



ФЕДЕРАЛЬНОЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОЕ АГЕНТСТВО

клиническая практика

2021
Том 12 №1

ISSN 2618-8627 (Online)
ISSN 2220-3095 (Print)

ЖУРНАЛ ВКЛЮЧЕН В ПЕРЕЧЕНЬ ВАК



JOURNAL OF CLINICAL PRACTICE

Volume 12 Issue 1

www.clinpractice.ru

клиническая практика

2021, Том 12, №1

мультидисциплинарный рецензируемый журнал для врачей

Издается с 2009 г. Выходит четыре раза в год. ISSN (print) 2220-3095; ISSN (online) 2618-8627

Главный редактор: Троицкий А.В.

Зам. главного редактора, научный редактор: Баклаушев В.П.

Редакционная коллегия:

Аверьянов А.В., Агзамов Д.С., Алексеев Л.П.,
Алтынник Н.А., Арутюнов Г.П., Бабаев М.А.,
Белопасов В.В., Бойко А.Н., Васильев В.Н., Владимирова Е.В.,
Войтенков В.Б., Восканян С.Э., Гурина О.И., Даминов В.Д.,
Девиченский В.М., Дундуа Д.П., Екушева Е.В., Ерёменко А.А.,
Забозлаев Ф.Г., Затейщиков Д.А., Зотов А.С., Зыков К.А.,
Иванов Ю.В., Ищенко Р.В., Кедрова А.Г., Клыпа Т.В., Ковалык В.П.,
Комаров Г.А., Конопляников М.А., Кочубей А.В., Лазко Ф.Л.,
Лесняк В.Н., Луцкий Д.Л., Mally Ju., Мартынов М.Ю., Матушевская Е.В.,
Медведев М.В., Миргазизов М.З., Мураков С.В., Овечкин И.Г.,
Олесов Е.Е., Олесова В.Н., Орехов П.Ю., Павлова Г.В.,
Панченков Д.Н., Писарев В.М., Полунина Е.Г., Попугаев К.А.,
Редько А.Н., Решетов И.В., Савина М.И., Самойлов А.С.,
Скворцов Д.В., Соодаева С.К., Сорокина Е.В., Стасевич Н.Ю.,
Стручков П.В., Терещенко С.Н., Трубилин В.Н., Туруспекова С.Т.,
Хабазов Р.И., Хаитов М.Р., Чупин А.В., Ширшова Е.В., Chao Zhang,
Wang Guowen, Xin Wang.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций.

Свидетельство о регистрации средства массовой информации

ПИ №ФС77-38032 от 11 ноября 2009 г.

Журнал включен в перечень ВАК

Адрес редакции: 115682, г. Москва, Ореховый бульвар, д. 28.

www.clinpractice.ru

Общий тираж: 1300 экз.

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

А.Ю. Анисенкова, С.В. Апалько, З.П. Асауленко, А.Н. Богданов, Д.А. Вологжанин, Е.Ю. Гарбузов, О.С. Глотов, Т.А. Камилова, О.А. Клиценко, Е.М. Минина, С.В. Мосенко, Д.Н. Хоботников, С.Г. Щербак ОСНОВНЫЕ ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА ЦИТОКИНОВОГО ШТОРМА У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 (РЕТРОСПЕКТИВНОЕ КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)	5
А.В. Алтухова, С.Н. Кауркин, Д.В. Скворцов, А.А. Ахпашев, Л. Менсах ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СИМПТОМАТИКА В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ТОТАЛЬНОГО ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КОЛЕННОГО СУСТАВА.....	16
М.В. Бычинин, И.А. Мандель, Т.В. Клыпа, Н.А. Колышкина, С.А. Андрейченко РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ГИПОВИТАМИНОЗА D У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 В ОТДЕЛЕНИИ РЕАНИМАЦИИ И ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ	25

ОБЗОРЫ

В.С. Федоров, О.Н. Иванова, И.Л. Карпенко, А.В. Иванов ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА НОВУЮ КОРОНАВИРУСНУЮ ИНФЕКЦИЮ	33
Д.А. Вологжанин, А.С. Голота, Т.А. Камилова, О.В. Шнейдер, С.Г. Щербак ГЕНЕТИКА COVID-19	41
М.А. Конопляников, О.В. Князев, В.П. Баклаушев ПРИМЕНЕНИЕ МСК ДЛЯ ТЕРАПИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КИШЕЧНИКА	53
О.И. Бровкина, А.Г. Никитин МУТАЦИИ В ГЕНАХ KRAS И NRAS КАК БИОМАРКЕРЫ В ТЕРАПИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА И ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ИХ ДЕТЕКЦИИ.....	66
Н.В. Марченко, В.Б. Войтенков, Н.В. Скрипченко, Д.Л. Дубицкий, М.А. Бедова, А.С. Овчинников, Д.Н. Чуркина НЕЙРОВИЗУАЛИЗАЦИЯ ПРИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕНИНГИТАХ У ДЕТЕЙ	72
А.К. Аксаментов, Н.В. Мельникова, Н.А. Колышкина, О.Н. Кучерова, В.П. Баклаушев ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ В ПРАКТИКЕ ПАП-ТЕСТА МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ЦИТОЛОГИИ.....	82
А.В. Яриков, Р.О. Горбатов, А.А. Денисов, И.И. Смирнов, А.П. Фраерман, А.Г. Соснин, О.А. Перльмуттер, А.А. Калинин ПРИМЕНЕНИЕ АДДИТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ 3D-ПЕЧАТИ В НЕЙРОХИРУРГИИ, ВЕРТЕБРОЛОГИИ, ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ	90

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

А.В. Конев, Е.В. Симоненко, О.В. Химий, С.В. Королев, Д.П. Дундуа ИПСИЛАТЕРАЛЬНЫЙ БЛОК, ИЛИ МОЖНО ЛИ ПО ОДНОЙ ЭКГ ПОСТАВИТЬ ДИАГНОЗ?	105
А.В. Бочаров, Л.В. Попов КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ УСПЕШНОГО ЭТАПНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТА С РАССЛАИВАЮЩЕЙ АНЕВРИЗМОЙ ВОСХОДЯЩЕГО ОТДЕЛА АОРТЫ С ВОВЛЕЧЕНИЕМ СТВОЛА ЛЕВОЙ КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ	113

journal of clinical practice

multidisciplinary peer-review medical journal

Vol 12, N 1 (2021)

Published since 2009 Issued once in three months. ISSN (print) 2220-3095; ISSN (online) 2618-8627

Editor-in-Chief: Troitsky A.V.

Deputy Editor-in-Chief: Baklaushev V.P.

Editorial Board:

Averyanov A.V., Agzamov D.S., Alekseev L.P., Altyunnik N.A., Arutyunov G.P.,
Babaev M.A., Belopasov V.V., Boyko A.N., Vasil'ev V.N., Vladimirova E.V.,
Voytenkov V.B., Voskanyan S.E., Gurina O.I., Daminov V.D., Devichensky V.M.,
Dundua D.P., Ekusheva E.V., Eremenko A.A., Zabozaev F.G.,
Zateyshchikov D.A., Zykov K.A., Zotov A.S., Ivanov Yu.V., Ishchenko R.V.,
Kedrova A.G., Klypa T.V., Kovalyk V.P., Komarov G.A., Konoplyannikov M.A.,
Kochubey A.V., Lazko F.L., Lesnyak V.N., Lutsky D.L., Mály Ju., Martynov M.Y.,
Matushevskaya E.V., Medvedev M.V., Mirgazizov M.Z., Murakov S.V.,
Ovechkin I.G., Olesov E.E., Olesova V.N., Orekhov P.Y., Pavlova G.V.,
Panchenkov D.N., Pisarev V.M., Polunina E.G., Popugaev K.A., Redko A.N.,
Reshetov I.V., Savina M.I., Samoilov A.S., Skvortsov D.V., Soodaeva S.K.,
Sorokina E.V., Stasevich N.Yu., Struchkov P.V., Tereshchenko S.N.,
Trubilin V.N., Turuspekova S.T., Khabazov R.I., Khaitov M.R., Chupin A.V.,
Shirshova E.V., Chao Zhang, Wang Guowen, Xin Wang.

The journal is registered with Federal Service for Supervision of Communications,
Information Technology and Mass Media and Federal Service for Monitoring Compliance
with Cultural Heritage Protection Law PI № FS77-38032 November, 11, 2009.

The Journal is included into the «*List of leading scientific peer-reviewed journals, where
principal data of applicants for scientific degree has to be published*».

Editorial office and founder
Federal Research Clinical Center FMBA of Russia
115682, 28 Orekhovy blvd, Moscow, Russia

Edition 1300 copies

CONTENTS

ORIGINAL RESEARCH

A.Yu. Anisenkova, S.V. Apalko, Z.P. Asaulenko, A.N. Bogdanov, D.A. Vologzhanin, E.Yu. Garbuzov, O.S. Glotov, T.A. Kamilova, O.A. Klitsenko, E.M. Minina, S.V. Mosenko, D.N. Hobotnikov, S.G. Shcherbak	
MAJOR PREDICTIVE RISK FACTORS FOR A CYTOKINE STORM IN COVID-19 PATIENTS (A RETROSPECTIVE CLINICAL TRIALS).....	5
A.V. Altukhova, S.N. Kaurkin, D.V. Skvortsov, A.A. Akhpashev, L. Mensah	
LONG-TERM FUNCTIONAL SYMPTOMS AFTER TOTAL KNEE ARTHROPLASTY	16
M.V. Bychinin, I.A. Mandel, T.V. Klypa, N.A. Kolyshkina, S.A. Andreichenko	
PREVALENCE OF HYPOVITAMINOSIS D IN COVID-19 PATIENTS IN THE INTENSIVE CARE UNIT	25

REVIEWS

V.S. Fedorov, O.N. Ivanova, I.L. Karpenko, A.V. Ivanov	
THE IMMUNE RESPONSE TO THE NOVEL CORONAVIRUS INFECTION.....	33
D.A. Vologzhanin, A.S. Golota, T.A. Kamilova, O. V. Shneider, S.G. Sherbak	
GENETICS OF COVID-19.....	41
M.A. Konoplyannikov, O.V. Knyazev, V.P. Baklaushev	
MSC THERAPY FOR INFLAMMATORY BOWEL DISEASE.....	53
O.I. Brovkina, A.G. Nikitin	
KRAS AND NRAS GENES MUTATIONS AS BIOMARKERS IN THE THERAPY OF COLORECTAL CANCER AND THE BASIC METHODS OF THEIR DETECTION	66
N.V. Marchenko, V.B. Voitenkov, N.V. Scripchenko, D.L. Dubitsky, M.A. Bedova, A.S. Ovchinnikov, D.N. Churkina	
BACTERIAL MENINGITIS IMAGING IN CHILDREN.....	72
A.K. Aksamentov, N.V. Melnikova, N.A. Kolyshkina, O.N. Kucherova, V.P. Baklaushev	
ADDITIONAL DIAGNOSTIC CAPABILITIES IN THE PRACTICE OF A PAP-TEST USING LIQUID-BASED CYTOLOGY	82
A.V. Yarikov, R.O. Gorbato, A.A. Denisov, I.I. Smirnov, A.P. Fraerman, A.G. Sosnin, O.A. Perlmutter, A.A. Kalinkin	
APPLICATION OF ADDITIVE 3D PRINTING TECHNOLOGIES IN NEUROSURGERY, VERTEBROLOGY AND TRAUMATOLOGY AND ORTHOPEDICS.....	90

CLINICAL CASE

A.V. Konev, E.V. Simonenko, O.V. Khimiy, S.V. Korolev, D.P. Dundua	
IPSILATERAL BLOCK OR CAN A SINGLE ECG BE USED FOR THE DIAGNOSIS?	105
A.A. Bocharov, L.V. Popov	
A CLINICAL CASE OF A SUCCESSFUL STEP-BY-STEP TREATMENT OF A PATIENT WITH A DISSECTING ANEURYSM OF THE ASCENDING AORTA INVOLVING THE TRUNK OF THE LEFT CORONARY ARTERY	113

ОСНОВНЫЕ ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА ЦИТОКИНОВОГО ШТОРМА У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 (РЕТРОСПЕКТИВНОЕ КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

© А.Ю. Анисенкова^{1,2}, С.В. Апалько¹, З.П. Асауленко^{1,3}, А.Н. Богданов^{1,2,4}, Д.А. Вологжанин¹,
Е.Ю. Гарбузов¹, О.С. Глотов¹, Т.А. Камилова¹, О.А. Клиценко³, Е.М. Минина¹, С.В. Мосенко¹,
Д.Н. Хоботников¹, С.Г. Щербак^{1,2}

¹ Городская больница № 40 Курортного административного района, Санкт-Петербург, Российская Федерация

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴ Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Обоснование. По данным Всемирной организации здравоохранения (WHO Coronavirus Disease), на 31.03.2021 в мире зарегистрировано 127 877 462 подтвержденных случая новой коронавирусной инфекции COVID-19, в том числе 2 796 561 со смертельным исходом. COVID-19 характеризуется широким спектром клинических проявлений — от бессимптомного до быстрого прогрессирования в тяжелую и крайне тяжелую форму. Прогностические биомаркеры раннего выявления лиц из группы высокого риска стали неотложной медицинской необходимостью. **Цель исследования** — поиск предикторов цитокинового шторма, характеризующего тяжелое течение инфекции COVID-19, создание шкалы риска развития этого осложнения у пациентов для практической работы. **Методы.** В исследование вошли 458 пациентов с подтвержденной инфекцией COVID-19 и признаками вирусного поражения легких по данным компьютерной томографии. Пациенты разделены на 2 группы: со стабильным течением средней тяжести ($n=100$) и с прогрессирующим течением средней, тяжелой и крайне тяжелой степени ($n=358$). **Результаты.** Установлено, что основными факторами риска развития цитокинового шторма у пациентов с COVID-19 являются концентрация интерлейкина-6 >23 пг/мл, динамика индекса по шкале NEWS ≥ 0 , концентрация ферритина >485 нг/мл, D-димера $>2,1$, С-реактивного белка >50 мг/л, количество лимфоцитов в крови $<0,72 \times 10^9$ /л, возраст ≥ 40 лет. Частота случаев цитокинового шторма коррелирует с увеличением числа факторов риска. Для практического применения шкалы выделены 3 группы риска: у пациентов первой группы (0–1 фактор) риск цитокинового шторма практически отсутствует, во второй группе (2–3 фактора) вероятность шторма составляет 55% (увеличивается в 35,5 раза), в третьей группе (≥ 4 факторов риска) достигает 96% (увеличивается в 718 раз). **Заключение.** У пациентов с инфекцией COVID-19 установлены критерии диагностики и контроля цитокинового шторма. Разработанная прогностическая шкала позволяет выделить пациентов с высоким риском развития цитокинового шторма для раннего назначения противовоспалительной терапии.

Ключевые слова: инфекция COVID-19; цитокиновый шторм; ранняя диагностика и мониторинг.

Для цитирования: Анисенкова А.Ю., Апалько С.В., Асауленко З.П., Богданов А.Н., Вологжанин Д.А., Гарбузов Е.Ю., Глотов О.С., Камилова Т.А., Клиценко О.А., Минина Е.М., Мосенко С.В., Хоботников Д.Н., Щербак С.Г. Основные прогностические факторы риска цитокинового шторма у пациентов с COVID-19 (ретроспективное клиническое исследование). Клиническая практика. 2021;12(1):5–15. doi: 10.17816/clinpract63552

Поступила 10.01.2021

Принята 30.01.2021

Опубликована 01.04.2021

ОБОСНОВАНИЕ

Инфекция COVID-19 (COroNaVirus Disease 2019), вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2, остается глобальной проблемой для всемирного здравоохранения. У большинства людей, инфицированных SARS-CoV-2, болезнь протекает в легкой форме.

У части пациентов иммунный ответ становится нерегулируемым, что приводит к тяжелому повреждению легких и проявляется как острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) с последующим развитием острой дыхательной недостаточности, дисфункции внелегочных органов и высокой смертностью.

Болезнь COVID-19 обычно связана с повышением уровней воспалительных биомаркеров, цитокинов и хемокинов, особенно при тяжелом течении. Помимо того, часто встречаются лимфоцитопения и нейтрофилия со значительным уменьшением числа CD8+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток и естественных клеток-киллеров (natural killer, NK) [1]. Смертность госпитализированных пациентов колеблется от 15 до 20% и выше у нуждающихся в интенсивной терапии [2].

Центральной в патофизиологии COVID-19 является иммунная дисфункция с выраженной неконтролируемой генерализованной системной

воспалительной реакцией вследствие усиленной продукции воспалительных цитокинов — цитокиновый шторм (ЦШ). ЦШ сопровождается лихорадкой, цитопенией, гиперферритинемией, аномальными печеночными показателями, коагулопатией и поражением легких (в том числе ОРДС) [3]. При всех этих состояниях интерлейкины (interleukin, IL) 1 β , 18, 6 и интерферон гамма (interferon gamma, IFN- γ) являются основными медиаторами гипервоспаления. COVID-19-ассоциированный ЦШ является уникальной формой гипервоспалительной реакции, требующей разработки критериев его установления [4].

MAJOR PREDICTIVE RISK FACTORS FOR A CYTOKINE STORM IN COVID-19 PATIENTS (A RETROSPECTIVE CLINICAL TRIALS)

© A.Yu. Anisenkova^{1,2}, S.V. Apalko¹, Z.P. Asaulenko^{1,3}, A.N. Bogdanov^{1,2,4}, D.A. Vologzhanin¹, E.Yu. Garbuzov¹, O.S. Glotov¹, T.A. Kamilova¹, O.A. Klitsenko³, E.M. Minina¹, S.V. Mosenko¹, D.N. Hobotnikov¹, S.G. Shcherbak^{1,2}

¹ Saint-Petersburg City Hospital No 40 of Kurortny District, Saint Petersburg, Russian Federation

² Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russian Federation

³ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russian Federation

⁴ Military Medical Academy of S.M. Kirov, Saint Petersburg, Russian Federation

Background: According to WHO, as of March 31, 2021, 127 877 462 confirmed cases of the new COVID-19 coronavirus infection were registered in the world, including 2 796 561 deaths (WHO Coronavirus Disease). COVID-19 is characterized by a wide range of clinical manifestations, from asymptomatic to a rapid progression to severe and extremely severe. Predictive biomarkers for the early detection of high-risk individuals have become a matter of great medical urgency. **Aims:** Search for the predictors of a cytokine storm in patients with COVID-19 infection and creation of a risk scale of this complication for practical applications. **Methods:** The study included 458 patients with confirmed COVID-19 infection with signs of viral lung lesions according to the computer tomography data. The patients were divided into 2 groups: those with a stable course of moderate severity (100 patients) and those with progressive moderate, severe and extremely severe course (358 patients). **Results:** It has been established that the main risk factors for the development of a cytokine storm in COVID-19 patients are the following: interleukin-6 concentration >23 pg/ml, dynamics of the index on the NEWS scale ≥ 0 , ferritin concentration >485 ng/ml, D-dimer concentration >2.1, C-reactive protein concentration >50 mg/l, number of lymphocytes in the blood <0.72 $\times 10^9$ /l, age ≥ 40 years. The cytokine storm incidence correlates with an increase in the number of risk factors. For the practical testing the scale was applied in 3 groups. In patients of the first group (0–1 factor) almost no cytokine storm risk was found, in the second group (2–3 factors) the probability of the storm was 55% (increase by 35.5 times), in the third group (≥ 4 risk factors) it reached 96% (increase by 718 times). **Conclusion:** The diagnostic and monitoring criteria of a cytokine storm have been established in patients with COVID-19 infection. The developed prognostic scale allows identification of patients at high risk of developing a cytokine storm so that early anti-inflammatory therapy could be started.

Keywords: COVID-19 infection; cytokine storm; early diagnosis and monitoring.

Для цитирования: Anisenkova AY, Apalko SV, Asaulenko ZP, Bogdanov AN, Vologzhanin DA, Garbuzov EYu, Glotov OS, Kamilova TA, Klitsenko OA, Minina EM, Mosenko SV, Hobotnikov DN, Shcherbak SG. Major Predictive Risk Factors for a Cytokine Storm in COVID-19 Patients (A Retrospective Clinical Trials). *Journal of Clinical Practice*. 2021;12(1):5–15. doi: 10.17816/clinpract63552

Submitted 10.01.2021

Revised 30.01.2021

Published 01.04.2021

Цель исследования — поиск биомаркеров-предикторов ЦШ у пациентов с COVID-19 и создание на их основе прогностической шкалы риска развития ЦШ для использования в повседневной врачебной деятельности.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Обсервационное клиническое исследование.

Критерии соответствия

Проведен анализ 458 историй болезни пациентов с COVID-19, находившихся на лечении в ГБУЗ «Городская больница № 40» Санкт-Петербурга в период с 18.04.2020 по 21.11.2020, имевших положительный результат теста на наличие PHK SARS-CoV-2 методом амплификации нуклеиновых кислот в полимеразной цепной реакции (ПЦР); клинические проявления и симптомы (лихорадку, общую слабость и недомогание, кашель и одышку); изменения по типу вирусной пневмонии на КТ-изображении легких без внутривенного контрастного усиления (преимущественно двустороннего нижнедолевого, периферического, периваскулярного, мультилобулярного характера; многочисленные периферические уплотнения в виде «матового стекла» округлой формы различной протяженности; уплощение междолькового интерстиция по типу буллезной мостовой, участки консолидации, симптом воздушной бронхограммы и др.) [5].

Методы регистрации исходов

У всех пациентов проводили сбор анамнестических данных с уточнением особенностей течения заболевания; объективный осмотр с оценкой параметров гемодинамики, дыхательной системы (частота дыхательных движений, частота сердечных сокращений, артериальное давление, степень насыщения крови кислородом, SpO_2 ; степень дыхательной недостаточности); оценку по шкале раннего выявления риска у пациентов с внезапными острыми заболеваниями (National Early Warning Score, NEWS), рекомендованной к использованию для пациентов с COVID-19 [6]; компьютерную томографию (КТ) органов грудной клетки с оценкой формы заболевания по четырехзначной шкале (КТ-1, КТ-2, КТ-3, КТ-4); лабораторные исследования (клинический анализ крови; биохимический минимум; определение уровней ферритина, С-реактивного белка, IL-6, лактатдегидрогеназы, D-димера), электрокардиографию; при необходи-

мости использовали дополнительные инструментальные методики.

