне L₁₁–S₁ вследствие грыжи межпозвонкового диска или за счет артроза дугоотростчатых суставов по данным нейровизуализации, а также неэффективностью комплексной консервативной терапии в течение 6–8 нед.

Критерии исключения: одноуровневые дегенеративные поражения поясничного отдела позвоночника; степень физического статуса ASA выше III класса; ревизионные

V.A. Byvaltsev^{1, 2, 3, 4}, A.A. Kalinin^{1, 2}, V.Yu. Goloborodko^{1, 2}

¹ Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

² Railway Clinical Hospital on the station Irkutsk-Passazhirskiy of Russian Railways Ltd., Irkutsk, Russian Federation

³ Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russian Federation

⁴ Irkutsk State Academy of Postgraduate Education, Irkutsk, Russian Federation

Optimization of Surgical Care and Anesthesia in the Treatment of Multilevel Degenerative Diseases of the Lumbar Spine in Patients with Overweight and Obesity

BACKGROUND: The provision of surgical care in the treatment of degenerative diseases of the lumbar spine in patients with obesity and obesity is associated with significant risks of anesthesia and the development of perioperative complications. **AIMS:** to analyze the results of the introduction of a combination of surgical procedures and anesthesia in the treatment of multilevel degenerative diseases of the lumbar spine in patients with excessive body weight and obesity. **MATERIALS AND METHODS:** The results of surgical treatment of 86 patients were studied, 2 groups were identified. In the study group (SG, n=37), minimally invasive surgical techniques and original surgical approach, paravertebral musculature infiltration with bupivacaine with epinephrine, and multimodal anesthesia with dexmedetomidine were used. The comparison group (CG, n=49) consisted of patients who used the technique of traditional open transpedicular fixation in combination with the posterior interbody fusion without the above combination of surgical procedures and anesthesia. Observation and clinical evaluation was performed in the early (during hospitalization) and in the distant (on average 36 months) postoperative periods. **RESULTS:** In SG there were no changes in hemodynamics and better results were obtained on the speed of recovery of psychomotor functions. The use of local anesthetics significantly reduced the local pain syndrome ($p<0.05$) and the need for analgesics ($p=0.002$). Comparative analysis in the main group revealed significantly better results in indices of the duration of the operation [SG 145 (105; 155) min, CG 185 (100; 205) min; $p=0.02$], the volume of blood loss [SG 110 (90; 140) ml, CG 510 (390; 640) ml; $p<0.001$], the activation time [SG 1 (1; 2) days, CG 3 (3; 4) days; $p=0.01$], the length of hospitalization [SG 10 (9; 11) days, CG 13 (12; 15) days; $p=0.03$], remote clinical parameters of the pain syndrome level from the visual analogue scale in the lower extremities [SG 3 (1; 4) mm, CG 9 (6; 14) mm; $p=0.006$] and the lumbar spine [SG 6 (4; 9) mm, CG 16 (11; 21) mm; $p=0.001$], functional state according to ODI [SG 8 (6; 10) points, CG 16 (12; 24) points; $p=0.008$], subjective satisfaction with the operation performed on the Macnab scale ($p=0.01$). The number of postoperative complications in SG was 8%, in CG — 18% ($p=0.006$). **CONCLUSIONS:** Analysis of the results of the introduction of a combination of surgical and anesthetic support methods in the treatment of multilevel degenerative diseases of the lumbar spine in patients with overweight and obesity, including minimally invasive surgical techniques, infiltration of paravertebral muscles with bupivacaine and epinephrine, multimodal anesthesia with dexmedetomidine showed its high perioperative safety, low number of complications, as well as better and clinical outcomes in the early and late postoperative periods.

Key words: overweight, obesity, degenerative diseases of lumbar spine, rigid posterior stabilization, bupivacaine, epinephrine, dexmedetomidine.

(For citation: Byvaltsev VA, Kalinin AA, Goloborodko VYu. Optimization of Surgical Care and Anesthesia in the Treatment of Multilevel Degenerative Diseases of the Lumbar Spine in Patients with Overweight and Obesity. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(6):401–410. doi: 10.15690/vramn996)

декомпрессивно-стабилизирующие вмешательства; наличие конкурирующей патологии в поясничном отделе (инфекционно-воспалительные заболевания, опухоли, травматические повреждения и т.д.); значительное снижение минеральной плотности костной ткани (остеопороз); любая сопутствующая патология в стадии декомпенсации; отсутствие согласия пациента на участие в исследовании; непереносимость всех используемых препаратов.

Условия проведения

Исследование проведено на базе Центра нейрохирургии НУЗ «Дорожная клиническая больница» на станции Иркутск-Пассажирский ОАО «РЖД» (Иркутск).

При выполнении минимально инвазивных хирургических оперативных вмешательств использовали оригинальный односторонний параспинальный хирургический доступ [19]; декомпрессию структур позвоночного канала проводили с помощью операционного микроскопа OPMI Pentero (Carl Zeiss, Германия), специализированного силового оборудования (высокоскоростная дрель Anspach Effort, США) и ранорасширителей для минимально инвазивной хирургии (Quadrant retraction system, Medtronic, США; Insight, Synthes, Швейцария; ARAS, Zimmer, Германия); для трансфораминального межтелового спондилодеза использовали кейджи T-pal (Synthes, Швейцария) или Capstone (Medtronic, США); одновременно устанавливали транспедикулярные шестивинтовые системы Viper II (Synthes, Швейцария) или U-centum (Ulrich, Германия). Для снижения уровня послеоперационного болевого синдрома перед ушиванием раны выполняли местную инфильтрационную анестезию параспинальной мускулатуры, подкожно жировой клетчатки и кожи 0,5%-ным раствором бупивакаина с эпинефрином в разведении 1:200 000 объемом 30 мл.

Для открытой задней декомпрессии использовали билатеральные ранорасширители (Россия) с расширенной реконструкцией позвоночного канала; межтеловой спондилодез осуществляли кейджами Pezo-T (Ulrich, Германия) или Capstone (Medtronic, США); для задней стабилизации использовали шестивинтовую систему «Конмет» (Россия).

Анестезия проводилась в обеих группах исследования: основным компонентом анестезии являлся пропофол в режиме 4–12 мг/кг в час, для миоплегии использовали рокуроний — 0,6–1,0 мг/кг; с целью дополнительного обезболивания применялся фентанил в дозе 0,04–0,1 мкг/кг в час. В группе минимально инвазивных декомпрессивно-стабилизирующих вмешательств дополнительно применяли мультимодальную анестезию: введение 100 мг кетопрофена за 30 мин до начала операции, инфузия 1000 мг парацетамола (Перфалган) за 30 мин до окончания операции. Для протекции сердечно-сосудистой системы, потенцирования периоперационной анальгезии и раннего восстановления психомоторных функций использовали альфа2-адреномиметик дексметомидин: начинали введение за 10 мин до индукции анестезии в дозе 0,5–0,7 мкг/кг в час. Перед ушиванием операционной раны прекращали инфузию пропофола и фентанила.

Анализ в подгруппах

В основную группу ($n=37$) включены пациенты, которым оперативные вмешательства осуществлялись с применением минимально инвазивных хирургических технологий и оригинального хирургического доступа [19],

локальной инфильтрации паравerteбральной мускулатуры бупивакаином в сочетании с эпинефрином, мультимодальной анестезии с применением дексметомидина.

В группу сравнения ($n=49$) введены пациенты, прооперированные с применением классической внутрикостной анестезии с искусственной вентиляцией легких и традиционной хирургической методики межтелового спондилодеза с открытой транспедикулярной установкой винтовых погружных систем.

Продолжительность исследования

В исследуемых группах пациентов наблюдение и комплексную клиническую оценку проводили в раннем (во время госпитализации) и отдаленном (в среднем через 36 мес) послеоперационном периодах. Средний период наблюдения в I группе составил 36 (14; 45) мес, во II группе — 41 (15; 52) мес. Исследование проводилось в период с декабря 2012 по декабрь 2017 г. Набор пациентов в группы производился с января 2013 по сентябрь 2016 г.

Описание медицинского вмешательства

В I группе ($n=37$) из парамедианного (4–6 см от средней линии) одностороннего интермускулярного авторского доступа [19] через ретракторную систему для минимально инвазивной хирургии выполняли одностороннюю фасетэктомию, унилатеральную реконструкцию позвоночного канала при наличии односторонней радикулярной симптоматики или билатеральную реконструкцию — при двусторонней. В последующем проводили поэтапную дискэктомию и подготовку межтеловых пространств смежных уровней специализированным инструментарием с максимальным удалением пульпозного ядра и фиброзного кольца, сохранением замыкательных пластинок. Затем осуществляли трансфораминальный спондилодез кейджами, далее ипсилатерально открыто и контрлатерально чрезкожно (отдельные кожные разрезы по 1,5 см) одновременно выполняли транспедикулярную шестивинтовую фиксацию (рис. 1).

Во II группе ($n=49$) осуществлялся срединный доступ с двухсторонним разрезом тораколумбарной фасции и поднадкостничным скелетированием паравerteбральных мышц, реконструкцией позвоночного канала в виде ламин-/гемиламинэктомии с двухсторонней фасетэктомией. Поэтапную дискэктомию, подготовку межтеловых



Рис. 1. Пациент К., 56 лет: дегенеративный стеноз позвоночного канала на уровне $L_{IV}-L_{V}-S_1$ (интраоперационная фотография)

Примечание. Глубина операционной раны более 120 мм, длина кожного разреза в области реконструкции позвоночного канала с трансфораминальным межтеловым спондилодезом менее 60 мм.

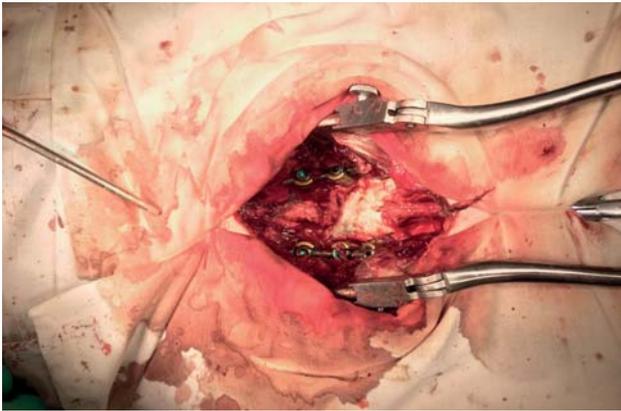


Рис. 2. Пациент Г., 54 года: дегенеративный стеноз позвоночного канала на уровне $L_{IV}-L_V-S_1$ (интраоперационная фотография)

Примечание. Общий вид операционной раны с билатеральными ранорасширителями после ламинэктомии L_V , двусторонней фасетэктомии $L_{IV}-L_V$, L_V-S_1 , межтелового спондилодеза и открытой шестивинтовой транспедикулярной стабилизации

пространств и трансфораминальный спондилодез кейджами Rezo-T (Ulrich, Германия) или Capstone (Medtronic, США) проводили аналогично I группе. В дальнейшем осуществляли шестивинтовую открытую транспедикулярную стабилизацию системой «Конмет» (Россия) (рис. 2).

Исходы исследования

Основной исход исследования

Для оценки эффективности оперативных вмешательств использовали следующие данные:

- интраоперационную динамику показателей сердечно-сосудистой системы (частота сердечных сокращений; среднее систолическое артериальное давление);
- скорость восстановления психомоторных функций после окончания хирургического вмешательства (перед переводом пациента в профильное отделение);
- выраженность болевых ощущений в области раны по визуально-аналоговой шкале (ВАШ), которую регистрировали в течение 10 сут после операции;
- потребность в дополнительном обезболивании в послеоперационном периоде;
- степень болевого синдрома по ВАШ до операции и в отдаленном послеоперационном периоде;
- показатель нарушения жизнедеятельности по индексу Освестри (Oswestry Disability Index, ODI) до операции и в отдаленном послеоперационном периоде;
- отдаленную субъективную удовлетворенность результатами оперативного лечения по шкале Маснаб.

Дополнительные исходы исследования

Анализировали пол, возраст, рост и вес пациентов, а также технические особенности оперативного вмешательства (длительность операции, продолжительность анестезии, объем кровопотери), специфичность послеоперационного периода (сроки стационарного лечения, время активизации), наличие осложнений.

Методы регистрации исходов

Показатели частоты сердечных сокращений и среднего систолического артериального давления регистрировали в протоколе анестезиологического пособия на основании неинвазивного измерения медицинским монитором перед индукцией наркоза (П1), во время разреза кожи (П2), в дальнейшем через 15-минутные интервалы

(в среднем до 120 мин, П3–П10), при ушивании операционной раны (П11), после экстубации (П12) и через 15 мин после экстубации (П13).

Выраженность болевых ощущений, степень недееспособности, а также удовлетворенность пациента оперативным вмешательством оценивались методом анкетирования [20].

Степень восстановления психомоторных функций оценивали по шкалам RASS [21] и Ramsay [22].

Потребность в анальгетиках после операции исследовали по суточному количеству инъекций нестероидных противовоспалительных препаратов в течение госпитализации.

Длительность хирургического вмешательства определялась между разрезом кожи и ушиванием операционной раны. Величина кровопотери измерялась по объему аспирированной крови и количеству введенных интраоперационно в рану растворов. Развитие неблагоприятных последствий регистрировали в течение всего периоперационного периода. Длительность стационарного лечения устанавливалась от времени поступления пациента до дня его выписки. Под временем активизации пациентов после хирургических вмешательств считали период до вертикализации и расширения двигательного режима.

Этическая экспертиза

Исследование одобрено решением Этического комитета Иркутского государственного медицинского университета (протокол № 3 от 19.12.2012). Все пациенты добровольно подписали форму информированного согласия на участие в исследовании.

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

С целью выявления минимальных отличий по ODI в 10 баллов и стандартном отклонении в 15, для мощности исследования в 80% и статистической значимости в 5% необходимо минимальное количество исследуемых пациентов — 37 в каждой группе.

Методы статистического анализа данных

Статистический анализ осуществлен с применением программного обеспечения Microsoft Excel и Statistica 8,0. С целью изучения значимости различий выборочных совокупностей использованы критерии непараметрической статистики, в качестве нижней границы достоверности принят уровень $p < 0,05$. Полученные результаты представлены медианой и интерквартильным размахом (Me: 25; 75). Используются критерии непараметрической статистики: Манна–Уитни (M-U) для межгруппового сравнения; критерий Вилкоксона (W) для зависимых выборок; хи-квадрат Пирсона (χ^2) для биномиальных признаков.

Результаты

Объекты (участники) исследования

Данные об исследуемых пациентах отражены в табл. 1. Сравнительный межгрупповой анализ не выявил статистически значимых различий по полу ($p=0,18$), возрасту ($p=0,44$), конституциональным особенностям ($p=0,68$), степени физического статуса по ASA ($p=0,24$), интенсивности болевого синдрома до операции ($p=0,79$) и предоперационному функциональному состоянию ($p=0,34$).

Таблица 1. Общие сведения о пациентах

Признак		Группа I, n=37	Группа II, n=49	p
Возраст, лет (Me: 25; 75%)		53 (42; 66)	50 (43; 64)	0,44
Пол	Муж., n (%)	26 (70)	37 (75)	0,18
	Жен., n (%)	11 (30)	12 (25)	
Индекс массы тела, кг/м ² (Me: 25; 75%)		30,7 (28,9; 31,2)	29,2 (28,1; 31,3)	0,68
Оценка по ASA, n (%)	I	12 (32)	19 (39)	0,24
	II	15 (41)	21 (43)	
	III	10 (27)	9 (18)	
Дооперационная выраженность болевых ощущений по ВАШ в нижних конечностях, мм (Me: 25; 75%)		89 (83; 92)	91 (85; 93)	0,79
Дооперационная выраженность болевых ощущений по ВАШ в поясничном отделе, мм (Me: 25; 75%)		82 (76; 91)	85 (72; 92)	0,53
Дооперационное значение ODI, баллы (Me: 25; 75%)		74 (69; 82)	71 (66; 83)	0,34

Примечание. ВАШ — визуально-аналоговая шкала.

Основные результаты исследования

Интраоперационные изменения основных показателей центральной гемодинамики представлены в табл. 2. Установлено, что показатели среднего систолического артериального давления во II группе были значительно ниже по сравнению с I группой (p<0,001) в течение всей операции, а также по сравнению с исходным значением (p<0,001). Но при этом в I группе не отмечено эпизодов артериальной гипотензии (менее 10 мм рт.ст. от исходного артериального давления). Частота сердечных сокращений значительно снизилась в I группе после введения дексметомидина (p=0,003) и имела статистически значимые различия по сравнению со II группой (p<0,001). В I группе зарегистрировано снижение частоты сердечных сокращений в течение операции в среднем ниже на 19,5% от исходного уровня.

При оценке скорости восстановления психомоторных функций установлено, что все пациенты I группы имели в течение 15 мин после экстубации уровень седации «0» по RASS и «II» по Ramsay, при этом у 19 (40%) пациентов II группы в связи с недостаточно полным восстановлением уровня сознания через 15 мин потребовалось продление наблюдения в условиях отделения интенсивной терапии.

При сравнении степени болевых ощущений в области оперативного вмешательства по ВАШ установлен статистически значимо меньший ее уровень в группе пациентов, прооперированных с использованием комплексного протокола оказания хирургической помощи и анестезиологического пособия в течение всего периода наблюдения до выписки из отделения (p<0,05) (рис. 3). Также отмечено, что у пациентов I группы в раннем послеоперационном периоде отсутствовала значимая потребность во введении обезболивающих лекарственных средств, в то время как во II группе с целью снижения локального болевого синдрома применялись наркотические (морфин, 1,0) и ненаркотические (трамадол, 2,0) анальгетики, а также нестероидные противовоспалительные препараты (кетонал, 2,0). Меньший уровень болевого синдрома в области оперативного вмешательства позволил начать активные реабилитационные мероприятия в более короткие сроки.

При анализе потребности в послеоперационном обезболивании (рис. 4) выявлено постепенное снижение количества инъекций препаратов у всех пациентов, при этом в I группе установлена значительно меньшая потребность в послеоперационной анальгезии в течение госпитализации (p=0,002).

405

Таблица 2. Динамика интраоперационных показателей пациентов исследуемых групп

Показатель	Группа	Значение изучаемого показателя на этапах исследования												
		П1	П2	П3	П4	П5	П6	П7	П8	П9	П10	П11	П12	П13
АДс, мм рт.ст., (Me: 25; 75%)	Группа I, n=37	117 (112; 121)	110* (108; 113)	113* (109; 117)	112* (109; 118)	111* (107; 114)	109* (103; 117)	107* (107; 113)	114* (111; 117)	113* (109; 116)	110* (108; 113)	108* (107; 111)	109* (107; 112)	112* (107; 117)
	Группа II, n=49	116 (110; 118)	100 (96; 102)	97 (96; 99)	96 (96; 99)	95 (93; 99)	98 (95; 101)	96 (92; 99)	95 (93; 99)	97 (94; 99)	94 (92; 98)	95 (92; 100)	100 (94; 103)	105 (101; 110)
ЧСС, уд./мин (Me: 25; 75%)	Группа I, n=37	82 (82; 86)	64 (63; 70)	65 (65; 66)	65 (63; 66)	65 (64; 65)	67 (65; 68)	65 (63; 65)	65 (63; 66)	66 (64; 66)	69 (62; 70)	69 (68; 71)	71 (67; 73)	72 (69; 79)
	Группа II, n=49	83 (82; 89)	74* (72; 74)	73* (71; 74)	77* (75; 77)	75* (73; 76)	71 (70; 72)	73* (71; 74)	73* (72; 74)	74* (74; 75)	75 (74; 76)	76 (75; 77)	75 (73; 75)	75 (74; 76)

Примечание. * — достоверность различий между исследуемыми группами на одинаковых этапах исследования. П — показатель времени: перед индукцией наркоза (П1), во время разреза кожи (П2), в дальнейшем через 15-минутные интервалы (в среднем до 120 мин — П3–П10), при ушивании операционной раны (П11), после экстубации (П12) и через 15 мин после экстубации (П13). АДс — среднее систолическое артериальное давление, ЧСС — частота сердечных сокращений.

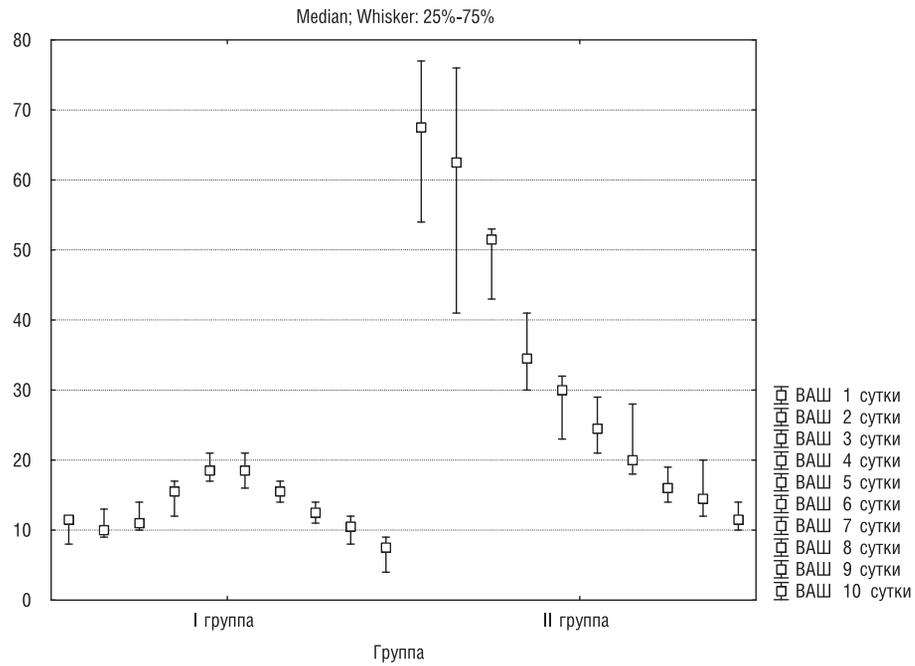


Рис. 3. Результаты межгруппового сравнительного анализа уровня болевого синдрома по ВАШ в области оперативного вмешательства

Примечание. Данные представлены медианой и интерквартильным размахом в виде Ме (25; 75%). ВАШ — визуально-аналоговая шкала.

406

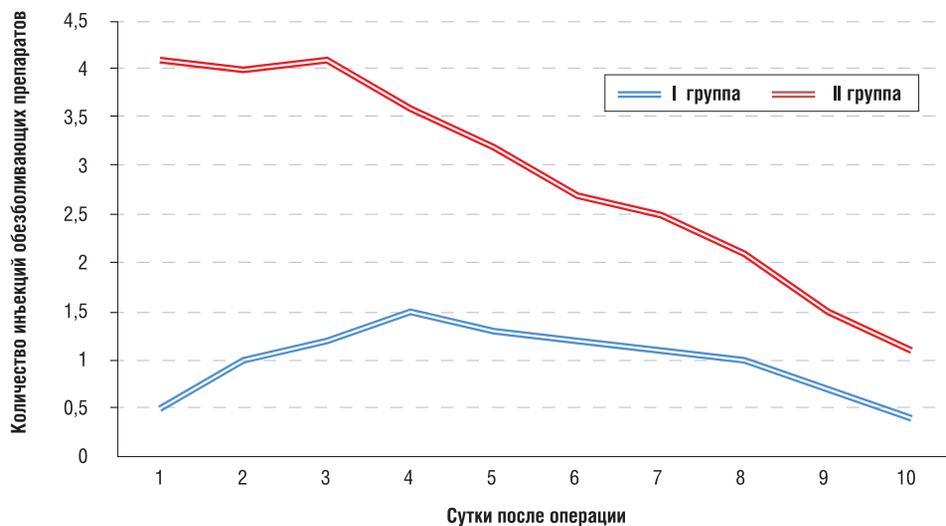


Рис. 4. Количество введенных обезболивающих лекарственных средств у пациентов исследуемых групп в послеоперационном периоде

В отдаленном послеоперационном периоде (в среднем через 36 мес) в обеих группах зарегистрировано снижение выраженности болевых ощущений как в нижних конечностях [с 89 (83; 92) до 3 (1; 4) мм ($p < 0,001$) в I группе и с 91 (85; 93) до 9 (6; 14) ($p < 0,001$) мм во II группе], так и в поясничном отделе позвоночника [с 74 (69; 82) до 6 (4; 9) мм ($p < 0,001$) в I группе и с 85 (72; 92) до 16 (11; 21) мм ($p < 0,001$) во II группе]. При проведении сравнительного анализа уровня боли по ВАШ в отдаленном послеоперационном периоде выявлен статистически значимо меньший уровень болевого синдрома у пациентов I группы в нижних конечностях ($p = 0,006$) и поясничном отделе позвоночника ($p = 0,001$) по сравнению со II группой исследования, связанный с меньшим повреждением паравертебральных мягких тканей и развитием рубцовых интраканальных изменений.