Статистический анализ

Оценку полученных данных выполняли средствами системы STATISTICA for Windows (версия 10, лиц. BXXR310F964808FA-V). Сравнение количественных параметров (возраст, индекс NEWS, уровни D-димера, СРБ, IL-6 и др.), определение нормальности распределения выборки в группах пациентов осуществляли с использованием критериев Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова, медианного χ^2 и модуля ANOVA, т.к. распределение всех показателей (за исключением возраста) не соответствовало нормальному. Частотные характеристики качественных показателей (пол, степень и форма патологических процессов, жалобы) оценивали с помощью непараметрических методов χ^2 , критерия Пирсона, критерия Фишера.

Пороговые уровни для возраста, индекса NEWS и лабораторных данных определяли с помощью метода построения деревьев классификации (Classification Trees) [7].

Относительный риск ЦШ (odds ratio, OR): отношение вероятности развития определенного исхода в группах сравнения изучали путем построения четырехпольной таблицы сопряженности с расчетом стандартной формулы и границ доверительного интервала. При наличии в таблице нулевых значений для расчета использовали поправку Халдейна.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты (участники) исследования

Демографические данные, данные эпидемиологического анамнеза и сопутствующие заболевания пациентов исследуемой когорты представлены в табл. 1.

Основные результаты исследования

Распространенность сопутствующих заболеваний у наших пациентов существенно превышает этот показатель у взрослых пациентов с COVID-19 по литературным данным (31% [8]). Высокий процент сочетанной патологии у наших пациентов связан с определенной профилизацией нашего корпуса, а именно с лечением пациентов с тяжелым и крайне тяжелым течением болезни. В отделении реанимации и интенсивной терапии из других отделений и стационаров в связи с прогрессирующим течением COVID-19 переведен 221 (48%) пациент.

Таблица 1 / Table 1

Демографические, эпидемиологические и анамнестические данные пациентов
Patients' demographic, epidemiological and anamnestic data

Показатель	n (%)
<i>Возраст, лет</i>	
• ≤39	38 (8,30)
• 40–49	58 (12,66)
• 50–59	123 (26,86)
• 60–69	139 (30,35)
• ≥70	100 (21,83)
Контакт с инфекционными больными	100 (22,22)
Выезд за пределы места проживания в течение ближайших 14 дней	45 (9,83)
Наличие у близких родственников проявлений простуды (лихорадка, кашель, слабость)	44 (9,61)
<i>Наличие заболеваний в анамнезе:</i>	
• гипертоническая болезнь	260 (56,77)
• ишемическая болезнь сердца	222 (48,47)
• цереброваскулярные болезни	139 (30,35)
• состояние после инсульта	97 (21,18)
• состояние после острого инфаркта миокарда	34 (7,42)
• состояние после оперативного лечения	89 (19,43)
• ревматоидный артрит и другие аутоиммунные заболевания	65 (14,19)
• сахарный диабет	63 (13,76)
• хроническая болезнь почек 3-5 стадий	32 (6,99)
• злокачественные новообразования	22 (4,80)
• хроническая обструктивная болезнь легких	20 (4,37)
• хронический бронхит	20 (4,37)
• бронхиальная астма	13 (2,84)

При поступлении у пациентов зарегистрированы лихорадка (365; 80%), кашель (329; 72%), одышка (265; 57,86%), боль в мышцах (43; 9,39%), общая слабость (344; 75,11%), головная боль (36; 7,86%), боль в горле (29; 6,33%), насморк, ринорея (46; 10,04%), боль в грудной клетке (51; 11,14%), диарея (34; 7,42%), тошнота и рвота (13; 2,84%), снижение обоняния и вкуса (40; 8,73%). Наличие одного и более симптома заболевания отмечено у 450 (98,25%), КТ-признаков пневмонии — у 458 (100%) пациентов.

Пациенты были разделены на две группы, сравнимые по возрасту. Первую группу составили 100 (21,8%) пациентов с клинико-рентгенологическими особенностями, характеризующими стабильное течение заболевания средней степени тяжести; вторую — 358 (78,2%) человек с прогрессирующим среднетяжелым, тяжелым и крайне тяжелым течением болезни (табл. 2).

Лечение COVID-19 и его осложнений в 1-й группе включало антибактериальные и противовирусные препараты, профилактику гиперкоагуляции и ДВС-синдрома, симптоматическое лечение, кислородную терапию. Во 2-й группе в соответствии с тяжестью состояния для предупреждения или лечения ЦШ стандартная терапия была дополнена назначением реконвалесцентной плазмы, антицитокиновых препаратов, а именно: ингибиторов рецептора IL-6 (тоцилизумаб, олокизумаб, левалимаб), IL-1 (канакинумаб, RH104), JAK-киназ (тофацитиниб, руксолитиниб, барицитиниб), тирозинкиназы Bcr-Abl (радотиниб), в ряде случаев — глюкокортикоидов. По показаниям проводили этапную респираторную терапию, модифицированную антибактериальную терапию, экстракорпоральную мембранную оксигенацию, лечение сепсиса

Таблица 2 / Table 2

Характеристика тяжести течения заболевания в группах пациентов
Characteristics of the disease severity in different groups of patients

Показатель	1-я группа		2-я группа		Всего	p
	n	%	n	%		
Женщины	58	58,0	159	44,4	217	0,016
Мужчины	42	42,0	199	55,6	241	
Степень тяжести течения заболевания:						
• средняя	100	100,00	153	42,74	253	0,000
• тяжелая; крайне тяжелая	0	0,00	205	57,26	205	
Форма заболевания по КТ 1–4 при поступлении:						
• КТ-1	57	57,0	82	22,9	139	0,000
• КТ-2	43	43,0	223	62,3	263	
• КТ-3	0	0,0	44	12,3	47	
• КТ-4	0	0,0	9	2,5	9	
Исходы заболевания:						
• выжившие	100	100,0	255	71,2	355	0,000
• умершие	0	0,0	103	28,8	103	

и септического шока (экстракорпоральная детоксикация и гемокоррекция и др.) [5].

При поступлении у пациентов 1-й группы достоверно чаще отмечена форма заболевания КТ-1, тогда как пациенты 2-й группы чаще, чем пациенты 1-й группы, госпитализировались с более тяжелыми формами — КТ-2, КТ-3 и КТ-4. Несмотря на преобладание во 2-й группе КТ-признаков средне-

тяжелого поражения легких (КТ-2), при поступлении у пациентов отмечались явления прогрессирующей дыхательной недостаточности и лихорадки (табл. 3).

Заметна достоверная разница по шкале NEWS: в 1-й группе индекс NEWS при поступлении составил в среднем 2 балла, средняя продолжительность госпитализации — 11 дней; во 2-й группе

Таблица 3 / Table 3

Сравнение групп пациентов по шкале NEWS, срокам поступления в стационар и длительности госпитализации

Comparison of patient groups via the NEWS scale, times of admission to the hospital and duration of the hospital stay

Показатель	Характеристики	1-я группа		2-я группа		p
		n	Значение	n	Значение	
Индекс NEWS при поступлении	M±s.d	100	2,4±1,7	356	4,5±2,7	<0,001
	Min-max		0–8		0–14	
Индекс NEWS к началу терапии цитокинового шторма	M±s.d	100	1,5±1,6	357	5,68±2,82	<0,001
	Min-max		0–6		0–14	
Индекс NEWS при выписке	M±s.d	100	0,2±1,02	349	3,29±5,42	<0,001
	Min-max		0–9		0–16	
Количество суток с начала заболевания до госпитализации	M±s.d	100	8,8±5,9	356	6,63±5,39	<0,001
	Min-max		0–37		0–57	
День заболевания к началу терапии цитокинового шторма (антицитокиновым препаратом, плазмой, гемосорбцией)	M±s.d	100	9,0±6,0	357	10,35±5,98	<0,017
	Min-max		1–37		1–59	
Сроки госпитализации (число койко-дней)	M±s.d	100	11,8±4,9	355	13,6±6,7	<0,012
	Min-max		3,2–29,0		0–44,1	

индекс NEWS при поступлении составил в среднем 4 балла, к началу терапии антицитокиновым препаратом, антиковидной плазмой, гемосорбции — 5 баллов, средняя продолжительность госпитализации — 12 дней. У пациентов 2-й группы с тяжелым и крайне тяжелым течением заболевания зарегистрирована самая высокая смертность от осложнений (28,8% в группе, 22,5% во всей когорте). Такие пациенты исходно имели неблагоприятный прогноз заболевания в силу возраста, коморбидности, клинической тяжести по степени дыхательной недостаточности, величины индекса по шкале NEWS, распространенности и последующей негативной динамики изменений легочной ткани по данным КТ (см. табл. 3).

Показатели абсолютного количества лимфоцитов и уровней лактатдегидрогеназы (ЛДГ), СРБ, ферритина, D-димера, IL-6 иллюстрируют картину инфекционного процесса вирусной этиологии как развивающийся ЦШ (лимфопения, гиперцитокинемия, гипервоспаление) [9, 10].

При проведении сравнительного анализа клинико-инструментальных и лабораторных данных в выделенных группах пациентов обозначены наи-

более важные показатели, характеризующие признаки развития ЦШ (табл. 4).

Динамика индекса по шкале NEWS качественно отличается у пациентов разных групп: в 1-й группе индекс уменьшается [динамика -1 (-2; 0) балл], а у пациентов 2-й группы с прогрессирующим течением заболевания индекс увеличивается [динамика +1 (0; 2) балл] ($p < 0,001$). Обнаружены достоверные отличия лабораторных показателей (абсолютного количества лимфоцитов, уровней СРБ, ферритина, D-димера, IL-6) между группами, которые согласуются с динамикой состояния пациентов по шкале NEWS с момента поступления до начала лечения ЦШ.

Методом построения классификационных деревьев (Classification Trees) идентифицированы пороговые уровни факторов риска развития ЦШ (табл. 5).

Превышение пороговых величин основных предикторов ЦШ достоверно чаще наблюдалось у пациентов 2-й группы (табл. 6).

В дальнейшем выполняли комплексную оценку риска ЦШ с ранжированием показателей, которыми, в соответствии с рангом прогностической значимости, полученным методом построения де-

Таблица 4 / Table 4

Основные показатели, имеющие значение в диагностике цитокинового шторма, к началу упреждающей противовоспалительной терапии

Basic indices important for the cytokine storm diagnosis, to the start of preventive anti-inflammatory therapy

Показатель	1-я группа		2-я группа		p
	n	M±s.d Min-max	n	M±s.d Min-max	
Возраст, лет	100	57,53±15,06	358	60,5 ± 13,37	0,05
		21–86		24–89	
Лимфоциты крови, 10 ⁹ /л	98	1,49±0,59	349	1,28±1,39	<0,01
		0,46–3,2		0,23–24,62	
Лактатдегидрогеназа крови, Ед/л	27	357,78±155,3	149	410,17±191,24	<0,1
		169–914		134–1492	
С-реактивный белок крови, мг/л	91	54,61±64,92	346	106,71±79,58	<0,001
		0,5–274,9		0,8–361,9	
Ферритин крови, нг/мл	20	328,57±185,15	190	696,28±792,88	<0,01
		57,1–781,3		0–7759,4	
D-димер, мкг/мл	29	1,26±2,75	147	1,84±2,79	<0,05
		0,27–15,34		0,15–18,69	
IL-6 крови, пг/мл	65	15,02±23,64	318	161,26±442,5	<0,001
		0–127,2		1,5–4894	
Динамика индекса NEWS от момента поступления до начала лечения цитокинового шторма	100	-0,96±1,19	356	1,24±1,86	<0,001
		-4–4		-3–11	

Таблица 5 / Table 5

Пороговые значения предикторов развития цитокинового шторма в 1-й и 2-й группах на момент начала упреждающей противовоспалительной терапии
Threshold values of the cytokine storm predictors in group 1 and 2 to the start of preventive anti-inflammatory therapy

Показатель	1 группа		2 группа		Всего	p
	n	%	n	%	n	
Лактатдегидрогеназа крови, Ед/л						
• ≤390	20	19,80	81	80,20	101	<0,1
• >390	7	9,33	68	90,67	75	
Возраст, лет						
• <40 лет	16	42,11	22	57,89	38	<0,01
• ≥40 лет	84	20,00	336	80,00	420	
Тест на РНК SARS-CoV-2						
• отрицательный	39	43,82	50	56,18	89	<0,001
• положительный	53	18,28	237	81,72	290	
С-реактивный белок крови, мг/л						
• <50	56	38,10	91	61,90	147	<0,001
• ≥50	35	12,07	255	87,93	290	
Лимфоциты крови, 10 ⁹ /л						
• ≥0,72	94	25,47	275	74,53	369	<0,001
• <0,72	4	5,13	74	94,87	78	
D-димер, мкг/мл						
• ≥2,1	28	19,44	116	80,56	144	<0,05
• <2,1	1	3,13	31	96,88	32	
Ферритин крови, нг/мл						
• ≥485	18	15,93	95	84,07	113	<0,01
• <485	2	2,06	95	97,94	97	
Индекс по шкале NEWS, балл						
• <0	62	74,70	21	25,30	83	<0,001
• ≥0	38	10,19	335	89,81	373	
IL-6 крови, пг/мл						
• ≤23	54	52,94	48	47,06	102	<0,001
• >23	11	3,91	270	96,09	281	

ревью классификации, к началу терапии ЦШ оказались:

- 1) динамика индекса по шкале NEWS;
- 2) уровень IL-6 крови выше 23 пг/мл;
- 3) уровень СРБ крови равный или выше 50 мг/л;
- 4) абсолютное количество лимфоцитов меньше $0,72 \times 10^9/\text{л}$;
- 5) положительный результат теста на РНК коронавируса (SARS-CoV-2);
- 6) возраст пациентов 40 лет и старше.

Эти биомаркеры могут быть использованы в качестве критериев для оценки риска ЦШ. Необходи-

димо отметить, что гендерные различия несущественны в дальнейшей комплексной оценке риска развития ЦШ.

На рис. 1 проиллюстрировано возрастание риска ЦШ (OR) в зависимости от величины лабораторных показателей.

Увеличение частоты случаев ЦШ коррелирует с увеличением числа факторов риска (коэффициент корреляции $R_g +0,91$, $p < 0,001$) (см. табл. 6; рис. 2). Любой из представленных факторов в комбинации с наибольшим количеством других увеличивал риск развития ЦШ.

Таблица 6 / Table 6

Частота цитокинового шторма при различном числе факторов риска
Cytokine storm incidence for different numbers of risk factors

Число факторов риска цитокинового шторма	1-я группа		2-я группа		Всего
	n	%	n	%	
Нет факторов	2	100,00	0	0,00	2
1	12	100,00	0	0,00	12
2	14	63,64	8	36,36	22
3	21	37,50	35	62,50	56
4	6	9,68	56	90,32	62
5	2	1,64	120	98,36	122
6	0	0,00	34	100,00	34
Всего	57	18,39	253	81,61	310

Для практического применения нашей прогностической модели выделены следующие категории риска:

- 1-я категория (0–1 фактор): риск ЦШ практически отсутствует;
- 2-я категория (2–3 фактора): риск ЦШ резко возрастает до 55%, увеличивается в 35,5 раз по сравнению с 1-й категорией;
- 3-я категория (4 и более факторов): риск ЦШ достигает 96%, увеличивается в 718 раз по сравнению с 1-й категорией.

Полученные результаты согласуются с оценкой факторов риска ЦШ при COVID-19 других авторов [11, 12] и позволяют обосновать выбор лечебной тактики с ранним назначением упреждающей противовоспалительной терапии и антиковидной плаз-

Рис. 1. Увеличение риска цитокинового шторма (OR) при неблагоприятных значениях показателей.

Fig. 1. Increase of the cytokine storm risk with the unfavorable values of indices.

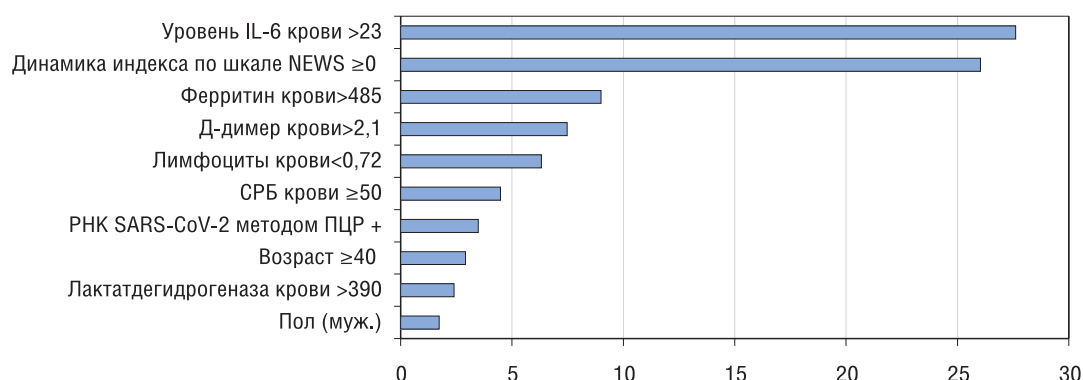
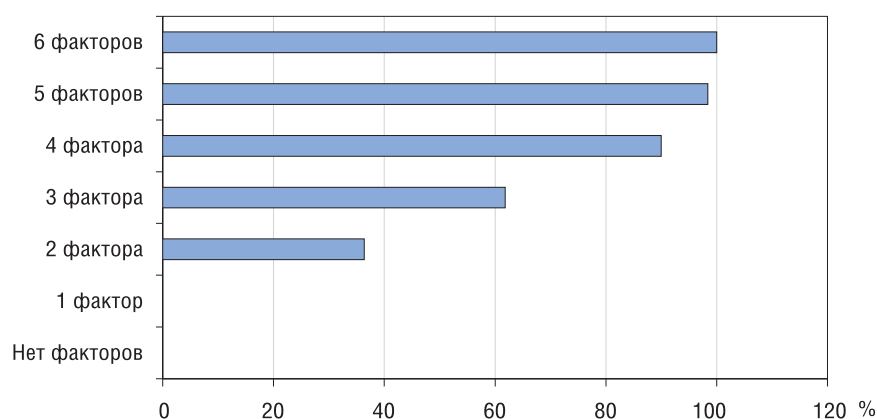


Рис. 2. Частота случаев цитокинового шторма при различном количестве факторов риска.

Fig. 2. Cytokine storm incidence for a different number of risk factors.



мы реконвалесцентов для пациентов с высоким риском развития ЦШ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Поскольку в настоящее время не разработаны убедительные прогностические критерии развития ЦШ при COVID-19, мы на примере 458 пациентов с различным течением заболевания проанализировали прогностическую силу доступных к изучению клинических, инструментальных и лабораторных параметров, стремясь найти когерентные группы или кластеры тех из них, которые являются полезными для формулирования прогноза, и установить их прогностическую силу. Для этого использовали регистрацию клинических признаков и симптомов при поступлении в стационар и в анамнезе; демографические, эпидемиологические сведения; клинические характеристики и оценку тяжести состояния по шкале NESW; степень тяжести COVID-19; коморбидность; анализ изменений в динамике легочной ткани («матовое стекло» ± консолидация) на КТ легких по стандартному протоколу без внутривенного контрастирования [5], а также значения лабораторных показателей крови [13] в пределах 24 ч до или после установления диагноза ЦШ и в течение последующих 7 дней госпитализации. В течение последующих 10 дней оценивали результаты определения РНК SARS-CoV-2; продолжительность лечения в стационаре и исходы болезни. При проведении сравнительной характеристики пациентов, имеющих клиничко-рентгенологические признаки ЦШ, и пациентов без признаков ЦШ, выявлены потенциальные факторы риска развития ЦШ.

Нарастающее увеличение показателя по шкале NEWS характеризует клиническую тяжесть течения заболевания и прогрессирование гемодинамических нарушений. Так, в 1-й группе пациенты при поступлении имели индекс не более 4 баллов, который уменьшался на фоне терапии на 1–2 балла, в то же время у пациентов 2-й группы отмечалось увеличение числа баллов на $1,24 \pm 1,86$ при исходном более высоком значении индекса. Достоверные различия между 1-й и 2-й группами получены при анализе уровней IL-6, СРБ, ферритина, количества лимфоцитов. Таким образом, при прогрессирующем течении заболевания мы видим нарастающие показатели биомаркеров, которые участвовали в реализации клинической картины ЦШ у наших пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

К основным факторам риска развития цитокинового шторма у больных COVID-19 относятся мужской пол, возраст старше 40 лет, положительный тест на РНК SARS-CoV-2, лимфопения, уровни ЛДГ, D-димера, ферритина и IL-6, динамика индекса по шкале NEWS. Лабораторными критериями для диагностики и динамического контроля за течением цитокинового шторма являются абсолютное количество лимфоцитов, уровни ЛДГ, СРБ, ферритина, D-димера и IL-6. Разработанная прогностическая шкала позволяет выделить группу пациентов с высоким риском развития ЦШ для раннего назначения противовоспалительной терапии.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов. А.Ю. Анисенкова — лечение пациентов, обсуждение результатов исследования, написание текста статьи; С.В. Апалько, З.П. Асауленко — лабораторные исследования биологических образцов пациентов; А.Н. Богданов, Д.А. Вологжанин — обсуждение результатов исследования, редактирование текста статьи; Е.Ю. Гарбузов — лечение пациентов; О.С. Глотов — тестирование биологических образцов пациентов на наличие коронавируса SARS-CoV-2; Т.А. Камилова — поисково-аналитическая работа, обсуждение и редактирование текста статьи; О.А. Клиценко — обработка и обсуждение результатов исследования; Е.М. Минина — рентгенологическая диагностика; С.В. Мосенко — обследование пациентов, обсуждение результатов исследования, редактирование текста статьи; Д.Н. Хоботников — лечение пациентов; С.Г. Щербак — руководство лечением пациентов, обсуждение результатов исследования.

Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. A.Yu. Anisenkova, E.Yu. Garbuzov, D.N. Khobotnikov — treatment of patients; S.V. Apalko, Z.P. Asaulenko — laboratory studies of biological samples of patients; A.N. Bogdanov, D.A. Volozhanin, O.A. Klitsenko — processing and discussion of the study results, manuscript writing; A.S. Golota, T.A. Kamilova — literature search and analysis, discussion of the study results, manuscript writing; O.S. Glotov — testing of biological samples of patients

for SARS-CoV-2 coronavirus; E.M. Minina — radiological diagnostics; S.V. Mosenko — examination of patients; S.G. Shcherbak — management of the patient treatment and discussion of the study results.

The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Исследование и публикации статьи финансируются из бюджета СПб ГБУЗ «Городская больница № 40 Курортного административного района».