Динамическая оценка функционального состояния по ODI в катанезе (в среднем через 36 мес) выявила

значимое улучшение показателя — с 74 (69; 82) до 8 (6; 10) в I группе ($p < 0,001$) и с 71 (66; 83) до 16 (12; 24) во II группе ($p < 0,001$). При сравнительном межгрупповом анализе в I группе отмечены статистически значимо лучшие показатели по ODI ($p = 0,008$), обусловленные меньшим ятрогенным повреждением мышечно-связочного комплекса.

При изучении исходов оперативных вмешательств по шкале Маспаб в отдаленном периоде (в среднем через 36 мес) в I группе отмечены преимущественно отличные и хорошие результаты — 13 (35%) и 19 (51%), во II группе — 6 (12%) и 19 (39%) соответственно, неудовлетворительных результатов не зарегистрировано. Межгрупповой анализ установил большую удовлетворенность хирургическим вмешательством у пациентов, прооперированных с использованием комплексного протокола оказания хирургической помощи и анестезиологического пособия ($p = 0,01$).

Таблица 3. Характеристика пациентов по операционным критериям

Исследуемые параметры	Группа I, n=37	Группа II, n=49	p
Продолжительность вмешательства, мин (Me: 25; 75%)	145 (105; 155)	185 (150; 205)	0,02
Объем кровопотери, мл (Me: 25; 75%)	110 (90; 140)	510 (390; 640)	<0,001
Глубина операционной раны, мм (Me: 25; 75%)	143 (128; 164)	141 (116; 160)	0,69
Длительность рентгеновского излучения, сек (Me: 25; 75%)	37 (28; 49)	35 (24; 50)	0,32
Сроки активизации, сут (Me: 25; 75%)	1 (1; 2)	3 (3; 4)	0,01
Длительность стационарного лечения, сут (Me: 25; 75%)	10 (9; 11)	13 (12; 15)	0,03

Примечание. Полужирным шрифтом выделены значения коэффициента *p*, соответствовавшие в проведенном исследовании признаку статистической значимости.

Дополнительные результаты исследования

Общие сведения о длительности вмешательства, объеме кровопотери, глубине раны, длительности рентгеновского излучения, сроках активизации и продолжительности стационарного лечения отражены в табл. 3. При межгрупповом сравнении обнаружено, что характеристики глубины операционной раны и длительности использования рентгенологического контроля не имели статистических различий ($p>0,05$). Остальные изучаемые характеристики были значительно меньше в исследуемой группе, чем в группе сравнения. Так, использование минимально инвазивных хирургических технологий позволяет значимо сократить время операции и объем кровопотери, что наряду с применением мультимодального обезбоживания, в том числе с инфильтрацией мягких тканей пролонгированными местными анестетиками, способствует быстрому и безопасному расширению двигательного режима, а также снижает сроки стационарного лечения.

Нежелательные явления

При анализе полученных данных нами не обнаружено осложнений, связанных непосредственно с имплантатами, а также не зарегистрировано значимых побочных эффектов при использовании комплексного протокола лекарственных средств. Межгрупповое сравнение количества послеоперационных осложнений установило значительно меньшее их число в основной группе ($p=0,006$). Так, в основной группе зарегистрировано 3 (8%) осложнения: в 1 случае выявлена инфекция области операционной раны, применение местных антисептиков способствовало купированию воспалительного процесса; в 2 случаях в отдаленном периоде диагностировано симптоматичное заболевание смежного с операцией сегмента, что потребовало дополнительных декомпрессивно-стабилизирующих вмешательств с продлением конструкции.

В группе сравнения диагностировано 9 (18%) осложнений: в 4 случаях верифицировано формирование межмышечного скопления крови, при этом у 2 пациентов отмечены признаки инфицирования (устранение воспалительного процесса произошло после дренирования послеоперационной раны и локального применения антибактериальных препаратов); у 2 пациентов произошло повреждение твердой мозговой оболочки (потребовалось микрохирургическое наложение шва на дефект для восстановления ее герметичности); у 1 пациента при диагностированном тромбозе глубоких вен проводили антикоагулянтную терапию и физиотерапевтическое лечение (при динамическом УЗ-контроле достигнута реканализация тромба); в 2 случаях установлена клинически значимая дегенерация смежного сегмента (выполнение повторных декомпрессивно-стабилизирующих вмешательств с продлением конструкции позволило добиться клинического улучшения в послеоперационном периоде).

Обсуждение

В настоящее время хирургические технологии, используемые при лечении дегенеративных заболеваний у пациентов с избыточной массой тела и ожирением, имеют противоречивые отдаленные клинические исходы [16, 23]. Это в первую очередь связано с глубоким операционным каналом, длительностью операции и интраоперационной кровопотерей [12, 24]. Также частое наличие сопутствующей соматической патологии создает высокие риски проведения оперативного вмешательства и оказания анестезиологического пособия [17, 25, 26]. Кроме того, конституциональные особенности пациентов с высоким ИМТ способствуют развитию инфекции послеоперационной раны и тромбоэмболических осложнений, связанных с большими размерами хирургического доступа и продолжительным вынужденным положением на операционном столе. Это усугубляется увеличением продолжительности постельного режима за счет болевого синдрома в области операционной раны, обусловленного обширной ятрогенной травмой мышечно-связочного аппарата при традиционных хирургических методиках [3, 27].

В работе описывается возможность оптимизации клинических исходов при лечении многоуровневых дегенеративных заболеваний поясничного отдела позвоночника у пациентов с избыточной массой тела и ожирением за счет использования комплексного протокола оказания хирургической помощи и анестезиологического пособия, включающего минимально инвазивные хирургические технологии и оригинальный хирургический доступ к позвоночному каналу, локальную инфильтрацию паравертебральной мускулатуры бупивакаином в сочетании с эпинефрином, мультимодальную анестезию с применением дексметомидина.

Некоторые авторы указывают на сопоставимость исходов минимально инвазивных и открытых хирургических технологий по функциональному состоянию [24, 28], другие свидетельствуют о преимуществах MIS-технологий (minimally invasive solutions) перед традиционными за счет уменьшения кровопотери и длительности операции, но при увеличении интраоперационной рентгеноскопии [18, 29]. Полученные результаты исследования по интраоперационным параметрам (длительность операции, объем кровопотери, продолжительность рентгеновского излучения) и специфичности послеоперационного периода (время активизации, продолжительность госпитализации, количество осложнений), лучшему отдаленному функциональному результату по уровню болевого синдрома по ВАШ в нижних конечностях и поясничном отделе позвоночника, а также функциональному состоянию по ODI свидетельствуют о преимуществах минимально инвазивной ригидной стабилизации перед

традиционным декомпрессивно-стабилизирующим вмешательством.

Значительно выраженный болевой синдром сопряжен с развитием неблагоприятных последствий со стороны сердечно-сосудистой (инфаркт миокарда, нарушение сердечного ритма, повышение артериального давления) и дыхательной (ателектаз, отек легких, гипоксемия) систем. Наличие болевой симптоматики в области операционной раны снижает возможность ранней активизации, увеличивает риски тромбоэмболических осложнений, способствует нарушению уродинамики и кишечной непроходимости [30, 31].

Для контроля за уровнем послеоперационного болевого синдрома после декомпрессивно-стабилизирующих вмешательств используют локальные анестетики. Так, М. Bianconi с соавт. [32] и В. Xu с соавт. [33] выявили значимый регресс болевого синдрома в области операции через 24 и 48 ч после хирургического вмешательства соответственно при использовании ропивакаина после заднего поясничного спондилодеза. Но при этом J. Greze с соавт. [34] не подтвердили значимых межгрупповых различий в потребности в анальгетиках между группой пациентов с использованием ропивакаина и группой пациентов, оперированных без применения местных анестетиков. Нами подтверждена эффективность использования бупивакаина с эпинефрином в виде меньшего уровня локального болевого синдрома и потребности в обезболивающих препаратах, а также в виде ранней активизации и сокращения сроков стационарного лечения.

В исследуемой группе благодаря применению дексмететомидина удалось стабилизировать интраоперационную гемодинамику и избежать кардиодепрессивного эффекта, в отличие от группы сравнения, где применялся пропופол [35, 36]; среди эффектов дексмететомидина можно указать также коррекцию вегетативной болевой реакции и снижение потребности в послеоперационной анальгезии [37, 38]. По литературным данным, использование дексмететомидина в спинальной хирургии направлено на раннее пробуждение пациентов для оценки неврологического статуса [36, 39]. В данном исследовании применение дексмететомидина позволило обеспечить эффективный уровень анестезии без гемодинамически значимых интраоперационных нарушений, быстрое восстановление психомоторных функций после экстубации, значимое уменьшение выраженности послеоперационного болевого синдрома, а также снижение потребности в послеоперационном введении анальгетиков.

При анализе современных литературных баз (e-LIBRARY, PubMed, Embase) авторами не найдено сведений, оценивающих клинические параметры использования комбинации минимально инвазивных хирургических технологий, локальной инфильтрации паравертебральной мускулатуры бупивакаином в сочетании с эпинефрином, мультимодальной анестезии с применением дексмететомидина при лечении многоуровневых дегенеративных заболеваний поясничного отдела позвоночника у пациентов с избыточной массой тела и ожирением. Таким образом, впервые на значительном клиническом материале произведена одномоментная коррекция возможных предоперационных факторов риска при выполнении многоуровневых декомпрессивно-стабилизирующих вмешательств на поясничном отделе позвоночника и общей анестезии у данной группы пациентов, что обуславливает абсолютную новизну исследования.

Проведенное исследование показало, что одновременное использование вышеописанных методик ока-

зания хирургической помощи и анестезиологического пособия позволило улучшить ранние и отдаленные клинические исходы при меньшем числе симптоматичных послеоперационных осложнений.

Ограничение исследования

Одноцентровой характер исследования и отсутствии рандомизации.

Отсутствие исследования степени влияния на динамику болевого синдрома, психосоматический статус, длительность течения заболевания и наличие отягчающей сопутствующей патологии.

Множественность изучаемых параметров не позволяет в полной мере изучить степень влияния каждого из компонентов комплексного протокола на клинический исход.

Заключение

Анализ результатов внедрения комбинации методик оказания хирургической помощи и анестезиологического пособия при лечении многоуровневых дегенеративных заболеваний поясничного отдела позвоночника у пациентов с избыточной массой тела и ожирением показал высокую ее безопасную и эффективность.

Минимально инвазивные декомпрессивно-стабилизирующие хирургические технологии и оригинальный хирургический доступ к позвоночному каналу позволяют достигнуть лучших клинических параметров по степени болевых ощущений в поясничном отделе позвоночника и нижних конечностях, а также функциональному состоянию по ODI за счет меньшего повреждения паравертебральных тканей.

Использование бупивакаина с эпинефрином позволяют значительно снизить уровень локального послеоперационного болевого синдрома, уменьшить потребность в дополнительном обезболивании и начать раннюю реабилитацию пациентов в кратчайшие сроки.

Применение мультимодальной анестезии и дексмететомидина позволяет обеспечить контролируемую глубину наркоза без значимой депрессии сердечно-сосудистой системы на всех этапах хирургического вмешательства, с быстрым и полным восстановлением психосоматических функций без удлинения сроков пребывания в палате интенсивной терапии, а также обеспечивает достаточную степень анальгезии в раннем послеоперационном периоде.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование проведено на личные средства авторского коллектива.

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

Участие авторов: Бывальцев В.А. — разработка концепции и дизайна исследования, анализ полученных данных, редактирование; Калинин А.А. — разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, статистическая обработка данных, подготовка текста; Голобородько В.Ю. — сбор материала, анализ полученных данных, статистическая обработка данных. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Головин К.Ю., Аганесов А.Г., Хейло А.Л., Гурова О.Ю. Хирургическое лечение дегенеративно-дистрофических заболеваний поясничного отдела позвоночника у лиц с избыточной массой тела и ожирением // *Хирургия позвоночника*. — 2013. — №3 — С. 53–61. [Golovin KYu, Aganesov AG, Kheylo AL, Gurova OYu. Surgical treatment of degenerative diseases of the lumbar spine in patients with overweight and obesity. *Spine surgery*. 2013;(3):53–61. (In Russ).]
2. who.int [Internet]. Global Health Observatory (GHO) data. Overweight and obesity [cited 2018 Mar 5]. Available at: http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/overweight_text/en//index.html.
3. Elgafy H, O'Brien P, Blessinger B, Hassan A. Challenges of spine surgery in obese patients. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*. 2012;41:E46–E50.
4. Yadla S, Malone J, Campbell PG, et al. Obesity and spine surgery: reassessment based on a prospective evaluation of perioperative complications in elective degenerative thoracolumbar procedures. *Spine J*. 2010;10(7):581–587. doi: 10.1016/j.spinee.2010.03.001.
5. Guh DP, Zhang W, Bansback N, et al. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 2009;9:88. doi: 10.1186/1471-2458-9-88.
6. Shiri R, Karppinen J, Leino-Arjas P, et al. The association between obesity and low back pain: a metaanalysis. *Am J Epidemiol*. 2010;171(2):135–154. doi: 10.1093/aje/kwp356.
7. DeMaria EJ, Carmody BJ. Perioperative management of special populations: obesity. *Surg Clin North Am*. 2005;85(6):1283–1289. doi: 10.1016/j.suc.2005.09.002.
8. Seicean A, Alan N, Seicean S, et al. Impact of increased body mass index on outcomes of elective spinal surgery. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2014;39(18):1520–1530. doi: 10.1097/BRS.0000000000000435.
9. Casati A, Putzu M. Anesthesia in the obese patient: pharmacokinetic considerations. *J Clin Anesth*. 2005;17:134–145. doi: 10.1016/j.jclinane.2004.01.009.
10. Vaidya R, Carp J, Bartol S, et al. Lumbar spine fusion in obese and morbidly obese patients. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2009;34(5):495–500. doi: 10.1097/BRS.0b013e318198c5f2.
11. Patel N, Bagan B, Vadera S, et al. Obesity and spine surgery: relation to perioperative complications. *J Neurosurg Spine*. 2007;6(4):291–297. doi: 10.3171/spi.2007.6.4.1.
12. Senker W, Meznik C, Avian A, Berghold A. Perioperative morbidity and complications in minimal access surgery techniques in obese patients with degenerative lumbar disease. *Eur Spine J*. 2011;20(7):1182–1187. doi: 10.1007/s00586-011-1689-6.
13. Gu G, Zhang H, He S, et al. The effect of body mass index on the outcome of minimally invasive surgery for lumbar spinal stenosis complicated with lumbar instability. *Chin J Spine Spinal Cord*. 2012;(4):313–317.
14. Rihn JA, Kurd M, Hilibrand AS, et al. The influence of obesity on the outcome of treatment of lumbar disc herniation: analysis of the Spine Patient Outcomes Research Trial (SPORT). *J Bone Joint Surg Am*. 2013;95(1):1–8. doi: 10.2106/JBJS.K.01558.
15. Бывальцев В.А., Калинин А.А., Оконешикова А.К., и др. Фасеточная фиксация в комбинации с межтеловым спондилодезом: сравнительный анализ и клинический опыт нового способа хирургического лечения пациентов с дегенеративными заболеваниями поясничного отдела позвоночника // *Вестник Российской академии медицинских наук*. — 2016. — Т.71. — №5 — С. 375–383. [Byval'tsev VA, Kalinin AA, Okoneshnikova AK, et al. Facet fixation combined with lumbar interbody fusion: comparative analysis of clinical experience and a new method of surgical treatment of patients with lumbar degenerative diseases. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2016;71(5):375–383. (In Russ).] doi: 10.15690/vramn738.
16. Adogwa O, Carr K, Thompson P, et al. A prospective, multi-institutional comparative effectiveness study of lumbar spine surgery in morbidly obese patients: does minimally invasive transforaminal lumbar interbody fusion result in superior outcomes? *World Neurosurg*. 2015;83(5):860–866. doi: 10.1016/j.wneu.2014.12.034.
17. Schwender JD, Holly LT, Rouben DP, Foley KT. Minimally invasive transforaminal lumbar interbody fusion (TLIF): technical feasibility and initial results. *J Spinal Disord Tech*. 2005;18 Suppl:S1–S6. doi: 10.1097/01.bsd.0000132291.50455.d0.
18. Wang J, Zhou Y, Zhang ZF, et al. Comparison of clinical outcome in overweight or obese patients after minimally invasive versus open transforaminal lumbar interbody fusion. *J Spinal Disord Tech*. 2014;27(4):202–206. doi: 10.1097/BSD.0b013e31825d68ac.
19. Патент РФ на изобретение №2508909/ 10.03.14. Бюл. №7. Калинин А.А., Бывальцев В.А., Сороковиков В.А., Белых Е.Г. Способ доступа к позвоночному каналу при стенозирующем поражении пояснично-крестцового отдела позвоночника. [Patent RUS №2508909/ 10.03.14. Byul. №7. Kalinin AA, Byval'tsev VA, Sorokovikov VA, Belykh EG. Sposob dostupa k pozvonochnomu kanalu pri stenoziruyushchem porazhenii pouyasnichno-kresttsovogo otdela pozvonochnika. (In Russ).] Доступно по: <http://www.freepatent.ru/patents/2508909>. Ссылка активна на 12.12.2018.
20. Бывальцев В.А., Калинин А.А., Белых Е.Г., и др. Оптимизация результатов лечения пациентов с сегментарной нестабильностью поясничного отдела позвоночника при использовании малоинвазивной методики спондилодеза // *Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко*. — 2015. — Т.79. — №3 — С. 45–54. [Byval'tsev VA, Kalinin AA, Belykh EG, et al. Optimization of segmental lumbar spine instability treatment using minimally invasive spinal fusion technique. *Zh Vopr Neurokhir Im N N Burdenko*. 2015;79(3):45–54. (In Russ).] doi: 10.17116/neiro201579345-54.
21. Sessler CN, Gosnell MS, Grap MJ, et al. The Richmond Agitation-Sedation Scale: validity and reliability in adult intensive care unit patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166(10):1338–1344. doi: 10.1164/rccm.2107138.
22. Olson D, Lynn M, Thoyre SM, Graffagnino C. The limited reliability of the Ramsay scale. *Neurocrit Care*. 2007;7(3):227–231. doi: 10.1007/s12028-007-0069-x.
23. Rouben D, Casnellie M, Ferguson M. Long-term durability of minimal invasive posterior transforaminal lumbar interbody fusion: a clinical and radiographic follow-up. *J Spinal Disord Tech*. 2011;24(5):288–296. doi: 10.1097/BSD.0b013e3181f9a60a.
24. Terman SW, Yee TJ, Lau D, et al. Minimally invasive versus open transforaminal lumbar interbody fusion: comparison of clinical outcomes among obese patients. *J Neurosurg Spine*. 2014;20(6):644–652. doi: 10.3171/2014.2.SPINE13794.
25. Knutsson B, Michaelsson K, Sanden B. Obesity is associated with inferior results after surgery for lumbar spinal stenosis: a study of 2633 patients from the Swedish spine register. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2013;38(5):435–441. doi: 10.1097/BRS.0b013e318270b243.
26. Бывальцев В.А., Калинин А.А. Возможности применения минимально инвазивных дорсальных декомпрессивно-стабилизирующих вмешательств у пациентов с избыточной массой тела и ожирением // *Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко*. — 2018. — Т.82. — №5 — С. 69–80. [Byval'tsev VA, Kalinin AA. Minimally invasive dorsal decompression-stabilization surgery in patients with overweight and obesity. *Zh Vopr Neurokhir Im N N Burdenko*. 2018;82(5):69–80. (In Russ).] doi: 10.17116/neiro20188205169.

27. Park Y, Ha JW, Lee YT, Sung NY. Percutaneous placement of pedicle screws in overweight and obese patients. *Spine J.* 2011;11(10):919–924. doi: 10.1016/j.spinee.2011.07.029.
28. Tian NF, Wu YS, Zhang XL, et al. Minimally invasive versus open transforaminal lumbar interbody fusion: a meta-analysis based on the current evidence. *Eur Spine J.* 2013;22(8):1741–1749. doi: 10.1007/s00586-013-2747-z.
29. Schizas C, Tzinieris N, Tsiridis E, Kosmopoulos V. Minimally invasive versus open transforaminal lumbar interbody fusion: evaluating initial experience. *Int Orthop.* 2009;33(6):1683–1688. doi: 10.1007/s00264-008-0687-8.
30. Бабаев М.А., Зюлева Т.П., Бугаенко Д.В., и др. Факторы риска и предикторы легочной дисфункции у хирургических пациентов // *Анестезиология и реаниматология.* — 2015. — Т.60. — №4S — С. 14–15. [Babaev MA, Zyuleva TP, Bugaenko DV, et al. Faktory riska i prediktory legochnoi disfunktsii u khirurgicheskikh patsientov. *Anesteziologiya i reanimatologiya.* 2015;60(4S):14–15. (In Russ).]
31. Полупан А.А., Бирг Т.М., Ошоров А.В., Савин И.А. Коррекция артериальной гипертензии в послеоперационном периоде у нейрохирургических пациентов // *Анестезиология и реаниматология.* — 2017. — Т.62. — №3 — С. 190–194. [Polupan AA, Birg TM, Oshorov AV, Savin IA. Correction of arterial hypertension during the postoperative period in neurosurgical patients. *Anesteziologiya i reanimatologiya.* 2017;62(3):190–194. (In Russ).]
32. Bianconi M, Ferraro L, Ricci R, et al. The pharmacokinetics and efficacy of ropivacaine continuous wound instillation after spine fusion Surgery. *Anesth Analg.* 2004;98(1):166–172.
33. Xu B, Ren L, Tu W, et al. Continuous wound infusion of ropivacaine for the control of pain after thoracolumbar spinal surgery: a randomized clinical trial. *Eur Spine J.* 2017;26(3):825–831. doi: 10.1007/s00586-015-3979-x.
34. Greze J, Vighetti A, Incagnoli P, et al. Does continuous wound infiltration enhance baseline intravenous multimodal analgesia after posterior spinal fusion surgery? A randomized, double-blinded, placebo-controlled study. *Eur Spine J.* 2017;26(3):832–839. doi: 10.1007/s00586-016-4428-1.
35. Eren G, Cukurova Z, Demir G, et al. Comparison of dexmedetomidine and three different doses of midazolam in preoperative sedation. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol.* 2011;27(3):367–372. doi: 10.4103/0970-9185.83684.
36. Urban MK, Wukovits B, Flynn E. Dexmedetomidine versus propofol for the sedation of ventilated spinal patients. *Anesthesiology.* 2004;101:A158.
37. Арефьев А.М., Куликов А.С., Лубнин А.Ю. Дексмететомидин в нейроанестезиологии // *Анестезиология и реаниматология.* — 2017. — Т.62. — №3 — С. 213–219. [Aref'ev AM, Kulikov AS, Lubnin AYU. Dexmedetomidine in neuroanesthesiology. *Anesteziologiya i reanimatologiya.* 2017;62(3):213–219. (In Russ).]
38. Gupta P, Joshi S, Jethava D, Kumar A. Dexmedetomidine ameliorates monitored anaesthesia care. *Indian J Anaesth.* 2014;58(2):154–159. doi: 10.4103/0019-5049.130816.
39. Bekker A, Haile M, Kline R, et al. The effect of intraoperative infusion of dexmedetomidine on the quality of recovery after major spinal surgery. *J Neurosurg Anesthesiol.* 2013;25(1):16–24. doi: 10.1097/ANA.0b013e31826318af.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Бывальцев Вадим Анатольевич, д.м.н., профессор [*Vadim A. Byvaltsev*, MD, PhD, Professor]; **адрес:** 664082, Иркутск, ул. Боткина, д. 10 [address: 10, Botkina street, 664082 Irkutsk, Russia]; **тел.:** +7 (3952) 63-85-28, **e-mail:** byval75vadim@yandex.ru, **SPIN-код:** 5996-6477, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4349-7101>