Funding source. The study was funded by Saint-Petersburg City Hospital No 40 of Kurortny District.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Chen G, Wu D, Guo W, et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest*. 2020;130(5):2620–2629. doi: 10.1172/JCI137244
- Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, et al. Pathophysiology, transmission, diagnosis, and treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): a review. *JAMA*. 2020;324(8):782–793. doi: 10.1016/j.jiph.2020.09.008
- Caso F, Costa L, Ruscitti P, et al. Could Sars-coronavirus-2 trigger autoimmune and/or autoinflammatory mechanisms in genetically predisposed subjects? *Autoimmun Rev*. 2020;19(5):102524. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102524
- Zachariah P, Johnson CL, Halabi KC, et al. Epidemiology, clinical features, and disease severity in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in a children's hospital in New York City, New York. *JAMA Pediatr*. 2020;174(10):e202430. doi: 10.1001/jamapediatrics.2020.2430
- Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Версия 10 (08.02.2021). [Temporary guidelines of the Ministry of Health of the Russian Federation «Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19)». Version 10 (08.02.2021). (In Russ).]
- Royal College of Physicians. NEWS2 and deterioration in COVID-19. Available from: <https://www.rcplondon.ac.uk/news/news2-and-deterioration-covid-19>
- Asafu-Adjei JK, Sampson AR. Covariate adjusted classification trees. *Biostatistics*. 2018;19(1):42–53. doi: 10.1093/biostatistics/kxx015
- Jutzeler CR, Bourguignon L, Weis CV, et al. Comorbidities, clinical signs and symptoms, laboratory findings, imaging features, treatment strategies, and outcomes in adult and pediatric patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis*. 2020;37:101825. doi: 10.1016/j.tmaid.2020.101825
- Профилактика инфекционных болезней. Лабораторная диагностика COVID-19. Методические рекомендации МР 3.1.0169-20 (в редакции МР 3.1.0174-20 «Изменения № 1 в МР 3.1.0170-20 «Лабораторная диагностика COVID-19», утвержденные Роспотребнадзором 30.04.2020). Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации, 2020. [Prevention of infectious diseases. Laboratory diagnostics of COVID-19. Methodological recommendations МР 3.1.0169-20 (as amended by МР 3.1.0174-20 «Amendments No. 1 to МР 3.1.0170-20 «Laboratory diagnostics of COVID-19», approved by Rospotrebnadzor on 30.04.2020). State sanitary and epidemiological regulation of the Russian Federation; 2020. (In Russ).]
- Kivela P. Paradigm shift for COVID-19 response: identifying high-risk individuals and treating inflammation. *West J Emerg Med*. 2020;21(3):473–476. doi: 10.5811/westjem.2020.3.47520
- Caricchio R, Gallucci M, Dass C, et al. Preliminary predictive criteria for COVID-19 cytokine storm. *Ann Rheum Dis*. 2021;80(1):88–95. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-218323
- Moore J, June C. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science*. 2020;368(6490):473–474. doi: 10.1126/science.abb8925
- Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clin Chem Lab Med*. 2020;58(7):1131–1134. doi: 10.1515/cclm-2020-0198

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Анисенкова Анна Юрьевна, к.м.н., доцент;
адрес: Российская Федерация, 197706, Санкт-Петербург, г. Сестрорецк, ул. Борисова, д. 9, лит. Б;
e-mail: anna_anisenkova@list.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5642-621X>

Соавторы:

Апалько Светлана Вячеславовна, к.б.н.;
e-mail: svetlana.apalko@gmail.com;
eLibrary SPIN: 7053-2507;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3853-4185>

Асауленко Захар Павлович;
e-mail: zakhariy@list.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7062-065X>

Богданов Александр Николаевич, д.м.н., профессор;
e-mail: anbmapo2008@yandex.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1964-3690>

AUTHORS INFO

Anna Yu. Anisenkova, Cand. Sci (Med.), Associate Professor; address: 9B Borisova st., 197706, Saint Petersburg, Sestroretsk, Russia;
e-mail: anna_anisenkova@list.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5642-621X>

Svetlana V. Apalko, Cand. Sci. (Biol.);
e-mail: svetlana.apalko@gmail.com;
eLibrary SPIN: 7053-2507,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3853-4185>

Zakhar P. Asaulenko, MD;
e-mail: zakhariy@list.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7062-065X>

Alexander N. Bogdanov, Dr. Sci. (Med.), Professor;
e-mail: anbmapo2008@yandex.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1964-3690>

Вологжанин Дмитрий Александрович, д.м.н.;
e-mail: volog@bk.ru; eLibrary SPIN: 7922-7302;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1176-794X>

Гарбузов Евгений Юльевич;
e-mail: eugarbouzov@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2990-0320>

Глотов Олег Сергеевич, к.б.н.; e-mail: olglotov@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0091-2224>

Камилова Татьяна Аскарровна, к.б.н.; e-mail:
kamilovaspb@mail.ru; eLibrary SPIN: 2922-4404;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6360-132X>

Клиценко Ольга Анатольевна, к.б.н., доцент;
e-mail: olkl@yandex.ru; eLibrary SPIN: 7354-3080;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2686-8786>

Минина Евдокия Михайловна; e-mail: dulsik@list.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2606-7057>

Мосенко Сергей Викторович, к.м.н.;
e-mail: neurologist@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1357-4324>

Хоботников Дмитрий Николаевич;
e-mail: Xobotnikov@bk.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2943-9004>

Щербак Сергей Григорьевич, д.м.н., профессор;
e-mail: b40@zdrav.spb.ru; SPIN-код: 1537-9822;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5047-2792>

Dmitry A. Vologzhanin, Dr. Sci. (Med.);
e-mail: volog@bk.ru; eLibrary SPIN: 7922-7302;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1176-794X>

Evgenii Y. Garbuzov, MD;
e-mail: eugarbouzov@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2990-0320>

Oleg S. Glotov, Cand. Sci. (Biol.); e-mail: olglotov@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0091-2224>

Tatyana A. Kamilova, Cand. Sci. (Biol.);
e-mail: kamilovaspb@mail.ru; eLibrary SPIN: 2922-4404;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6360-132X>

Olga A. Klitsenko, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor;
e-mail: olkl@yandex.ru; eLibrary SPIN: 7354-3080;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2686-8786>

Evdokiia M. Minina; e-mail: dulsik@list.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2606-7057>

Sergei V. Mosenko, Cand. Sci. (Med.);
e-mail: neurologist@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1357-4324>

Dmitry N. Khabotnikov, MD;
e-mail: Xobotnikov@bk.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2943-9004>

Sergey G. Scherbak, Dr. Sci. (Med.), Professor;
e-mail: b40@zdrav.spb.ru; SPIN-код: 1537-9822;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5047-2792>

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СИМПТОМАТИКА В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ТОТАЛЬНОГО ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КОЛЕННОГО СУСТАВА

© А.В. Алтухова¹, С.Н. Кауркин^{1, 2}, Д.В. Скворцов^{1, 2}, А.А. Ахпашев^{1, 3}, Л. Менсах³

¹ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Российская Федерация

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

³ Российский университет дружбы народов, Москва, Российская Федерация

Обоснование. Стандарт хирургического лечения артроза коленного сустава на поздних стадиях — тотальное эндопротезирование, позволяющее купировать болевой синдром и устранить имеющуюся деформацию. Однако недостаточно данных об отдаленных результатах после операции, что важно для понимания динамики восстановительного периода и прогнозирования результата. **Цель исследования** — изучение клинической, функциональной, и биомеханической симптоматики у больных после тотального эндопротезирования коленного сустава в отдаленный период. **Методы.** Обследованы 22 пациента после эндопротезирования коленного сустава в отдаленные сроки и 20 относительно здоровых взрослых (контрольная группа). Исследовали биомеханику ходьбы в произвольном темпе. Регистрировали временные характеристики цикла шага, ударные нагрузки и движения в тазобедренных и коленных суставах. Пациенты по результатам биомеханического исследования были разделены на две подгруппы. В подгруппу 1 вошли пациенты с хорошим функционалом, маховой амплитудой коленного сустава $\geq 50^\circ$, сохраненным алгоритмом движения; в подгруппу 2 — пациенты с маховой амплитудой до 50° и нарушенным алгоритмом движения. **Результаты.** Временные характеристики цикла шага у больных в отдаленные сроки после эндопротезирования коленного сустава не отличаются существенно от контрольной группы. Движения отведения-приведения и ротации в тазобедренных и коленных суставах обнаруживают снижение амплитуды, больше выраженное в подгруппе 2. Основные изменения кинематики тазобедренного сустава характеризуются снижением амплитуды движений и более длительным временем разгибания в периоде опоры, что обнаружено для обеих сторон, особенно в подгруппе 2. Наибольшим изменениям (снижение амплитуды всех движений как на стороне эндопротеза, так и на противоположной) подверглась кинематика движений в коленных суставах. **Заключение.** Полного восстановления функции коленного сустава после тотального эндопротезирования в отдаленные сроки не происходит. Характерно симметричное снижение функции обеих нижних конечностей. Наличие функционально разных (менее или более тяжелых) результатов эндопротезирования может быть связано с исходным функциональным состоянием сустава до эндопротезирования или с последующим периодом реабилитации.

Ключевые слова: остеоартрит; эндопротезирование коленного сустава; биомеханика ходьбы; функция коленного сустава.

Для цитирования: Алтухова А.В., Кауркин С.Н., Скворцов Д.В., Ахпашев А.А., Менсах Л. Функциональная симптоматика в отдаленные сроки после тотального эндопротезирования коленного сустава. Клиническая практика. 2021;12(1):16–24. doi: 10.17816/clinpract60043

Поступила 05.02.2021

Принята 25.02.2021

Опубликована 01.04.2021

ОБОСНОВАНИЕ

Пациенты с остеоартритом коленного сустава страдают не только от боли, но также от нарушения походки и ограниченной подвижности. Среди заболеваний опорно-двигательного аппарата деформирующий артроз коленного сустава

является лидирующим [1, 2]. Для купирования болевого синдрома и устранения деформации в кратчайшие сроки распространенным и наиболее эффективным методом хирургического лечения на поздних стадиях является тотальное эндопротезирование.

Однако, несмотря на то, что эндопротезирование коленного сустава обеспечивает снижение болевых ощущений и улучшает качество жизни, показано, что после операции может не только сохраняться патологическая походка, но и возникают трудности при выполнении ежедневных функциональных заданий [3–5].

На сегодняшний день имеется незначительное число работ, посвященных изучению функции и параметрам коленного сустава при ходьбе после тотального эндопротезирования. Патологическая

биомеханика походки, связанная с нарушением движения сгибания-разгибания коленного сустава, часто проявляется до и после оперативного вмешательства. В исследовании Р. Biggs и соавт. [6] показано отсутствие положительных изменений амплитуды сгибания коленного сустава спустя 13 мес после операции, несмотря на увеличение скорости ходьбы и увеличение амплитуды сгибания бедра. Описано влияние остеоартрита на изменение кинематических параметров контралатеральной конечности после тотального эндопротезирования

LONG-TERM FUNCTIONAL SYMPTOMS AFTER TOTAL KNEE ARTHROPLASTY

© A.V. Altukhova¹, S.N. Kaurkin^{1,2}, D.V. Skvortsov^{1,2}, A.A. Akhpashev^{1,3}, L. Mensah³

¹ Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Assistance and Medical Technologies of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

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

³ Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Background: The standard of the surgical treatment for arthrosis of the knee joint (KJ) at the later stages is total arthroplasty, which allows relieving the pain and eliminating the existing deformity. However, there are not enough data on the long-term results after the surgery that is important for understanding the dynamics of the recovery and predicting the result. **Aims:** Study of clinical, functional, and biomechanical symptoms in patients after total arthroplasty of the knee joint in the long-term period.

Methods: 22 patients after knee joint replacement and 20 relatively healthy adults (control group) were examined in long-term periods. The biomechanics of walking was studied at an arbitrary pace. The temporal characteristics of the gait cycle, shock loads and movements in the hip joints (HJ) and KJ were recorded. We recorded the time characteristics of the walking cycle, shock loads and movements in the hip joint (HJ) and KJ. The patients were divided into two subgroups according to the results of the biomechanical study. The patients from subgroup 1 had good functionality with a swing amplitude of the knee joint of 50 degrees or more, the movement algorithm was preserved. The patients from subgroup 2 had a swing amplitude of up to 50 degrees, the movement algorithm was impaired.

Results: The temporal characteristics of the waking cycle of knee arthroplasty patients did not differ significantly from the control group in the long term. Abduction-adduction and rotation movements in HJ and KJ show a decrease in the amplitudes, more pronounced in the second subgroup. The main changes in the kinematics of the hip joint are characterized by a decrease in the range of motion and a longer extension time during the support period, which was found for both sides, especially in the second subgroup. The greatest changes were observed in the kinematics of the knee joints movements. They included a decrease in the amplitude of all the movements, not only on the endoprosthesis side, but also on the opposite side. **Conclusions:** There is no complete restoration of the knee joint function after total arthroplasty in the long term. The function of both lower limbs is symmetrically decreased. The fact of functionally different (less severe and more severe) results may be associated with the initial functional state of the joint before arthroplasty or with the subsequent period of rehabilitation.

Keywords: osteoarthritis; knee arthroplasty; biomechanics of walking; knee function.

For citation: Altukhova AV, Kaurkin SN, Skvortsov DV, Akhpashev AA, Mensah L. Long-term functional symptoms after total knee arthroplasty. *Journal of Clinical Practice*. 2021;12(1):16–24. doi: 10.17816/clinpract60043

коленного сустава [7]. M. Aljehani с соавт. [8] выявили снижение амплитуды сгибания и разгибания в контралатеральной конечности спустя 6–24 мес после операции, что может быть связано с перегружающей контралатеральные суставы асимметричной походкой после одностороннего тотального эндопротезирования коленного сустава [9]. По данным исследования B. Street и W. Gage [10], у пациентов старшей возрастной группы (77,7 года) данные изменения могут приводить к прогрессивному развитию остеоартрита и дальнейшей необходимости эндопротезирования коленного сустава на противоположной стороне.

Ряд исследований посвящен изучению влияния индекса массы тела на параметры походки. Показано, что у всех пациентов после эндопротезирования коленного сустава улучшились как биомеханические, так и клинические параметры, независимо от индекса массы тела [11, 12].

I.H. Lee [4] изучал результаты тотального эндопротезирования коленного сустава через 3 мес и спустя год после операции в двух сопоставимых выборках пациентов по 25 человек. В группе пациентов через 3 мес после операции продемонстрировано более выраженное снижение скорости ходьбы, длины шага, амплитуды разгибания коленного и сгибания голеностопного сустава в прооперированной конечности в сравнении с результатами группы в отдаленном периоде наблюдения. Эти биомеханические изменения могут быть компенсаторным ответом на менее восстановленную функцию коленного сустава. J.E. Naili с соавт. [5] также выявили положительную динамику отдаленных результатов эндопротезирования: в 68% случаев через год после тотального эндопротезирования коленного сустава увеличилась амплитуда сгибания-разгибания прооперированного коленного сустава и скорость ходьбы в сравнении с результатами кинематики походки спустя 1 мес после операции.

Таким образом, исследований по влиянию тотального эндопротезирования коленного сустава на параметры походки в отдаленном периоде наблюдения недостаточно, тем не менее результаты оперативного вмешательства важны для понимания динамики восстановительного периода и прогнозирования результата.

Цель исследования — изучение функциональной, биомеханической и клинической симптоматики у больных после тотального эндопротезирования коленного сустава в отдаленный период.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Исследование когортное, проспективное.

Критерии соответствия

Критерии включения: длительно существующий односторонний генуинный остеоартроз коленного сустава 3-й степени и более по Kellgren и Lawrence на момент операции; наличие проведенного одностороннего тотального эндопротезирования коленного сустава; возраст пациентов от 50 до 80 лет включительно.

Критерии исключения: остеоартроз коленного сустава менее 3-й степени по Kellgren и Lawrence; возраст пациентов младше 50 лет; наличие как на момент операции, так и на момент проведения обследования сопутствующей патологии, изменяющей биомеханику ходьбы (деформирующие артрозы других крупных суставов нижних конечностей; последствия травм и заболеваний опорно-двигательного аппарата; неврологическая патология — центральные и периферические параличи и парезы; другие состояния, изменяющие функцию движения); наличие когнитивных нарушений, послеоперационных осложнений (нестабильность эндопротеза; воспалительные заболевания; неадекватный реабилитационный период), грубой патологии сердечно-сосудистой системы, препятствующей нормальному передвижению.

Условия проведения

Исследование выполнено в период с 2018 по 2020 г. в лаборатории клинической биомеханики ФНКЦ ФМБА России.

Описание медицинского вмешательства

Производился набор группы обследуемых: пациенты с отдаленными результатами эндопротезирования коленного сустава (1–2 года после эндопротезирования) и относительно здоровые лица (контрольная группа). Пациенты в отдаленном периоде эндопротезирования по результатам биомеханического исследования были разделены на две подгруппы: по величине маховой амплитуды и алгоритму движения в прооперированном коленном суставе. В подгруппу 1 вошли пациенты с хорошим функционалом, маховой амплитудой коленного сустава $\geq 50^\circ$, сохраненным алгоритмом движения. В подгруппу 2 вошли пациенты с маховой амплитудой до 50° и нарушенным алгоритмом движения.

Рис. 1. Биомеханическое исследование ходьбы: инерционные сенсоры фиксированы эластичными манжетами на крестце, бедрах и лодыжках пациента (публикуется с разрешения пациента).

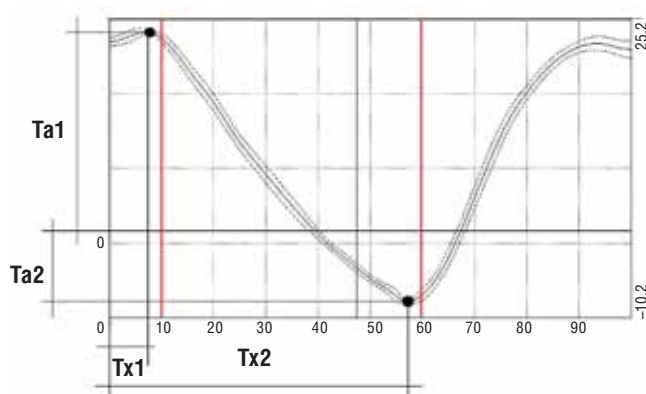
Fig. 1. Biomechanical study of walking. Inertial sensors are fixed on the patient's sacrum, hips and ankles with elastic cuffs.



Проводилось однократное биомеханическое исследование ходьбы, функции коленных и тазобедренных суставов при поступлении пациента на плановое обследование.

Рис. 2. Измеряемые амплитуды (A) и фазы (X) на гониограммах тазобедренного (слева) и коленного (справа) суставов. По вертикали — амплитуда в градусах, по горизонтали — цикл шага от 0 до 100%.

Fig. 2. Measured amplitudes (A) and phases (X) in goniograms of the hip (on the left) and knee (on the right) joints. Vertical axis — amplitude (in degrees), horizontal axis — walking cycle from 0 to 100%.



Методы регистрации исходов

Исследование биомеханики походки проводилось по методике, опубликованной нами ранее [13]. Кинематику движений в тазобедренных и коленных суставах пациента исследовали с помощью пяти инерционных сенсоров, которые располагали на нижних конечностях (верхняя треть бедра и нижняя треть голени с наружной стороны, где имеется наибольшее соприкосновение с костными выступами) и в области таза; центральный сенсор фиксировали в области крестца. Фиксация осуществлялась эластичными лентами на кожные покровы пациента (рис. 1).

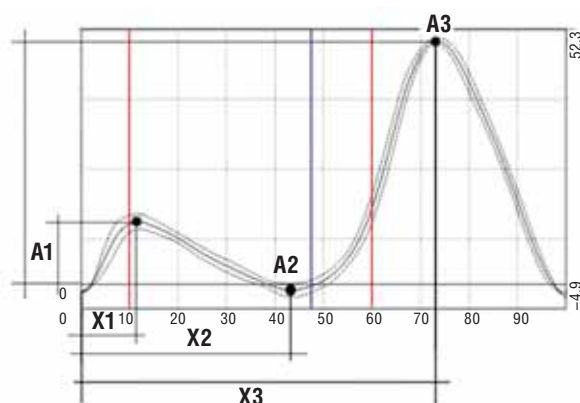
Пациенты ходили естественным (комфортным) для них шагом по ровной поверхности на расстояние 10 м. Количество проходов составляло 6 раз, или увеличивалось в зависимости от длины шага пациента.

Анализировали пространственные, кинематические характеристики, а также временные параметры, такие как длительность цикла шага (ЦШ, в секундах) и длительность периода от начала ЦШ данной ноги до постановки на опору (после переноса) другой ноги.

Ударные нагрузки определяли в начале периода опоры (параметр «Нагр.» в ускорениях свободного падения «g»).

Движения в суставах анализировали следующим образом:

- для тазобедренного сустава: по движению сгибание-разгибание отмечали амплитуду максимального сгибания в начале периода опоры (T_{a1} , в градусах) и фазу данной амплитуды (T_{x1} , в % от ЦШ), амплитуду максимального разгибания (T_{a2} , в градусах) и ее фазу (T_{x2} , в % от ЦШ) (рис. 2);



- для движений сгибания-разгибания коленного сустава определяли амплитуду первого сгибания (A1) и ее фазу (X1), амплитуду (A2) и фазу разгибания (X2), амплитуду (A3) и фазу второго сгибания (X3) с максимумом в периоде переноса (см. рис. 2);
- для движений отведения-приведения и ротации обоих суставов регистрировали суммарную максимальную амплитуду за ЦШ.

Этическая экспертиза

Исследование выполнено в рамках планового обследования ортопеда в отдаленном послеоперационном периоде.

Статистический анализ

Обработка полученных результатов была проведена стандартными методами описательной статистики с помощью программного обеспечения Statistica 12. Для параметров с нормальным распределением производили расчет средних значений и среднеквадратичного отклонения. Оценку достоверности различий выполняли с помощью критерия Вилкоксона–Манна–Уитни с критерием $p < 0,05$. Проводили сравнительную оценку аналогичных параметров пораженной и интактной сторон обеих подгрупп с показателями контрольной группы, пораженной стороны — с показателями интактной стороны в каждой подгруппе.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты (участники) исследования

Группу пациентов составили 15 женщин и 7 мужчин. Возраст пациентов — 52–72 (средний возраст 64,5) года. Период времени от даты операции до биомеханического исследования — 13–25 мес.

Подгруппу 1 составили 9 пациентов, из них 8 женщин и 1 мужчина, средний возраст 62 года; подгруппу 2 — 13 пациентов, из них 7 женщин и 6 мужчин, средний возраст 66,2 года.

Контрольная группа включала 20 исследований здоровых взрослых мужчин ($n=14$) и женщин ($n=6$); средний возраст 29,7 года.

Основные результаты исследования

Временные характеристики цикла шага и величина ударных нагрузок остаются в норме как на пораженной, так и интактной стороне в обеих группах ($p > 0,05$) (табл. 1).

Амплитуда приведения-отведения в тазобедренных суставах ($T_{прив.}$) не обнаруживает достоверных изменений в обеих группах в сравнении с контрольной, за исключением ее увеличения на пораженной конечности по сравнению с интактной в группе 1 ($p < 0,05$). Движения ротации в тазобедренных суставах ($T_{рот.}$) достоверно снижены на интактной стороне в обеих группах ($p < 0,05$) (табл. 2).

Движения приведения-отведения в коленных суставах ($KC_{прив.}$) также не показывают достоверных изменений. Ротационные движения в коленных суставах ($KC_{рот.}$) достоверно снижены на интактной стороне в группе 2 по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$), и достоверно увеличены на пораженной стороне в группе 1 по сравнению с интактной стороной этой же группы ($p < 0,05$).

Гониограммы движений сгибания-разгибания в тазобедренных и коленных суставах оперированной и неоперированной конечности представлены на рис. 3.

Для тазобедренного сустава имеется достоверное снижение амплитуды сгибания ($T_{ат.}$) в группе 1

Таблица 1 / Table 1

Временные параметры цикла шага и амплитуда удара в начале периода опоры

Temporal parameters of the walking cycle and the stroke amplitude in the beginning of the support period

Параметр	Подгруппа 1		Подгруппа 2		Контроль
	Интakтная	Пораженная	Интakтная	Пораженная	
ЦШ, сек	1,2±0,1	1,2±0,1	1,3±0,1	1,3±0,2	1,2±0,1
НВД, сек	49,7±1,1	50,0±1,2	49,6±1,3	50,0±1,5	49,9±0,6
Нагр,	-1,7±0,2	-1,7±0,2	-1,5±0,2	-1,6±0,3	-1,7±0,2

Примечание. ЦШ — цикл шага; НВД — длительность периода от начала ЦШ данной ноги до постановки на опору (после переноса) другой ноги; Нагр. — ударная нагрузка в начале периода опоры (в ускорениях свободного падения «g»).

Note. GC — gate cycle; SDS — the period from the start of the GS till the heel strike of the opposite leg; Load — impact load at the beginning of the stance phase (in acceleration of graviti “g”)

Таблица 2 / Table 2

Амплитуда движений в тазобедренных и коленных суставах
Amplitude of movements in the hip and knee joints

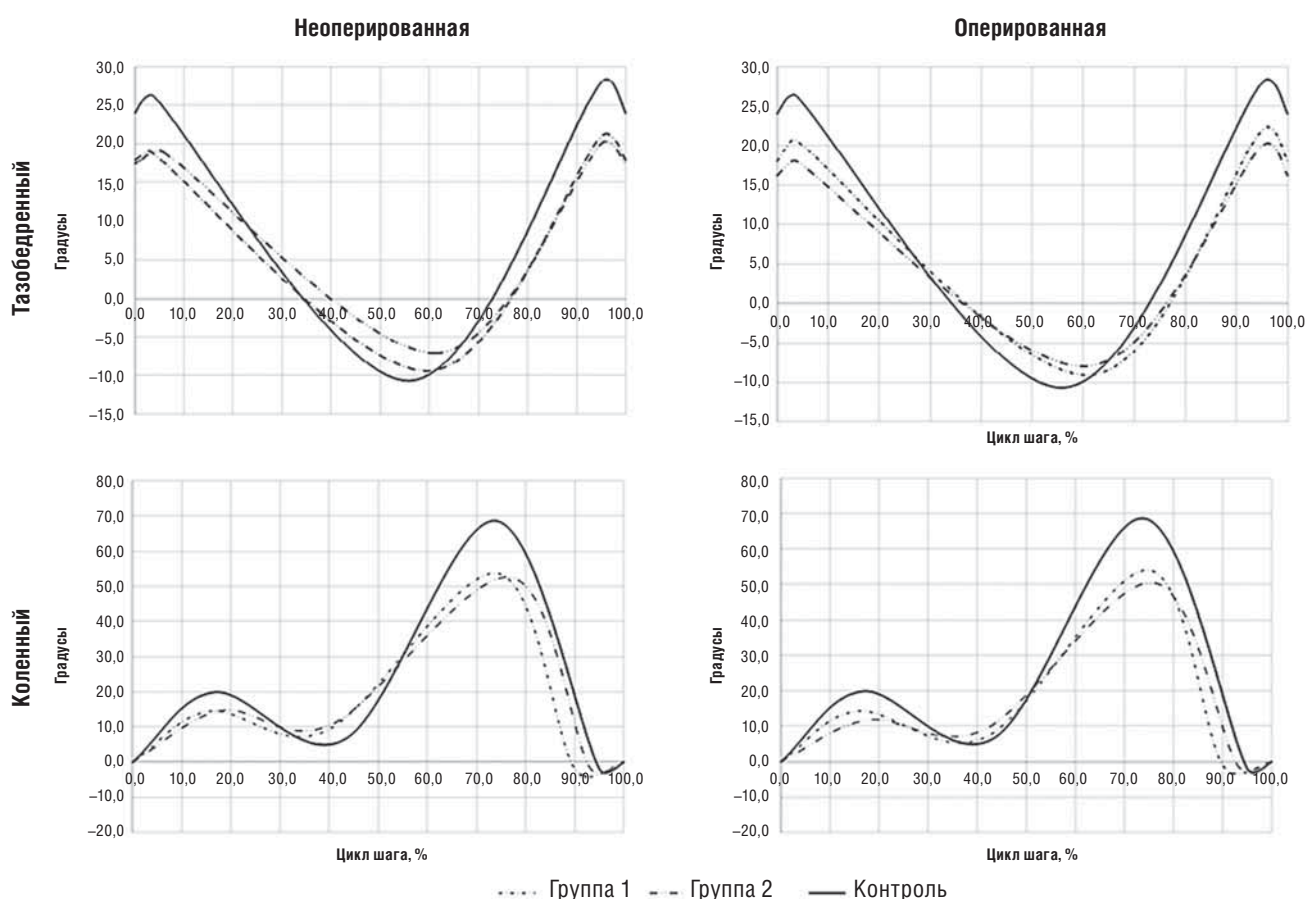
Параметр	Подгруппа 1		Подгруппа 2		Контроль
	Интakтная	Пораженная	Интakтная	Пораженная	
T _{прив.}	10,1±3,1	13,7±5,5 [#]	13,1±4,6	13,3±5,7	13,9±4,2
T _{рот.}	9,1±3,5*	10,3±3,4	10,0±3,0*	10,5±3,0	13,1±5,6
KC _{прив.}	10,8±5,0	11,2±5,1	14,5±8,2	15,0±6,5	18,0±8,2
KC _{рот.}	14,7±4,8	18,4±6,0 [#]	15,0±5,7*	19,2±9,2	21,1±8,4

Примечание. * Достоверные отличия от аналогичного значения контрольной группы; [#] достоверные отличия от аналогичного значения интактной стороны.

Note. * Significant differences from the control group; [#] significant differences from the intact side.

Рис. 3. Гониограммы движений в тазобедренных и коленных суставах оперированной и неоперированной конечностей. По вертикали — амплитуда в градусах, по горизонтали — цикл шага от 0 до 100%.

Fig. 3. Goniograms of movements in the hip and knee joints of the operated and intact limbs. Vertical axis — amplitude (in degrees), horizontal axis — walking cycle from 0 to 100%.



для интактной конечности, в группе 2 — на обеих конечностях в начале периода опоры по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Амплитуда разгибания тазобедренного сустава (T_{a2}) достоверно снижена на пораженной конечности в группе 2 ($p < 0,05$). Кроме того, достоверно увеличена фаза данной амплитуды (T_{x2}) по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$), на интактной и пораженной конечностях — в обеих группах.

Амплитуда первого сгибания в коленных суставах (A1) достоверно снижена с обеих сторон в группе 1 и на пораженной стороне в группе 2 по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Также данная амплитуда достоверно снижена для пораженной

конечности в группе 2 по сравнению с интактной стороной этой же группы ($p < 0,05$). Амплитуда разгибания в периоде одиночной опоры (A2) достоверно увеличена с обеих сторон в группе 2 ($p < 0,05$). Маховая амплитуда (A3) коленных суставов достоверно снижена как на интактной, так и на пораженной конечности в обеих группах ($p < 0,05$).

Таким образом, у больных в отдаленные сроки после эндопротезирования коленного сустава временные характеристики ЦШ не отличаются существенно от контрольной группы. Движения отведения-приведения и ротации в тазобедренных и коленных суставах обнаруживают снижение амплитуд, больше выраженное во второй подгруппе. Основные изменения кинематики тазобедренного сустава характеризуются снижением амплитуды движений и более длительным временем разгибания в периоде опоры, что обнаружено для обеих сторон, особенно в подгруппе 2. Наибольшим изменениям подверглась кинематика движений в коленных суставах. Это снижение амплитуды всех движений не только на стороне эндопротеза, но и на противоположной.

ОБСУЖДЕНИЕ

Тотальное эндопротезирование коленного сустава не приводит к значимому изменению биомеханики походки. В имеющейся симптоматике можно отметить, что регистрируемые параметры цикла шага не изменяются, т.е. имеющиеся изменения не затрагивают временную структуру.

Сгибание в тазобедренных суставах снижается достоверно как на стороне поражения, так и на интактной в обеих подгруппах. Однако достоверные отличия мы получили только в подгруппе 2, функционал которой ниже. Имеется уменьшение и амплитуды разгибания, но достоверно также только на пораженной конечности в этой же подгруппе. Таким образом, снижается длина шага и, соответственно, скорость ходьбы. Большинство исследований, наоборот, указывают на увеличение скорости ходьбы [14]. В своем исследовании A. Bonnefoy-Mazure с соавт. [15] выявили, что через год после тотального эндопротезирования коленного сустава у пациентов увеличилась скорость ходьбы в сравнении с результатами кинематики походки до и спустя 3 мес после операции. В данном случае дизайн исследования другой, и мы не имеем результатов до оперативного лечения, по этой причине сравнение может быть выполнено только в отдаленном периоде эндопротезирования.

Наиболее демонстративны изменения функции коленного сустава, которые показывают снижение амплитуды первого и второго сгибания прооперированной и интактной конечности в обеих группах, при этом в большинстве исследований главным показателем является снижение амплитуды сгибания прооперированной конечности [16, 17]. В нашем исследовании изменения на обеих конечностях приводят к отсутствию выраженной функциональной асимметрии. В доступной же литературе показано наличие асимметричной походки, которая перегружает контралатеральные суставы [8, 9].

Таким образом, в отдаленные сроки после тотального эндопротезирования коленного сустава в наблюдаемых группах отмечается снижение нагрузки на оперированный сустав вследствие модификации кинематики движений в тазобедренных и коленных суставах. В данном случае кинематические изменения не являются грубыми и поэтому компенсируются без развития существенной функциональной асимметрии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полного восстановления функции коленного сустава после тотального эндопротезирования в отдаленные сроки не происходит. Симметричное снижение функции обеих нижних конечностей — результат развития компенсаторных механизмов, которые, возможно, имели место еще до оперативного лечения. Наличие функционально разных (менее тяжелых или более тяжелых) результатов эндопротезирования может быть связано с исходным функциональным состоянием сустава до эндопротезирования или с последующим периодом реабилитации. Можно предположить, что для данного контингента больных будет полезен сквозной, периодический контроль функции сустава и ходьбы. Такой подход позволит определить функциональное состояние как в периоде до эндопротезирования (текущее функциональное состояние с целью предотвращения развития стойких функциональных нарушений), так и после него (коррекция процесса восстановления функции ходьбы).

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов. А.В. Алтухова — поиск и обработка литературы, проведение исследования, обработка данных, написание текста статьи; С.Н. Кауркин — поиск и обработка литературы,

проведение исследования, обработка данных, написание текста статьи; Д.В. Скворцов — формирование дизайна исследования, поиск и обработка литературы, проведение исследования, обработка данных, написание текста статьи; А.А. Ахпасhev — формирование дизайна исследования, анализ данных, коррекция текста; Л. Менсах — набор пациентов в исследование, клиническое обследование, обработка первичных данных. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. A.V. Altukhova — literature search and analysis, data analysis, manuscript writing; S.N. Kaurkin — literature search and analysis, biomechanical studies, data analysis, manuscript writing; D.V. Skvortsov — study design, literature search and analysis, biomechanical studies, data analysis, manuscript writing; A.A. Akhpashev — study design, data analysis, manuscript editing; L. Mensakh — recruiting of patients, clinical examination, primary data analysis. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания ФМБА России (НИР «Биомеханика, диагностика»).

Funding source. The work was carried out within the framework of the state assignment of the FMBA of Russia (research work “Biomechanics, diagnostics”).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Wallace IJ, Worthington S, Felson DT, et al. Knee osteoarthritis has doubled in prevalence since the mid-20th century. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(35):9332–9336. doi: 10.1073/pnas.1703856114
- Cross M, Smith E, Hoy D, et al. The global burden of hip and knee osteoarthritis: estimates from the global burden of

disease 2010 study. *Ann Rheum Dis*. 2014;73(7):1323–1330. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204763

- Sun M, Yang L, He R, et al. Gait analysis after total knee arthroplasty assisted by three-dimensional printing navigation template. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2019;33(8):953–959. doi: 10.7507/1002-1892.201902068

- Lee IH. Biomechanical deficits in patients at 3 months following total knee arthroplasty. *J Back Musculoskelet Rehabil*. 2016;29(3):439–444. doi: 10.3233/BMR-150635

- Naili JE, Wretenberg P, Lindgren V, et al. Improved knee biomechanics among patients reporting a good outcome in knee-related quality of life one year after total knee arthroplasty. *BMC Musculoskelet Disord*. 2017;18(1):122. doi: 10.1186/s12891-017-1479-3

- Biggs PR, Whatling GM, Wilson C, et al. Which osteoarthritic gait features recover following total knee replacement surgery? *PLoS One*. 2019;14(1):e0203417. doi: 10.1371/journal.pone.0203417

- Alnahdi AH, Zeni JA, Snyder-Mackler L. Gait after unilateral total knee arthroplasty: frontal plane analysis. *J Orthop Res*. 2011;29(5):647–652. doi: 10.1002/jor.21323

- Aljehani M, Madara K, Snyder-Mackler L, et al. The contralateral knee may not be a valid control for biomechanical outcomes after unilateral total knee arthroplasty. *Gait Posture*. 2019;70:179–184. doi: 10.1016/j.gaitpost.2019.01.030

- Zeni JA, Flowers P, Bade M, et al. Stiff knee gait may increase risk of second total knee arthroplasty. *J Orthop Res*. 2019;37(2):397–402. doi: 10.1002/jor.24175

- Street BD, Gage W. Younger total knee replacement patients do not demonstrate gait asymmetry for heel strike transient or knee joint moments that are observed in older patients. *J Appl Biomech*. 2019;35(2):140–148. doi: 10.1123/jab.2018-0120

- Paterson KL, Sosdian L, Hinman RS, et al. Effects of sex and obesity on gait biomechanics before and six months after total knee arthroplasty: A longitudinal cohort study. *Gait Posture*. 2018;61:263–268. doi: 10.1016/j.gaitpost.2018.01.014

- Bonnefoy-Mazure A, Martz P, Armand S, et al. Influence of body mass index on sagittal knee range of motion and gait speed recovery 1-year after total knee arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2017;32(8):2404–2410. doi: 10.1016/j.arth.2017.03.008

- Skvortsov D, Kaurkin S, Goncharov EA, Akhpashev — Knee joint function and walking biomechanics in patients in acute phase anterior cruciate ligament tear. *Int Orthop*. 2020;44(5):885–891. doi: 10.1007/s00264-020-04485-1

- Kramers de Quervain IA, Kämpfen S, Munzinger U, Mannion AF. Prospective study of gait function before and 2 years after total knee arthroplasty. *Knee*. 2012;19(5):622–627. doi: 10.1016/j.knee.2011.12.009

- Bonnefoy-Mazure A, Armand S, Sagawa YJ, et al. Knee kinematic and clinical outcomes evolution before, 3 months, and 1 year after total knee arthroplasty. *J Arthroplasty*. 2017;32(3):793–800. doi: 10.1016/j.arth.2016.03.050

- Alice BM, Stephane A, Yoshisama SJ, et al. Evolution of knee kinematics three months after total knee replacement. *Gait Posture*. 2015;41(2):624–629. doi: 10.1016/j.gaitpost.2015.01.010

- Pasquier G, Tillie B, Parratte S, et al. Influence of pre-operative factors on the gain in flexion after total knee arthroplasty. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2015;101(6):681–685. doi: 10.1016/j.otsr.2015.06.008

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Алтухова Алена Владимировна, н.с.;
адрес: Российская Федерация, 115682, Москва,
Ореховый бульвар, д. 28; e-mail: altukhova.aa@bk.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3777-6294>

Соавторы:

Кауркин Сергей Николаевич, к.м.н., с.н.с., доцент;
e-mail: kaurkins@bk.ru; eLibrary SPIN: 4986-3575;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5232-7740>

Скворцов Дмитрий Владимирович, д.м.н., профессор;
e-mail: dskvorts63@mail.ru; eLibrary SPIN: 6274-4448;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2794-4912>

Ахпасhev Александр Анатольевич, к.м.н., доцент;
e-mail: akhpashev@gmail.com;
eLibrary SPIN: 9965-1828;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2938-5173>

Менсах Лайоннел, аспирант;
e-mail: lionnelmensah@gmail.com

AUTHORS INFO

Aljona V. Altukhova, MD, Research Associate;
address: Orekhoviy bulvar, 28, Moscow 115682, Russia;
e-mail: altukhova.aa@bk.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3777-6294>

Sergey N. Kaurkin, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher;
e-mail: kaurkins@bk.ru; eLibrary SPIN: 4986-3575;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5232-7740>

Dmitry V. Skvortsov, Dr. Sci. (Med.), Professor;
e-mail: dskvorts63@mail.ru; eLibrary SPIN: 6274-4448;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2794-4912>

Alexander A. Akhpashev, Cand. Sci. (Med.), Senior
Researcher; e-mail: akhpashev@gmail.com;
eLibrary SPIN: 9965-1828;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2938-5173>

Mensakh Layonnel, student;
e-mail: lionnelmensah@gmail.com

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ГИПОВИТАМИНОЗА D У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 В ОТДЕЛЕНИИ РЕАНИМАЦИИ И ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ

© М.В. Бычинин¹, И.А. Мандель^{1, 2}, Т.В. Клыпа¹, Н.А. Колышкина¹, С.А. Андрейченко¹

¹ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Российская Федерация

² Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

Обоснование. Распространенность гиповитаминоза D в Российской Федерации у пациентов с COVID-19 изучена недостаточно, и совсем не изучена у пациентов с тяжелым и крайне тяжелым течением в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). **Цель** — изучить распространенность гиповитаминоза D у пациентов с COVID-19, находившихся на лечении в ОРИТ, и определить взаимосвязь статуса витамина D с исходом болезни. **Методы.** В ретроспективное одноцентровое исследование включены 103 взрослых пациента с тяжелым и крайне тяжелым течением COVID-19, госпитализированных в ОРИТ. **Результаты.** Из 103 пациентов в 94% случаев ($n=97$) выявлено существенное снижение концентрации 25(OH)D в сыворотке крови — 11 (7–15) нг/мл, в 46% ($n=47$) — тяжелый дефицит витамина D (<10 нг/мл), в 37% ($n=38$) — дефицит витамина D (10–19,9 нг/мл), в 12% ($n=12$) — недостаточность витамина D (20–29,9 нг/мл); в 5% случаев ($n=6$) уровень витамина D был нормальным (≥ 30 нг/мл). В группе пациентов с уровнем витамина D <10 нг/мл летальность была достоверно выше, чем в группе пациентов с уровнем витамина D >10 нг/мл (66 и 42% соответственно; $p=0,018$). Эти две группы также достоверно различались по возрасту ($p=0,018$), наличию сахарного диабета в анамнезе ($p=0,059$), числу лейкоцитов ($p=0,045$), нейтрофильно-лимфоцитарному соотношению ($p=0,017$), уровню D-димера ($p=0,05$) и тропонина T ($p=0,054$). **Заключение.** Выявлена высокая частота дефицита витамина D у пациентов с COVID-19, находящихся на лечении в ОРИТ. Тяжелый дефицит витамина D чаще определялся у пациентов пожилого возраста с сахарным диабетом и ассоциировался с повышенной летальностью среди больных. Выявленная взаимосвязь дефицита витамина D с нейтрофильно-лимфоцитарным соотношением позволяет предположить иммуноопосредованное влияние на исход у пациентов с COVID-19.

Ключевые слова: COVID-19; дефицит витамина D; летальность; реанимация и интенсивная терапия.

Для цитирования: Бычинин М.В., Мандель И.А., Клыпа Т.В., Колышкина Н.А., Андрейченко С.А. Распространенность гиповитаминоза D у пациентов с COVID-19 в отделении реанимации и интенсивной терапии. Клиническая практика. 2021;12(1):25–32. doi: 10.17816/clinpract64976

Поступила 02.02.2021

Принята 25.02.2021

Опубликована 01.04.2021

ОБОСНОВАНИЕ

Пандемия COVID-19, развившаяся в конце 2020 г., унесла жизни миллионов людей. Степень тяжести течения этого заболевания разнится: до 80–85% пациентов имеют легкое или бессимптомное течение, в то время как у остальных формы заболевания варьируют от средней до крайне тяжелой [1]. Механизмы, лежащие в основе этих клинических различий, до конца не ясны, и в медицинских сообществах обсуждаются возможные причины развития тяжелого течения COVID. Так, например, высокие уровни смертности и госпитализации при COVID-19 отмечены среди пациентов,

проживающих в северных широтах [2]. Одним из объяснений данного феномена является низкое ультрафиолетовое облучение на территориях этого региона и, как следствие, недостаточность витамина D в организме местного населения. Результаты ряда исследований, проведенных у пациентов в отделении реанимации, продемонстрировали, что недостаточность витамина D ассоциируется с риском развития неблагоприятных исходов, таких как смерть, органная недостаточность, длительность искусственной вентиляции легких, увеличение частоты вентиляторассоциированной пневмонии и развитие сепсиса [3–5].