Калинин Андрей Андреевич, к.м.н., доцент [*Andrey A. Kalinin*, MD, PhD, assistant professor]; **e-mail:** andrei_doc_v@mail.ru, **SPIN-код:** 9707-8291, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9039-9147>

Голобородько Виктория Юрьевна [*Victoria Yu. Goloborodko*, MD]; **e-mail:** gra4ova.viky@gmail.com, **SPIN-код:** 7534-8961, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9420-368X>

М.С. Застрожин^{*1, 2}, В.В. Смирнов^{3, 4}, А.С. Сорокин², Е.А. Гришина¹,
К.А. Рыжикова¹, И.А. Бедина², В.В. Шипицын², Л.М. Савченко¹, О.Ж. Бузик^{1, 2}, С.Г. Копоров²,
Е.А. Брюн^{1, 2}, Д.А. Сычев¹

¹ Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования,
Москва, Российская Федерация

² Московский научно-практический центр наркологии, Москва, Российская Федерация

³ Государственный научный центр «Институт иммунологии», Москва, Российская Федерация

⁴ Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет),
Москва, Российская Федерация

Влияние активности CYP2D6 на эффективность и безопасность флувоксамина у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью

411

Обоснование. Алкогольная зависимость часто сочетается с аффективными расстройствами, в частности депрессивным расстройством, что отрицательно сказывается на прогнозе течения обоих заболеваний. Для лечения депрессивного расстройства используют лекарственные средства из группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина, представителем которого является флувоксамин. Терапия флувоксамином сопряжена с риском развития нежелательных лекарственных реакций и фармакорезистентности. В более ранних исследованиях было показано возможное влияние полиморфизма гена CYP2D6, кодирующего одноименный изофермент, на частоту и выраженность нежелательных реакций флувоксамина. **Цель исследования** — изучить влияние активности изофермента CYP2D6 на эффективность и безопасность терапии флувоксамином у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкоголизмом. **Методы.** Исследование проведено на 117 русских пациентах с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью. Пациентам с целью коррекции депрессивных расстройств в рамках циклотимии был назначен флувоксамин в дозировке 50–150 мг/сут. Генотипирование CYP2D6*4 (1846G>A, rs3892097) осуществлялось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с аллельспецифической гибридизацией. Эффективность и безопасность оценивали с помощью валидизированных психометрических шкал и шкалы оценки выраженности нежелательных лекарственных реакций. Для оценки активности CYP2D6 использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией по содержанию в моче эндогенного субстрата данного изофермента и его метаболита — отношение 6-гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро-бета-карболина. **Результаты.** К 9-му дню исследования выраженность депрессивной симптоматики по шкале HAMD статистически значимо отличалась у пациентов с разными генотипами: (GG) 7,0 [6,0; 8,0], (GA) 4,0 [3,0; 5,0] ($p < 0,001$); показатель безопасности, оцененный по шкале UKU: 3,0 [2,0; 4,0], (GA) 4,0 [4,0; 4,2] ($p < 0,001$). Наличие различий сохранялось и на 16-й день: (GG) 5,0 [3,0; 6,0], (GA) 1,5 [1,0; 3,0] ($p < 0,001$); показатель безопасности, оцененный по шкале UKU: (GG) 9,0 [9,0; 10,0], (GA) 6,0 [6,0; 7,0] ($p < 0,001$). Расчет показателей коэффициентов корреляции между разницей в количестве баллов по психометрическим шкалам и метаболическим отношением показал наличие статистически значимой обратной корреляции средней степени силы между показателем эффективности, оцененной с помощью шкалы HAMD ($r = -0,467$, $p < 0,05$). Связь с разницей по шкале UKU отсутствовала ($r = 0,173$, $p > 0,05$). **Заключение.** В данном исследовании было продемонстрировано влияние активности CYP2D6, оцененной по отношению концентраций эндогенного субстрата пинолина и его метаболита 6-гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро-бета-карболина, на показатель эффективности терапии флувоксамином. Повышение активности CYP2D6 снижает эффективность терапии флувоксамином. Влияние активности CYP2D6 на безопасность подтверждено не было. Тем не менее обнаружено влияние полиморфизма гена CYP2D6 на профиль безопасности.

Ключевые слова: фармакогенетика, флувоксамин, персонализированная медицина, CYP2D6, пинолин.

(Для цитирования: Застрожин М.С., Смирнов В.В., Сорокин А.С., Гришина Е.А., Рыжикова К.А., Бедина И.А., Шипицын В.В., Савченко Л.М., Бузик О.Ж., Копоров С.Г., Брюн Е.А., Сычев Д.А. Влияние активности CYP2D6 на эффективность и безопасность флувоксамина у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью. Вестник РАМН. 2018;73(6):411–419. doi: 10.15690/vramn1035)

Обоснование

Флувоксамин рекомендуется для лечения пациентов с депрессивным расстройством [1]. При этом исследования показывают, что частота встречаемости случаев фармакорезистентности пациентов с депрессивным расстройством составляет почти 40% [2].

В настоящее время известно, что основным изоферментом, принимающим участие в метаболизме психо-

тропных лекарств, является CYP2D6 [3, 4]. Кодирующий CYP2D6 ген имеет высокий уровень полиморфизма [5]. Выделяют 4 основные группы носителей различных полиморфизмов в зависимости от уровня активности CYP2D6: нормальные (распространенные), медленные, промежуточные, ультрабыстрые метаболитаторы. Среди медленных метаболитаторов чаще всего встречаются носители аллельных вариантов *3, *4, *5 и *6. Ультрабыстрый метаболизм отмечается у пациентов-носителей

ду- и мультипликаций нормальных аллельных вариантов: (CYP2D6*1) \times N и (CYP2D6*2) \times N. Уже имеются данные о влиянии активности CYP2D6 на показатели индивидуального ответа таких антидепрессантов, как пароксетин [6–8], флуоксетин [6, 5, 9], нортриптилин [10, 11], венлафаксин [12–15].

Флувоксамин по механизму действия селективно ингибирует обратный захват серотонина, оказывая также некоторый ингибирующий эффект на захват норадреналина и дофамина. Таким образом, за счет повышения серотонинергической передачи в мозге препарат снижает депрессивную симптоматику. Есть данные о том, что в метаболизме флувоксамина принимают участие изоферменты CYP2D6, CYP1A2 и CYP2C19. При этом активные метаболиты у самого препарата отсутствуют [16]. Флувоксамин является мощным ингибитором CYP2C19, CYP1A2, CYP3A4 и CYP2D6, что нужно учитывать при назначении лекарств, являющихся субстратами данных изоферментов [16].

Исследования, в ходе которых изучался вопрос о влиянии полиморфизма CYP2D6 на скорость элиминации флувоксамина, имеют противоречивые результаты. Скорее всего, противоречия могут быть связаны с нелиней-

ной кинетикой (вследствие эффекта аутоингибирования CYP2D6). По результатам двух исследований пациентов с рекуррентной депрессией, которые получали терапию флувоксамином в дозе 50–200 мг/сут, было показано отсутствие статистически значимой разницы в показателях концентрации препарата в плазме [17, 18]. В японском исследовании на 46 пациентах с депрессией было показано отсутствие влияния медленного полиморфизма CYP2D6*10 на уровень плазменной концентрации антидепрессанта [19].

По результатам исследований были предложены рекомендации по выбору дозы флувоксамина в зависимости от активности CYP2D6. Для носителей медленных аллельных вариантов рекомендовано назначение стартовой дозы в размере 70% от соответствующей клинической картины, для сверхбыстрых — 150%. Титрование дозы следует проводить под контролем терапевтического лекарственного мониторинга [20].

При этом на сегодняшний день данные о влиянии полиморфизма CYP2D6 на профиль эффективности и безопасности флувоксамина у пациентов русской популяции отсутствуют. Также отсутствуют данные исследований на

M.S. Zastrozhin^{*1,2}, V.V. Smirnov^{3,4}, A.S. Sorokin², E.A. Grishina¹,
K.A. Ryzhikova¹, I.A. Bedina², V.V. Shipitsyn², L.M. Savchenko¹, O.Zh. Buzik^{1,2}, S.G. Koporov²,
E.A. Bryun^{1,2}, D.A. Sychev¹

¹ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russian Federation

² Moscow Research and Practical Centre on Addictions, Moscow, Russian Federation

³ National Research Center Institute of Immunology of Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russian Federation

⁴ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Influence of CYP3A Activity on the Efficacy and Safety of Fluvoxamine in Patients Depressive Disorders and Comorbid Alcohol Use Disorder

BACKGROUND: Alcohol dependence is often combined with affective disorders, in particular, depressive disorder (DD), which worsens adversely affects the prognosis of the course of both diseases and their outcomes. For the treatment of DD, drugs from the group of selective serotonin reuptake inhibitors, whose representative is fluvoxamine, are used. Fluvoxamine therapy is often associated with a risk of development is shown to be ineffective, and a part of patients develop dose-dependent adverse drug reactions (ADR) and pharmacoresistance. **OBJECTIVE:** To study the effects of CYPD6 isoenzyme activity on the efficacy and safety of fluvoxamine therapy in patients with depressive disorders, comorbid with alcoholism. **METHODS:** The study was conducted on 117 Russian patients with DD, alcohol-dependent comorbid. For the purpose of correction of depressive disorders within the framework of cyclothymia, fluvoxamine (Fevarin) was administered to patients at a dosage of 50–150 mg/day. Genotyping was carried out by the method of polymerase chain reaction in Real-time mode with allele-specific hybridization. Efficacy and safety were assessed using validated psychometric scales and an assessment of the severity of ADR. To evaluate the activity of CYP2D6, the method of high performance liquid chromatography with mass spectrometry was used to measure the urinary content of the endogenous substrate of this isoenzyme and its metabolite, the ratio of 6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydro-beta-carboline. **RESULTS:** By the 9th day of the study, the severity of depressive symptoms on the HAMD scale was statistically significantly different in patients with different genotypes: (GG) 7.0 [6.0; 8.0], (GA) 4.0 [3.0; 5.0] ($p < 0.001$); safety indicator, estimated on a UKU scale: 3.0 [2.0; 4.0], (GA) 4.0 [4.0; 4.2] ($p < 0.001$). The presence of differences persisted on the 16th day: (GG) 5.0 [3.0; 6.0], (GA) 1.5 [1.0; 3.0] ($p < 0.001$); safety indicator, estimated on a UKU scale: (GG) 9.0 [9.0; 10.0], (GA) 6.0 [6.0; 7.0] ($p < 0.001$). The calculation of the correlation coefficients between the difference in the number of scores on psychometric scales and the metabolic ratio showed a statistically significant inverse correlation of the average power degree between the efficiency index estimated by the HAMD scale ($r = -0.467$, $p < 0.05$). There was no connection with the difference on the UKU scale ($r = 0.173$, $p > 0.05$). **CONCLUSION:** In a study of a group of 117 patients with DD, comorbid with alcohol dependence, the effect of CYP2D6 activity, estimated by the ratio of the endogenous substrate concentrations of pinolin and its metabolite 6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydro-beta-carboline, on the efficacy of fluvoxamine therapy. This effect was also shown using the results of genotyping. The results of genotyping also showed the existence of a difference in the safety index in patients with different genotypes from the polymorphic marker CYP2D6 1846G>A.

Key words: pharmacogenetics, fluvoxamine, personalized medicine, CYP2D6, pinoline.

(For citation): Zastrozhin MS, Smirnov VV, Sorokin AS, Grishina EA, Ryzhikova KA, Bedina IA, Shipitsyn VV, Savchenko LM, Buzik OZh, Koporov SG, Bryun EA, Sychev DA. Influence of CYP3A Activity on the Efficacy and Safety of Fluvoxamine in Patients Depressive Disorders and Comorbid Alcohol Use Disorder. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(6):411–419. doi: 10.15690/vramn1035

пациентах с коморбидной алкогольной зависимостью, имеющих в анамнезе поражения печени различной степени выраженности, несмотря на высокую частоту встречаемости депрессивных расстройств у данной категории пациентов.

Цель исследования — изучить влияние активности изофермента CYP2D6 на эффективность и безопасность терапии флувоксамином у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкоголизмом.

Методы

Дизайн исследования

Проведено наблюдательное многоцентровое проспективное выборочное неконтролируемое исследование.

Критерии соответствия

Критерии включения:

- наличие диагноза «Депрессивное расстройство (F.32)» и коморбидных диагнозов «Психические и поведенческие расстройства, вызванные употреблением алкоголя»; «Синдром зависимости средней стадии неосложненный»; «Воздержание в условиях, ограничивающих потребление алкоголя (F.10.212)»;
- терапия, содержащая флувоксамин в таблетированной форме в дозировке 100 [50; 150] мг/сут длительностью 16 дней;
- наличие подписанного информированного согласия.

Критерии исключения:

- применение в терапии иных психотропных препаратов, помимо флувоксамина, за исключением получаемого в период лечения абстинентного синдрома бромдигидрохлорфенилбензодиазепаина (Феназепам);
- наличие других психических расстройств;
- наличие выраженных соматических расстройств (за исключением алкогольного гепатита и токсической энцефалопатии);
- масса тела менее 60 кг или превышающая 100 кг;
- клиренс креатинина <50 мл/мин, концентрация креатинина в плазме крови $\geq 1,5$ мг/дл (133 мкмоль/л);
- наличие противопоказаний к применению флувоксамина;
- возраст 75 лет и более.

Феназепам назначался всем больным в течение 5 дней, предшествующих терапии флувоксамином (в период терапии абстинентного синдрома), в дозе 4,0 [2,0; 6,0] мг/сут.

Условия проведения

Исследование проводилось на базе круглосуточных стационаров крупнейшего на территории Российской Федерации центра для лечения пациентов наркологического профиля — Московского научно-практического центра наркологии Департамента здравоохранения города Москвы, включая 2 клинических филиала.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось с октября 2016 по октябрь 2017 г. Исследование проводилось в течение 16 дней. Промежуточный контроль осуществлялся на 9-й день исследования.

Описание медицинского вмешательства

Пациенты с целью терапии депрессивной симптоматики в течение 16 дней получали флувоксамин в табле-

тированной форме в дозировке 50–150 мг/сут. В первый день пациенты сдавали мочу. Исследования с помощью психометрических шкал и шкалы оценки выраженности нежелательных лекарственных реакций (НЛР) выполнялись в 1; 9 и 16-й дни. На 16-й день пациенты сдавали мочу и кровь.

Исходы исследования

Основной исход исследования: безопасность терапии флувоксамином, оцененная с помощью шкалы оценки выраженности НЛР (Udvalg for Kliniske Undersogelser Side-Effect Rating Scale, UKU).

Дополнительные исходы исследования: эффективность терапии флувоксамином, оцененная с помощью психометрических шкал; активность CYP2D6, оцененная с помощью метаболического отношения концентрации специфического эндогенного субстрата CYP2D6 пинолина и его метаболита в моче.

Анализ в подгруппах

Подгруппы сформированы в соответствии с генетическим полиморфизмом CYP2D6: пациенты с генотипами GG, GA и AA.

Методы регистрации исходов

Для оценки эффективности флувоксамина использовались следующие международные психометрические шкалы:

- Пенсильванская шкала патологического влечения (PACS) [21];
- Визуально-аналоговая шкала оценки влечения к алкоголю (ВАШ);
- Шкала общего клинического впечатления (CGI) [22];
- Госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS) [23];
- Шкала депрессии Гамильтона (HAMD) [24];
- Шкала депрессии Бека (BDI) [25].

Профиль безопасности исследовали с помощью шкалы оценки побочного действия (UKU) [26].

Целью трехкратного исследования (1; 9; 16-й дни) пациентов с депрессивными расстройствами, обусловленными алкогольной зависимостью, с помощью данных шкал было отследить период восстановления нормального состояния, поскольку редукция депрессивной симптоматики на фоне применения антидепрессантов у таких больных развивается быстрее, чем у пациентов с люцидной депрессией.

Оценку активности изофермента CYP2D6 осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией путем детекции в моче концентрации эндогенного субстрата данного изофермента пинолина и его метаболита 6-гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро-бета-карболина [27–29].

Генотипирование проводили с использованием венозной крови, собранной на 16-й день от начала исследования. Кровь собиралась в вакуумные пробирки VACUETTE (Greiner Bio-One, Австрия). Для изучения однонуклеотидных генетических полиморфизмов CYP2D6*4 (1846G>A, rs3892097) применяли метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Использовали амплификаторы Dtlite компании «ДНК-Технология» (Россия) и CFX96 Touch Real Time System с программным обеспечением CFX Manager (BioRad, США), а также наборы «SNP-Скрин» ЗАО «Синтол» (Россия). В каждом наборе «SNP-Скрин» использовались два аллельспецифичных зонда, которые позволили раздельно детектировать сразу

Таблица 1. Клинико-демографическая характеристика испытуемых пациентов

Показатель	Пациенты, носители генотипов (%)		p*
	GG; n=85	GA; n=32	
Возраст, лет	35,3±9,2	33,8±8,9	>0,05
Масса, кг	86,4±15,7	84,2±19,36	>0,05
Рост, см	175,6±18,1	172,3±19,62	>0,05
Индекс массы тела, кг/м ²	27,9±3,2	27,6±3,8	>0,05
Доза флувоксамина, мг/сут	95,5±41,5	91,5±40,6	>0,05
Алкогольный стеатогепатит	83 (97,6)	30 (93,8)	>0,05
Токсическая энцефалопатия	71 (83,5)	28 (87,5)	>0,05
Токсическая полинейропатия верхних конечностей	17 (20,0)	8 (25,0)	>0,05
Токсическая полинейропатия нижних конечностей	8 (9,4)	3 (9,4)	>0,05
Вирусный гепатит С	4 (4,7)	1 (3,1)	>0,05
Язвенная болезнь желудка	12 (14,1)	4 (12,5)	>0,05
Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки	0 (0,0)	1 (3,1)	>0,05
Артериальная гипертензия	23 (27,1)	11 (34,4)	>0,05
Активное курение	82 (96,5)	31 (96,9)	>0,05

Примечание.* — по результатам теста Бенджамини–Хохберга (на основе результатов t-теста Стьюдента для независимых переменных с поправкой Уэлча для количественных переменных и двустороннего теста Фишера для качественных признаков).

414

два аллеля исследуемого полиморфизма на двух каналах флуоресценции.

Этическая экспертиза

Исследование одобрено на заседании Локального этического комитета Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования Минздрава России (протокол № 6 от 16.05.2017).

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Расчет размера выборки производился с использованием пакета *rwr* на основе данных, полученных в ранее проведенном исследовании на 45 пациентах [30]. Анализ мощности показал, что размер выборки в 117 пациентов является достаточным для минимизации ошибки 2-го рода (<0,2).

Методы статистического анализа данных

Статистический анализ данных проводился с использованием языка статистического программирования R, в варианте сборки от Microsoft R Application Network R версии 3.3.2 (2016-10-31) с установленным пакетом *checkpoint* для контроля версий используемых статистических пакетов. Для программирования использовалась среда разработки R Studio версии 1.0.136. При выборе метода брали во внимание нормальность распределения выборок, которую оценивали с помощью W-теста Шапиро–Уилка. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ (при статистической мощности свыше 80%). Для сравнения двух выборок непрерывных независимых данных использовали U-тест Манна–Уитни с последующей поправкой на множественное сравнение с помощью теста Бенджамини–Хохберга. Корреляционный анализ проводился с помощью непараметрического теста Спирмена, учитывающего ненормальный характер распределения выборок. Данные в работе представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [Q1; Q3]), а в случае нормального характера их распределения — в виде среднего арифметического и стандартного отклонения (Mean±SD). Сравнение частоты генотипов, а также частоты случаев НЛР производили с помощью теста хи-квадрат Пирсона.

Результаты

Объекты (участники) исследования

В исследовании принимали участие 117 мужчин (средний возраст — 34,32±8,16 года). Клинико-демографическая характеристика пациентов представлена в табл. 1. Сравнимые выборки пациентов были репрезентативными ввиду отсутствия статистически значимых различий по изучаемым показателям.

Основные результаты исследования

По результатам генотипирования CYP2D6 по полиморфному маркеру 1846G>A (rs3892097) у 117 испытуемых были получены следующие данные:

- число пациентов, являющихся носителями генотипа GG, составило 85 (72,6%);
- число пациентов, являющихся носителями генотипа GA, составило 32 (27,4%);
- пациентов с генотипом AA не обнаружено.

Распределение генотипов подчинялось закону Харди–Вайнберга для европейской популяции (результат теста $\chi^2 = 2,94, p = 0,09$).

Результаты анализа данных психометрических шкал и шкалы оценки выраженности НЛР для пациентов, получавших Феназепам, представлены в табл. 2–4.

На рис. 1 представлено графическое отображение изменения суммарного балла по шкале депрессии Гамильтона (HAMD) у пациентов с разными генотипами. Как видно, на момент начала исследования сравниваемые группы были сопоставимы по изучаемому показателю: (GG) 13,0 [13,0; 14,0], (GA) 14,0 [13,0; 15,0], $p = 0,395$. К 9-му дню исследования выраженность депрессивной симптоматики по шкале HAMD статистически значимо отличалась у пациентов с разными генотипами: (GG) 7,0 [6,0; 8,0], (GA) 4,0 [3,0; 5,0], $p < 0,001$. Наличие различий сохранялось и на 16-й день: (GG) 5,0 [3,0; 6,0], (GA) 1,5 [1,0; 3,0], $p < 0,001$. По другим психометрическим шкалам также наблюдалось наличие статистически значимой разницы у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру 1846G>A гена CYP2D6 (rs3892097) на 9-й и 16-й дни исследования.

Таблица 2. Данные психометрических шкал и шкалы оценки выраженности нежелательных лекарственных реакций у пациентов, получавших флувоксамин (баллы), в 1-й день исследования

Шкала	Пациенты, носители генотипов		p*
	GG (n=85)	GA (n=32)	
PACS	7,0 [6,0; 7,0]	7,0 [6,0; 7,0]	0,902
ВАШ	30,0 [28,0; 33,0]	31,0 [27,0; 33,0]	0,752
CGI	3,0 [3,0; 3,0]	3,0 [3,0; 3,0]	0,889
HADS	22,0 [20,0; 24,0]	22,0 [20,8; 24,2]	0,273
HAMD	13,0 [13,0; 14,0]	14,0 [13,0; 15,0]	0,395
UKU	1,0 [1,0; 1,0]	1,0 [1,0; 1,0]	0,725

Примечание. Здесь и в табл. 3–5: * — по результатам теста Бенджамини–Хохберга (на основе результатов U-теста Манна–Уитни). PACS — Пенсильванская шкала патологического влечения, VAS — Визуально-аналоговая шкала оценки влечения к алкоголю, CGI — Шкала общего клинического впечатления, HADS — Госпитальная шкала тревоги и депрессии, HAMD — Шкала депрессии Гамильтона, UKU — Шкала оценки выраженности нежелательных реакций.

Таблица 3. Данные психометрических шкал и шкалы оценки выраженности нежелательных лекарственных реакций у пациентов, получавших флувоксамин (баллы), на 9-й день исследования

Шкала	Пациенты, носители генотипов		p*
	GG (n=85)	GA (n=32)	
PACS	4,0 [3,0; 4,0]	2,0 [2,0; 3,0]	<0,001
ВАШ	16,0 [14,0; 19,0]	10,0 [7,0; 12,0]	<0,001
CGI	2,0 [1,0; 2,0]	1,0 [1,0; 1,0]	<0,001
HADS	12,0 [10,0; 14,0]	7,0 [6,0; 9,0]	<0,001
HAMD	7,0 [6,0; 8,0]	4,0 [3,0; 5,0]	<0,001
UKU	3,0 [2,0; 4,0]	4,0 [4,0; 4,2]	<0,001

Таблица 4. Данные психометрических шкал и шкалы оценки выраженности нежелательных лекарственных реакций у пациентов, получавших флувоксамин (баллы), на 16-й день исследования

Шкала	Пациенты, носители генотипов		p*
	GG (n=85)	GA (n=32)	
PACS	3,0 [2,0; 3,0]	1,0 [0,0; 2,0]	<0,001
ВАШ	10,0 [8,0; 13,0]	4,0 [2,0; 7,0]	<0,001
CGI	1,0 [1,0; 1,0]	1,0 [0,0; 1,0]	<0,001
HADS	8,0 [6,0; 10,0]	4,0 [2,8; 6,0]	<0,001
HAMD	5,0 [3,0; 6,0]	1,5 [1,0; 3,0]	<0,001
UKU	6,0 [5,0; 7,0]	9,0 [8,0; 9,0]	<0,001

Сравнение баллов по шкале выраженности нежелательных лекарственных реакций UKU у пациентов с разными генотипами представлено на рис. 2. На момент начала исследования сравниваемые группы были сопоставимы по данному показателю: (GG) 1,0 [1,0; 1,0],

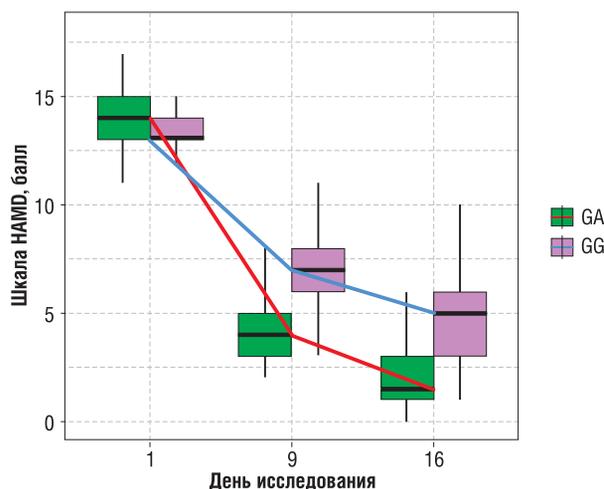


Рис. 1. Динамика симптоматики по шкале депрессии Гамильтона (HAMD) у пациентов с разными генотипами

Примечание. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (цветные линии соединяют медианы в разные дни исследования).

(GA) 1,0 [1,0; 1,0], p=0,725. К 9-му дню исследования выраженность НЛР по шкале UKU статистически значимо различалась в группах пациентов с разными генотипами: (GG) 3,0 [2,0; 4,0], (GA) 4,0 [4,0; 4,2], p<0,001. Разница нарастала на 16-й день терапии: (GG) 9,0 [9,0; 10,0], (GA) 6,0 [6,0; 7,0], p<0,001.

Дополнительные результаты исследования

Результаты фенотипирования представлены в табл. 5. Была получена статистическая значимость в показателе метаболического отношения кортизол/6-бета-гидрокортизол: GA — 0,21 [0,09; 0,43], GG — 0,56 [0,16; 1,29], p=0,001 (рис. 3).

Расчет показателей коэффициентов корреляции между разницей в количестве баллов по психометрическим шкалам и метаболическим отношением показал наличие статистически значимой средней силы обратной

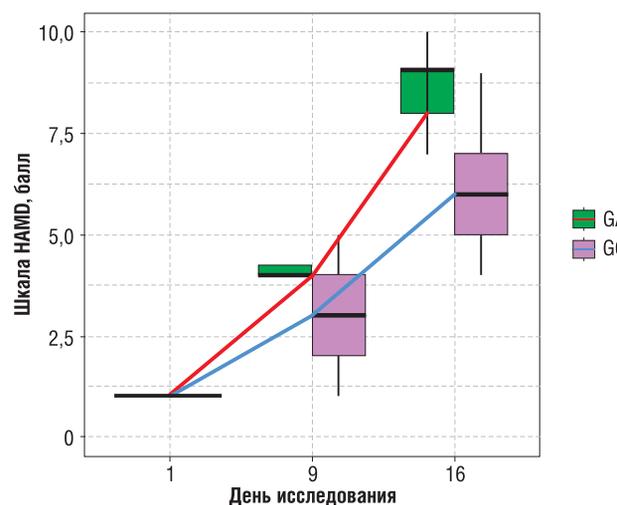


Рис. 2. Динамика симптоматики по шкале выраженности нежелательных лекарственных реакций (UKU) у пациентов с разными генотипами

Примечание. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (цветные линии соединяют медианы в разные дни исследования).

Таблица 5. Разница в показателях концентрации кортизола и его метаболита, а также метаболического отношения у пациентов с разными генотипами

Показатель	Пациенты, носители генотипов		p*
	GA (n=32)	GG (n=85)	
Отношение ТНВС/пинолин, у.е.	0,21 [0,09; 0,43]	0,56 [0,16; 1,29]	0,001
Пинолин, пг/мл	1462,20 [1143,44; 1839,17]	1628,43 [1353,36; 2121,62]	0,120
6М-ТНВС, пг/мл	298,35 [106,40; 658,14]	846,85 [222,32; 2179,40]	0,001

Примечание. ТНВС (от tetrahydro-b-carboline) — тетрагидро-бета-карболин, 6М-ТНВС — 6-метил-тетрагидро-бета-карболин.

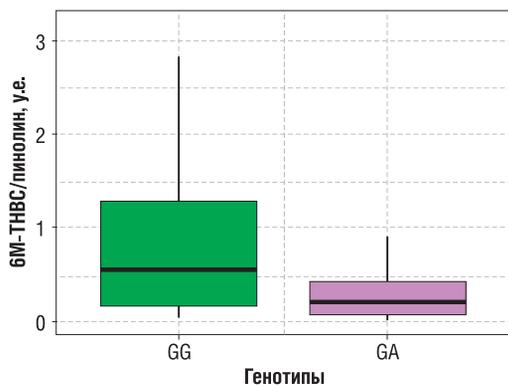


Рис. 3. Разница в показателе отношения концентраций пинолина и его метаболита у пациентов с разными генотипами

Примечание. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха.

корреляции между показателем эффективности, оцененной с помощью шкалы HAMD ($r=-0,467, p<0,05$; рис. 4). Связь с разницей по шкале UKU отсутствовала ($r=0,173, p>0,05$; рис. 5).

Нежелательные явления

Нежелательные явления, которые могут быть потенциально связаны с изучаемым медицинским вмешательством, отсутствовали.

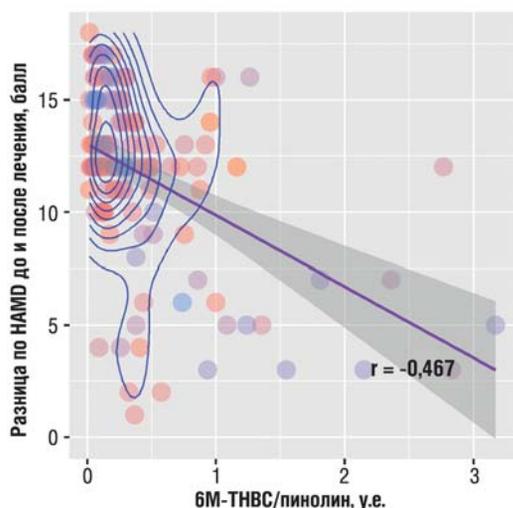


Рис. 4. Связь активности изофермента CYP2D6, оцененная с помощью метаболического отношения 6М-ТНВС/пинолин, с эффективностью терапии депрессивного расстройства, оцененной по разнице количества баллов по шкале депрессии Гамильтона (HAMD)

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

В ходе исследования статистически показано, что профиль эффективности и безопасности флувоксамина у пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью, различался у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру 1846G>A (rs3892097) гена CYP2D6. У пациентов, являющихся носителями генотипов GA, отмечалось более быстрое нарастание баллов по шкале UKU, что свидетельствует о том, что у пациентов, носителей минорного аллеля A, терапия флувоксамином сопряжена с развитием более выраженных нежелательных реакций, чем у носителей аллеля A. При этом эффективность терапии флувоксамином, оцененная с помощью психометрических шкал, была более выражена у пациентов с генотипом GA в сравнении с пациентами, имеющими генотип GG.

Обсуждение основного результата исследования

Результаты нашей работы совпадают с данными метаанализа, опубликованного Каролинским фармакогенетическим консорциумом, в который вошли исследования с участием европейских пациентов, страдающих

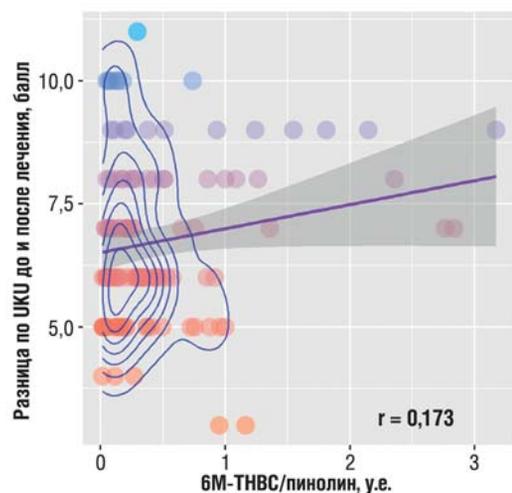


Рис. 5. Связь активности изофермента CYP2D6, оцененная с помощью метаболического отношения 6М-ТНВС/пинолин, с безопасностью терапии тревожного расстройства, оцененной по разнице количества баллов по шкале выраженности нежелательных лекарственных реакций UKU

рекуррентными депрессивными расстройствами [31], а также с результатами нашего обсервационного исследования на небольшой выборке, не включавшего части фенотипирования [30].

Анализируя показатель безопасности флувоксамина, можно предположить, что у пациентов-носителей минорного аллеля А повышается риск развития нежелательных реакций. Вероятнее всего, это может быть связано с падением активности изофермента CYP2D6, что обуславливает замедление биотрансформации и элиминации флувоксамина из организма, нарастание его плазменной концентрации, что в свою очередь может повысить риск развития нежелательных лекарственных реакций вследствие большего поступления активного лекарства к рецепторам-мишеням. Аналогичным механизмом можно объяснить и более выраженный эффект терапии флувоксамином пациентов с депрессивными расстройствами.

Данные генотипирования частично подтверждаются результатами фенотипирования, учитывающего возможные отклонения в активности CYP2D6, оцененного по отношению концентраций эндогенного субстрата пинолина и его метаболита, ввиду наличия сопутствующих поражений печени у пациентов. Было показано, что с возрастанием активности CYP2D6, о чем свидетельствовало повышение уровня метаболического отношения, снижалась эффективность терапии флувоксамином, представленная разницей в количестве баллов по психометрическим шкалам до и после лечения.

Изменение показателя безопасности, к сожалению, не удалось подтвердить с помощью фенотипического исследования, таким образом, говорить о влиянии активности CYP2D6 на безопасность Феназепама в терапии пациентов с аффективными расстройствами, коморбидными с алкоголизмом, не представляется возможным. Тем не менее мы вернемся к данному вопросу после того, как будут получены результаты фармакокинетического исследования (плазменные уровни равновесных концентраций Феназепама, полученные с помощью терапевтического лекарственного мониторинга), а также данные фармакотранскриптомного исследования (уровни равновесных концентрация микро-РНК, с помощью которых возможно произвести оценку активности CYP2D6).

Ограничения исследования

Основным ограничением исследования является отсутствие результатов терапевтического лекарственного мониторинга, что позволяет лишь предполагать изменение скорости метаболизма флувоксамина путем оценки эффективности и безопасности терапии.

Заключение

В исследовании пациентов с депрессивными расстройствами, коморбидными с алкогольной зависимостью, было изучено влияние активности CYP2D6, оцененной по отношению концентраций эндогенного субстрата пинолина и его метаболита 6-гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро-бета-карболина, на показатель эффективности терапии флувоксамином. Данное влияние было также продемонстрировано благодаря результатам генотипирования. По результатам генотипирования показано в том числе существование разницы в показателе

безопасности у пациентов с разными генотипами по полиморфному маркеру CYP2D6 1846G>A. Проанализировав полученные данные, а также на основании имеющихся результатов других исследований, мы предположили, что носительство аллеля А пациентами в положении 1846G>A гена CYP2D6 может приводить к замедлению скорости элиминации флувоксамина, что клинически может выражаться повышенным риском развития его нежелательных лекарственных реакций, но в то же время и более выраженным эффектом препарата. Это необходимо учитывать при назначении флувоксамина пациентам с депрессивными расстройствами, являющимся носителями аллеля А. В частности, с целью снижения риска развития нежелательных лекарственных реакций у данной категории пациентов рекомендуется начинать терапию с более низких доз флувоксамина, чем того требует клиническая картина, не выходя при этом за рамки существующих клинических рекомендаций и стандартов лечения.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант РНФ № 18-75-10073).

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

Участие авторов. Застрожин М.С. — разработка дизайна исследования, набор участников исследования, взятие биоматериала, статистическая обработка данных, написание статьи; Смирнов В.В. — проведение фенотипирования, написание статьи; Сорокин А.С. — проведение генотипирования, проверка и редактирование текста статьи; Рыжикова К.А. — проведение генотипирования, проверка и редактирование текста статьи; Гришина Е.А. — разработка дизайна лабораторной части исследования, проведение генотипирования, проверка и редактирование текста статьи; Бедина И.А. — разработка дизайна исследования, проверка и редактирование текста статьи; Шипицын В.В. — участие в наборе участников исследования, проверка и редактирование текста статьи; Савченко Л.М. — разработка дизайна клинической части исследования, проверка и редактирование текста статьи; Бузик О.Ж. — разработка дизайна исследования, проверка и редактирование текста статьи; Копоров С.Г. — разработка клинической части исследования, проверка и редактирование текста статьи; Брюн Е.А. — разработка дизайна исследования, проверка и редактирование текста статьи; Сычев Д.А. — идея проведения исследования, разработка дизайна исследования, проверка и редактирование текста статьи. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию текста перед публикацией.

Выражение признательности. Авторы выражают глубокую благодарность всем врачам и заведующим Московского научно-практического центра наркологии Департамента здравоохранения города Москвы за неоценимую помощь в проведении данного исследования, а также сотрудникам и администрации учреждений, на базе которых проводились лабораторные исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shiv G, Akhilesh J, Manaswi G. Clinical Practice Guidelines for the management of depression. *Indian J Psychiatry*. 2017;59(5):34–50. doi: 10.4103/0019-5545.196973.
2. Spear BB, Heath-Chiozzi M, Huff J. Clinical application of pharmacogenetics. *Trends Mol Med*. 2001;7(5):201–204. doi: 10.1016/s1471-4914(01)01986-4.
3. Bertilsson L, Dahl ML, Dalen P, Al-Shurbaji A. Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs. *Br J Clin Pharmacol*. 2002;53(2):111–122. doi: 10.1046/j.0306-5251.2001.01548.x.
4. Lin JH, Lu AY. Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. *Clin Pharmacokinet*. 1998;35(5):361–390. doi: 10.2165/00003088-199835050-00003.
5. Shen H, He MM, Liu H, et al. Comparative metabolic capabilities and inhibitory profiles of CYP2D6.1, CYP2D6.10, and CYP2D6.17. *Drug Metab Dispos*. 2007;35(8):1292–1300. doi: 10.1124/dmd.107.015354.
6. Charlier C, Broly F, Lhermitte M, et al. Polymorphisms in the CYP2D6 gene: association with plasma concentrations of fluoxetine and paroxetine. *Ther Drug Monit*. 2003;25(6):738–742. doi: 10.1097/00007691-200312000-00014.
7. Sawamura K, Suzuki Y, Someya T. Effects of dosage and CYP2D6-mutated allele on plasma concentration of paroxetine. *Eur J Clin Pharmacol*. 2004;60(8):553–557. doi: 10.1007/s00228-004-0792-6.
8. Ueda M, Hirokane G, Morita S, et al. The impact of CYP2D6 genotypes on the plasma concentration of paroxetine in Japanese psychiatric patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2006;30(3):486–491. doi: 10.1016/j.pnpbp.2005.11.007.
9. Wang Z, Wang S, Huang M, et al. Characterizing the effect of cytochrome P450 (CYP) 2C8, CYP2C9, and CYP2D6 genetic polymorphisms on stereoselective N-demethylation of fluoxetine. *Chirality*. 2014;26(3):166–173. doi: 10.1002/chir.22289.
10. Dalen P, Dahl ML, Roh HK, et al. Disposition of debrisoquine and nortriptyline in Korean subjects in relation to CYP2D6 genotypes, and comparison with Caucasians. *Br J Clin Pharmacol*. 2003;55(6):630–634. doi: 10.1046/j.1365-2125.2003.01804.x.
11. Lee SY, Sohn KM, Ryu JY, et al. Sequence-based CYP2D6 genotyping in the Korean population. *Ther Drug Monit*. 2006;28(3):382–387. doi: 10.1097/01.ftd.0000211823.80854.db.
12. Eap CB, Bondolfi G, Zullino D, et al. Concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine after multiple doses of fluoxetine in cytochrome P4502D6 poor and extensive metabolizers. *J Clin Psychopharmacol*. 2001;21(3):330–334. doi: 10.1097/00004714-200106000-00013.
13. Fukuda T, Nishida Y, Zhou Q, et al. The impact of the CYP2D6 and CYP2C19 genotypes on venlafaxine pharmacokinetics in a Japanese population. *Eur J Clin Pharmacol*. 2000;56(2):175–180. doi: 10.1007/s002280050737.
14. McAlpine DE, Biernacka JM, Mrazek DA, et al. Effect of cytochrome P450 enzyme polymorphisms on pharmacokinetics of venlafaxine. *Ther Drug Monit*. 2011;33(1):14–20. doi: 10.1097/FTD.0b013e3181fcf94d.
15. Nichols AI, Lobello K, Guico-Pabia CJ, et al. Venlafaxine metabolism as a marker of cytochrome P450 enzyme 2D6 metabolizer status. *J Clin Psychopharmacol*. 2009;29(4):383–386. doi: 10.1097/JCP.0b013e3181acc4dd.
16. Hiemke C, Baumann P, Bergemann N, et al. AGNP Consensus guidelines for therapeutic drug monitoring in psychiatry: update 2011. *Pharmacopsychiatry*. 2011;44(6):195–235. doi: 10.1055/s-0031-1286287.
17. Gerstenberg G, Aoshima T, Fukasawa T, et al. Effects of the CYP2D6 genotype and cigarette smoking on the steady-state plasma concentrations of fluvoxamine and its major metabolite fluvoxamine acid in Japanese depressed patients. *Ther Drug Monit*. 2003;25(4):463–468. doi: 10.1097/00007691-200308000-00008.
18. Watanabe J, Suzuki Y, Fukui N, et al. Dose-dependent effect of the CYP2D6 genotype on the steady-state fluvoxamine concentration. *Ther Drug Monit*. 2008;30(6):705–708. doi: 10.1177/0269881110370504
19. Ohara K, Tanabu S, Ishibashi K, et al. CYP2D6*10 alleles do not determine plasma fluvoxamine concentration/dose ratio in Japanese subjects. *Eur J Clin Pharmacol*. 2003;58 (10):659–661. doi: 10.1007/s00228-002-0529-3.
20. Stingl JC, Brockmoller J, Viviani R. Genetic variability of drug-metabolizing enzymes: the dual impact on psychiatric therapy and regulation of brain function. *Mol Psychiatry*. 2013;18(3):273–287. doi: 10.1038/mp.2012.42.
21. Flannery BA, Volpicelli JR, Pettinati HM, et al. Psychometric properties of the Penn Alcohol Craving Scale. *Alcohol Clin Exp Res*. 1999;23(8):1289–1295. doi: 10.1111/j.1530-0277.1999.tb04349.x.
22. Busner J, Targum SD. The clinical global impressions scale: applying a research tool in clinical practice. *Psychiatry (Edgmont)*. 2007;4(7):28–37.
23. Zigmond AS, Snaith RP. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand*. 1983;67(6):361–370. doi: 10.1111/j.1600-0447.1983.tb09716.x.
24. Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1960;23:56–62. doi: 10.1136/jnnp.23.1.56.
25. Beck AT, Ward CH, Mendelson M, et al. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry*. 1961;4(6):561–571. doi: 10.1001/archpsyc.1961.01710120031004.
26. Lingjaerde O, Ahlfors UG, Bech P, et al. The UKU side effect rating scale. A new comprehensive rating scale for psychotropic drugs and a cross-sectional study of side effects in neuroleptic-treated patients. *Acta Psychiatr Scand Suppl*. 1987;334:1–100. doi: 10.1111/j.1600-0447.1987.tb10566.x.
27. Jiang XL, Shen HW, Yu AM. Pinoline may be used as a probe for CYP2D6 activity. *Drug Metab Dispos*. 2009; 37(3):443–446. doi: 10.1124/dmd.108.025056.
28. Sychev DA, Zastrozhin MS, Grishina EA, et al. The correlation between CYP2D6 isoenzyme activity and haloperidol efficacy and safety profile in patients with alcohol addiction during the exacerbation of the addiction. *Pharmgenomics Pers Med*. 2016;9:89–95. doi: 10.2147/PGPM.S110385.
29. Sychev DA, Zastrozhin MS, Miroshnichenko II, et al. Genotyping and phenotyping of CYP2D6 and CYP3A isoenzymes in patients with alcohol use disorder: correlation with haloperidol plasma concentration. *Drug Metab Pers Ther*. 2017;32(3):129–136. doi: 10.1515/dmpt-2017-0021.
30. Zastrozhin MS, Grishina EA, Denisenko NP, et al. Effects of CYP2D6 genetic polymorphisms on the efficacy and safety of fluvoxamine in patients with depressive disorder and comorbid alcohol use disorder. *Pharmgenomics Pers Med*. 2018;11:113–119. doi: 10.2147/PGPM.S160763.
31. Hicks JK, Bishop JR, Sangkuhl K, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of selective serotonin reuptake inhibitors. *Clin Pharmacol Ther*. 2015;98(2):127–134. doi: 10.1002/cpt.147.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Застрожин Михаил Сергеевич*, к.м.н. [*Mikhail S. Zastrozhin*, MD, PhD]; адрес: 109390, Москва, ул. Люблинская, д. 37/1 [address: 37/1, Lyublinskaya street, 109390 Moscow, Russia]; тел.: +7 (495) 709-64-04; e-mail: mszastrozhin@gmail.com; SPIN-код: 5681-4767, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0607-4812>

Смирнов Валерий Валериевич, к.фарм.н. [*Valery V. Smirnov*, PhD]; e-mail: valsmirnov@gmail.com; SPIN-код: 4171-3871, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8232-6682>

Сорокин Александр Сергеевич [*Alexander S. Sorokin*]; e-mail: assorokin@gmail.com; SPIN-код: 5874-3924; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0053-8252>

Гришина Елена Анатольевна, к.б.н., доцент [*Elena A. Grishina*, PhD, Assistant professor]; e-mail: eagrishina@gmail.com; SPIN-код: 3357-3591, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5621-8266>

Рыжикова Кристина Анатольевна [*Kristina A. Ryzhikova*]; e-mail: karyzhikova@gmail.com; SPIN-код: 2604-1922; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3505-8520>

Бедина Инесса Александровна, к.м.н., доцент [*Inessa A. Bedina*, MD, PhD, Assistant professor]; e-mail: iabedina@gmail.com; SPIN-код: 8875-1830; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8472-9573>

Шипицын Валерий Валериевич [*Valery V. Shipitsyn*]; e-mail: vshipitsyn@gmail.com; SPIN-код: 2261-1516, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-9385-9275>

Савченко Людмила Михайловна, к.м.н., профессор [*Ludmila M. Savchenko*, MD, PhD, Professor]; e-mail: lmsavchenko@gmail.com, SPIN-код: 6638-6651, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2411-3494>

Бузык Олег Жанович, д.м.н., доцент [*Oleg Zh. Buzik*, MD, PhD, Professor]; e-mail: ozhbuzik@gmail.com; SPIN-код: 2747-6209; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-8265-9274>

Копоров Сергей Георгиевич, к.м.н. [*Sergey S. Koporov*, MD, PhD]; e-mail: sergeykoporov@gmail.com; SPIN-код: 2747-6209, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2584-4832>

Брюн Евгений Алексеевич, д.м.н., профессор [*Evgeny A. Bryun*]; e-mail: evgenybryunrmapo@gmail.com; SPIN-код: 6736-7656; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8366-9732>

Сычев Дмитрий Алексеевич, член-корр. РАН, д.м.н., профессор [*Dmitry A. Sychev*, MD, PhD, Professor]; e-mail: dmitrysychevrmapo@gmail.com; SPIN-код: 4525-7556, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4496-3680>

А.А. Кубанов, А.Э. Карамова, В.В. Чикин, Е.В. Богданова, Е.С. Мончаковская

Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии, Москва, Российская Федерация

Эпидемиология и состояние оказания медицинской помощи больным врожденным буллезным эпидермолизом в Российской Федерации

Обоснование. Врожденный буллезный эпидермолиз (ВБЭ) является наследственным заболеванием. Качество и продолжительность жизни больных наиболее тяжелыми типами ВБЭ — дистрофическим и пограничным — значительно снижены. Терапия больных ВБЭ включает использование средств ранозаживляющего действия, лечение осложнений заболевания. **Цель исследования** — изучить распространенность и заболеваемость врожденным буллезным эпидермолизом в субъектах Российской Федерации, социально-демографические характеристики больных, объемы оказываемой медицинской помощи. **Методы.** Для проведения исследования были разработаны карты, позволяющие обобщить демографические и медико-социальные сведения о больных ВБЭ, которые были направлены в кожно-венерологические диспансеры и центры специализированной медицинской помощи субъектов Российской Федерации, оказывающие медицинскую помощь по профилю «дерматовенерология». Данные о больных ВБЭ за период 2014–2016 гг. получали методом выкопировки из медицинских карт пациента, получающего медицинскую помощь в амбулаторных условиях (учетная форма № 025у). Критерием включения больного в исследование был установленный диагноз «Врожденный буллезный эпидермолиз». На основании полученных данных и данных о численности населения и числе родившихся по субъектам Российской Федерации в 2014–2016 гг. рассчитывали показатели распространенности и заболеваемости ВБЭ в субъектах РФ. **Результаты.** Получены данные о 439 больных ВБЭ из 70 субъектов РФ по состоянию на конец 2014 г., о 404 больных из 59 субъектов РФ — по состоянию на конец 2015 г., о 417 больных из 60 субъектов РФ — по состоянию на конец 2016 г. В 2014 г. среди больных ВБЭ, находившихся под наблюдением с диагностированным типом заболевания, преобладали больные простым (19,6%) и дистрофическим (11,6%) ВБЭ. У большинства (66%) больных ВБЭ тип заболевания не был установлен. В 2016 г. преобладали больные простым (48%) и дистрофическим (24,2%) ВБЭ. У 25% больных тип ВБЭ не был указан. Согласно оценке, распространенность ВБЭ в РФ в 2014 г. составила 3,6 на 1 млн населения (по данным 70 субъектов), в 2015 г. — 3,8 (по данным 59 субъектов), в 2016 г. — 3,9 (по данным 60 субъектов). Заболеваемость ВБЭ в 2015 г. составила 0,22, а в 2016 г. — 0,33 на 1 млн населения. **Заключение.** В 2016 г. по сравнению с 2014 увеличилась доля больных с установленным типом ВБЭ. Значимой динамики распространенности ВБЭ на территории субъектов Российской Федерации не отмечено.