По результатам недавних исследований, выполненных в популяциях пациентов европейских стран, выявлено, что более низкие концентрации сывороточного 25(OH)D ассоциируются с повышенной восприимчивостью к инфекции SARS-CoV-2 [6], тяжелым течением COVID-19 [7] и плохим прогнозом среди пациентов с COVID-19 [8]. Распространенность гиповитаминоза D в Российской Федерации у пациентов с COVID-19 изучена недостаточно [9], и совсем не изучена у пациентов в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ).

Цель исследования — изучить распространенность гиповитаминоза D у пациентов с тяжелым и крайне тяжелым течением COVID-19, находившихся на лечении в ОРИТ, и определить взаимосвязь статуса витамина D с исходом болезни.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Ретроспективное одноцентровое исследование проведено на базе ФГБУ ФНКЦ ФМБА России с 06 апреля по 01 июля 2020 года. В этот период центр был перепрофилирован в инфекционный стационар по лечению больных с COVID-19. В исследование были включены 103 взрослых пациента с тяжелым и крайне тяжелым течением COVID-19, у которых был определен уровень 25-гидроксивитамина D (25(OH)D). Диагноз COVID-19 был установлен в соответствии с временными рекомендациями Всемирной организации здравоохранения [10].

Описание медицинского вмешательства

У включенных в исследование больных регистрировали демографические показатели, наличие

PREVALENCE OF HYPOVITAMINOSIS D IN COVID-19 PATIENTS IN THE INTENSIVE CARE UNIT

© M.V. Bychinin¹, I.A. Mandel¹, T.V. Klypa^{1,2}, N.A. Kolyshkina¹, S.A. Andreichenko¹

¹ Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Assistance and Medical Technologies of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Background: The prevalence of hypovitaminosis D has not been studied in the Russian Federation for the group of patients with severe and extremely severe COVID-19 in the intensive care unit (ICU).

Aims: To study the prevalence of hypovitaminosis D in patients with COVID-19 treated in the ICU and to determine the relationship between the vitamin D status and disease outcome. **Methods:** The retrospective study included 103 adult patients with severe and extremely severe COVID-19 hospitalized in the ICU. **Results:** 94% patients (n = 97) showed a significant decrease in the concentration of 25 (OH) D in their blood serum — 11 ng/ml [7; 15 ng/ml]. 37% (n = 38) of patients showed vitamin D deficiency, 46% (n = 47) had severe vitamin D deficiency, 12% (n = 12) had vitamin D insufficiency, 5% (n = 6) had normal vitamin D levels. In the group of patients with vitamin D levels less than 10 ng/ml, the mortality rate was significantly higher than that in the group of patients with the levels of vitamin D exceeding 10 ng/ml (66% and 42%, p = 0.018). These two groups of patients also significantly differed in their age (p = 0.018), history of diabetes mellitus (p = 0.059), white blood cell count (p = 0.045), neutrophil to lymphocyte ratio (p = 0.017), D-dimer level (p = 0.05) and troponin T level (p = 0.054). **Conclusion:** A high incidence of vitamin D insufficiency in patients with COVID-19 treated in the ICU has been identified. Severe vitamin D deficiency was more often found in elderly patients with diabetes mellitus, and was associated with the increased mortality. The identified relationship of the vitamin D deficiency with the neutrophilic-lymphocytic index suggests an immuno-mediated effect on the outcome of patients with COVID-19.

Keywords: COVID-19; vitamin D deficiency; mortality; intensive care and intensive care.

For citation: Bychinin MV, Mandel IA, Klypa TV, Kolyshkina NA, Andreichenko SA. Prevalence of Hypovitaminosis D in COVID-19 Patients in the Intensive Care Unit. *Journal of Clinical Practice*. 2021;12(1):25–32. doi: 10.17816/clinpract64976

сопутствующей патологии, стандартные лабораторные исследования (общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, коагулограмма). Концентрацию 25(OH)D в сыворотке крови определяли с помощью хемилюминесцентного иммуноанализатора ARCHITECT i2000SR (Abbott Laboratories, США). Лабораторный референсный диапазон составлял от 5,0 до 160,0 нг/мл. Все измерения проводились в течение 2 ч после взятия крови. Содержание витамина D классифицировали на основе использованных пороговых значений и определений концентрации 25(OH)D в сыворотке крови: значения <10 нг/мл — как тяжелый дефицит, от 10 до 19,9 нг/мл — как дефицит, от 20 до 29,9 нг/мл — как недостаточность, а концентрации выше 30 нг/мл — как достаточные концентрации 25(OH)D [11].

Этическая экспертиза

Протокол исследования был одобрен Локальным этическим комитетом ФГБУ ФНКЦ ФМБА России (протокол заседания № 5 от 3 июня 2020 г.).

Статистический анализ

Статистический анализ выполнен в программе SPSS v19 (IBM, США). Непрерывные и категориальные переменные представлены как среднее $\pm$ стандартное отклонение или медиана (межквартильный диапазон). Сравнение количественных характеристик проведено с помощью U-критерия Манна-Уитни. Категориальные переменные представлены как n (%). Оценка результатов исследования выполнена путем анализа выживаемости Каплана-Мейера. Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Участники (объекты) исследования

В исследование включены 103 взрослых пациента с тяжелым и крайне тяжелым течением COVID-19, у которых был определен уровень 25(OH)D.

Средний возраст пациентов составил $67 \pm 13,7$ (диапазон от 28 до 95) лет. Соотношение мужчин и женщин статистически не отличалось. У 90% больных были подтверждены данные о наличии SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции. Многие больные имели сопутствующие заболевания — ишемическую болезнь сердца, артериальную гипертензию, сахарный диабет (табл. 1).

У 94% пациентов (97/103) выявлено существенное снижение уровня витамина D [25(OH)D] — 11 (7;

15) нг/мл; в 37% (38/103) — дефицит витамина D (от 10 до 19,9 нг/мл), в 46% (47/103) — тяжелый дефицит витамина D (<10 нг/мл), в 12% (12/103) — недостаточность витамина D (от 20 до 29,9 нг/мл). Нормальный уровень витамина D (≥ 30 нг/мл) обнаружен лишь у 5% пациентов (6/103) (рис. 1).

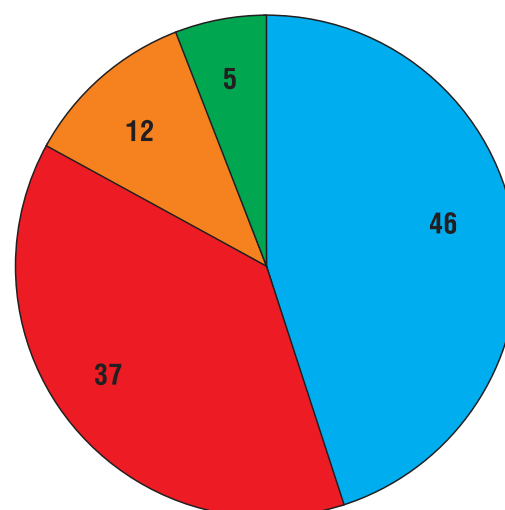
Пациенты с дефицитом витамина D различной степени ($n = 85$) были поделены на две группы в зависимости от концентрации 25(OH)D в сыворотке крови: группа пациентов с тяжелым дефицитом (25(OH)D <10 нг/мл) и группа пациентов с дефицитом (25(OH)D >10 нг/мл) (см. табл. 1).

Общая летальность среди обследованных больных составила 46%, однако в группе с уровнем витамина D > 10 нг/мл ее показатель достиг 42%, а в группе с уровнем <10 нг/мл — 66% ($p = 0,018$). Больные с тяжелым дефицитом витамина D были достоверно старше; помимо этого, пациенты данной группы чаще страдали сахарным диабетом (см. табл. 1).

При сравнении групп больных, разделенных по концентрации 25(OH)D в сыворотке крови, выявлены достоверные различия в частоте перевода на искусственную вентиляцию легких и летальности за 60 дней наблюдения (см. табл. 1; рис. 2).

Рис. 1. Распространенность дефицита витамина D у пациентов с COVID-19 в отделении реанимации и интенсивной терапии.

Fig. 1. Prevalence of vitamin D deficiency Among ICU-admitted COVID-19 patients.



- Дефицит витамина D
- Тяжелый дефицит витамина D
- Недостаточность витамина D
- Нормальный уровень витамина D

Таблица 1 / Table 1

Характеристика и исходы пациентов с COVID-19 в зависимости от концентрации витамина D
Characteristics and outcomes of COVID-19 patients depending on the vitamin D concentration

Показатель	25(OH)D >10 нг/мл n=38	25(OH)D <10 нг/мл n=47	p
<i>Клиническая характеристика</i>			
Возраст, лет	58 [52,8; 69]	70 [57,5; 82]	0,014
Индекс массы тела, кг/м ²	28,4 [25,2; 33,1]	29,8 [28,2; 33,2]	0,144
Мужчины, n (%)	19 (50)	23 (50)	0,739
ИВЛ, n (%)	22 (58)	40 (85)	0,031
Продолжительность ИВЛ, сут	15 [9; 23,3]	12 [7; 15]	0,31
<i>Сопутствующая патология, n (%)</i>			
ИБС, n (%)	17 (45)	20 (43)	0,721
Артериальная гипертензия, n (%)	28 (74)	31 (66)	0,250
Прием ингибиторов АПФ, n (%)	15 (40)	18 (38)	0,789
ХБП, n (%)	1 (3)	4 (9)	0,147
Заболевания печени, n (%)	1 (3)	1 (2)	-
Сахарный диабет, n (%)	5 (13)	16 (34)	0,059
Заболевания легких, n (%)	5 (13)	5 (11)	0,801
Цереброваскулярные заболевания, n (%)	9 (24)	8 (17)	0,860
Онкологические заболевания, n (%)	2 (5)	5 (11)	0,184
<i>Исходы</i>			
Продолжительность пребывания в ОРИТ, дни	9,5 [3; 17]	11 [5; 17,5]	0,752
Продолжительность пребывания в клинике, дни	20 [13,8; 26,5]	14 [10,5; 23]	0,278
Летальность в ОРИТ, n (%)	16 (42)	31 (66)	0,018

Примечание. Данные представлены в виде медианы и процентилей [0,25–0,75], абсолютной (n) и относительной (%) частоты. ИБС — ишемическая болезнь сердца; АПФ — ангиотензинпревращающий фермент; ХБП — хроническая болезнь почек; ИВЛ — искусственная вентиляция легких; ОРИТ — отделение реанимации и интенсивной терапии.

Note. The data are presented in the form of a median and percentiles (0.25–0.75), absolute (n) and relative (%) incidences. ICU — intensive care unit, IHD — ischemic heart disease, AH — arterial hypertension, ACE — angiotensin-converting enzyme, CKD — chronic kidney disease, AVL — artificial ventilation of the lungs.

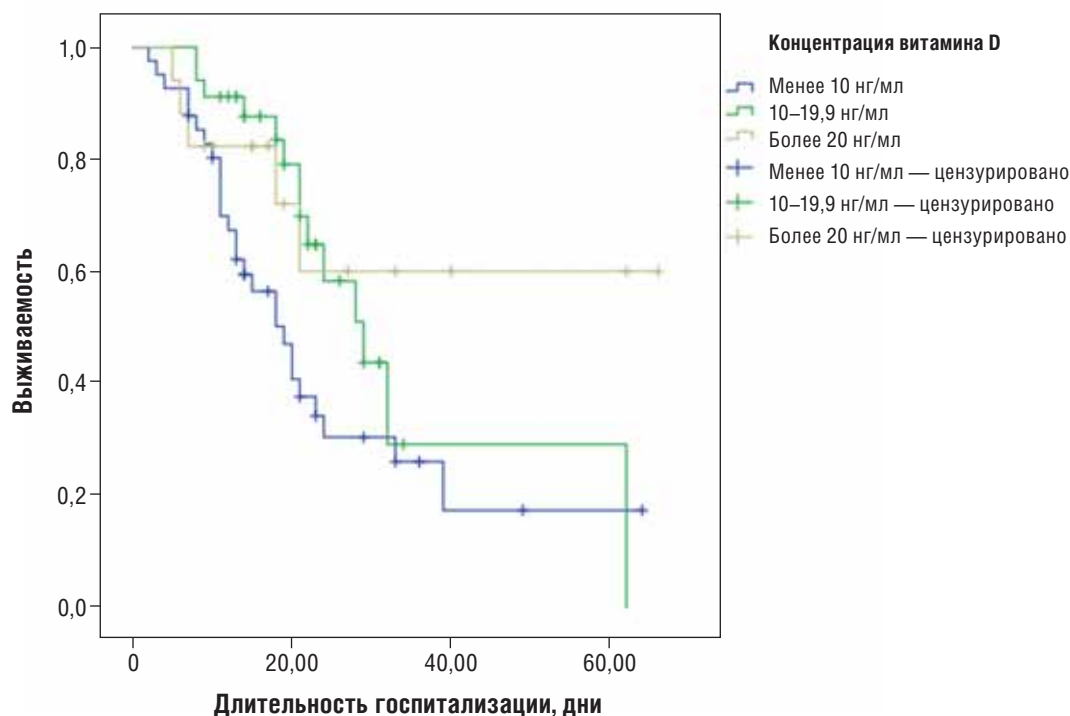
Из лабораторных показателей в группах пациентов с витамином D >10 или <10 нг/мл достоверные различия были выявлены по числу лейкоцитов ($p=0,045$), нейтрофильно-лимфоцитарному соотношению ($p=0,017$), D-димеру ($p=0,05$), тропинину T ($p=0,054$) (табл. 2).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Дефицит витамина D достаточно часто встречается у пациентов в ОРИТ и варьирует от 40 до 70% у пациентов [12]. У пациентов с COVID-19 различная степень дефицита витамина D была выявлена в 83%, а тяжелый дефицит — в 46%. Схожие результаты были получены в работе авторов из Великобритании [13], Индии [12], Греции [14].

При критических состояниях происходит резкое снижение концентрации 25(OH)D вследствие нарушения метаболизма витамина D, снижения синтеза витамин D-связывающего протеина и альбумина, нарушения реакции гидроксилирования 25(OH)D3 до 1,25(OH)D3 в почках [15, 16].

В группе с витамином D <10 нг/мл пациенты были старше, чем в группе с уровнем витамина D >10 нг/мл. Тяжелый дефицит витамина D характерен для пожилых пациентов. С возрастом происходит снижение количества рецепторов витамина D, уменьшается продукция 1,25(OH)2D в почках и выработка витамина D кожей, возникает алиментарная недостаточность субстратов для синтеза витамина D, развивается нарушение кальциевого обмена [17].

Рис. 2. Кривые выживаемости пациентов с COVID-19 в зависимости от уровня витамина D.**Fig. 2.** Kaplan-Meier survival curves for the 25(OH)D concentrations on admission.

В нашем исследовании летальность была достоверно выше у пациентов с тяжелым дефицитом витамина D, чем у пациентов с его дефицитом и недостаточностью. Известно, что биологическая роль витамина D не ограничивается только лишь его участием в фосфорно-кальциевом обмене. Витамин D имеет различные механизмы действия, которые могут снижать риск развития летально-

го исхода у пациентов с COVID-19. Так, в недавних работах было высказано предположение, что витамин D может уменьшать «цитокиновый шторм» у пациентов с COVID-19 [18, 19]. M. Silberstein [20] предполагает, что дефицит витамина D влияет на степень тяжести COVID-19, и лечение витамином D может быть доступной альтернативой тоцилизумабу.

Таблица 2 / Table 2

Лабораторные показатели пациентов с COVID-19 в зависимости от концентрации витамина D**Laboratory indices of COVID-19 patients depending on the vitamin D concentration**

Показатель	25(OH)D >10 нг/мл n=38	25(OH)D <10 нг/мл n=47	p
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	7,6 [8,5; 5,8]	9,3 [7,5; 12,0]	0,045
Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс	6,6 [4,6; 8,7]	11,1 [8,3; 15,6]	0,017
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	186,5 [151,6; 241,3]	216 [177; 297]	0,098
Тропонин Т, пг/мл	13,2 [8,9; 31,5]	34 [14,5; 112,8]	0,054
Ферритин, мкг/л	868 [470; 1800]	802 [382,5; 1360]	0,346
IL-6, пг/мл	141 [62; 772]	191 [63,8; 644,5]	0,898
D-димер, нг/мл	0,59 [0,35; 1,18]	1,67 [0,69; 3,08]	0,05
Фибриноген, г/л	4,23 [3,42; 5,56]	3,93 [3,06; 5,79]	0,265
Прокальцитонин, нг/мл	0,22 [0,11; 0,53]	0,42 [0,45; 2,22]	0,136
C-реактивный белок, мг/л	114 [82,3; 167,3]	175 [94,3; 265,3]	0,162

Примечание. Данные представлены в виде медианы и процентилей [0,25–0,75]. IL-6 — интерлейкин 6.

Note. The data are presented in the form of a median and percentiles (0.25–0.75). IL-6 — interleukin 6.

Ряд исследований выявил протективное действие витамина D при остром респираторном дистресс-синдроме [21, 22], который является одной из основных причин неблагоприятного исхода у пациентов с COVID-19 [1]. J. Kong и соавт. [21] обнаружили, что терапия витамином D снижает степень липополисахарид-индуцированного повреждения легких путем блокирования передачи сигнала по ангиопоэтин-2-тирозинкиназным рецепторам-2 и ренин-ангиотензиновым рецепторам. J. Хи и соавт. [22] продемонстрировали, что кальцитриол может проявлять защитное действие при остром повреждении легких путем моделирования экспрессии компонентов ренин-ангиотензиновой системы легких, включая ангиотензин-конвертирующий фермент 2 (ACE2), ренин и ангиотензин II.

Кроме этого, определена защитная роль витамина D при сепсисе и септическом шоке. Во-первых, во время сепсиса происходит повреждение эпителиального барьера, которое приводит к бактериальной транслокации. 1,25(OH)₂D стимулирует экспрессию белков плотного соединения (tight junction proteins) и, как результат, защищает эпителиальный барьер [23], позволяя предотвратить развитие капиллярной утечки при сепсисе [24]. Во-вторых, путем стимуляции синтеза D-зависимых антимикробных пептидов, кателицидина и дефензина, обладающих активностью в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий, грибов, оболочечных и безоболочечных вирусов, витамин D помогает снизить микробную нагрузку у пациентов с сепсисом [25].

Дефицит витамина D ассоциируется с другими заболеваниями, которые являются фактором риска тяжелого течения и неблагоприятного исхода у пациентов с COVID-19. Низкий уровень витамина D может приводить к ожирению и инсулинорезистентности [26], у пожилых людей способствует инсулинемии и нарушению толерантности к глюкозе [27]. Мы получили схожие результаты: пациенты, у которых концентрация 25(OH)D была менее 10 нг/мл, чаще болели сахарным диабетом.

Наше исследование подтвердило негативное влияние дефицита витамина D на исход заболевания у больных с тяжелым и крайне тяжелым течением COVID-19, а также продемонстрировало его взаимосвязь с числом лейкоцитов, нейтрофильно-лимфоцитарным индексом, D-димером, тропонином, что в свою очередь было описано во многих работах в качестве предикторов неблагоприятного исхода [28–30].

Ограничение исследования

Данное исследование имеет ряд ограничений. Во-первых, исследование проведено в одном центре, на небольшой выборке пациентов. Во-вторых, на низкий уровень витамина D могла повлиять сезонность: исследование проведено в апреле и мае 2020 г., т.е. после длительного периода отсутствия ультрафиолетового излучения. В-третьих, несмотря на прогностическую значимость дефицита витамина D, пока не определена эффективность терапии препаратами витамина D у данной категории пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты данного исследования выявили высокую частоту дефицита витамина D у пациентов с COVID-19, находящихся на лечении в ОРИТ. Тяжелый дефицит витамина D чаще определялся у пациентов пожилого возраста с сахарным диабетом и ассоциировался с повышенной летальностью у этой категории больных. Выявленная взаимосвязь дефицита витамина D с нейтрофильно-лимфоцитарным индексом позволяет предположить иммуноопосредованное влияние на исход у этой категории пациентов. Однако для корректного понимания причин, которые могут приводить к повышенной летальности у пациентов с COVID-19 и тяжелым дефицитом витамина D, необходимо дальнейшее изучение в формате крупных контролируемых рандомизированных исследований.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов. М.В. Бычинин — анализ литературы, написание статьи, набор клинических данных; И.А. Мандель — методологическое обеспечение, статистическая обработка; Т.В. Клыпа — корректура статьи, общее руководство; Н.А. Колышкина — лабораторная диагностика; С.А. Андрейченко — набор клинических данных. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. Bychinin M.V. — literature analysis, manuscript writing, collection of the clinical data; Mandel I.A. — methodological support, statistical processing; Klypa T.V. — manuscript proofreading, general management of the treatment; Kolyshkina N.A. — laboratory diagnostics; Andreychenko S.A. — collec-

tion of the clinical data. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Исследование и публикация статьи финансируются из бюджета Федерального научно-клинического центра специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России.