Ключевые слова: врожденный буллезный эпидермолиз, распространенность, заболеваемость, объемы медицинской помощи, инвалидность.

(Для цитирования: Кубанов А.А., Карамова А.Э., Чикин В.В., Богданова Е.В., Мончаковская Е.С. Эпидемиология и состояние оказания медицинской помощи больным врожденным буллезным эпидермолизом в Российской Федерации. Вестник РАМН. 2018;73(6):420–430. doi: 10.15690/vramn980)

Обоснование

Определение, типы ВБЭ

Врожденный буллезный эпидермолиз (ВБЭ) — группа наследственных генетически обусловленных заболеваний, характеризующихся нарушением продукции особых структурных белков кожи, обеспечивающих интраэпидермальные или дермо-эпидермальные связи, что приводит к формированию пузырей на коже и слизистых оболочках при механическом воздействии [1]. В зависимости от уровня образования пузыря выделяют 4 типа врожденного буллезного эпидермолиза — простой, пограничный, дистрофический и синдром Киндлера [2], которые существенно различаются по выраженности поражения кожи, слизистых оболочек и общему состоянию больных [3–5].

Диагностика ВБЭ

Согласно российским федеральным клиническим рекомендациям по ведению больных врожденным буллезным эпидермолизом, а также клиническим рекомендациям, принятым зарубежными медицинскими сообществами, диагностика ВБЭ в настоящее время основывается на анализе клинических проявлений, анамнеза заболевания и результатов лабораторных исследований — иммунофлуоресцентного антигенного картирования или трансмиссионной электронной

микроскопии [2, 6]. Иммунофлуоресцентное антигенное картирование позволяет установить, экспрессия какого из структурных белков кожи нарушена. Трансмиссионная электронная микроскопия обнаруживает ультраструктурный дефект клеточных и внутриклеточных десмосом, полудесмосом, кератиновых филаментов, крепящих (якорных) филаментов, крепящих (якорных) фибрилл и уровень его расположения в эпидермисе или базальной мембране.

Генетические исследования позволяют выявить мутации, лежащие в основе развития болезни, однако в настоящее время они рекомендованы лишь с целью генетического консультирования при планировании рождения ребенка [2]. Для диагностики ВБЭ генетические исследования не считаются необходимыми. Так, в Испании 65% больным дистрофическим буллезным эпидермолизом диагноз был установлен без проведения генетических исследований [7]. Точная информация о мутации сможет получить клиническое значение лишь в том случае, если будет внедрена в практику считающаяся в настоящее время экспериментальной генная терапия. Не рекомендуется использовать полученную в результате генетических исследований информацию о мутации для прогнозирования течения ВБЭ, так как тяжесть и течение болезни могут существенно различаться даже среди родственников с одной мутацией, предположительно в связи с возможным

влиянием экологических или модифицирующих генетических факторов [2].

Клинические проявления, осложнения ВБЭ

Наиболее тяжелыми проявлениями характеризуются дистрофический и пограничный типы врожденного буллезного эпидермолиза [8]. На месте незначительных травм формируются длительно незаживающие инфицированные эрозии и язвы, образуются атрофические или гипертрофические рубцы. Поражаются придатки кожи с развитием алопеции и ониходистрофий различной степени выраженности. Может развиваться поражение зубов в виде гипоплазии эмали, множественного кариеса и выпадения зубов. Возможно поражение желудочно-кишечного тракта в виде рубцовых стриктур и стенозов пищевода, синдрома нарушенного всасывания, хронических запоров, трещин ануса и стеноза анального отверстия. Поражение мочеполовой системы проявляется стриктурами уретры, стенозом отверстия мочеиспускательного канала, рубцами и стриктурами влагалища, рецидивирующими циститами. Может наблюдаться поражение опорно-двигательного аппарата, проявляющееся остеопенией и остеопорозом, сгибательными контрактурами конечностей, псевдосиндактилиями. Возможно развитие анемии. В тяжелых случаях наблюдается отставание больных в росте и физическом развитии.

Для пограничного и рецессивного дистрофического врожденного буллезного эпидермолиза характерно значительное сокращение продолжительности жизни больных. Тяжелым осложнением ВБЭ, угрожающим жизни больных, является сепсис. Характерным для дистрофического типа заболевания является формирование плоскоклеточного рака на участках рубцовых изменений или по краям длительно незаживающих дефектов кожи [9–11]. Быстрометастизирующий инвазивный плоскоклеточный рак кожи является одной из наиболее частых причин смерти больных дистрофическим типом ВБЭ [12].

Разнообразие клинических проявлений врожденного буллезного эпидермолиза и его осложнений определяет необходимость наблюдения больных у специалистов различного профиля [8]. Больные нуждаются в консультациях не только дерматолога, но и медицинского генетика, оториноларинголога, стоматолога, неонатолога/педиатра/терапевта, гастроэнтеролога, хирурга, онколога и специалистов других профилей. Тяжесть состояния больного может потребовать его госпитализации. Показано, что для взрослых больных затраты на госпитализацию наряду с затратами на посещения медицинских работников и медицинские изделия составляли большую часть прямых медицинских затрат. В то же время для детей преобладали затраты на посещения медицинских работников, госпитализации и прямые немедицинские затраты, т.е. обучение лиц, осуществляющих уход за ребенком [13].

Лечение ВБЭ

Объем медицинской помощи, необходимой больному ВБЭ, зависит от выраженности поражения кожи и слизистых оболочек, наличия осложнений и сопутствующих заболеваний. В настоящее время терапия врожденного буллезного эпидермолиза заключается в уходе за длительно незаживающими дефектами кожи и коррекции развившихся осложнений болезни [14]. Для планирования объемов медицинской помощи, необходимой больным ВБЭ, проживающим на территории субъектов Российской Федерации, а также их лекарственного обеспечения и обеспечения медицинскими изделиями необходимы данные о числе больных ВБЭ и тяжести заболевания.

Однако данная нозология в формах федерального статистического наблюдения отдельно не выделена, по этой причине в настоящее время в Российской Федерации официальные статистические данные по распространенности и заболеваемости населения врожденным буллезным эпидермолизом, а также по объемам оказываемой

421

A.A. Kubanov, A.E. Karamova, V.V. Chikin, E.V. Bogdanova, E.S. Monchakovskaya

State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Epidemiology and Providing of Healthcare for Patients with Inherited Epidermolysis Bullosa in the Russian Federation

BACKGROUND: Inherited epidermolysis bullosa is a group of genetic skin disorders. In most severe forms, such as junctional and dystrophic subtypes, quality of life and life expectancy are significantly decreased. Therapeutic approaches include wound care and complication treatment. **AIMS:** To evaluate the incidence and prevalence of inherited epidermolysis bullosa in the Russian Federation, sociodemographic characteristics and provision of healthcare. **METHODS:** To conduct the research forms summarizing demographic, medical and social information on inherited epidermolysis bullosa patients were developed. The forms were sent to state outpatient dermatologic clinics in federal subject of the Russian Federation. Data on inherited epidermolysis bullosa patients from outpatient dermatologic clinics were obtained within the period of 2014–2016 by extracting information from their medical charts. A confirmed inherited epidermolysis bullosa diagnosis was considered as an inclusion criterion for the research. Based on the collected data prevalence and incidence rate were estimated. **RESULTS:** Data on 439 patients from 70 federal subject at year-end 2014, 404 patients from 59 federal subject at year-end 2015 and 417 patients from 60 federal subject at year-end 2016 were collected. In 2014 EB simplex was diagnosed in 19.6% patients, dystrophic EB — in 11.6% patients. In most patients (66%) EB type was not diagnosed. In 2016 patients with EB simplex (48%) and dystrophic EB (24.2%) prevailed. In 25% patients an EB type was not specified. In 2014 the prevalence rates were estimated as 3.6 (in 70 federal subject), in 2015 — 3.8 (in 59 federal subject), in 2016 — 3.9 per 1 million population (in 60 federal subject). The incidence rates were estimated as 0.22 and 0.33 per 1 million population in 2015 and 2016 respectively. **CONCLUSIONS:** In 2016 the percent of patients with established EB type has increased in comparison to 2014. No significant changes in prevalence rates has been registered.

Key words: inherited epidermolysis bullosa, incidence, prevalence, healthcare delivery/provision, disability.

(For citation) Kubanov AA, Karamova AE, Chikin VV, Bogdanova EV, Monchakovskaya ES. Epidemiology and Providing of Healthcare for Patients with Inherited Epidermolysis Bullosa in the Russian Federation. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(6):420–430. doi: 10.15690/vramn980

медицинской помощи отсутствуют, что и побудило к проведению настоящего исследования.

Цель исследования — изучить распространенность и заболеваемость врожденным буллезным эпидермолизом в субъектах Российской Федерации, социально-демографические характеристики больных, объемы оказываемой медицинской помощи.

Методы

Дизайн исследования

Проведено наблюдательное одномоментное эпидемиологическое исследование.

Критерии соответствия

В исследование включали данные о больных врожденным буллезным эпидермолизом обоего пола любого возраста.

Условия проведения

Исследование выполняли на базе отдела дерматологии ФГБУ «Государственный научный центр дерматологии и косметологии» Минздрава России.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось в период с 2015 по 2017 г.

Исходы исследования

Устанавливали число больных различными типами врожденного буллезного эпидермолиза в субъектах Российской Федерации за период 2014–2016 гг., оценивали их распределение по полу и возрасту, в том числе определяли число несовершеннолетних больных. Рассчитывали распространенность врожденного буллезного эпидермолиза в субъектах Российской Федерации, оценивали динамику показателей распространенности врожденного буллезного эпидермолиза в субъектах Российской Федерации с 2014 по 2016 г. Определяли число случаев ВБЭ с диагнозом, установленным впервые в жизни; рассчитывали соответствующие показатели заболеваемости.

Рассчитывали структуру инвалидности по группам инвалидности. Оценивали объемы оказываемой больным медицинской помощи и лекарственного лечения.

Методы регистрации исходов

Для проведения исследования были разработаны карты, позволяющие обобщить данные о числе больных с диагнозом ВБЭ, их распределение по типам болезни, демографические (возраст, пол) и медико-социальные (наличие инвалидности) сведения о больных. Карты содержали также предназначенные для заполнения поля об объемах оказываемой больным медицинской помощи, лекарственном лечении. Разработанные карты были направлены в кожно-венерологические диспансеры и центры специализированной медицинской помощи субъектов Российской Федерации, оказывающие медицинскую помощь по профилю «дерматовенерология». Данные о больных ВБЭ за период 2014–2016 гг. получали методом выкопировки из медицинских карт пациента, получающего медицинскую помощь в амбулаторных условиях (учетная форма № 025у). Критерием включения пациента в исследование был установленный диагноз «Врожденный буллезный эпидермолиз», подтвержденный соответствующими записями в медицинской карте

пациента, получающего медицинскую помощь в амбулаторных условиях.

На основании полученных данных были рассчитаны показатели распространенности и заболеваемости ВБЭ в субъектах Российской Федерации. Данные о численности населения в субъектах Российской Федерации в 2014–2016 гг. были получены на сайте Федеральной службы государственной статистики (www.gks.ru).

Динамику распространенности ВБЭ за период 2014–2016 гг. оценивали в субъектах Российской Федерации, которые предоставили сведения о числе больных в 2014 и 2016 гг.

Этическая экспертиза

Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом при федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (выписка из протокола заседания № 12 от 16.10.2013).

Статистический анализ

Для представления изученных показателей использовали методы описательной статистики. Расчеты проводили с использованием программы Statistica v.10 (StatSoft Inc., США).

Результаты

Участники исследования

Больные врожденным буллезным эпидермолизом, проживающие в субъектах Российской Федерации.

Данные о больных врожденным буллезным эпидермолизом на конец 2014 г. были получены из 70 субъектов Российской Федерации, на конец 2015 г. — из 59 субъектов, на конец 2016 г. — из 60 субъектов.

Анализ данных по инвалидности, объемам медицинской помощи и лекарственному лечению, получаемому больными ВБЭ, был выполнен на основании информации о 232 пациентах, проживавших в 2015 г. в 18 субъектах Российской Федерации.

Результаты исследования

В 2014 г. в медицинских организациях 70 субъектов Российской Федерации под наблюдением состояли 439 больных ВБЭ, из них 211 (48%) женщин и 228 (52%) мужчин. Общее число больных ВБЭ в 60 субъектах Российской Федерации на конец 2016 г. составило 417. Как и в 2014 г., наблюдалось некоторое преобладание пациентов мужского пола — 52%.

В результате анализа данных о больных ВБЭ, состоявших под наблюдением на конец 2016 г., выявлено 33 семьи, в которых имелось более 1 случая заболевания. В 29 семьях присутствовало указание на передачу заболевания по наследству между поколениями или наличие ВБЭ у сибсов. В 3 семьях наличие ВБЭ отмечено в 3 поколениях, в 7 семьях — в 2 поколениях. В 21 семье заболевание зарегистрировано среди сибсов. В 4 семьях было указано наличие отягощенной наследственности без уточнения.

Возраст пациентов с ВБЭ находился в диапазоне от 0 до 79 лет. Более половины (62%) составляли дети и подростки в возрасте от 0 до 17 лет. Распределение пациентов по возрасту имело асимметричный характер. Средний возраст (\pm стандартное отклонение) больных был равен $16,1 \pm 14,0$ лет, медиана — 13, мода (наиболее часто встре-

чающееся значение в возрастном ряду) — 2 годам (25 пациентов) (рис. 1).

На возрастную группу от 0 до 5 лет приходилась 1/4 всех пациентов (25,6%), 19,3% — на возрастную группу 6–10 лет (рис. 2).

Проведено сравнение структуры распределения больных ВБЭ, зарегистрированных на конец 2014 и 2016 гг., по типам заболевания. В 2014 г. среди больных ВБЭ, находившихся под наблюдением, у 19,6% был диагностирован простой, у 11,6% — дистрофический, у 1,4% — другой ВБЭ, у 0,7% — пограничный, у 0,7% — неуточненный ВБЭ. У большинства (66,0%) больных ВБЭ тип заболевания не был установлен. Почти половине больных (200; 48,0%), находившихся под наблюдением на конец 2016 г., был установлен диагноз простого врожденного буллезного эпидермолиза (Q81.0). Диагноз дистрофического ВБЭ (Q81.2) был установлен 101 больному (24,2%), неуточненного (Q81.9) — 6 (1,4%), пограничного (Q81.1) — 3 (0,7%), другого (Q81.8) — 3 (0,7%). У 1/4 пациентов (104; 25,0%) тип ВБЭ не был указан (рис. 3).

Таким образом, следует отметить сокращение доли пациентов, у которых не был диагностирован тип заболевания, с 66% в 2014 г. до 25% в 2016 и соответствующее

увеличение доли пациентов с простым (с 19,6% в 2014 г. до 48% в 2016) и дистрофическим (с 11,6 до 24%) типом ВБЭ.

Тем не менее в 10 из 60 субъектов Российской Федерации среди пациентов с установленным типом заболевания преобладали больные дистрофическим ВБЭ (Архангельская, Вологодская, Оренбургская, Саратовская, Тамбовская области, г. Санкт-Петербург, Республика Мордовия, Чувашская Республика, Ханты-Мансийский и Ямало-Ненецкий автономные округа).

Средний возраст, а также медиана и мода возраста были самыми высокими в подгруппе больных, у которых не был указан тип заболевания (средний возраст 18,2±13,2 года, медиана 15 лет, мода 8 лет). Медиана возраста в подгруппе больных простым ВБЭ составила 12 лет, дистрофическим — 10 лет, неуточненным — 7 лет, а средний возраст соответственно 16,8±14,2, 15,0±14,7 и 6,7±5,1 года. В связи с малым количеством наблюдений средний возраст больных пограничным и другими типами ВБЭ не рассчитывали.

Практически во всех возрастных группах пациенты с простым типом ВБЭ составляли около 50%. На долю пациентов с дистрофическим типом ВБЭ пришлось от 20 до

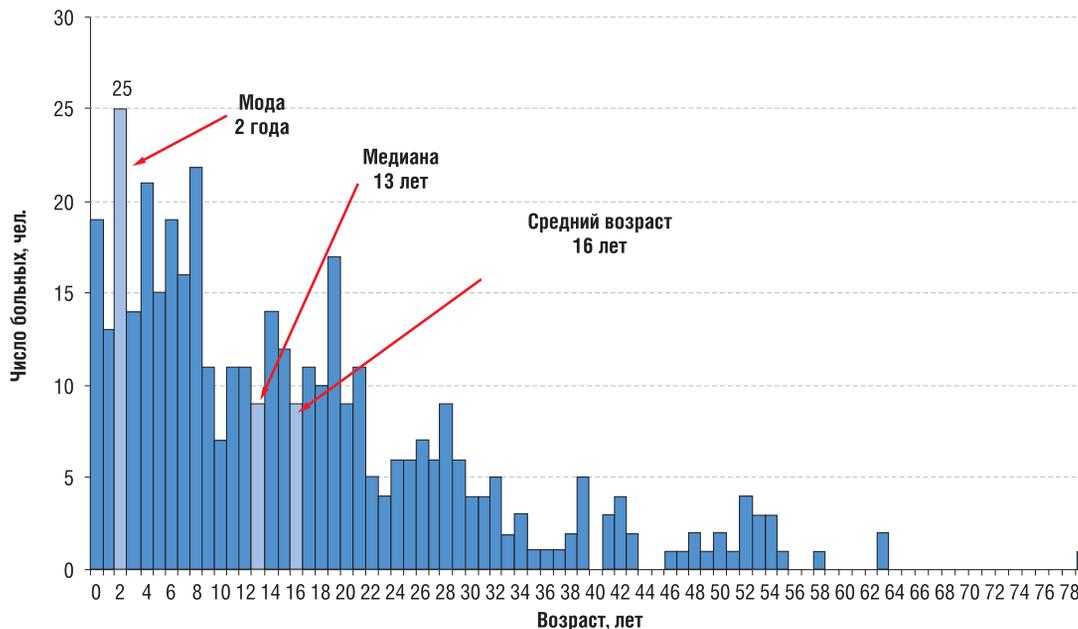


Рис. 1. Распределение больных врожденным буллезным эпидермолизом по возрасту

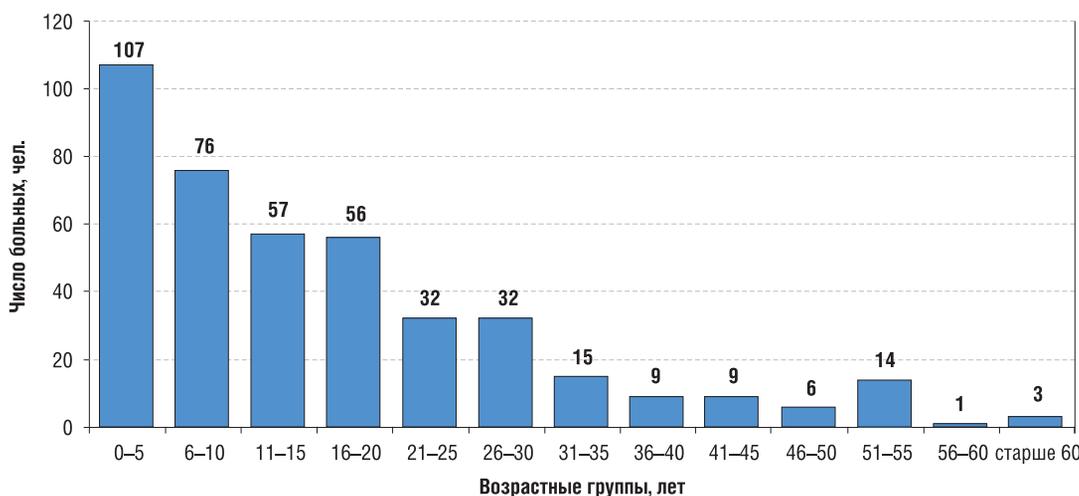


Рис. 2. Распределение больных врожденным буллезным эпидермолизом по возрастным группам

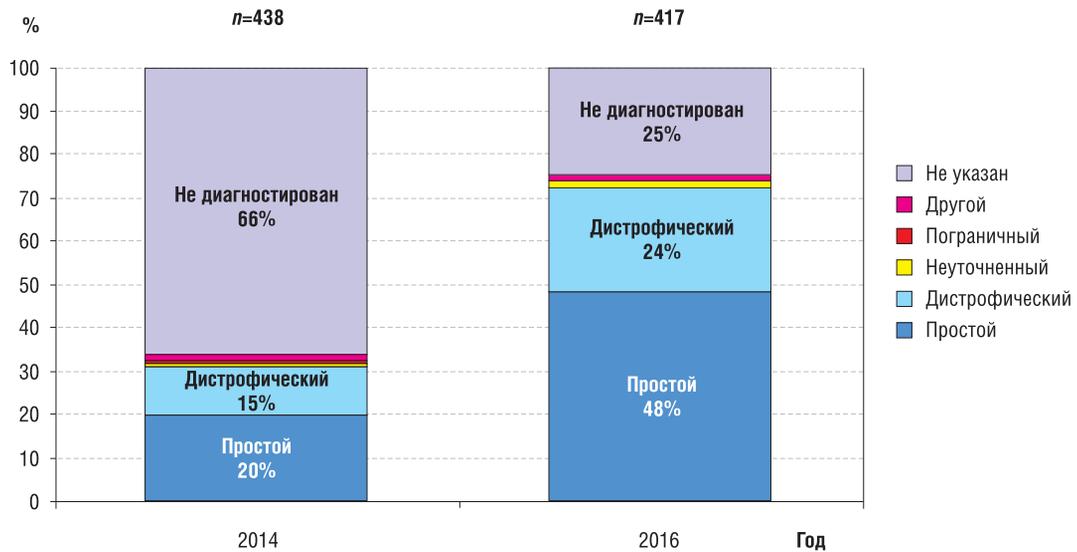


Рис. 3. Распределение больных врожденным буллезным эпидермолизом в зависимости от типа заболевания в 2014 и 2016 гг.

30%. Доля пациентов, у которых тип ВБЭ не был указан, была наименьшей среди детей в возрасте 0–5 лет (16%) и 6–10 лет (24%), а начиная с возрастной группы 11–15 лет составляла около 30% (рис. 4).

Были рассчитаны показатели распространенности ВБЭ в субъектах РФ. В 2014 г. распространенность ВБЭ варьировала от 0 до 19,82 на 1 млн населения, составляя в среднем в 70 субъектах 3,6 на 1 млн. Максимальные по-

424

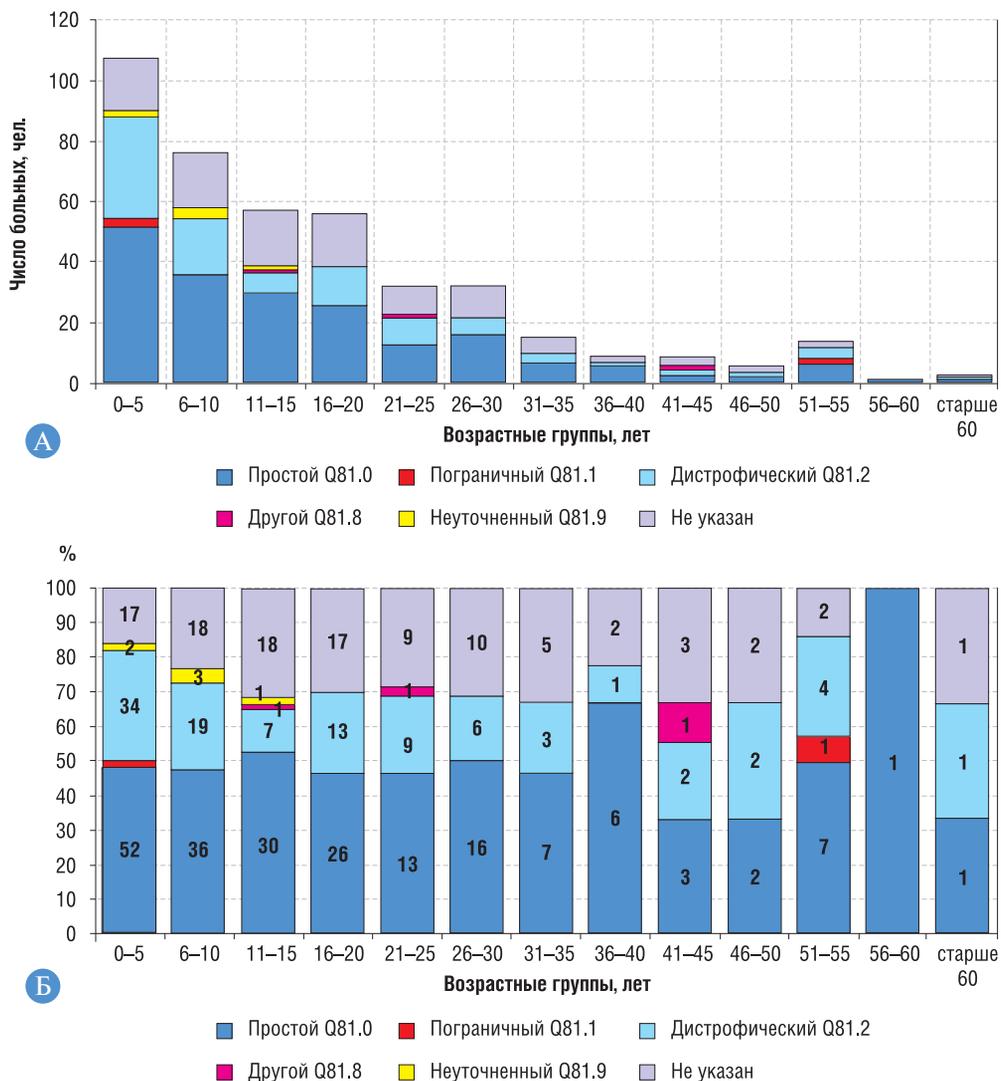


Рис. 4. Распределение больных различными типами врожденного буллезного эпидермолиза по возрастным группам

казатели распространенности ВБЭ, в 4–5 раз превышающие средний по 70 субъектам показатель, были отмечены в республиках Дагестан (19,82), Чеченской (14,72), Мордовской (13,57) и Томской области (17,72).

В 2015 г. число больных ВБЭ в 59 субъектах РФ составило 404. Показатель распространенности варьировал от 0 до 21,03 на 1 млн населения, составляя в среднем по 59 субъектам 3,8. Максимальные показатели были зарегистрированы в республиках Мордовия (21,03), Ингушетия (14,95), Крым (11,04), Тамбовской (15,15) и Томской (13,02) областях.

В 2016 г. число больных ВБЭ в 60 субъектах РФ составило 417. Показатель распространенности по субъектам находился в тех же пределах — от 0 до 21,03 на 1 млн населения, составив в среднем 3,9. Максимальные показатели по-прежнему сохранялись в республиках Мордовия (21,03), Крым (11,52), Ингушетия (14,68), в Тамбовской (15,31) и Томской (13,92) областях. Данные из Республики Дагестан и Чеченской Республики за 2015–2016 гг. получены не были.

Анализ динамики распространенности врожденного буллезного эпидермолиза был проведен с использованием данных, полученных из 53 субъектов РФ, которые предоставили информацию за 2014 и 2016 гг. За анализируемый период прирост показателей распространенности более чем в 2 раза (или его изменение от нуля) отмечен в 16 субъектах Российской Федерации: в Тамбовской (6,57 в 2014; 15,31 в 2016), Архангельской (0,84 в 2014; 3,42 в 2016), Калининградской (1,03 в 2014; 5,09 в 2016), Астраханской (2,94 в 2014; 10,79 в 2016), Ульяновской (2,37 в 2014; 5,58 в 2016), Тюменской (2,11 в 2014; 8,46 в 2016), Челябинской (1,43 в 2014; 3,43 в 2016), Омской (0,51 в 2014; 3,54 в 2016) и Сахалинской (2,04 в 2014; 4,11 в 2016) областях, в республиках Коми (2,30 в 2014; 4,68 в 2016), Татарстан (1,56 в 2014; 3,09 в 2016), Чувашской (1,61 в 2014; 4,04 в 2016), Бурятия (0 в 2014; 2,03 в 2016) и Кабардино-Балкарской (0 в 2014; 2,32 в 2016), а также в Пермском крае (0 в 2014; 2,66 в 2016) и Ханты-Мансийском автономном округе (3,12 в 2014; 6,72 в 2016).

Число случаев врожденного буллезного эпидермолиза с диагнозом, установленным впервые в жизни, по данным 60 субъектов РФ составило 23 и 35 в 2015 и 2016 гг., соответствующие показатели заболеваемости — 0,22 и 0,33 на 1 млн населения. Число больных ВБЭ, которым диагноз был установлен на первом году жизни, составило 14 (58%) в 2015 г. и 19 (54%) в 2016. Соответствующий показатель заболеваемости ВБЭ из расчета числа случаев заболевания с впервые в жизни установленным диагнозом среди детей в возрасте от 0 до 1 года на 1 млн живорожденных был равен 9,96 в 2015 г. и 13,90 в 2016.

Из 18 субъектов РФ получена информация об инвалидности, объемах медицинской помощи и лекарственном лечении, получаемом больными ВБЭ, в связи с чем анализ данных проведен на выборке, состоящей из 232 больных.

Инвалидами были признаны более половины больных ВБЭ (134; 57,8%) (рис. 5), в том числе 86 детей (категория «ребенок-инвалид») и 48 взрослых. Только 38 (16,4%) больных ВБЭ не имели инвалидности. Однако для 60 (25,9%) пациентов данные по инвалидности представлены не были.

Среди детей в возрасте 0–17 лет, страдающих ВБЭ, доля инвалидов составила 69%, среди взрослых 18 лет и старше — 45%. Среди взрослых III группа инвалидности была установлена в 23 (9,9%) случаях, II группа — в 20

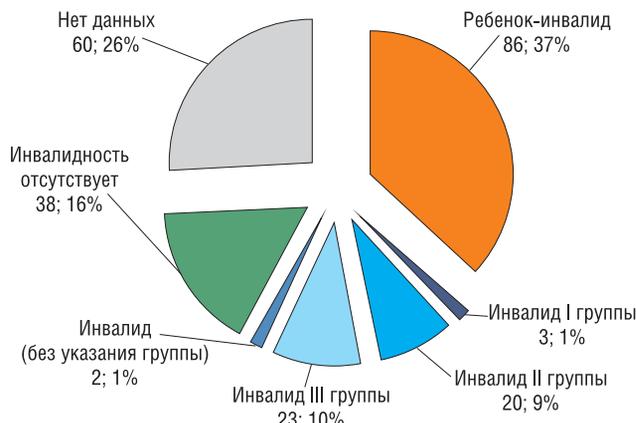


Рис. 5. Наличие инвалидности у больных врожденным буллезным эпидермолизом

(8,6%), I группа — в 3 (1,3%). Не представлено данных о группе инвалидности у 2 больных.

Объемы медицинской помощи, оказанной больным врожденным буллезным эпидермолизом

В 2015 г. число посещений врачей-дерматовенерологов кожно-венерологических диспансеров/центров 18 субъектов РФ для 232 больных ВБЭ составило 617. Среднее число посещений одним больным — 2,7 (без учета не обратившихся в течение 2015 г. — 3,2 посещения на одного больного). При этом разброс числа посещений на одного больного в год составлял от 0 до 27. Ни разу за год к врачу-дерматовенерологу медицинской организации, подведомственной органам исполнительной власти субъекта РФ в сфере охраны здоровья, не обратились 37 (15,9%) больных. Большинство же пациентов с ВБЭ (75%) посещают врача-дерматовенеролога от 1 до 4 раз в год. Так, за 2015 г. однократно или дважды посетили врача-дерматовенеролога по 21% пациентов, три посещения за год потребовалось 17%, четыре — 16%, пять и более — 9% пациентов (рис. 6).

Больным ВБЭ была оказана консультативная помощь врачей других специальностей. Большинство пациентов (70,7%) получили консультацию педиатра/терапевта (89 пациентов были проконсультированы педиатром, 75 — терапевтом). Более чем половине больных потребовалась консультация оториноларинголога (137; 59,1%) и стоматолога (134; 57,8%). Около 1/3 пациентов (81; 34,9%) были проконсультированы хирургом. Кроме того, были проведены консультации гастроэнтерологом (51; 22,0%), неврологом (27; 11,7%), эндокринологом (14; 6,0%). Врачом-генетиком были проконсультированы только 11 (4,7%) больных. Несколько пациентов были направлены на консультацию к гематологу (8; 3,4%), иммунологу-аллергологу (7; 3,0%), офтальмологу (6; 2,6%), ортопеду (5; 2,2%), нефрологу (3; 1,3%), а также к инфекционисту, психиатру, гинекологу (по 2 пациента; 0,9%). По 1 (0,4%) больному получили консультации проктолога, диетолога, реаниматолога (табл. 1).

Лечение, полученное больными врожденным буллезным эпидермолизом

Больные врожденным буллезным эпидермолизом получают как системное, так и наружное лечение по поводу своего заболевания, а также назначения, касающиеся питания (табл. 2). Согласно результатам проведенного исследования, в 2015 г. лекарственная терапия проводилась 218 (94,0%) больным, из них наружная лекарственная

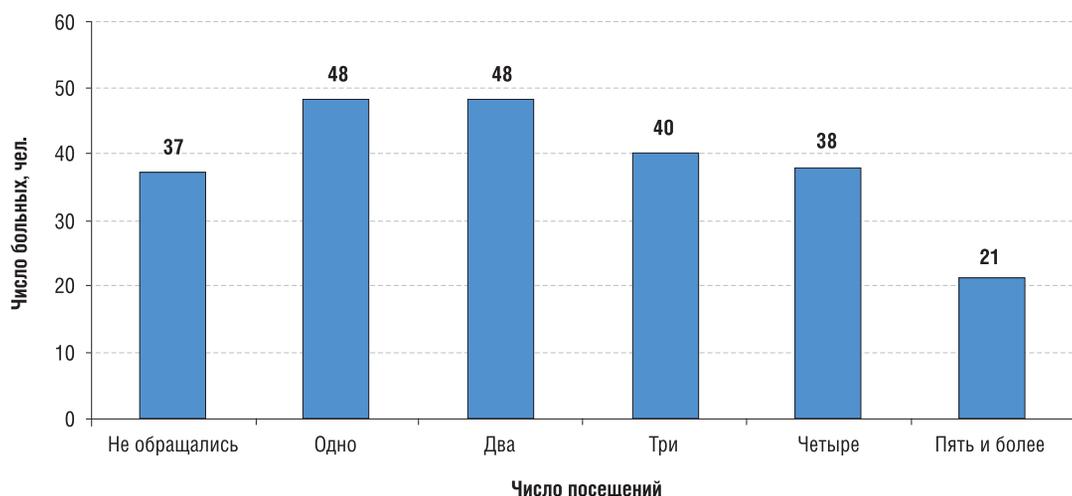


Рис. 6. Распределение больных врожденным буллезным эпидермолизом ($n=232$) по числу посещений врача-дерматовенеролога за год
Примечание. По данным 18 субъектов РФ, 2015.

Таблица 1. Консультации больных врожденным буллезным эпидермолизом ($n=232$) врачами-специалистами (по данным 18 субъектов РФ, 2015)

Врачи-специалисты	Число больных, которым проведена консультация	
	<i>n</i>	%
Оториноларинголог	137	59,1
Стоматолог	134	57,8
Педиатр	89	38,4
Хирург	81	34,9
Терапевт	75	32,3
Гастроэнтеролог	51	22,0
Невролог	27	11,7
Эндокринолог	14	6,0
Генетик	11	4,7
Гематолог	8	3,4
Иммунолог-аллерголог	7	3,0
Офтальмолог	6	2,6
Ортопед	5	2,2
Нефролог	3	1,3
Инфекционист	2	0,9
Психиатр	2	0,9
Гинеколог	2	0,9
Проктолог	1	0,4
Диетолог	1	0,4
Реаниматолог	1	0,4
Данные не представлены	23	9,9

Таблица 2. Лекарственное и нелекарственное лечение больных врожденным буллезным эпидермолизом (по данным 18 субъектов РФ, 2015)

Назначения	Число больных, получавших терапию ($n=232$)	
	<i>n</i>	%
Системное лекарственное лечение, всего	96	41,3
Витамины	59	25,4
Антигистаминные препараты	31	13,4
Иммуномодуляторы	23	9,9
Антибиотики	17	7,3
Макро- и микроэлементы	6	2,6
Антианемические средства (стимуляторы гемопоэза)	4	1,7
Корректоры микроциркуляции	3	1,3
Заменители плазмы и других компонентов крови	2	0,9
Слабительные средства	2	0,9
Системное лекарственное лечение (без дополнительных уточнений)	28	12,1
Наружное лекарственное лечение	217	93,5
Регенеранты и репаратанты	72	31,0
Антисептики и дезинфицирующие средства	54	23,3
Антибиотики	26	11,2
Глюкокортикостероиды	9	3,9
Противогрибковые средства	3	1,3
Наружное лечение (без дополнительных уточнений)	126	54,3
Диета и/или специализированные продукты для энтерального питания	17	7,3
Физиотерапия (лазеротерапия)	2	0,9
Не указано	10	4,3

терапия — 217, системная лекарственная терапия — 96. Не потребовалось лекарственного лечения лишь 4 (1,7%) пациентам, для 10 (4,3%) больных данные представлены не были.

Для системного лекарственного лечения наиболее часто больным ВБЭ назначали препараты витаминов (25,4%), антигистаминные (13,4%), иммуномодуляторы (9,9%), а также антибиотики (7,3%). Несколько пациентов получали препараты группы макро- и микроэлементов (6; 2,6%), антианемические средства (4; 1,7%), корректоры микроциркуляции (3; 1,3%), заменители плазмы и других компонентов крови (2; 0,9%), слабительные средства (2; 0,9%). Не уточнены данные о назначенных лекарственных препаратах для системного применения у 28 (12,1%) больных.

Наружная терапия проводилась препаратами групп регенерантов и репаратантов (31,0%), антисептиков и дезинфицирующих средств (23,3%), антибиотиков для наружного применения (11,2%). Кроме этого, отмечено применение глюкокортикостероидов и противогрибко-

вых препаратов для наружного применения (у 3,9 и 1,3% пациентов соответственно). Не уточнены данные о препаратах для наружной терапии, проводившейся 126 (54,3%) больным.

О применении диеты и/или специализированных продуктов для энтерального питания было упомянуто для 17 (7,3%) больных. Два пациента (0,9%) получали лазеротерапию.

У больных ВБЭ для перевязок наиболее часто используются мазевые (у 114; 49,1%) и марлевые (у 104; 44,8%) повязки. У каждого пятого больного (53; 22,8%) для перевязок используется неадгезивный перевязочный материал (рис. 7).

В большинстве случаев (188 больных, 81,0%) приобретение перевязочных материалов осуществлялось за счет средств пациента/семьи пациента. За счет средств бюджета субъекта Российской Федерации перевязочные материалы получали 45 (19,4%) пациентов, 20 (8,6%) — за счет средств благотворительных фондов, 1 (0,4%) — за счет средств кожно-венерологического диспансера (рис. 8).

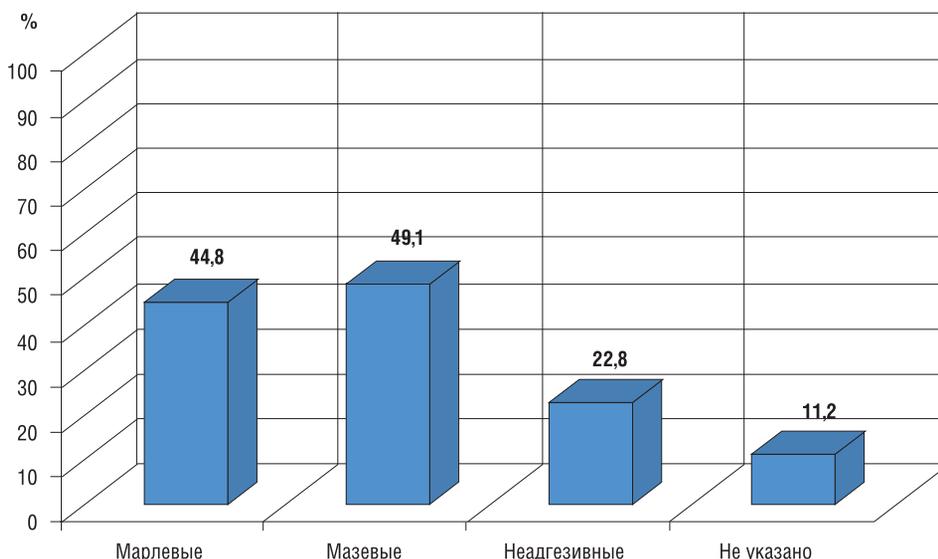


Рис. 7. Частота применения различных типов повязок при лечении больных врожденным буллезным эпидермолизом, %

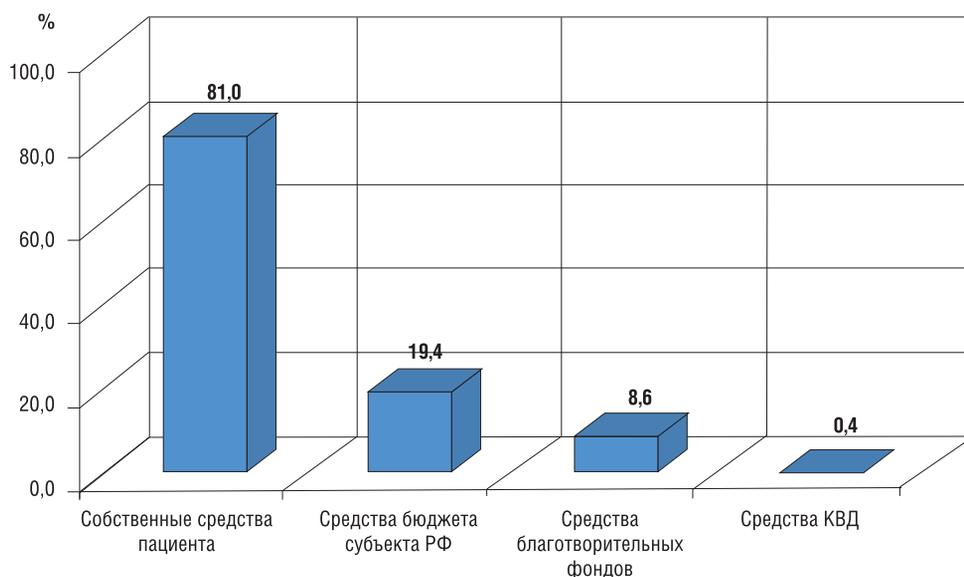


Рис. 8. Источники средств для приобретения перевязочных материалов у больных врожденным буллезным эпидермолизом, %

Примечание. КВД — кожно-венерологический диспансер.

Обсуждение

Возможности проведения эпидемиологических исследований редких заболеваний, к которым относится врожденный буллезный эпидермолиз, ограничены в связи с небольшим размером популяции больных. В этих случаях неприменимы обычные методы оценки заболеваемости и распространенности болезни [15]. Так, в США, Австралии, Румынии, Шотландии для оценки заболеваемости и распространенности ВБЭ использовались данные, полученные из соответствующих регистров [16–19]. В случае отсутствия регистра для выявления больных направлялись запросы в медицинские учреждения, в которых наблюдаются или обследуются эти пациенты (Испания, Северная Ирландия, Хорватия) [7, 20, 21]. Хотя и признается, что эти методы сбора информации связаны с неполнотой, недоучетом получаемых данных и ассоциированной с этим недооценкой числа больных, имеющиеся к настоящему времени сведения о больных ВБЭ в различных странах получены именно с их помощью.

По результатам проведенной оценки, показатели заболеваемости ВБЭ в Российской Федерации ниже, чем в других странах. Так, если в Российской Федерации заболеваемость врожденным буллезным эпидермолизом составила 0,22 на 1 млн населения в 2015 г. и 0,33 в 2016, то в Северной Ирландии этот показатель составлял 1,4, в Шотландии — 0,68 на 1 млн [19, 20]. Из расчета числа случаев заболевания на 1 млн живорожденных значение показателя заболеваемости врожденным буллезным эпидермолизом в Российской Федерации оценено на уровне 9,96 в 2015 г. и 13,90 в 2016, тогда как аналогичный средний показатель в США, согласно данным национального регистра, составлял 19,57 [16]. Отмечается, что заболеваемость ВБЭ в Румынии составила 25 на 1 млн новорожденных [18].

Минимальная оценка распространенности врожденного буллезного эпидермолиза в Российской Федерации составляет 3,6–3,9 на 1 млн населения, что также ниже распространенности в европейских странах, США и Австралии [16, 17, 19, 20, 22]. Так, распространенность ВБЭ в Румынии составляет 4,4 [18], в США — 8,2, в Хорватии — 9,6, в Австралии — 10,3 [21], в Северной Ирландии — 32,0 на 1 млн населения [16–18, 20, 21]. Наиболее высокие показатели распространенности врожденного буллезного эпидермолиза зарегистрированы в Шотландии (49,0 на 1 млн населения) [19]. И все же в ряде субъектов Российской Федерации (Тамбовская, Томская области, республики Мордовия, Башкортостан, Дагестан, Ингушетия, Чеченская, Крым) показатели распространенности вполне сопоставимы со среднеевропейскими и превышают показатели распространенности в США, полученные на основании данных национального регистра.