Funding source. The study was funded by the Federal Research Clinical Center of Specialized Medical Care and Medical Technologies of the Federal Medical Biological Agency of Russia.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of Coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020;382(18):1708–1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032
- Panarese A, Shahini E. Letter: Covid-19, and vitamin D. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2020;9:1–3. doi: 10.1111/apt.15752
- Moromizato T, Litonjua AA, Braun AB, et al. Association of low serum 25-hydroxyvitamin D levels and sepsis in the critically ill. *Crit Care Med*. 2014;42(1):97–107. doi: 10.1097/CCM.0b013e31829eb7af
- Quraishi SA, Bittner EA, Blum L, et al. Prospective study of vitamin D status at initiation of care in critically ill surgical patients and risk of 90-day mortality. *Crit Care Med*. 2014;42(6):1365–1371. doi: 10.1097/CCM.0000000000000210
- Braun A, Chang D, Mahadevappa K, et al. Association of low serum 25-hydroxyvitamin D levels and mortality in the critically ill. *Crit Care Med*. 2011;39(4):671–677. doi: 10.1097/CCM.0b013e318206ccdf
- D'Avolio A, Avataneo V, Manca A, et al. 25-Hydroxyvitamin D concentrations are lower in patients with positive PCR for SARS-CoV-2. *Nutrients*. 2020;12(5):1359.
- Carpagnano GE, Di Lecce V, Quaranta VN, et al. Vitamin D deficiency as a predictor of poor prognosis in patients with acute respiratory failure due to COVID-19. *J Endocrinol Invest*. 2020. doi: 10.1007/s40618-020-01370-x
- Panagiotou G, Tee SA, Ihsan Y, et al. Original publication: low serum 25-hydroxyvitamin D (25[OH]D) levels in patients hospitalized with COVID-19 are associated with greater disease severity. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2020;93(5):629–630. doi: 10.1111/cen.14310
- Каронова Т.Л., Андреева А.Т., Вашукова М.А. Уровень 25(OH)D в сыворотке крови у больных COVID-19 // *Журнал инфектологии*. 2020. Т. 12, № 3. С. 21–27. [Karonova TL, Andreeva AT, Vashukova MA. Serum 25(OH)D level in patients with COVID-19. *J Infectology*. 2020;12(3):21–27. (In Russ).] doi: 10.22625/2072-6732-2020-12-3-21-27
- WHO. Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected [accessed Feb 8, 2020]. 2020. Available from: [https://www.who.int/publications-detail/clinical-management-of-severe-acute-respiratory-infection-when-novel-coronavirus-\(ncov\)-infection-is-suspected](https://www.who.int/publications-detail/clinical-management-of-severe-acute-respiratory-infection-when-novel-coronavirus-(ncov)-infection-is-suspected)
- Lips P, Cashman KD, Lamberg-Allardt C, et al. Current vitamin D status in European and Middle East countries and strategies to prevent vitamin D deficiency: a position statement of the European Calcified Tissue Society. *Eur J Endocrinol*. 2019;180(4):P23–P54. doi: 10.1530/EJE-18-0736
- Jain A, Chaurasia R, Sengar NS, et al. Analysis of vitamin D level among asymptomatic and critically ill COVID-19 patients and its correlation with inflammatory markers. *Sci Rep*. 2020;10(1):20191. doi: 10.1038/s41598-020-77093-z
- Orchard L, Baldry M, Nasim-Mohi M, et al. Vitamin D levels and intensive care unit outcomes of a cohort of critically ill COVID-19 patients [published online ahead of print, 2021 Jan 18]. *Clin Chem Lab Med*. 2021;10.1515/cclm-2020-1567. doi: 10.1515/cclm-2020-1567
- Vassiliou AG, Jahaj E, Pratikaki M, et al. Low 25-Hydroxyvitamin D levels on admission to the intensive care unit may predispose COVID-19 pneumonia patients to a higher 28-day mortality risk: a pilot study on a greek ICU cohort. *Nutrients*. 2020;12(12):3773. doi: 10.3390/nu12123773
- Czarnik T, Czarnik A, Gawda R, et al. Vitamin D kinetics in the acute phase of critical illness: a prospective 349 observational study. *J Crit Care*. 2018;43:294–299. doi: 10.1016/j.jccr.2017.09.179
- Nair P, Lee P, Reynolds C, et al. Significant 351 perturbation of vitamin D-parathyroid-calcium axis and adverse clinical outcomes in critically ill 352 patients. *Int Care Med*. 2013;39(2):267–274. doi: 10.1007/s00134-012-2713-y
- Gallagher JC. Vitamin D and aging. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2013;42(2):319–332. doi: 10.1016/j.ecl.2013.02.004
- Khare D, Godbole NM, Pawar SD, et al. Calcitriol [1,25(OH)2D3] pre- and post-treatment suppresses inflammatory response to influenza A(H1N1) infection in human lung A549 epithelial cells. *Eur J Nutr*. 2013;52(4):1405–1415. doi: 10.1007/s00394-012-0449-7
- Parlak E, Ertürk A, Çağ Y, et al. The effect of inflammatory cytokines and the level of vitamin D on prognosis in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(10):18302–18310.
- Silberstein M. Vitamin D: A simpler alternative to tocilizumab for trial in COVID-19? *Med Hypotheses*. 2020;140:109767. doi: 10.1016/j.mehy.2020.109767
- Kong J, Zhu X, Shi Y, et al. VDR attenuates acute lung injury by blocking Ang-2-Tie-2 pathway and renin-angiotensin system. *Mol Endocrinol*. 2013;27(12):2116–2125. doi: 10.1210/me.2013-1146
- Xu J, Yang J, Chen J, et al. Vitamin D alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via regulation of the renin-angiotensin system. *Mol Med Rep*. 2017;16(5):7432–7438. doi: 10.3892/mmr.2017.7546
- Li B, Baylink DJ, Walter MH, et al. Targeted 25-hydroxyvitamin D3 1 α -hydroxylase adoptive gene therapy ameliorates dss-induced colitis without causing hypercalcemia in mice. *Mol Ther*. 2015;23(2):339–351. doi: 10.1038/mt.2014.201
- Zhao H, Zhang H, Wu H, et al. Protective role of 1,25(OH)2 vitamin D3 in the mucosal injury and epithelial barrier disruption in DSS-induced acute colitis in mice. *BMC Gastroenterol*. 2012;12:57. doi: 10.1186/1471-230X-12-57
- Herr C, Shaykhiev R, Bals R. The role of cathelicidin and defensins in pulmonary inflammatory diseases. *Expert Opin Biol Ther*. 2007;7(9):1449–1461. doi: 10.1517/14712598.7.9.1449
- Hahn S, Haselhorst U, Tan S, et al. Low serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with insulin resistance and obesity in women with polycystic ovary syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2006;114(10):577–583. doi: 10.1055/s-2006-948308
- Baynes KC, Boucher BJ, Feskens EJ, Kromhout D. Vitamin D, glucose tolerance and insulinaemia in elderly men. *Diabetologia*. 1997;40(3):344–347. doi: 10.1007/s001250050685
- Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical Characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel Coronavirus-infected

pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;323(11):1061–1069. doi: 10.1001/jama.2020.1585

29. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5

30. Клыпа Т.В., Бычинин М.В., Мандель И.А., и др. Клиническая характеристика пациентов с COVID-19, поступающих

в отделение интенсивной терапии. Предикторы тяжелого течения // *Клиническая практика*. 2020. Т. 11, № 2. С. 6–20.

[Klypa TV, Bychinin MV, Mandel IA, et al. Clinical characteristics of patients admitted to an ICU with COVID-19. predictors of the severe disease. *Journal of Clinical Practice*. 2020;11(2):6–20. (In Russ).] doi: 10.17816/clinpract34182

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Бычинин Михаил Владимирович, к.м.н.;
адрес: Российская Федерация, 115682, Москва,
Ореховый бульвар, д. 28; e-mail: drbychinin@gmail.com;
eLibrary SPIN: 6524-9947;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8461-4867>

Соавторы:

Мандель Ирина Аркадьевна, к.м.н.;
e-mail: irina.a.mandel@gmail.com;
eLibrary SPIN: 7778-2184;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9437-6591>

Клыпа Татьяна Валерьевна, д.м.н.;
e-mail: tvklypa@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2732-967X>

Колышкина Надежда Александровна;
e-mail: baklab_83@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4486-5412>

Андрейченко Сергей Александрович;
eLibrary SPIN: 3186-2493;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3180-3805>

AUTHORS INFO

Mikhail V. Bychinin, Cand. Sci. (Med.);
address: 28, Orechovy boulevard,
Moscow 115682, Russia; e-mail: drbychinin@gmail.com;
eLibrary SPIN: 6524-9947;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8461-4867>

Irina A. Mandel, Cand. Sci. (Med.);
e-mail: irina.a.mandel@gmail.com;
eLibrary SPIN: 7778-2184;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9437-6591>

Tatiana V. Klypa, Dr. Sci. (Med.);
e-mail: tvklypa@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2732-967X>

Nadezhda A. Kolyshkina, MD;
e-mail: baklab_83@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4486-5412>

Sergei A. Andreichenko, MD;
eLibrary SPIN: 3186-2493;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3180-3805>

ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА НОВУЮ КОРОНАВИРУСНУЮ ИНФЕКЦИЮ

© В.С. Федоров, О.Н. Иванова, И.Л. Карпенко, А.В. Иванов

Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта Российской академии наук,
Москва, Российская Федерация

Настоящий краткий обзор посвящен анализу литературы о гуморальном и Т-клеточном иммунитете к новой коронавирусной инфекции. Представлены современные данные о белках вируса, на которые вырабатываются антитела, о типах иммуноглобулинов и их роли в защите от инфекции, о длительности гуморального иммунного ответа. Кроме того, сделан краткий анализ статуса Т-клеточного иммунитета при COVID-19 и оценен его вклад в нейтрализацию вируса. Обобщенные данные, демонстрирующие сохранение как гуморального, так и Т-клеточного иммунитета после болезни в течение полугода и более, крайне востребованы профессиональным сообществом для обоснованного принятия решений о мониторинге популяционного иммунитета, выбора времени для (ре)вакцинации и отбора параметров выбора наиболее оптимальной вакцины. Тем не менее выявлен ряд вопросов, требующих дальнейшего изучения.

Ключевые слова: коронавирус; SARS-CoV-2; иммунитет; антитела; Т-клеточный иммунитет.

Для цитирования: Федоров В.С., Иванова О.Н., Карпенко И.Л., Иванов А.В. Иммунный ответ на новую коронавирусную инфекцию. Клиническая практика. 2021;12(1):33–40. doi: 10.17816/clinpract64677

Поступила 15.01.2021

Принята 19.02.2021

Опубликована 01.04.2021

THE IMMUNE RESPONSE TO THE NOVEL CORONAVIRUS INFECTION

© V.S. Fedorov, O.N. Ivanova, I.L. Karpenko, A.V. Ivanov

Engelhardt Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

This review summarizes the current knowledge on the humoral and T-cell immunity to the novel coronavirus infection. A special attention is paid to the viral proteins that induce production of antibodies, different types of immunoglobulins and their role in the protection against the virus as well as to the duration of the humoral immune response. In addition, a concise analysis of the T-cell immunity status during COVID-19 and its input into the antiviral defense is presented. The collected data demonstrating preservation of both the humoral and T-cell immunity are urgently needed in the medical professionals' community for evidence-based decisions on the immunity monitoring, estimation of (re)vaccination time, as well as for knowing the factors that should be considered while choosing the most effective vaccine. Finally, several directions for the future research are pointed out.

Keywords: coronavirus; SARS-CoV-2; immunity; antibodies; T-cell response.

For citation: Fedorov VS, Ivanova ON, Karpenko IL, Ivanov AV. The Immune Response to the Novel Coronavirus Infection. *Journal of Clinical Practice*. 2021;12(1):33–40. doi: 10.17816/clinpract64677

Submitted 15.01.2021

Revised 19.02.2021

Published 01.04.2021

ОБОСНОВАНИЕ

Коронавирусы являются оболочечными вирусами, геном которых представлен (+)-цепью РНК [1, 2]. Это самые большие вирусы среди всех РНК-содержащих вирусов. Семейство Coronaviridae состоит из двух подсемейств, основное из которых — Orthocoronaviridae — подразделяется на четыре рода: альфа-, бета-, гамма- и дельта-коронавирусы.

Относящиеся к ним патогены могут заражать человека и других млекопитающих, птиц и амфибий. К альфа-коронавирусам относятся давно известный 229Е и открытый в 2003 г. NL63, которые заражают человека и вызывают острую респираторную вирусную инфекцию (ОРВИ) [2]. Среди бета-коронавирусов можно выделить классический OC43 и обнаруженный в начале 2000-х годов HKU1, так

же вызывающие ОРВИ. Кроме того, именно к этому роду относят появившиеся в 2002 и 2012 гг. вирусы, вызывающие острый респираторный синдром (SARS-CoV) и обнаруженный в 2012 г. их ближневосточный аналог (MERS-CoV) [1]. Эти инфекции очень похожи на коронавирусы летучих мышей и пришли в человеческую популяцию через промежуточные виды — цивет, панголин и верблюдов соответственно [3]. Все эти три вируса являются высокоопасными для людей: смертность при инфицировании ими составляет от 0,5–2% в случае SARS-CoV-2 до 30% при MERS-CoV [1]. Вызванные SARS-CoV и MERS-CoV вспышки закончились в течение нескольких месяцев, тогда как возникший в конце 2019 г. новый коронавирус очень быстро распространился в мире, вызвав пандемию: по оценкам, на конец марта 2021 г. количество инфицированных составляет почти 129 млн человек, более 2,8 млн из них погибло [4].

Несмотря на крайне интенсивные поиски противовирусных препаратов прямого действия, т.е. блокирующих репликацию самого патогена, в клинической практике есть лишь несколько веществ для терапии (ремдесивир [5–7], фавипиравир [8, 9] и др. [5]), причем их эффективность до сих пор неоднозначна. Именно поэтому наиболее перспективным направлением борьбы с новой коронавирусной инфекцией является создание профилактических вакцин. На данный момент в России для клинического использования одобрены три вакцины: основанная на аденовирусных векторах Гам-КОВИД-Вак, представляющий собой инактивированные вирионы КовиВак и ЭпиВакКорона, имеющая три пептида-фрагмента белка Spike совместно с белком нуклеокапсида в качестве носителя. За пределами России используются как аналоги данных вакцин, так и мРНК вакцины, созданные компаниями Pfizer-Biontech и Moderna.

Геномная РНК нового коронавируса (SARS-CoV-2) и родственных ему вирусов состоит примерно из 30 тыс. нуклеотидов и содержит как минимум 14 отдельных и частично пересекающихся рамок считывания [10], кодирующих по крайней мере 15 белков [11]. Среди них можно выделить белки оболочки: Spike (отвечает за взаимодействие с рецептором на поверхности клеток), N (образует нуклеокапсид), мембранный (М) и поверхностный (Е) белки. Многие как структурные, так и неструктурные белки вируса являются сильными иммуногенами [12], однако в диагностике концентрируются исключительно на антителах к белкам нуклеокапсида и Spike. В случае последнего часто определяют антитела к его

индивидуальным фрагментам S1 и S2, которые образуются в процессе протеолиза Spike, а также домену фрагмента S1, отвечающего за взаимодействие с рецептором (receptor binding domain, RBD). Считается, что большая часть антител к RBD и фрагменту S1 является защитной (нейтрализующей), так как они блокируют связывание вируса с ангиотензинпревращающим ферментом 2 (ACE2) и проникновение вируса в клетки, тогда как антитела к белку нуклеокапсида не обладают такой функцией и потому имеют исключительно диагностическое значение (как было четко показано ранее для SARS-CoV [13]).

Настоящий краткий обзор суммирует современные представления о проценте и времени сероконверсии пациентов после болезни и иммунизации и длительности иммунного ответа на вирус и его антигены. Эта информация крайне важна для принятия решений о мониторинге иммунитета у пациентов, определения времени (ре)вакцинации и выявления групп риска.

ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ К SARS-COV И MERS-COV: НА ЧТО МЫ МОГЛИ НАДЕЯТЬСЯ

Когда SARS-COV-2 начал активно распространяться и появились первые переболевшие пациенты, тут же возник вопрос о длительности иммунитета к этой инфекции. Для ответа на него были заново систематизированы данные по исследованию иммунного ответа для родственных SARS-CoV и MERS-CoV, показавшие, что уровни антител остаются высокими по крайней мере в течение 1–2 лет [14, 15]. К концу третьего года антитела могут исчезать, по разным данным, в 44% [14, 16] и почти в 100% [17] случаев. Отсюда был сделан вывод о вероятном сохранении иммунитета людей по крайней мере в течение 2–3 лет после болезни. Однако нельзя не заметить, что большинство таких работ не включало определение титров нейтрализующих, т.е. защитных, антител.

СЕРОКОНВЕРСИЯ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

Считается, что гуморальный иммунный ответ на белки SARS-CoV-2 вносит основной вклад в защиту от инфекции и выздоровление пациента. Именно поэтому в короткий срок наиболее продвинутыми направлениями в исследованиях стали создание различных тест-систем на разные типы иммуноглобулинов, изучение кинетики их появления и исчезновения, а также вклада в нейтрализацию вируса и поиск детерминант легкого/тяжелого течения.

У пациентов с COVID-19 появляются антитела к различным белкам вируса: белку Spike, его доменам S1 и S2, а также рецепторсвязывающему домену (RBD) [18], белку нуклеокапсида, Nsp8 [19], а также рамкам считывания ORF6-10 [20]. Однако большинство исследователей концентрируется на белках N и S и фрагментах последнего.

Данные о времени появления антител различных классов достаточно противоречивы. Так, сероконверсия у многих пациентов часто происходит к концу первой недели от появления симптомов [21], и в среднем к 10–12-му дню детектируются иммуноглобулины (Ig) классов M и G [22]. Другие группы оценивают время появления антител иначе: например, L. Guo и соавт. [23] наблюдали, что медианное время сероконверсии по IgG составляет 18 дней, по иммуноглобулинам других классов — всего пять. Различия в результатах могут быть связаны с разной чувствительностью использованных тест-систем и с тяжестью протекания самой инфекции. Так, имеются данные как о заметно более раннем [24], так и позднем [25] появлении IgG к антигенам вируса у пациентов в тяжелом и критическом состоянии по сравнению с пациентами с более мягким течением болезни. Кроме того, продемонстрировано, что использование высокочувствительных тест-систем позволяет детектировать антитела различных классов у части пациентов уже на 2–4-е сутки от появления симптомов болезни [26]. Считается, что оптимальной является детекция IgG к RBD (чувствительность 89–96%) [27–29] или белку нуклеокапсида (чувствительность 99%) [27], тогда как, по сообщениям ряда групп авторов, чувствительность IgM к этим антигенам может быть существенно ниже, составляя 61 и 15,6%, соответственно (напр., [27]). С одной стороны, эти данные ставят под сомнение целесообразность измерения уровней IgM и IgA при исследовании иммунитета к новой коронавирусной инфекции. С другой стороны, известно, что у единичных пациентов может появляться лишь один тип антител [29].

Диагностика многих острых вирусных инфекций основана на определении IgM и/или IgA, которые образуются заметно раньше, чем IgG, и исчезают почти сразу после выздоровления пациента. Однако в случае COVID-19 они могут появляться практически одновременно с IgG [22, 26]. Хотя их титры через месяц после проявления заболевания начинают заметно снижаться [30], антитела могут сохраняться у заметного числа пациентов в течение продолжительного времени. Например, у паци-

ентов через 30 недель после заболевания IgM исчезали, то у 25% из них сохранялись детектируемые уровни IgA [31]. Детальный анализ A. Iyer и соавт. [32] показал, что среднее время обнаружения IgA к RBD составляет 71 день, а IgM — 49 дней. Иммуноглобулины класса A также достоверно определяются в слюне по крайней мере в течение 2,5 мес [33]. Из этого следует вывод, что человек, у которого обнаружены IgA и/или IgM, не может автоматически считаться больным и тем более заразным.

РОЛЬ АНТИТЕЛ В ПРОТЕКАНИИ COVID-19 И ЗАЩИТЕ ОТ ИНФЕКЦИИ

За последний год накоплено много данных о корреляции уровней определенных иммуноглобулинов к антигенам вируса с течением COVID-19 у пациента. Ряд авторов выявил повышенные уровни IgG к RBD у людей с тяжелым течением болезни по сравнению с болезнью средней/слабой тяжести [34, 35], хотя в других исследованиях таких различий не отмечали [36]. Сходное повышение было опубликовано и для IgA [18]. У пациентов с бессимптомной или мягкой формой COVID-19 также часто наблюдаются более высокие уровни IgG к Spike, чем к белку нуклеокапсида, и наоборот [37]. Кроме того, неблагоприятный прогноз может быть связан не только с нарушенной продукцией антител в целом, но с измененным спектром узнаваемых ими эпитопов. Например, S. Ravichandran и соавт. [18] установили, что у погибших пациентов значительная часть антител к белку Spike узнавала C- и N-концевые фрагменты доменов S1 и S2, тогда как к RBD антитела не образовывались. Наконец, процесс выздоровления пациента сопровождается усилением аффинности антител к белку Spike [18, 38], из-за чего изменения титра нейтрализующих антител могут не совпадать с изменениями титра тотальных антител анализируемого класса [37].

Отдельная задача состояла в определении антител, которые являются нейтрализующими. Уже четко понятно, что защитными являются антитела, узнающие RBD, что подтверждается корреляцией титров нейтрализующих и анти-RBD иммуноглобулинов [39]. При этом остается не совсем понятным, какой из типов антител (IgG, IgM, IgA) вносит наибольший вклад в защиту от инфекции и выздоровление пациента. С одной стороны, защита пациента после болезни или вакцинации имеет место в течение долгого времени, т.е. после исчезновения IgA и IgM. С другой стороны, у реконвалесцентов, у которых обнаруживаются лишь IgG, нейтрализую-

ющие свойства сыворотки ниже [40]. Корреляция титра нейтрализующей активности плазмы крови не только с IgG, но и с IgM/IgA позволяет сделать вывод о положительном эффекте диверсификации антител на потенциально защитные свойства организма [41, 42]. Показано также, что падение титров IgM сопровождается снижением уровня нейтрализации [43]. В элегантной работе группы Wang и соавт. [44] установлено, что наиболее высокой нейтрализующей активностью обладают димеры IgA, тогда как активность IgG составляет в 7,5 раз ниже. Наконец, ряд исследователей считают сравнимыми активность IgM и IgA [45].

ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА

Новая коронавирусная инфекция распространилась в Китае в январе-марте 2020 г., а в Европе и в Северной Америке — лишь с середины весны прошлого года. Соответственно, современные оценки длительности гуморального иммунного ответа ограничены сравнительно небольшим периодом наблюдения пациентов. Однако и данные за эти месяцы достаточно противоречивы: так, показано сохранение антител к белку Spike и его фрагментам в течение 6–8–10 мес с момента заболевания [31, 46–48]. В то же время титры антител к белку нуклеокапсида являются менее стойкими: они часто падают уже за несколько месяцев [49, 50].

Данные о кинетике изменения уровней защитных антител в крови достаточно противоречивы. С одной стороны, группа из Китая показала сохранение нейтрализующей активности в крови в течение 10 мес [51], а авторы из Великобритании наблюдали очень быстрое падение уровня нейтрализующих антител в плазме крови переболевших пациентов [29]. Объяснений этим различиям пока нет.

Наконец, необходимо отметить, что даже при падении уровней самих антител в крови переболевших и привитых пациентов, у них могут сохраняться В-клетки памяти, которые способны быстро вырабатывать защитные иммуноглобулины при новом контакте с патогеном. Такие клетки образуются достаточно быстро после выздоровления [52] и обнаруживаются через 6–8 мес [30].