Стоит отметить, что полученные данные о числе больных в каждом субъекте РФ зависят от обращаемости пациентов, страдающих данным заболеванием, в медицинские организации государственной формы собственности, оказывающие медицинскую помощь по профилю «дерматовенерология». Отсутствие обращений больных ВБЭ за медицинской помощью снижает уровень их выявления. В Северной Ирландии с 1962 по 1984 г. ВБЭ был диагностирован у 48 больных, однако при обследовании членов семей этих пациентов было дополнительно выявлено еще 36 больных [20]. В Шотландии обнаружено, что 30% пациентов с доминантным дистрофическим или простым ВБЭ никогда не обращались за медицинской помощью к дерматологу [19]. Согласно полученным нами дан-

ными, ни разу за 2015 г. к дерматовенерологу КВД/центра не обращались 15,9% больных ВБЭ, ранее получавших медицинскую помощь в этих медицинских организациях.

В то же время, как было отмечено, в 16 субъектах РФ за рассматриваемый период (2014–2016 гг.) число больных ВБЭ и соответственно оценка показателя распространенности ВБЭ увеличились более чем в 2 раза (или изменились от нуля), что помимо случаев рождения детей с данным заболеванием может быть обусловлено как активизацией работы по диспансерному наблюдению пациентов врачами-дерматовенерологами, так и повышением осведомленности и настороженности врачей в отношении выявления и диагностирования заболевания.

В связи с редкостью заболевания возможны диагностические ошибки при обследовании больных ВБЭ, особенно в случае легкого течения болезни, что способствует снижению уровня выявления больных. Так, в Австралии у многих больных простым ВБЭ первоначально была диагностирована экзема [17]. Диагностическим ошибкам способствует также отсутствие возможности проведения лабораторного обследования методами иммунофлюоресцентного картирования или трансмиссионной электронной микроскопии, необходимого для установления типа заболевания. Согласно полученным нами данным, в 2015 и 2016 гг. диагноз на первом году жизни был установлен только 58 и 54% больных соответственно. Позднее установление диагноза как в связи с поздним обращением самого пациента, так и по причине первоначального установления других диагнозов также отчасти обуславливает недооценку показателей распространенности и заболеваемости врожденным буллезным эпидермолизом в Российской Федерации.

Таким образом, низкие относительно других стран показатели распространенности и заболеваемости ВБЭ в России могут объясняться низкой обращаемостью больных с легким течением болезни, недостаточным уровнем диагностики этого редкого заболевания, обусловленным поздней диагностикой, ошибочным установлением в ряде случаев иного диагноза, низкой доступностью лабораторных методов диагностики.

В то же время увеличение доли пациентов с установленным типом ВБЭ в структуре нозологии в 2016 г. по сравнению с 2014 г. может свидетельствовать о некотором улучшении качества диагностики.

Преобладание среди больных ВБЭ несовершеннолетних может быть обусловлено существенным сокращением продолжительности жизни больных с типами заболевания, характеризующимися тяжелым течением. Так, по данным Австралийского регистра больных ВБЭ, средняя продолжительность жизни больных рецессивным дистрофическим типом заболевания составила 29,4 года [17]. С другой стороны, взрослые больные с легким течением заболевания не обращаются за медицинской помощью, что также приводит к увеличению в структуре обращаемости доли больных младшего возраста.

В то же время больные с тяжелым течением заболевания (рецессивный дистрофический и пограничный типы) с большей вероятностью обращаются за специализированной медицинской помощью, что способствует установлению правильного диагноза и их учету. Все это приводит к некоторому искажению картины истинной распространенности ВБЭ, создавая впечатление большей распространенности типов болезни с тяжелым течением.

Преобладающим типом заболевания в Российской Федерации является простой буллезный эпидермолиз, диагностированный почти у половины пациентов. В от-

дельных субъектах Российской Федерации среди больных с диагностированным типом заболевания отмечено преобладание пациентов с дистрофическим ВБЭ, что может быть связано с эффектом «основателя», который обусловлен наличием в популяции мутаций, наследуемых от общего предка. В других странах также обнаружено преобладание больных простым ВБЭ (США, Шотландия, Австралия), хотя в некоторых (Италия, Румыния) преобладают больные дистрофическим ВБЭ [16–19, 23]. В то же время в Российской Федерации доля пациентов с неустановленным типом заболевания, несмотря на ее существенное сокращение с 66% в 2014 г. до 25% в 2016, осталась высокой.

Помимо медицинской помощи по профилю «дерматовенерология» больным ВБЭ также требуется медицинская помощь специалистов других профилей по причине внекожных осложнений ВБЭ и тяжести имеющегося патологического процесса. Чаще всего больные ВБЭ обращаются к врачам оториноларингологу и стоматологу. О тяжести заболевания у больных ВБЭ, проживающих в субъектах Российской Федерации, свидетельствует выявленный высокий уровень инвалидизации — более половины (57,8%) больных.

В настоящее время ведется разработка новых методов терапии больных ВБЭ — генетических, белковых, клеточных [8]. Тем не менее основным методом лечения больных ВБЭ остается наружная терапия с использованием специальных неадгезивных перевязочных материалов, что приводит к существенным экономическим затратам, в первую очередь со стороны семьи пациента. Несмотря на то, что применение этих материалов считается предпочтительным в терапии больных ВБЭ, согласно полученным данным, лишь 22,8% пациентов используют неадгезивные повязки. При этом большинство пациентов (более 80%) приобретают необходимые перевязочные материалы за счет собственных средств.

Ограничения исследования

К ограничениям проведенного исследования следует отнести отсутствие ответов из ряда субъектов Российской Федерации, а также его дизайн, не предполагающий активного выявления больных ВБЭ, что обуславливает неполноту полученных данных. Как было обсуждено выше, получение данных о больных в нашем исследовании зависело от их обращаемости в медицинские организации государственной системы здравоохранения, оказывающие медицинскую помощь по профилю «дерматовенерология». В случае необращения больных или их наблюдения в медицинских организациях частной системы здравоохранения информация о них не могла быть получена и учтена. Недооценка числа больных ВБЭ и, соответственно, низкий показатель его распространенности могут быть также обусловлены недостаточно высоким уровнем диагностики этого редкого заболевания.

Для более точной оценки распространенности ВБЭ в субъектах Российской Федерации целесообразно проведение дальнейших эпидемиологических исследований, предусматривающих обследование родственников больных с целью выявления заболевания.

Отсутствием в значительном числе случаев данных о назначавшихся лекарственных препаратах обусловлена недостаточность сведений о терапии, проводившейся больным врожденным буллезным эпидермолизом. Кроме того, дизайн исследования не предполагал обязательного получения данных о терапии, назначаемой врачами других специальностей. С этим может быть связана

выявленная в исследовании низкая частота назначения лекарственных препаратов ряда фармакологических групп, например антианемических средств (стимуляторов гемопоэза), слабительных средств, а также физиотерапии.

Заключение

ВБЭ является редким наследственным заболеванием с поражением кожи и слизистых оболочек, распространенность которого в субъектах Российской Федерации на протяжении исследуемого 3-летнего периода (2014–2016 гг.) находится в диапазоне от 0 до 21,03 на 1 млн населения, а в среднем по Российской Федерации минимальная оценка распространенности заболевания составляет 3,6–3,9 на 1 млн. Выявленный уровень распространенности ВБЭ в Российской Федерации ниже, чем во многих странах, что отчасти обусловлено учетом больных, основанным на их обращаемости в медицинские организации, а также недостаточным выявлением больных и ошибками диагностики заболевания. Одним из способов уточнения числа больных ВБЭ может являться обследование членов семей больных.

Тяжелое течение ВБЭ сопровождается поражением различных органов и систем, инвалидизацией и сокращением продолжительности жизни пациентов, что требует оказания медицинской помощи данной категории больных как по профилю «дерматовенерология», так и при необходимости по другим профилям, в том числе в условиях стационара.

Несмотря на выявленное за 3-летний период наблюдения сокращение доли больных с неустановленным типом болезни, у значительной части пациентов диагноз заболевания не включал тип ВБЭ, что указывает на недостаточное использование в диагностике заболевания лабораторных методов исследования — иммунофлюоресцентного антигенного картирования, трансмиссионной электронной микроскопии биоптата кожи, генетического исследования. В связи с этим для диагностики заболевания необходимо внедрение и использование иммунофлюоресцентного исследования биоптата кожи или трансмиссионной электронной микроскопии. Поскольку в последние годы в различных странах ведется разработка генетических методов терапии этого заболевания, повышается значение генетического обследования пациентов для уточнения формы ВБЭ и определения мутации, вызвавшей заболевание.

Данные по эпидемиологии врожденного буллезного эпидермолиза в Российской Федерации, а также по оказанию больным медицинской помощи получены впервые. Для оптимизации и повышения качества медицинской помощи необходимо продолжение исследований, в результате которых будет представлена более полная эпидемиологическая характеристика редкого генетически обусловленного заболевания — врожденного буллезного эпидермолиза — на территории Российской Федерации.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование проводилось в рамках выполнения Государственного задания ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России на 2018–2020 годы. Данный проект не имел спонсорской поддержки.

Участие авторов: Кубанов А.А. — концепция, разработка дизайна исследования, одобрение окончательной версии статьи; Карамова А.Э. — концепция, дизайн, интерпретация полученных данных, подготовка текста статьи; Чикин В.В. — анализ литературы, статистическая обработка данных, интерпретация данных, написание текста статьи; Богданова Е.В. — сбор данных, статистическая обработка данных, написание текста

статьи; Мончаковская Е.С. — анализ литературы, участие в написании статьи. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Конфликт интересов. Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки/конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fine J. Inherited epidermolysis bullosa. *Orphanet J Rare Dis.* 2010;5(12). doi: 10.1186/1750-1172-5-12.
2. Fine J, Bruckner-Tuderman L, Eady RA, et al. Inherited epidermolysis bullosa: updated recommendations on diagnosis and classification. *J Am Acad Dermatol.* 2014;70(6):1103–1126. doi: 10.1016/j.jaad.2014.01.903.
3. Fine J, Mellerio J. Extracutaneous manifestations and complications of inherited epidermolysis bullosa: part I. Epithelial associated tissues. *J Am Acad Dermatol.* 2009;61(3):367–384. doi: 10.1016/j.jaad.2009.03.052.
4. Fine J, Mellerio J. Extracutaneous manifestations and complications of inherited epidermolysis bullosa: part II. Other organs. *J Am Acad Dermatol.* 2009;61(3):387–402. doi: 10.1016/j.jaad.2009.03.053.
5. Devries D, Johnson L, Weiner M, Fine J. Relative extent of skin involvement in inherited epidermolysis bullosa (EB): composite regional anatomic diagrams based on the findings of the National EB Registry, 1986 to 2002. *J Am Acad Dermatol.* 2004;50(4):572–581. doi: 10.1016/j.jaad.2003.09.026.
6. Федеральные клинические рекомендации. Дерматовенерология 2015: Болезни кожи. Инфекции, передаваемые половым путем / Под ред. Кубановой А.А. — М.: Деловой экспресс; 2016. — 768 с. [Federal'nye klinicheskie rekomendatsii. Dermatovenerologiya 2015: Bolezni kozhi. Infektsii, peredavaemye polovym putem. Ed by Kubanova A.A. Moscow: Delovoy ekspress; 2016. 768 p. (In Russ).]
7. Hernandez-Martín A, Aranegui B, Escámez MJ, et al. Prevalence of dystrophic epidermolysis bullosa in Spain: a population-based study using the 3-source capture–recapture method. Evidence of a need for improvement in care. *Actas Dermosifiliogr.* 2013;104(10):890–896. doi: 10.1016/j.ad.2013.03.006.
8. El Hachem M, Zambruno G, Bourdon-Lanoy E, et al. Multicentre consensus recommendations for skin care in inherited epidermolysis bullosa. *Orphanet J Rare Dis.* 2014;9(1):76. doi: 10.1186/1750-1172-9-76.
9. Montaudí H, Chiaverini C, Sbidian E, et al. Inherited epidermolysis bullosa and squamous cell carcinoma: a systematic review of 117 cases. *Orphanet J Rare Dis.* 2016;11(1):117. doi: 10.1186/s13023-016-0489-9.
10. Mallipeddi R. Epidermolysis bullosa and cancer. *Clin Exp Dermatol.* 2002;27(8):616–623. doi: 10.1046/j.1365-2230.2002.01130.x.
11. Kim M, Murrell DF. Update on the pathogenesis of squamous cell carcinoma development in recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Eur J Dermatol.* 2015;25 Suppl 1:30–32. doi: 10.1684/ejd.2015.2552.
12. Fine J, Johnson L, Weiner M, et al. Epidermolysis bullosa and the risk of life-threatening cancers: the National EB Registry experience, 1986–2006. *J Am Acad Dermatol.* 2009;60(2):203–211. doi: 10.1016/j.jaad.2008.09.035.
13. Angelis A, Kanavos P, López-Bastida J, et al. Social/economic costs and health-related quality of life in patients with epidermolysis bullosa in Europe. *Eur J Health Econ.* 2016;17 Suppl 1:31–42. doi: 10.1007/s10198-016-0783-4.
14. Pope E, Lara-Corrales I, Mellerio J, et al. A consensus approach to wound care in epidermolysis bullosa. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67(5):904–917. doi: 10.1016/j.jaad.2012.01.016.
15. Auvin S, Irwin J, Abi-Aad P, Battersby A. The problem of rarity: estimation of prevalence in rare disease. *Value Health.* 2018;21(5):501–507. doi: 10.1016/j.jval.2018.03.002.
16. Fine JD. Epidemiology of inherited epidermolysis bullosa based on incidence and prevalence estimates from the National Epidermolysis Bullosa Registry. *JAMA Dermatol.* 2016;152(11):1231–1238. doi: 10.1001/jamadermatol.2016.2473.
17. Kho YC, Rhodes LM, Robertson SJ, et al. Epidemiology of epidermolysis bullosa in the antipodes: the Australasian Epidermolysis Bullosa Registry with a focus on Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *Arch Dermatol.* 2010;146(6):635–640. doi: 10.1001/archdermatol.2010.109.
18. Dănescu S, Has C, Senila S, et al. Epidemiology of inherited epidermolysis bullosa in Romania and genotype–phenotype correlations in patients with dystrophic epidermolysis bullosa. *J Eur Acad Dermatol Venerol.* 2014;29(5):899–903. doi: 10.1111/jdv.12709.
19. Horn H, Priestley G, Eady R, Tidman M. The prevalence of epidermolysis bullosa in Scotland. *Br J Dermatol.* 1997;136(4):560–564. doi: 10.1046/j.1365-2133.1997.d01-1235.x.
20. McKenna K, Walsh M, Bingham E. Epidermolysis bullosa in Northern Ireland. *Br J Dermatol.* 1992;127(4):318–321. doi: 10.1111/j.1365-2133.1992.tb00448.x. doi: 10.1111/j.1365-2133.1992.tb00448.x.
21. Pavčić Z, Kmet-Vizintin P, Kansky A, Dobrić I. Occurrence of hereditary bullous epidermolyses in Croatia. *Pediatr Dermatol.* 1990;7(2):108–110. doi: 10.1111/j.1525-1470.1990.tb00664.x.
22. Кубанов А.А., Альбанова В.И., Карамова А.Э., и др. Распространенность врожденного буллезного эпидермолиза у населения Российской Федерации // Вестник дерматологии и венерологии. — 2015. — №3 — С. 21–30. [Kubanov AA, Albanova VI, Karamova AE, et al. Prevalence of hereditary epidermolysis bullosa in the Russian Federation. *Vestn Dermatol Venerol.* 2015;(3):21–30. (In Russ).]
23. Castiglia D, Zambruno G. Epidermolysis bullosa care in Italy. *Dermatol Clin.* 2010;28(2):407–409. doi: 10.1016/j.det.2010.02.016.

430

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

*Кубанов Алексей Алексеевич, чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор [Alexey A. Kubanov, MD, PhD, Professor]; адрес: 107076, Москва, ул. Короленко, д. 3 стр. 6 [address: 3 bld 6, Korolenko street, 107076 Moscow, Russia]; e-mail: alex@cnikvi.ru, SPIN-код: 8771-4990, ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7625-0503

Карамова Арфеня Эдуардовна, к.м.н. [Arfenya A. Karamova, MD, PhD]; e-mail: karamova@cnikvi.ru, SPIN-код: 3604-6491, ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3805-8489

Чикин Вадим Викторович, д.м.н., старший научный сотрудник [Vadim V. Chikin, MD, PhD]; e-mail: chikin@cnikvi.ru, SPIN-код: 3385-4723, ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9688-2727

Богданова Елена Витальевна, к.м.н., старший научный сотрудник [Elena V. Bogdanova, MD, PhD]; e-mail: bogdanova@cnikvi.ru, SPIN-код: 6372-2237, ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0662-2682

Мончаковская Екатерина Сергеевна, аспирант [Ekaterina S. Monchakovskaya, MD]; e-mail: monchakovskaya@cnikvi.ru, SPIN-код: 9859-1912, ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6402-0962

А.С. Крыкпаева¹, М. Накашима², М.Ж. Еспенбетова¹, Ж. Мусажанова², Б.С. Азизов¹¹ Государственный медицинский университет города Семей, Семей, Республика Казахстан² Университет Нагасаки, Институт болезней атомной бомбы, Нагасаки, Япония

Однонуклеотидные полиморфизмы, ассоциированные со спорадическим папиллярным раком щитовидной железы, в казахской популяции

Обоснование. В последние несколько лет были проведены полногеномные поиски ассоциаций (Genome-Wide Association Studies) экспрессии генов *FOXE1* и *NKX2-1*, определяемые генным однонуклеотидным полиморфизмом (Single Nucleotide Polymorphism, SNP), с морфологически верифицированным раком щитовидной железы. Последующие исследования репликаций в разных популяциях выявили сильные ассоциации SNP rs965513 и rs944289, локализующихся в генах *FOXE1* и *NKX2-1* соответственно, с папиллярным раком щитовидной железы. Настоящая работа является первым ассоциативным исследованием данных SNP со спорадическим папиллярным раком щитовидной железы в казахской популяции. **Цель исследования** — изучить ассоциацию SNP rs965513 и rs944289 с папиллярным раком щитовидной железы в казахской популяции. **Методы.** Нами было проведено исследование методом случай-контроль, в котором приняли участие 298 пациентов, имеющих в анамнезе папиллярный рак щитовидной железы; в качестве популяционного контроля привлечены 742 человека, не имевших заболеваний щитовидной железы. Всего было обследовано 1040 лиц казахской популяции. Однонуклеотидные полиморфизмы rs965513 и rs944289 определяли методом зондов с гидролизующейся пробой, используя для генотипирования ДНК клеток периферической крови. **Результаты.** Значительные ассоциации rs965513 ($p=3,24 E-16$; OR=2,05, 95% CI 1,82–2,11) и rs944289 ($p=1,38 E-06$; OR=1,39, 95% CI 1,21–1,52) были выявлены многофакторным логистическим регрессионным анализом в мультипликативной модели наследования. **Заключение.** В результате нашего исследования выявлена взаимосвязь двух исследованных однонуклеотидных полиморфизмов — rs965513 и rs944289 — с предрасположенностью к папиллярному раку щитовидной железы в казахской популяции.

Ключевые слова: рак щитовидной железы, папиллярный рак щитовидной железы, однонуклеотидный полиморфизм, казахская популяция.

(Для цитирования: Крыкпаева А.С., Накашима М., Еспенбетова М.Ж., Мусажанова Ж., Азизов Б.С. Однонуклеотидные полиморфизмы, ассоциированные со спорадическим папиллярным раком щитовидной железы, в казахской популяции. Вестник РАМН. 2018;73(6):431–435. doi: 10.15690/vramn1024)

431

Обоснование

Рак щитовидной железы (ЩЖ) является наиболее распространенной формой среди злокачественных опухолей эндокринной системы [1–9]. Преобладающим гистологическим типом рака ЩЖ является папиллярный

рак — до 85% всех злокачественных опухолей этого органа [2]. По данным Всемирной организации здравоохранения, заболеваемость раком ЩЖ с каждым годом увеличивается, что может быть связано как с улучшением диагностических возможностей, так и с агрессивным воздействием факторов окружающей среды, в том числе

А. Крыкпаева¹, М. Nakashima², М. Espenbetova¹, Z. Mussazhanova², B. Azizov¹¹ Semey State Medical University, Semey, Republic of Kazakhstan² Nagasaki University, Nagasaki, Japan

SNP Association with Risk for Sporadic Papillary Thyroid Carcinoma in Kazakh Population

BACKGROUND: The recent genome-wide association studies (GWAS) including *FOXE1* and *NKX2-1* genes have represent associations for well differentiated thyroid carcinoma. Replication studies in geographically distinct populations identified strong associations of rs965513 (9q22.33) and rs944289 (14q13.3) SNPs with papillary thyroid cancer. This work is the first to characterise the associations of SNPs in a population-based Kazakh cohort. **AIMS:** To study association of SNPs with risk for sporadic papillary thyroid carcinoma (PTC) in Kazakh population. **MATERIALS AND METHODS:** A total of 298 patients with histologically confirmed PTC and 742 controls of Kazakh origin were recruited. All participants donated a peripheral venous blood sample which was used to isolate genomic DNA. Genotyping was performed using TaqMan Genotyping on a Light Cycler 480 (Roche, Indianapolis, IN). **RESULTS:** Significant associations: rs965513 ($p=3.24 E-16$; OR=2.05, 95% CI 1.82–2.11) and rs944289 ($p=1.38 E-06$; OR=1.39, 95% CI 1.21–1.52) were found in the multiplicative model of inheritance adjusted for age and sex. **CONCLUSIONS:** Our study unambiguously confirms the existence of genetic determinants of susceptibility to PTC in Kazakh population.

Key words: thyroid cancer, papillary thyroid cancer, single nucleotide polymorphism, kazakh population.

(For citation: Krykpayeva A, Nakashima M, Espenbetova M, Mussazhanova Z, Azizov B. SNP Association with Risk for Sporadic Papillary Thyroid Carcinoma in Kazakh Population. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2018;73(6):431–435. doi: 10.15690/vramn1024)

экологических и медицинских источников ионизирующего излучения [3]. Более того, увеличение числа случаев папиллярного рака ЩЖ может быть обусловлено хроническим йододефицитом или воздействием радиоактивного йода [4, 5].

Заболеемость раком ЩЖ не снижается на протяжении многих лет, и это связано не только с ежегодным увеличением числа заболевших, но и отсутствием надежных диагностических тестов (маркеров), позволяющих на ранних этапах дифференцировать заболевания щитовидной железы. В настоящее время изучение молекулярно-генетических маркеров при раке ЩЖ важно для прогнозирования заболевания. Исследования, проведенные в последние десятилетия, частично позволяют объяснить молекулярно-генетические механизмы развития папиллярного рака ЩЖ [6].

Генные однонуклеотидные полиморфизмы (single nucleotide polymorphism, SNP) rs965513 и rs944289, локализованные в локусах 9q22.33 (ген *FOXE1*) и 14q13.3 (ген *NKX2-1*) соответственно, показали сильную ассоциацию с папиллярным раком ЩЖ сразу в нескольких популяциях [5, 7, 8, 10].

Ген *NKX2-1* (rs944289) расположен на длинном (Q) плече 14-й хромосомы в положении 13. *NKX2-1* — специфичный для щитовидной железы транскрипционный фактор, который вместе с *FOXE1* проявляется на ранних стадиях морфогенеза щитовидной железы и играет важную роль в формировании щитовидной железы [11]. Транскрипционный фактор щитовидной железы-1 (thyroid transcription factor-1, TTF1) — это белок, который регулирует транскрипцию генов, специфичных для щитовидной железы, легких и промежуточного мозга. Он также известен как специфический для щитовидной железы белок и используется как маркер, определяющий происхождение опухоли из ткани легких или щитовидной железы [12]. TTF1-положительные клетки обнаружены в легких как пневмоциты II типа и бронхиольные клетки. Фолликулярные и парафолликулярные клетки щитовидной железы положительны на TTF1.