Т-КЛЕТОЧНЫЙ ОТВЕТ

Т-клеточный иммунитет также является объектом исследования различных групп. К настоящему моменту четко показано, что у переболевших но-

вой коронавирусной инфекцией появляются CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты [53], активируемые структурными (Spike, M, S, ORF3a) и неструктурными (ORF7/8, Nsp7, Nsp13) белками [54, 55]. По современным данным, наиболее сильный ответ возникает к мембранному (M) белку вируса [56]. Среди вирусспецифических клеток можно выделить Oх40+ CD137+ CD4+, CD69+ CD137+ CD8+ и цитокинпродуцирующие CD4+ Т-лимфоциты [57, 58]. Группа М. Погорелого на примере двух пациентов с легкой формой инфекции показала, что специфичные D4+ и CD8+ клоны появляются быстро после инфицирования, и после их кратковременной пролиферации у многих клонов появляется фенотип клеток памяти [53]. Примечательно, что некоторые из них были впоследствии обнаружены и у не болевших. Сходные данные были получены группой Г. Ефимова, исследовавшей репертуар рецепторов Т-клеток и показавшей наличие CD4+ и CD8+ Т-клеток, узнающих белок Spike, у пациентов, не сталкивавшихся с вирусом [59]. Возможным объяснением этому может быть узнавание данными клонами мотивов белков других, сезонных, коронавирусов. Это подтверждается данными об узнавании Т-клетками у 5,4% пациентов, переболевших SARS-CoV-2, антигенов HKU1, 229E, NL63 и OC43 вирусов [60].

До сих пор не полностью понятен вклад Т-клеточного иммунитета в защиту от инфекции. Так, имеются наблюдения, что появление Т-клеток, секретирующих IFN- γ , у больных коррелирует с более мягким течением COVID-19 и более быстрым исчезновением вируса у пациентов [54, 58, 61]. Показано также, что у пациентов с симптомами COVID-19 уровни CD4+ клеток, специфичных к белкам вируса, выше, чем у пациентов с асимптоматичным течением болезни [62]. Кроме того, на когорте медицинских работников продемонстрировано, что коронавирусная инфекция может протекать без сероконверсии, но с выраженным Т-клеточным ответом [61]. В пользу значительного вклада данного типа иммунитета в защиту от инфекции говорит и случай длительной (более 87 дней) виремии у пациента с иммунодефицитом, у которого был нарушен CD8+ ответ при сохранении нормального гуморального и CD4+ ответа [63]. Нарушенный CD8+ ответ характерен также для пациентов в критическом состоянии [64]. На мышинной модели коронавирусной инфекции подтверждено, что CD4+ и CD8+ ответ защищает животных от тяжелого течения инфекции, причем лимфоциты действительно

способны лизировать инфицированные клетки [65, 66]. Еще одним косвенным подтверждением вклада Т-клеточного иммунитета в защиту от инфекции является нарушение CD8+ ответа у пожилых (старше 80 лет) пациентов [67]. В то же время имеются и противоположные данные. Так, С. Thieme и соавт. [56] не нашли корреляции между кинетикой появления вирусспецифичных Т-клеток и их уровнями, с одной стороны, и временем исчезновения инфекции и тяжестью ее протекания — с другой.

Хотя с момента появления инфекции прошло сравнительно мало времени, уже понятно, что Т-клеточный ответ сохраняется в течение по крайней мере 8 мес [57, 58]. Однако, учитывая сходство новой коронавирусной инфекции с SARS-CoV-2, можно надеяться и на сохранение иммунитета минимум до 6 лет — периода, когда могут исчезать В-клетки памяти и антитела [68].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как показано в настоящем обзоре, за последний год получено много данных о механизмах гуморального и Т-клеточного иммунного ответа на новую коронавирусную инфекцию, созданы эффективные клинические и лабораторные тест-системы для его мониторинга и внедрены в широкую практику различные типы профилактических вакцин. На примере стран с широким охватом вакцинации (таких как Израиль) уже четко видно, что появление популяционного иммунитета существенно снижает количество новых случаев инфекции и гибели пациентов от нее. В то же время многие важные аспекты остаются невыясненными. Во-первых, нет четкого понимания того, какие уровни антител различных классов к белку Spike и его фрагментам защищают от инфицирования (причем при контакте с различными дозами вируса) и от дальнейшей передачи инфекции. Уже понятно, что само наличие антител класса G не является 100% защитой от инфекции, что ясно видно из динамики инфицирования людей, вакцинированных Спутником V [69]. Имеются и примеры повторного заражения пациентов с нормальным гуморальным иммунным ответом [70].

Возможно, ответ на этот вопрос будет получен из сравнения данных о заболеваемости привитых данной вакциной и вакциной Ковивак, основанной на инактивированных вирионах, которая, скорее всего, будет вызывать меньшие уровни антител. Во-вторых, непонятной остается и длительность иммунного ответа на коронавирус, учитывая при-

веденные выше противоречивые данные различных групп. Таким образом, необходимо продолжать исследования динамики падения уровней антител различных классов к белку Spike у переболевших пациентов и привитых людей, а также оценить вклад в защиту В-клеток памяти, которые могут продуцировать специфические иммуноглобулины при новом контакте с инфекцией. В-третьих, актуальными остаются оценка роли Т-клеточного иммунитета в защите от инфекции и ее тяжелого течения, а также вопросы целесообразности внедрения тест-систем для ее оценки в практику мониторинга пациентов и вакцинированных лиц. В-четвертых, появление новых вариантов вируса ставит вопрос о возможном его ускользании от некоторых компонентов иммунного ответа и о соответствующем изменении принципов дизайна вакцин.

Очень быстрый прогресс в области исследования новой коронавирусной инфекции дает основание надеяться на получение в ближайшее время ответов на все поставленные вопросы.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Работа была поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2019-1660).

Funding source. This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Agreement № 075-15-2019-1660).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Abdelrahman Z, Li MWang X. Comparative Review of SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV, and influenza a respiratory viruses. *Front Immunol.* 2020;11:552909. doi: 10.3389/fimmu.2020.552909
2. V'Kovski P, Kratzel A, Steiner S, et al. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol.* 2021;19(3):155–170. doi: 10.1038/s41579-020-00468-6
3. Hu B, Guo H, Zhou P, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol.* 2021;19(3):141–154. doi: 10.1038/s41579-020-00459-7
4. Worldometers [Internet]. COVID-19 Coronavirus Pandemic Cited [31.03.2021]. Available from: <https://www.worldometers.info/coronavirus>
5. Pan H, Peto R, Henao-Restrepo AM, et al. Repurposed antiviral drugs for Covid-19 – interim WHO solidarity trial results. *N Engl J Med.* 2021;384(6):497–511. doi: 10.1056/NEJMoa2023184
6. Spinner CD, Gottlieb RL, Criner GJ, et al. Effect of remdesivir vs standard care on clinical status at 11 days in patients with moderate COVID-19: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2020;324(11):1048–1057. doi: 10.1001/jama.2020.16349
7. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the treatment of Covid-19 - final report. *N Engl J Med.* 2020;383(19):1813–1826. doi: 10.1056/NEJMoa2007764
8. Udwadia ZF, Singh P, Barkate H, et al. Efficacy and safety of favipiravir, an oral RNA-dependent RNA polymerase inhibitor, in mild-to-moderate COVID-19: a randomized, comparative, open-label, multicenter, phase 3 clinical trial. *Int J Infect Dis.* 2021;103:62–71. doi: 10.1016/j.ijid.2020.11.142
9. Dabbous HM, Abd-El salam S, El-Sayed MH, et al. Efficacy of favipiravir in COVID-19 treatment: a multi-center randomized study. *Arch Virol.* 2021;166(3):949–954. doi: 10.1007/s00705-021-04956-9
10. Nelson CW, Ardern Z, Goldberg TL, et al. Dynamically evolving novel overlapping gene as a factor in the SARS-CoV-2 pandemic. *Elife.* 2020;9:e59633. doi: 10.7554/eLife.59633
11. Arya R, Kumari S, Pandey B, et al. Structural insights into SARS-CoV-2 proteins. *J Mol Biol.* 2021;433(2):166725. doi: 10.1016/j.jmb.2020.11.024
12. Ogando NS, Dalebout TJ, Zevenhoven-Dobbe JC, et al. SARS-coronavirus-2 replication in Vero E6 cells: replication kinetics, rapid adaptation and cytopathology. *J Gen Virol.* 2020;101(9):925–940. doi: 10.1099/jgv.0.001453
13. Qiu M, Shi Y, Guo Z, et al. Antibody responses to individual proteins of SARS coronavirus and their neutralization activities. *Microbes Infect.* 2005;7(5-6):882–889. doi: 10.1016/j.micinf.2005.02.006
14. Wu LP, Wang NC, Chang YH, et al. Duration of antibody responses after severe acute respiratory syndrome. *Emerg Infect Dis.* 2007;13(10):1562–1564. doi: 10.3201/eid1310.070576
15. Choe PG, Perera R, Park WB, et al. MERS-CoV antibody responses 1 year after symptom onset, South Korea, 2015. *Emerg Infect Dis.* 2017;23(7):1079–1084. doi: 10.3201/eid2307.170310
16. Fan X, Zhou J, Bi X, et al. L-theanine suppresses the metastasis of prostate cancer by downregulating MMP9 and Snail. *J Nutr Biochem.* 2021;89:108556. doi: 10.1016/j.jnutbio.2020.108556
17. Cao WC, Liu W, Zhang PH, et al. Disappearance of antibodies to SARS-associated coronavirus after recovery. *N Engl J Med.* 2007;357(11):1162–1163. doi: 10.1056/NEJMc070348
18. Ravichandran S, Lee Y, Grubbs G, et al. Longitudinal antibody repertoire in “mild” versus “severe” COVID-19 patients reveals immune markers associated with disease severity and resolution. *Sci Adv.* 2021;7(10):eabf2467. doi: 10.1126/sciadv.abf2467
19. Wang X, Lam JY, Wong WM, et al. Accurate diagnosis of COVID-19 by a novel immunogenic secreted SARS-CoV-2 orf8 protein. *MBio.* 2020;11(5):e02431-20. doi: 10.1128/mBio.02431-20
20. Secchi M, Bazzigaluppi E, Brigatti C, et al. COVID-19 survival associates with the immunoglobulin response to the SARS-CoV-2 spike receptor binding domain. *J Clin Invest.* 2020;130(12):6366–6378. doi: 10.1172/JCI142804
21. Sun J, Tang X, Bai R, et al. The kinetics of viral load and antibodies to SARS-CoV-2. *Clin Microbiol Infect.* 2020;26(12):1690 e1–1690 e4. doi: 10.1016/j.cmi.2020.08.043
22. Maine GN, Lao KM, Krishnan SM, et al. Longitudinal characterization of the IgM and IgG humoral response in symptomatic COVID-19 patients using the Abbott Architect. *J Clin Virol.* 2020;133:104663 doi: 10.1016/j.jcv.2020.104663
23. Guo L, Ren L, Yang S, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin Infect Dis.* 2020;71(15):778–785. doi: 10.1093/cid/ciaa310
24. Munitz A, Edry-Botzer L, Itan M, et al. Rapid seroconversion and persistent functional IgG antibodies in severe COVID-19 patients correlates with an IL-12p70 and IL-33 signature. *Sci Rep.* 2021;11(1):3461. doi: 10.1038/s41598-021-83019-0
25. Li K, Huang B, Wu M, et al. Dynamic changes in anti-SARS-CoV-2 antibodies during SARS-CoV-2 infection and recovery from COVID-19. *Nat Commun.* 2020;11(1):6044. doi: 10.1038/s41467-020-19943-y
26. Semmler G, Traugott MT, Graninger M, et al. Assessment of S1, S2 and NCP-specific IgM, IgA, and IgG antibody kinetics in acute SARS-CoV-2 infection by a microarray and twelve other immunoassays. *J Clin Microbiol.* 2021;JCM.02890-20. doi: 10.1128/JCM.02890-20
27. Hansen CB, Jarlhelt I, Perez-Alos L, et al. SARS-CoV-2 antibody responses are correlated to disease severity in COVID-19 convalescent individuals. *J Immunol.* 2021;206(1):109–117. doi: 10.4049/jimmunol.2000898
28. Peterhoff D, Gluck V, Vogel M, et al. A highly specific and sensitive serological assay detects SARS-CoV-2 antibody levels in COVID-19 patients that correlate with neutralization. *Infection.* 2021;49(1):75–82. doi: 10.1007/s15010-020-01503-7
29. Seow J, Graham C, Merrick B, et al. Longitudinal observation and decline of neutralizing antibody responses in the three months following SARS-CoV-2 infection in humans. *Nat Microbiol.* 2020;5(12):1598–1607. doi: 10.1038/s41564-020-00813-8
30. Sherina N, Piralla A, Du L, et al. Persistence of SARS-CoV-2-specific B and T cell responses in convalescent COVID-19 patients 6-8 months after the infection. *Med (N Y).* 2021;2(3):281–295 e284. doi: 10.1016/j.medj.2021.02.001
31. Gluck V, Grobecker S, Tydykov L, et al. SARS-CoV-2-directed antibodies persist for more than six months in a cohort with mild to moderate COVID-19. *Infection.* 2021;1–8. doi: 10.1007/s15010-021-01598-6
32. Iyer AS, Jones FK, Nodoushani A, et al. Persistence and decay of human antibody responses to the receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein in COVID-19 patients. *Sci Immunol.* 2020;5(52):eabe0367. doi: 10.1126/sciimmunol.abe0367
33. Sterlin D, Mathian A, Miyara M, et al. IgA dominates the early neutralizing antibody response to SARS-CoV-2. *Sci Transl Med.* 2021;13(577):eabd2223. doi: 10.1126/scitranslmed.abd2223
34. Carsetti R, Zaffina S, Piano Mortari E, et al. Different innate and adaptive immune responses to SARS-CoV-2 infection of asymptomatic, mild, and severe cases. *Front Immunol.* 2020;11(610300). doi: 10.3389/fimmu.2020.610300
35. Goh YS, Chavatte JM, Lim Jieling A, et al. Sensitive detection of total anti-Spike antibodies and isotype switching in asymptomatic and symptomatic individuals with COVID-19. *Cell Rep Med.* 2021;2(2):100193. doi: 10.1016/j.xcrm.2021.100193
36. Xiao T, Wang Y, Yuan J, et al. Early Viral Clearance and Antibody Kinetics of COVID-19 Among Asymptomatic Carriers. *Front Med (Lausanne).* 2021;8:595773. doi: 10.3389/fmed.2021.595773

37. Piccoli L, Park YJ, Tortorici MA, et al. Mapping neutralizing and immunodominant sites on the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain by structure-guided high-resolution serology. *Cell*. 2020;183(4):1024–1042 e21. doi: 10.1016/j.cell.2020.09.037
38. Benner SE, Patel EU, Laeyendecker O, et al. SARS-CoV-2 Antibody avidity responses in COVID-19 patients and convalescent plasma donors. *J Infect Dis*. 2020;222(12):1974–1984. doi: 10.1093/infdis/jiaa581
39. Lampasona V, Secchi M, Scavini M, et al. Antibody response to multiple antigens of SARS-CoV-2 in patients with diabetes: an observational cohort study. *Diabetologia*. 2020;63(12):2548–2558. doi: 10.1007/s00125-020-05284-4
40. Noval MG, Kaczmarek ME, Koide A, et al. Antibody isotype diversity against SARS-CoV-2 is associated with differential serum neutralization capacities. *Sci Rep*. 2021;11(1):5538. doi: 10.1038/s41598-021-84913-3
41. Rowntree LC, Chua BY, Nicholson S, et al. Robust correlations across six SARS-CoV-2 serology assays detecting distinct antibody features. *Clin Transl Immunology*. 2021;10(3):e1258. doi: 10.1002/cti2.1258
42. Klingler J, Weiss S, Itri V, et al. Role of immunoglobulin M and A antibodies in the neutralization of severe acute respiratory Syndrome Coronavirus 2. *J Infect Dis*. 2021;223(6):957–970. doi: 10.1093/infdis/jiaa784
43. Gasser R, Cloutier M, Prevost J, et al. Major role of IgM in the neutralizing activity of convalescent plasma against SARS-CoV-2. *Cell Rep*. 2021;34(9):108790. doi: 10.1016/j.celrep.2021.108790
44. Wang Z, Lorenzi JCC, Muecksch F, et al. Enhanced SARS-CoV-2 neutralization by dimeric IgA. *Sci Transl Med*. 2021;13(577):eabf1555. doi: 10.1126/scitranslmed.abf1555
45. Zohar T, Loos C, Fischinger S, et al. Compromised humoral functional evolution tracks SARS-CoV-2 mortality. *Cell*. 2020;183(6):1508–1519 e1512. doi: 10.1016/j.cell.2020.10.052
46. Lumley SF, Wei J, O'Donnell D, et al. The duration, dynamics and determinants of SARS-CoV-2 antibody responses in individual healthcare workers. *Clin Infect Dis*. 2021;ciab004. doi: 10.1093/cid/ciab004
47. den Hartog G, Vos ER, van den Hoogen LL, et al. Persistence of antibodies to SARS-CoV-2 in relation to symptoms in a nationwide prospective study. *Clin Infect Dis*. 2021;ciab172. doi: 10.1093/cid/ciab172
48. Figueiredo-Campos P, Blankenhau B, Mota C, et al. Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 antibodies in COVID-19 patients and healthy volunteers up to 6 months post disease onset. *Eur J Immunol*. 2020;50(12):2025–2040. doi: 10.1002/eji.202048970
49. Wang Y, Li J, Li H, et al. Persistence of SARS-CoV-2-specific antibodies in COVID-19 patients. *Int Immunopharmacol*. 2021;90:107271. doi: 10.1016/j.intimp.2020.107271
50. Kumar N, Bhartiya SSingh T. Duration of anti-SARS-CoV-2 antibodies much shorter in India. *Vaccine*. 2021;39(6):886–888. doi: 10.1016/j.vaccine.2020.10.094
51. He Z, Ren L, Yang J, et al. Seroprevalence and humoral immune durability of anti-SARS-CoV-2 antibodies in Wuhan, China: a longitudinal, population-level, cross-sectional study. *Lancet*. 2021;397(10279):1075–1084. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00238-5
52. Byazrova M, Yusubalieva G, Spiridonova A, et al. Pattern of circulating SARS-CoV-2-specific antibody-secreting and memory B-cell generation in patients with acute COVID-19. *Clin Transl Immunology*. 2021;10(2):e1245. doi: 10.1002/cti2.1245
53. Minervina AA, Komech EA, Titov A, et al. Longitudinal high-throughput TCR repertoire profiling reveals the dynamics of T-cell memory formation after mild COVID-19 infection. *Elife*. 2021;10:e63502. doi: 10.7554/eLife.63502
54. Tan AT, Linster M, Tan CW, et al. Early induction of functional SARS-CoV-2-specific T cells associates with rapid viral clearance and mild disease in COVID-19 patients. *Cell Rep*. 2021;34(6):108728. doi: 10.1016/j.celrep.2021.108728
55. Kared H, Redd AD, Bloch EM, et al. SARS-CoV-2-specific CD8+ T cell responses in convalescent COVID-19 individuals. *J Clin Invest*. 2021;131(5):e145476. doi: 10.1172/JCI145476
56. Thieme CJ, Anft M, Paniskaki K, et al. Robust T cell response toward spike, membrane, and nucleocapsid SARS-CoV-2 proteins is not associated with recovery in critical COVID-19 patients. *Cell Rep Med*. 2020;1(6):100092. doi: 10.1016/j.xcrm.2020.100092
57. Dan JM, Mateus J, Kato Y, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021;371(6529):eabf4063. doi: 10.1126/science.abf4063
58. Kang CK, Kim M, Lee S, et al. Longitudinal analysis of human memory T-Cell Response according to the severity of illness up to 8 months after SARS-CoV-2 infection. *J Infect Dis*. 2021;jiab159. doi: 10.1093/infdis/jiab159
59. Shomuradova AS, Vagida MS, Sheetikov SA, et al. SARS-CoV-2 Epitopes Are Recognized by a Public and Diverse Repertoire of Human T Cell Receptors. *Immunity*. 2020;53(6):1245–1257 e1245. doi: 10.1016/j.immuni.2020.11.004
60. Lee CH, Pinho MP, Buckley PR, et al. Potential CD8+ T Cell cross-reactivity against SARS-CoV-2 conferred by other Coronavirus strains. *Front Immunol*. 2020;11:579480. doi: 10.3389/fimmu.2020.579480
61. Then C, Bak A, Morisset A, et al. The N-terminus of the cauliflower mosaic virus aphid transmission protein P2 is involved in transmission body formation and microtubule interaction. *Virus Res*. 2021;198356. doi: 10.1016/j.virusres.2021.198356
62. Zuo J, Dowell AC, Pearce H, et al. Robust SARS-CoV-2-specific T cell immunity is maintained at 6 months following primary infection. *Nat Immunol*. 2021. doi: 10.1038/s41590-021-00902-8
63. Turner JS, Day A, Alsoussi WB, et al. SARS-CoV-2 Viral RNA shedding for more than 87 days in an individual with an impaired CD8+ T Cell response. *Front Immunol*. 2020;11(618402). doi: 10.3389/fimmu.2020.618402
64. Kusnadi A, Ramirez-Suastegui C, Fajardo V, et al. Severely ill COVID-19 patients display impaired exhaustion features in SARS-CoV-2-reactive CD8(+) T cells. *Sci Immunol*. 2021;6(55):eabe4782. doi: 10.1126/sciimmunol.abe4782
65. Zhuang Z, Lai X, Sun J, et al. Mapping and role of T cell response in SARS-CoV-2-infected mice. *J Exp Med*. 2021;218(4):e20202187. doi: 10.1084/jem.20202187
66. Channappanavar R, Fett C, Zhao J, et al. Virus-specific memory CD8 T cells provide substantial protection from lethal severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *J Virol*. 2014;88(19):11034–11044. doi: 10.1128/JVI.01505-14
67. Westmeier J, Paniskaki K, Karakose Z, et al. Impaired cytotoxic CD8(+) T Cell response in elderly COVID-19 patients. *MBio*. 2020;11(5):e02243-20. doi: 10.1128/mBio.02243-20
68. Tang F, Quan Y, Xin ZT, et al. Lack of peripheral memory B cell responses in recovered patients with severe acute respiratory syndrome: a six-year follow-up study. *J Immunol*. 2011;186(12):7264–7268. doi: 10.4049/jimmunol.0903490
69. Logunov DY, Dolzhikova IV, Shcheblyakov DV, et al. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet*. 2021;397(10275):671–681. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00234-8
70. Selhorst P, Van Iersel S, Michiels J, et al. Symptomatic SARS-CoV-2 reinfection of a health care worker in a Belgian nosocomial outbreak despite primary neutralizing antibody response. *Clin Infect Dis*. 2020;ciaa1850. doi: 10.1093/cid/ciaa1850

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Иванов Александр Владимирович, в.н.с.;
адрес: Российская Федерация, 119991, Москва,
ул. Вавилова, д. 32; e-mail: aivanov@yandex.ru;
eLibrary SPIN: 5776-5496;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5659-9679>

Соавторы:

Федоров Вячеслав Сергеевич, лаборант-исследователь; e-mail: fedorovvyach@gmail.com

Иванова Ольга Николаевна, к.б.н., н.с.;
e-mail: olgaum@yandex.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3673-4714>

Карпенко Инна Леонидовна, к.х.н., с.н.с.;
e-mail: ilkzkil@gmail.com,
eLibrary SPIN: 1699-6450;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9849-0447>

AUTHORS INFO

Alexander V. Ivanov, Head of the lab;
address: 32, Vavilov street, Moscow, 119991, Russia;
e-mail: aivanov@yandex.ru;
eLibrary SPIN: 5776-5496;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5659-9679>

Vyacheslav S. Fedorov, Laboratory Research Assistant;
e-mail: fedorovvyach@gmail.com

Olga N. Ivanova, Cand. Sci. (Biol.), Research Associate;
e-mail: olgaum@yandex.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3673-4714>

Inna L. Karpenko, Cand. Sci. (Chemical), Senior Research Associate;
e-mail: ilkzkil@gmail.com,
eLibrary SPIN: 1699-6450;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9849-0447>

ГЕНЕТИКА COVID-19

© Д.А. Вологжанин^{1,2}, А.С. Голота¹, Т.А. Камилова¹, О.В. Шнейдер¹, С.Г. Щербак^{1,2}¹ Городская больница № 40 Курортного административного района, Санкт-Петербург, Российская Федерация² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация

COVID-19 характеризуется широким спектром клинических проявлений — от бессимптомного до крайне тяжелого. В начале пандемии стало ясно, что пожилой возраст и хронические заболевания являются основным фактором риска, однако они не в полной мере объясняют разнообразие симптоматики и осложнений инфекции коронавируса SARS-COV-2. Генетические факторы риска COVID-19 находятся в начальной стадии изучения. Идентифицирован ряд мутаций и полиморфизмов, влияющих на структуру и стабильность белков — факторов восприимчивости к инфекции SARS-COV-2, а также предрасположенности к развитию дыхательной недостаточности и потребности в интенсивной терапии. Большинство идентифицированных генетических факторов имеет отношение к функциям иммунной системы. С другой стороны, на распространение и тяжесть течения COVID-19 влияет генетический полиморфизм самого вируса. Геном вируса накапливает мутации и эволюционирует в сторону повышения контагиозности, репликативной способности и уклонения от иммунной системы хозяина. Генетические детерминанты инфекции представляют собой потенциальные терапевтические мишени, а их изучение предоставит информацию для разработки лекарств и вакцин с целью борьбы с пандемией.