В патогенезе папиллярного рака ЩЖ важную роль играют ферментативные системы, обеспечивающие поступление йода в щитовидную железу и его внутриклеточные реакции. Наибольший интерес представляет поиск генетических маркеров, кодирующих основные компоненты этих систем, — тиреоидной пероксидазы (ТРО), системы генерации перекиси водорода, ТТГ-рецептора (TSHR) и симпортера натрия-йодида (NIS). Было доказано, что ген *FOXE1* кодирует эти компоненты и играет ведущую роль в развитии ткани щитовидной железы [13, 14].

Ген *FOXE1* расположен на длинном (Q) плече 9-й хромосомы в положении 22. Гены распространенных заболеваний, как синдром Бэмфорта–Лазаря, который характеризуется атрезией нёба и раздвоением надгортанника, а также расщелины губы и нёба (заячья губа и волчья пасть), агенезии или дисгенезии щитовидной железы, гипотиреоз и рак щитовидной железы, — все расположены в локусе *FOXE1*, однако точные генетические ассоциации все еще не определены [15]. Более того, наблюдаемая семейная предрасположенность к заболеваниям, в том числе раку щитовидной железы, свидетельствует о важности изучения генетических факторов в развитии папиллярного рака ЩЖ [16].

Цель исследования — изучить ассоциацию *FOXE1* и *NKX2-1* (rs965513 и rs944289) с папиллярным раком щитовидной железы в казахской популяции.

Методы

Дизайн исследования

Ретроспективное многоцентровое исследование «случай–контроль».

Критерии соответствия

Общими критериями включения для анализируемой группы было отсутствие родственных связей между больными; принадлежность к казахской национальности; возраст от 17 до 85 лет. Принадлежность к казахскому этносу устанавливали путем анкетирования и сверки с данными свидетельства о рождении, в котором указана национальность участника и его родителей.

Критериями включения в контрольную группу были отсутствие заболеваний щитовидной железы в анамнезе и отсутствие патологии по данным пальпации, ультразвукового исследования и показателю уровней тиреоидных гормонов.

Условия проведения

Сбор данных о больных папиллярным раком ЩЖ и здоровых добровольцах проходил на базах онкологических центров Республики Казахстан — Восточно-Казахстанской, Алматинской областей и Областной клинической больницы г. Семей. В контрольную группу частично были приглашены волонтеры из числа госпитализированных и амбулаторных пациентов других лечебно-профилактических учреждений г. Семей.

Исследование полиморфизмов проводилось на базе Института изучения заболеваний, вызванных атомной бомбардировкой, Университета Нагасаки (Нагасаки, Япония).

Продолжительность исследования

Сбор данных и взятие биологического материала для исследования были начаты в мае 2015 г. Молекулярное исследование было начато с октября 2015 г. и продолжалось на протяжении двух лет.

Описание медицинского вмешательства

Взятие материала для исследования проводилось в объеме 3 мл из периферической венозной крови каждого участника в вакуумные пробирки с K2/K3 ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота).

Исходы исследования

Определение частоты ассоциации SNP (rs965513 и rs944289) с папиллярным раком ЩЖ путем многофакторного логистического регрессионного анализа в мультипликативной модели наследования.

Анализ в подгруппах

Для предварительного скрининга по критериям включения (перечисленных выше) в группы случая и контроля использовалась база данных пациентов лечебно-профилактических учреждений. Затем больные папиллярным раком ЩЖ и лица, не имеющие патологии со стороны щитовидной железы, были приглашены в добровольном порядке для забора крови.

Методы регистрации исходов

Геномную ДНК выделяли из периферической крови при помощи набора QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Япония) в соответствии с инструкцией изготовителя. Концентрацию и чистоту ДНК оценивали с помощью

спектрофотометра NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, Валтам, США), измеряя оптическую плотность при длинах волн 230, 260 и 280 нм. Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени (real-time PCR) на приборе Light Cycler 480 II (Roche, Индианаполис, США) с помощью готовых смесей праймеров и зондов с гидролизующейся пробой (C_1593670_20 для rs965513 и C_1444137_10 для rs944289) в присутствии реагента TaqMan Genotyping Master mix (Life Technologies, Фостер-Сити, США) и 10 нг ДНК в качестве матрицы в общем объеме 10 мкл в 386-луночных планшетах (Roche, Индианаполис, США). Программа амплификации предусматривала предварительную денатурацию при 95 °C в течение 10 мин, последующие 50 циклов при 92 °C в течение 15 сек и 62 °C в течение 1 мин для обоих SNP. Предварительно для каждого SNP были выявлены гомозиготные и гетерозиготные образцы, которые использовали в качестве стандартов. Для ПЦР-амплификации были разработаны праймеры с помощью компьютерной программы Primer 3 Input (version 0.4.0). Праймеры с последовательностью (5'→3') rs965513 forward TGGTGTGGTATGGTCATGG; rs965513 reverse CCCAGGCTCAGGTTATGTCT; rs944289 forward CATGAG GAA CAG CGC CTC T; rs965513 reverse CCC ATG CCG CTC ATG TT использовались в данной работе. Условия реакции ПЦР предусматривали предварительную денатурацию при 95 °C в течение 10 мин, далее 40 циклов при 94 °C в течение 30 сек, при 60 °C в течение 1 мин, при 78 °C в течение 30 сек и 1 цикл при 78 °C в течение 10 мин для обоих SNP. Наличие продуктов реакции подтверждали с помощью электрофореза в 1,5% агарозном геле. Продукты ПЦР (7 мкл) обрабатывали 1,5 мкл реагента ExoSAP-IT (USB, Affymetrix, США) при 37 °C в течение 40 мин с последующей термоинактивацией при 80 °C в течение 20 мин. Далее 3 мкл обработанного продукта ПЦР секвенировали в обоих направлениях с помощью прямого или обратного праймера (3,2 pM), используя набор реактивов BigDye Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Фостер-Сити, США) в объеме 10 мкл по следующей программе: при 95 °C — в течение 2 мин, далее 35 циклов при 95 °C в течение 10 сек и 50 °C в течение 5 сек, при 60 °C — 2 мин 30 сек. Продукты очищали Agencourt CleanSEQ (Agencourt Bioscience Corporation, Массачусетс, США). Анализ проводили на секвенаторе ABI PRISM 3130xl (Applied Biosystems, Фостер-Сити, США), хроматограммы визуализировали в программе Finch TV Version 1.3.1 (Geospiza, Сизтл, США).

Этическая экспертиза

Все вошедшие в анализируемые группы участники были проинформированы о целях исследования и предстоящих процедурах и подписали информированное письменное согласие на участие в исследовании с забором венозной крови. Протокол работы одобрен локальным Этическим комитетом государственного медицинского университета г. Семей № 2 от 18.03.2015.

Статистический анализ

Статистический анализ выполнен с помощью IBM SPSS Statistics Version 20 (International Business Machines Corp., Армонк, США), WINPEPI [17] Microsoft Office Excel. Многомерный логистический регрессионный анализ был использован для ассоциативных исследований «случай–контроль» с учетом половозрастных данных. Ассоциацию характеризовали отношением шансов (odds ratio, OR), его 95% доверительным интервалом (confidence interval, CI) и статистической значимостью (*p*). Отклонение частоты генотипов от равновесия Харди–Вайнберга оценивали с помощью теста χ^2 . Различия расценивались статистически значимыми при показателях $p < 0,05$.

Результаты

Объекты (участники) исследования

В исследование включено 1040 человек, из них 298 пациентов с гистологически верифицированным диагнозом папиллярного рака ЩЖ; в качестве популяционного контроля привлечено 742 донора с установленным отсутствием заболеваний щитовидной железы. Средний возраст пациентов с папиллярным раком ЩЖ составил $51,8 \pm 10,22$ года с диапазоном 18–79 лет, лиц контрольной группы — $39,02 \pm 14,63$ года с диапазоном 17–81 ($p = 0,152$). Половозрастные характеристики групп пациентов с папиллярным раком ЩЖ и лиц контрольной группы указаны в табл. 1.

Основные результаты исследования

Значимой разницы в возрасте между двумя группами не наблюдалось. Количество генотипированных образцов составило 298 в группе пациентов с папиллярным раком ЩЖ и 742 в контрольной. Распределение аллелей полиморфизма генов *FOXE1* rs965513 [GG], [GA] и [AA] и *NKX2-1* rs944289 [CC], [CT] и [TT] в группах пациентов с папиллярным раком щитовидной железы и контрольной показаны в табл. 2.

Распределение частоты полиморфизма rs965513 в группе папиллярного рака ЩЖ и группе контроля, представленной здоровыми лицами, значимо отличалось. В группе случаев папиллярного рака ЩЖ более чем в 12 раз чаще встречались гомозиготные рискованные аллели [AA] — 7,7 против 0,6% в группе контроля. Носительство гетерозиготного аллеля [GA] в анализируемой группе встретилось в 51,6% наблюдений, в группе контроля — в 30,7%. Вариант [GG] имел меньшую частоту встречаемости в группе лиц с папиллярным раком ЩЖ — 40,6 по сравнению с 68,6% в группе контроля (см. табл. 2). Что касается распределения частоты аллелей полиморфизма rs944289 между группами, оно также имело отличие: в группе случаев папиллярного рака ЩЖ примерно в 2 раза чаще встречался гомозиготный рискованный аллель [AA] — 28,7 против 16,7% в группе контроля. Носительство гетерозиготного аллеля [CT] не показало отличий — 60,0 против 56,8%. Вариант [CC] имел меньшую частоту встречае-

Таблица 1. Распределение больных папиллярным раком щитовидной железы и лиц контрольной группы по полу и возрасту

Показатель	Пациенты с папиллярным раком щитовидной железы, <i>n</i> =298	Контрольная группа (здоровые лица), <i>n</i> =742
Возрастной диапазон, лет	18–79	17–81
Средний возраст, лет	$51,8 \pm 10,22$	$39,02 \pm 14,63$
Пол, м/ж, %	92/8	88/12

Таблица 2. Распределение аллелей полиморфизма генов *FOXE1* и *NKX2-1* в группах пациентов с папиллярным раком щитовидной железы и контрольной

Полиморфизмы	rs965513 [G/A*]		Аллели	rs944289 [C/T*]	
	Анализируемая группа**, n=298 абс. число (%)	Контрольная группа***, n=742; абс. число (%)		Анализируемая группа**, n=298; абс. число (%)	Контрольная группа***, n=742; абс. число (%)
GG	121 (40,6)	509 (68,6)	CC	34 (11,3)	196 (26,4)
GA	154 (51,6)	228 (30,7)	CT	179 (60,0)	422 (56,8)
AA	23 (7,7)	5 (0,6)	TT	86 (28,7)	124 (16,7)

Примечание. * — аллель риска, ** — пациенты с папиллярным раком щитовидной железы, *** — здоровые лица; абс. число (%) — абсолютное число и его процентное значение.

Таблица 3. Ассоциативный генетический анализ полиморфизма генов *FOXE1* и *NKX2-1* с учетом половозрастных характеристик (парные сравнения)

SNP	Анализируемая группа** (n=298)	Контрольная группа*** (n=742)	OR (CI)	p
rs965513(A*/G)	0,30	0,16	2,05 (1,82–2,11)	<0,001
rs944289(T*/C)	0,55	0,45	1,39 (1,21–1,52)	<0,001

Примечание. * — аллель риска, ** — пациенты с папиллярным раком щитовидной железы, *** — здоровые лица; SNP (single nucleotide polymorphism, SNP) — однонуклеотидный полиморфизм, OR — отношение шансов, CI — доверительный интервал.

434

мости в группе лиц с папиллярным раком ЩЖ (11,3%) по сравнению с группой контроля (26,4%) (см. табл. 2).

Результаты анализа показали статистически значимую ассоциацию частоты рискованного минорного аллеля [A] со значением $p < 0,001$ и высоким размером эффекта OR (OR=2,05, 95% CI 1,82–2,11) при сравнении групп пациентов с папиллярным раком ЩЖ и контроля. Сходные результаты получены и для rs944289, где также выявлены высокие статистически значимые показатели ($p < 0,001$; OR=1,39, 95% CI 1,21–1,52). Результаты ассоциативного генетического анализа, выполненного в мультипликативной модели наследования с учетом половозрастных характеристик каждой из SNP, представлены в табл. 3.

Нежелательные явления

В ходе проведения сбора периферической венозной крови и анкетирования нежелательных явлений не отмечено.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Указанные в исследовании полиморфизмы rs965513 и rs944289 в генах *FOXE1* и *NKX2-1* соответственно показали ассоциацию с папиллярным раком ЩЖ в казахской популяции.

Обсуждение основного результата исследования

Учитывая опубликованные ранее научные данные, что SNP rs965513 и rs944289, локализованные в локусах 9q22.33 (ген *FOXE1*) и 14q13.3 (ген *NKX2-1*) соответственно, показали сильную ассоциацию с папиллярным раком ЩЖ сразу в нескольких популяциях [5–8, 10] и что эти гены являются специфичными для щитовидной железы транскрипционными факторами, которые проявляются на ранних стадиях морфогенеза щитовидной железы, а также регулируют транскрипцию генов, специфичных для щитовидной железы, можно предположить, что rs965513 и rs944289 участвуют в регуляции уровня экспрессии генов *FOXE1* и *NKX2-1*, продукт которого вовлечен в патогенетический механизм развития папиллярного

рака ЩЖ [11–13]. В связи с этим изучение возможной ассоциации rs965513 и rs944289 с папиллярным раком ЩЖ представляло интерес и являлось обоснованным.

Как показал анализ данных rs965513, аллель риска [A] встречался чаще у больных папиллярным раком ЩЖ, чем у лиц контрольной группы (см. табл. 2). Согласно данным, опубликованным ранее, частота встречаемости аллеля [A] в японской популяции равна 0,09; в европейских — 0,49 [7, 9]. Следовательно, частота аллеля [A] rs965513 в казахской популяции является промежуточной для японского и европейских этносов.

Аналогично данным rs965513, полиморфизм rs944289 с рискованной аллелем [T] встречался чаще, чем аллель [C], в группах папиллярного рака ЩЖ с частотой 0,55. При этом частота в японской популяции, согласно М. Matsuse и соавт., достигает 0,47, в европейских, по сведениям М. Penna-Martinez и соавт., — 0,64 [7, 9]. Как и в случае предыдущего полиморфизма, в казахской популяции частота аллеля [T] rs944289 оказалась промежуточной между частотой в японской и европейских популяций.

Как показали данные нашего исследования, частота минорных аллелей двух изученных однонуклеотидных полиморфизмов в казахской популяции является в целом промежуточной между восточноазиатской и европейской. Таким образом, частота рискованных аллелей в анализируемой группе пациентов и группе контроля отличалась между собой, и вычисленные OR оказались выше значения «1», что указывает на достоверность данных исследования. В нашей работе были выявлены ассоциации с папиллярным раком ЩЖ (см. табл. 3), и результаты согласуются с предыдущими опубликованными исследованиями [7, 9].

Заключение

В заключение отметим, что изученные в нашей работе полиморфизмы rs965513 и rs944289 несут ассоциации с папиллярным раком ЩЖ, что с большой степенью уверенности позволяет предположить обусловленность заболевания раком ЩЖ в казахской популяции данными генетическими детерминантами.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Института изучения заболеваний, вызванных атомной бомбардировкой, Университета Нагасаки (Нагасаки, Япония).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанного с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов. А.С. Крыкпаева — сбор материала, генотипирование, обработка материала, анализ полученных данных, подготовка текста; М. Накашима — разработка концепции и дизайна исследования, анализ полученных данных, статистическая обработка данных, редактирование; М.Ж. Еспенбетова — сбор материала,

разработка концепции и дизайна исследования; Ж. Мусажанова — разработка концепции и дизайна исследования, генотипирование, обработка материала, анализ полученных данных, статистическая обработка данных, подготовка и редактирование текста; Б.Л. Азизов — сбор и обработка материала. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Выражение признательности. Выражаем глубокую признательность Институту изучения заболеваний, вызванных атомной бомбардировкой, Университета Нагасаки (Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University, Япония) за финансирование, методологическую помощь, реактивы и оборудование, предоставленные для данного исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kweon SS, Shin MH, Chung IJ, et al. Thyroid cancer is the most common cancer in women, based on the data from population-based cancer registries, South Korea. *Jpn J Clin Oncol.* 2013;43(10):1039–1046. doi: 10.1093/jco/hyt102.
2. Kimura ET, Nikiforova MN, Zhu Z, et al. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer. *Cancer Res.* 2003;63(7):1454–1457.
3. Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, Rosai J, editors. *WHO Classification of Tumours of endocrine organs.* WHO Classification of Tumours, 4th ed. Vol. 10. WHO; 2017. 355 p.
4. Cardis E, Kesminiene A, Ivanov V, et al. Risk of thyroid cancer after exposure to 131I in childhood. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97(10):724–732. doi: 10.1093/jnci/dji129.
5. Takahashi M, Saenko VA, Rogounovitch TI, et al. The FOXE1 locus is a major genetic determinant for radiation-related thyroid carcinoma in Chernobyl. *Hum Mol Genet.* 2010;19(12):2516–2523. doi: 10.1093/hmg/ddq123.
6. Gudmundsson J, Sulem P, Gudbjartsson DF, et al. Common variants on 9q22.33 and 14q13.3 predispose to thyroid cancer in European populations. *Nat Genet.* 2009;41(4):460–464. doi: 10.1038/ng.339.
7. Matsuse M, Takahashi M, Mitsutake N, et al. The FOXE1 and NKX2-1 loci are associated with susceptibility to papillary thyroid carcinoma in the Japanese population. *J Med Genet.* 2011;48(9):645–648. doi: 10.1136/jmedgenet-2011-100063.
8. Pereda C, Lesueur F, Pertesi M, et al. Common variants at the 9q22.33, 14q13.3 and ATM loci, and risk of differentiated thyroid cancer in the Cuban population. *BMC Genet.* 2015;16:22. doi: 10.1186/s12863-015-0180-5.
9. Penna-Martinez M, Epp F, Kahles H, et al. FOXE1 association with differentiated thyroid cancer and its progression. *Thyroid.* 2014;24(5):845–851. doi: 10.1089/thy.2013.0274.
10. Jones AM, Howarth KM, Martin L, et al. Thyroid cancer susceptibility polymorphisms: confirmation of loci on chromosomes 9q22 and 14q13, validation of a recessive 8q24 locus and failure to replicate a locus on 5q24. *J Med Genet.* 2012;49(3):158–163. doi: 10.1136/jmedgenet-2011-100586.
11. Guazzi S, Price M, De Felice M, et al. Thyroid nuclear factor 1 (TTF-1) contains a homeodomain and displays a novel DNA binding specificity. *EMBO J.* 1990;9(11):3631–3639. doi: 10.1002/j.1460-2075.1990.tb07574.x.
12. Kendall J, Liu Q, Bakleh A, et al. Oncogenic cooperation and coamplification of developmental transcription factor genes in lung cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(42):16663–16668. doi: 10.1073/pnas.0708286104.
13. Kimura S, Hara Y, Pineau T, et al. The T/ebp null mouse: thyroid-specific enhancer-binding protein is essential for the organogenesis of the thyroid, lung, ventral forebrain, and pituitary. *Genes Dev.* 1996;10(1):60–69. doi: 10.1101/gad.10.1.60.
14. Li W, Ain KB. Human sodium-iodide symporter (hNIS) gene expression is inhibited by a trans-active transcriptional repressor, NIS-repressor, containing PARG-1 in thyroid cancer cells. *Endocr Relat Cancer.* 2010;17(2):383–398. doi: 10.1677/ERC-09-0156.
15. Mitchell LE, Christensen K. Evaluation of family history data for Danish twins with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Am J Med Genet.* 1997;72(1):120–121. doi: 10.1002/(sici)1096-8628(19971003)72:1<120::aid-ajmg25>3.0.co;2-s.
16. Tomaz RA, Sousa I, Silva JG, et al. FOXE1 polymorphisms are associated with familial and sporadic nonmedullary thyroid cancer susceptibility. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2012;77(6):926–933. doi: 10.1111/j.1365-2265.2012.04505.x.
17. Abramson JH. WINPEPI updated: computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. *Epidemiol Perspect Innov.* 2011;8(1):1. doi: 10.1186/1742-5573-8-1.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

***Мусажанова Жанна**, ассистент профессора [Zhanna Mussazhanova, MD, PhD, Assistant Professor]; адрес: 852-8523, Сакамото 1-12-4, город Нагасаки, Япония [852-8523, Sakamoto 1-12-4, Nagasaki, Japan]; тел.: +(81) 958-197-107, e-mail: ghannakz@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7315-7725>

Крыкпаева Айну́р Сериковна, докторант PhD, ассистент [Ainur S. Krykpaeva, PhD-student]; e-mail: k.ainur.85@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7701-9832>

Накашима Масахиро, д.м.н., профессор [Nakashima Masahiro, MD, PhD, Professor]; e-mail: moemoe@nagasaki-u.ac.jp; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9036-8735>

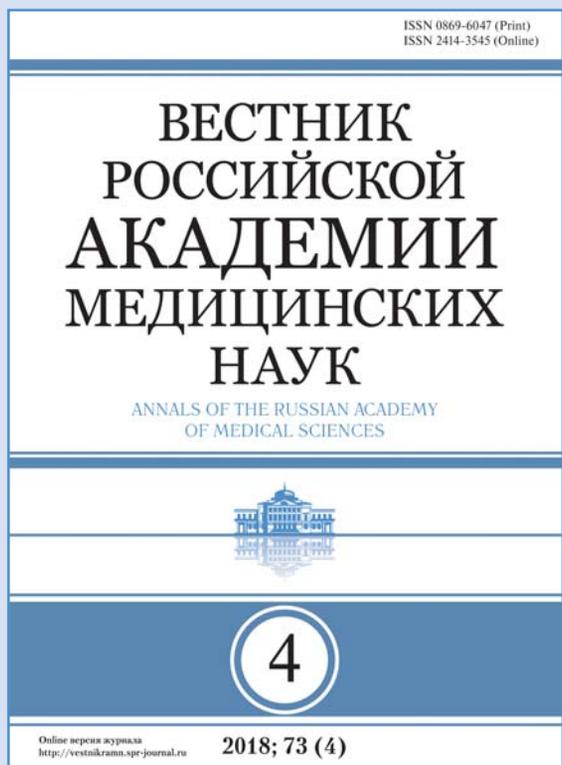
Еспенбетова Майра Жаксимаповна, д.м.н., профессор [Maira Zh. Espenbetova, MD, PhD, Professor]; e-mail: espenbetova@inbox.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2318-4765>

Азизов Бауыржан Слямович [Baurzhan S. Azizov, MD]; e-mail: aiaziz@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4775-8970>

ВНИМАНИЮ ПОДПИСЧИКОВ!



Союз
педиатров
России



Научно-практический рецензируемый журнал «Вестник Российской академии медицинских наук» — авторитетное научное издание, издается с 1946 года.

Журнал публикует оригинальные научные материалы, результаты завершённых клинических исследований во всех областях медицины и статьи обзорного характера по важнейшим проблемам медицинской науки и практики здравоохранения. Основной целью журнала является консолидация сообщества ученых и практиков, привлечение внимания к наиболее актуальным, перспективным и интересным направлениям медицины, содействие в формировании и развитии наиболее перспективных направлений исследовательской практики, представление информации о научных исследованиях и достижениях, обеспечение обмена мнениями между исследователями из разных регионов.

Журнал входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук. Индексируется в Elsevier BV Scopus, PubMed, РИНЦ.

Подписка через агентства:

- **«Роспечать»**
Подписной индекс 71488
Оплата по квитанции через отделения Почты России.
- **«Почта России»**
Подписной индекс П4838
Оплата по квитанции через отделения Почты России.



Электронная редакционная подписка

Новый номер журнала — в день выхода его электронной версии.

Стоимость:

- один выпуск — 750 руб.
- одна статья — 450 руб.
- полгода (3 номера) — 2 250 руб.,
- год (6 номеров) — 4 500 руб.

Оплата по квитанции через Сбербанк, online оплата пластиковыми картами VISA и MASTERCARD через платежную систему Яндекс.Деньги.

По всем возникающим вопросам обращаться
по электронной почте sales@spr-journal.ru
Контактное лицо – Вильма Генриховна Саакян

Адрес редакции:
117335, г. Москва, ул. Вавилова, д. 81, кор. 1.