Ключевые слова: COVID-19; коронавирус; SARS-COV-2; генетические факторы предрасположенности; мутация; полиморфизм.

Для цитирования: Вологжанин Д.А., Голота А.С., Камилова Т.А., Шнейдер О.В., Щербак С.Г. Генетика COVID-19. Клиническая практика. 2021;12(1):41–52. doi: 10.17816/clinpract64972

Поступила 19.02.2021

Принята 25.02.2021

Опубликована 01.04.2021

GENETICS OF COVID-19

© D.A. Vologzhanin^{1,2}, A.S. Golota¹, T.A. Kamilova¹, O. V. Shneider¹, S.G. Sherbak^{1,2}¹ Saint-Petersburg City Hospital No 40 of Kurortny District, Saint Petersburg, Russian Federation² Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russian Federation

COVID-19 is characterized by a wide range of clinical manifestations, from asymptomatic to extremely severe. At the onset of the pandemic, it became clear that old age and chronic illness were the major risk factors. However, they do not fully explain the variety of symptoms and complications of the SARS-COV-2 coronavirus infection. The research on genetic risk factors for COVID-19 is still at its early stages. A number of mutations and polymorphisms have been identified that affect the structure and stability of proteins — factors of susceptibility to SARS-COV-2 infection, as well as a predisposition to the development of respiratory failure and the need for intensive care. Most of the identified genetic factors are related to the function of the immune system. On the other hand, the genetic polymorphism of the virus itself affects the COVID-19 spread and severity of its course. The genome of the virus accumulates mutations and evolves towards increasing contagiousness, replicative ability and evasion from the host's immune system. Genetic determinants of the COVID-19 infection are potential therapeutic targets. Studying them will provide information for the development of drugs and vaccines to combat the pandemic.

Keywords: COVID-19; coronavirus; SARS-COV-2; genetic predisposition factors; mutation; polymorphism.

For citation: Golota AS, Vologzhanin DA, Kamilova TA, Shneider OV, Sherbak SG. Genetics of COVID-19. Journal of Clinical Practice. 2021;12(1):41–52. doi: 10.17816/clinpract64972

Submitted 19.02.2021

Revised 25.02.2021

Published 01.04.2021

ОБОСНОВАНИЕ

11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения объявила COVID-19 пандемией. За время пандемии COVID-19 коронавирусом SARS-CoV-2 были заражены 132 046 206 человек во всем мире (по состоянию на 07.04.2021) с зарегистрированной смертностью 2 867 242 человека [1]. В большинстве случаев пациенты, инфицированные коронавирусом SARS-CoV-2, переносят заболевание в легкой или бессимптомной форме, тогда как у 5% больных COVID-19 развиваются пневмония, острый респираторный дистресс-синдром, септический шок и полиорганная недостаточность, которая часто приводит к летальному исходу [2, 3].

ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА

Тяжелая форма COVID-19 — это спектр гипервоспалительных, часто смертельных состояний. Восприимчивость к опасным для жизни инфекциям и иммуноопосредованным заболеваниям имеет генетический компонент. В частности, восприимчивость к респираторным вирусам, таким как грипп, передается по наследству и связана со специфическими генетическими вариантами [4]. Выявление молекулярно-генетических механизмов этой восприимчивости имеет первостепенное биологическое и медицинское значение [5]. Детерминанты тяжести COVID-19 почти полностью зависят от факторов хозяина, а не от вируса [6].

D. Ellinghaus и другие участники международной исследовательской группы Severe COVID-19 GWAS Group из Германии, Швеции, Норвегии, Италии, Испании, Австралии и Литвы выполнили метаанализ полногеномных ассоциативных исследований (genome-wide association study, GWAS) в когортах пациентов с тяжелой формой COVID-19 (определяемой как дыхательная недостаточность), госпитализированных по 7 больницам итальянских и испанских эпицентров локального пика эпидемии, которые получали кислородную терапию или искусственную вентиляцию легких (ИВЛ), и сравнили данные этих пациентов с данными здоровых доноров крови из тех же регионов [7]. В окончательный анализ включены 835 пациентов и 1255 контрольных участников из Италии, а также 775 пациентов и 950 контрольных участников из Испании. Всего проанализированы 8 582 968 однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphisms, SNP). Исследование выявило ассоциации тяжести инфекции SARS-CoV-2 с полиморфизмом полигенных локусов 3p21.31 и 9q34.2.

Обнаружены перекрестно воспроизводимые ассоциации с вариантами rs11385942 (инсерция/делеция GA) в локусе 3p21.31 и rs657152 (SNP CA) в локусе 9q34.2 (оба $p < 5 \times 10^{-8}$). В локусе 3p21.31 ассоциация охватывала гены *SLC6A20*, *LZTFL1*, *CCR9*, *FYCO1*, *CXCR6* и *XCR1*, а в локусе 9q34.2 сигнал ассоциации совпал с локусом группы крови ABO — повышенный риск у группы крови A ($p = 1,5 \times 10^{-4}$) и защитный эффект у группы крови O ($p = 1,1 \times 10^{-5}$) по сравнению с другими группами крови. Поправка на пол и возраст подтвердила ассоциации для сайтов rs11385942 (OR 2,11; $p = 9,46 \times 10^{-12}$) и rs657152 (OR 1,39; $p = 5,35 \times 10^{-7}$). Биологический механизм, лежащий в основе эффекта полиморфизма rs657152 в локусе ABO, предположительно имеет отношение к продукции нейтрализующих антител против вирусных белков [7]. Метаанализ показал, что он связан с восприимчивостью к COVID-19, но не с тяжестью заболевания [8].

Среди шести генов-кандидатов в локусе 3p21.31 наиболее убедителен ген *LZTFL1* с вариантом rs11385942, который экспрессируется на высоком уровне в клетках легких человека и кодирует белок, участвующий в транспорте белков к первичным ресничкам, которые представляют собой субклеточные органеллы из микротрубочек, действующие как антенны-механосенсоры для внеклеточных сигналов. Частота G-аллеля риска в сайте rs11385942 выше у пациентов, получавших ИВЛ, чем у тех, кто получал только кислородную добавку, в основном метаанализе и метаанализе с поправкой на пол и возраст. Кроме того, пациенты, гомозиготные по аллелю риска, были моложе гетерозиготных или гомозиготных по A-аллелю (средний возраст 59 и 66 лет соответственно; $p = 0,005$) [7]. В Т-лимфоцитах белок LZTFL1 участвует в иммунологическом синапсе с антигенпрезентирующими клетками. Локус 3p21.31 содержит ген *SLC6A20*, который кодирует белок-транспортер с высокой кишечной экспрессией, регулируемой рецептором ACE2, и гены, кодирующие хемокиновые рецепторы, в том числе *CXCR6*, который регулирует миграцию Т-клеток и локализацию резидентных Т-клеток памяти CD8+ в легких. Гены *CCR9*, *XCR1* и *FYCO1* также участвуют в функции дендритных и Т-клеток [6]. Таким образом, кластер генов 3p21.31 идентифицирован как локус генетической предрасположенности к наиболее тяжелым формам COVID-19.

Исследователи из 86 клиник и лабораторий Америки, Европы, Азии и Австралии секвенировали экзом или геном 659 пациентов с тяжелой COVID-

19-ассоциированной пневмонией и 534 пациентов с бессимптомной или легкой формой инфекции и обнаружили значимое увеличение числа мутаций с потерей функции в 13 кандидатных локусах у пациентов с угрожающей жизни пневмонией по сравнению с пациентами с бессимптомным или легким течением инфекции. У 3,5% пациентов в возрасте от 17 до 77 лет идентифицированы 24 патогенных варианта, которые определяют аутосомно-рецессивные дефекты генов *IRF7* (interferon regulatory factor 7) и *IFNAR1* (interferon alpha/beta receptor alpha chain) и аутосомно-доминантные дефекты генов *TLR3*, *UNC93B1*, *TICAM1*, *TBK1*, *IRF3*, *IRF7*, *IFNAR1* и *IFNAR2*, участвующих в TLR3- и IRF7-зависимой индукции и амплификации IFN типа I. Гены *IFNAR1* и *IFNAR2* являются частью кластера иммунологически важных генов и кодируют субъединицы 1 и 2 рецептора IFN- α и IFN- β соответственно, вовлеченные в патофизиологию тяжелой COVID-19. Плазматическоидные дендритные клетки пациентов с дефицитом фактора IRF7 не продуцируют IFN типа I при инфицировании SARS-CoV-2. Фибробласты пациентов фенотипа *TLR3*^{-/-}, *TLR3*^{+/-}, *IRF7*^{-/-} и *IFNAR1*^{-/-} восприимчивы к инфекции SARS-CoV-2 *in vitro*. Эти данные раскрывают роль рецептора TLR3 как сенсора двуцепочечной РНК и IFN типа I как элемента врожденного клеточного иммунитета в контроле инфекции SARS-CoV-2. Введение экзогенного IFN типа I может иметь терапевтический эффект у больных COVID-19 — носителей определенного генотипа [5].

Понимание роли циркулирующих белков при инфекционных заболеваниях является сложной задачей, поскольку сама инфекция часто значительно изменяет экспрессию циркулирующего белка и может показаться, что повышение уровней циркулирующих белков, например цитокинов, связано с ухудшением исхода, тогда как на самом деле оно может быть ответом хозяина на инфекцию и помогает смягчить этот исход. Именно поэтому важно знание генетических детерминант уровней белка, которые отражают степень защиты человека от тяжелой формы COVID-19. Крупномасштабное рандомизированное исследование [9], проведенное в США, Канаде, Японии, Швеции, Германии и Англии с целью поиска циркулирующих белков, влияющих на восприимчивость и тяжесть COVID-19, идентифицировало ген *OAS1*, ассоциированный с уменьшением восприимчивости к COVID-19 (14 134 больных и 1 284 876 контрольных лиц; $p=8\times 10^{-6}$), госпитализации с COVID-19 (6406

больных и 902 088 контрольных лиц; $p=8\times 10^{-8}$) и смертности от COVID-19 (4336 больных и 623 902 контрольных лиц, $p=7\times 10^{-8}$). Измеряя экспрессию циркулирующих белков, авторы продемонстрировали, что этот защитный эффект на исход COVID-19 обеспечивают повышенные уровни изоформы p46 *OAS1* и общего белка *OAS1*, что согласуется с данными Н. Zeberg и соавт. [10].

Белки *OAS* являются частью врожденного иммунного ответа против РНК-вирусов. Они активируют латентную РНКазу L, которая расщепляет двуцепочечную РНК — промежуточное звено репликации коронавируса, что приводит к прямому разрушению вирусной РНК. SARS-CoV-2 и другие бета-коронавирусы продуцируют вирусные белки, которые разрушают ферменты *OAS* и противодействуют РНКазе L, деградирующей вирусную РНК. Эта вирусная активность позволяет SARS-CoV-2 уклоняться от иммунного ответа хозяина. Ингибиторы вирусной фосфодиэстеразы-12, которая разрушает ферменты *OAS*, также усиливают противовирусную активность *OAS*. Протективные изоформы белков *OAS1*, *OAS2* и *OAS3* увеличивают экспрессию генов *IRF3* и *IRF7*, входящих в интерферон-индуцибельную генную сигнатуру. Полиморфизмы *OAS1* связаны с иммунным ответом хозяина на вирусные инфекции, включая вирусы гриппа, простого герпеса, гепатита С, денге, SARS-CoV и SARS-CoV-2. Учитывая, что *OAS1* является внутриклеточным ферментом деградации вирусной РНК, вероятно, циркулирующие уровни этого фермента отражают его внутриклеточные уровни. Для противовирусного иммунного ответа важны как внутриклеточный, так и циркулирующий *OAS1* [9].

GWAS 2244 больных тяжелой формой COVID-19 с глубокой гипоксемической дыхательной недостаточностью из 208 британских больниц подтвердило значимые ассоциации тяжести заболевания с рядом полиморфизмов, относящихся к ключевым механизмам противовирусной защиты хозяина и медиаторам воспалительного поражения органов при COVID-19: rs10735079 ($p=1,65\times 10^{-8}$), rs2109069 ($p=3,98\times 10^{-12}$), rs2236757 ($p=4,99\times 10^{-8}$), rs74956615 ($p=2,3\times 10^{-8}$). Вариант rs10735079 находится в генном кластере *OAS* (oligoadenylate synthetase, locus 12q24.13), кодирующем интерферон-индуцибельные активаторы рестрикционных ферментов противовирусной защиты *OAS1*, *OAS2*, *OAS3*. Транскриптомный анализ легочной ткани обнаружил значимую связь COVID-19 с экспрессией *OAS3*. Высокий уровень *OAS3* в легких и цельной крови

связан с худшими исходами у тяжелобольных пациентов с COVID-19, что является противоположно направленным эффектом по сравнению с OAS1 [8].

Для изучения протективного по отношению к тяжелой форме COVID-19 гаплотипа в уже упомянутом генном кластере OAS на хромосоме 12 Н. Zeberg и соавт. [11] использовали базы данных Genetics of Mortality in Critical Care и COVID-19 Host Genetics Initiative. Этот гаплотип содержит варианты rs2660, rs1859330, rs1859329, rs2285932, rs1293767 [11]. Кроме того, в гене OAS1 обнаружены защитные аллели rs4767027-T и rs10774671-G. Альтернативный сплайсинг OAS1, регулируемый аллелем rs10774671-G, увеличивает экспрессию изоформы p46, обладающей более высокой антивирусной активностью, чем изоформа p42. Генетические варианты хозяина, связанные с крайне тяжелой формой заболевания, помогают определять терапевтические мишени. В настоящее время уже известны молекулы, которые могут увеличивать активность OAS1. Интерферон β -1b (IFN- β 1b), который активирует каскад цитокинов, приводящий к росту экспрессии гена OAS1, повышает уровень OAS1 в крови. Терапия ингаляцией IFN- β 1b может иметь разные эффекты в популяциях разного происхождения из-за наличия разных генетических вариантов, в частности, она эффективнее в популяциях с более высокой экспрессией изоформы p46 [9].

Вариант rs2109069 в гене *DPP9* (dipeptidyl peptidase 9, локус 19p13.3) ассоциирован с идиопатическим легочным фиброзом. Серинпротеаза DPP9 играет важную роль в антигенной презентации и активации воспаления. Ген *IFNAR2* (локус 21q22.1), в котором находится вариант rs2236757, кодирует рецептор интерферона, участвующий в передаче сигналов интерферонов 1-го типа. Вариант rs74956615 локализован вблизи гена *TYK2* (tyrosine kinase 2) на хромосоме 19, экспрессия которого ассоциирована с крайне тяжелой формой COVID-19. *TYK2* — один из генов-мишеней ингибиторов сигнального пути JAK/STAT, таких как барицитиниб [8].

Некоторые из генетических ассоциаций с тяжелой формой COVID-19 относятся к иммуноопосредованной фазе заболевания, связанной с дыхательной недостаточностью, требующей инвазивной механической вентиляции. Крайне тяжелое течение COVID-19 связано как минимум с двумя биологическими механизмами: врожденной противовирусной защитой, которая особенно важна на ранней стадии заболевания (гены *IFNAR2* и OAS), и воспа-

лительным поражением легких — ключевым механизмом поздней фазы COVID-19 (гены *DPP9*, *TYK2* и *CCR2*). Интерфероны являются медиаторами передачи противовирусных сигналов и стимулируют высвобождение компонентов раннего ответа на вирусную инфекцию. Согласно с защитной ролью интерферонов типа I, повышенная экспрессия субъединицы рецептора интерферона *IFNAR2* снижает вероятность тяжелого течения COVID-19. Мутации с потерей функциональности в гене *IFNAR2* ассоциированы с тяжелой COVID-19 [5] и другими вирусными инфекциями. Введение интерферона может снизить вероятность критического состояния при COVID-19, но в какой момент болезни лечение будет эффективным, не определено. Лечение экзогенным интерфероном не привело к снижению смертности госпитализированных пациентов в крупномасштабных клинических испытаниях [12], возможно, этот генетический эффект действует на ранней стадии заболевания, когда вирусная нагрузка высока [8].

Внелегочные эффекты COVID-19 могут быть опосредованы IFN-контролируемым увеличением экспрессии ACE2 как на эндотелиальных, так и на паренхимных клетках, что приводит к эндотелииту [13] и поражению печени у 60% тяжелых пациентов [14]. Дефицит иммунитета, опосредуемого IFN типа I, связан с опасной для жизни пневмонией COVID-19 [5], индукция интерферонами типа I их генных сигнатур обнаруживается у некоторых пациентов в критическом состоянии. Метатранскриптомное секвенирование для профилирования иммунных сигнатур в жидкости бронхоальвеолярного лаважа 8 случаев COVID-19 показало, что экспрессия 83 провоспалительных генов, особенно кодирующих цитокины (*IL1RN* и *IL6*) и хемокины (*CXCL17*, *CXCL8* и *CCL2*), а также рецептор CXCR2 для хемокинов CXCL8, CXCL1 и CXCL2, заметно повышена в случаях COVID-19 по сравнению с пациентами с внебольничной пневмонией и здоровыми людьми из контрольной группы, что указывает на гиперцитокинемию у больных COVID-19, вызываемую экспрессией многочисленных IFN-стимулированных генов (interferon-stimulated genes, ISG). Среди ISG преобладают гены с иммунопатогенным потенциалом, участвующие в воспалении. Данные транскриптома также использовались для оценки популяций иммунных клеток, выявляя увеличение активированных дендритных клеток и нейтрофилов. Активация генов *IL1RN* и *SOCS3*, которые кодируют антагонисты цитокинового сигналинга, поз-

воляет предположить, что инфекция SARS-CoV-2 задействует петлю отрицательной обратной связи. Экспрессия генов, участвующих в морфогенезе и миграции иммунных клеток (*NCKAP1L*, *DOCK2*, *SPN* и *DOCK10*), оказалась ниже, чем у здоровых людей контрольной группы. Функциональный анализ выявил состояние высокой чувствительности к вредным раздражителям в случаях COVID-19, характеризующее мощными защитными реакциями и гиперактивным биогенезом рибосом. Изучение динамики экспрессии цитокинов показало, что уровни экспрессии генов, связанных с цитокинами, со временем снижаются. Пациент, который в конечном итоге скончался, оказался исключением. Эти наблюдения показали, что сильное воспаление при COVID-19 постепенно разрешается, а неразрешенное воспаление может привести к фатальным последствиям [15].

Результаты исследований предполагают, что IFN типа I играют в патофизиологии COVID-19 бивалентную роль, которая требует жесткого регулирования, и приводят к гипотезе о том, что ингибиторы JAK/STAT полезны на ранней стадии заболевания, уменьшая IFN-I-индуцированную экспрессию ACE2. Примечательны важные качественные различия между ответом сфероидов печени, где IFN индуцировали ACE2 и повышенную инфекционность, и органоидами легких, где IFN-сигналинг не влиял на ACE2 и вирусную нагрузку. Эндотелиальные клетки сосудов экспрессируют высокие уровни ACE2 [16] и очень чувствительны к IFN-сигналингу [17]. В совокупности эти данные предполагают, что эффекты барицитиниба могут различаться в разных системах органов и что противовоспалительные эффекты могут быть наиболее полезными в тех тканях, в которых экспрессия гена *ACE2* является ответом на IFN, включая печень [18].

Генотипирование 322948 биологических образцов из английского биобанка UKB по гену *ApoE* (apolipoprotein E) установило, что гомозиготы *ApoE* e4e4 ($n=9022$; 3%) с большей вероятностью будут иметь положительный результат теста на COVID-19 (OR 2,31; $p=1,19 \times 10^{-6}$) по сравнению с гомозиготами e3e3 (наиболее распространенный генотип, $n=223\,457$, 69%). Эта ассоциация сохранилась после исключения из анализа образцов пациентов с заболеваниями, ассоциированными с тяжестью COVID-19 (гипертонией, ишемической болезнью сердца, инфарктом миокарда, стенокардией, диабетом, деменцией). Следовательно, можно уверенно утверждать, что аллель e4 гена *ApoE*, вариант,

связанный с повышенным риском болезни Альцгеймера, увеличивает риск тяжелой инфекции COVID-19 независимо от других факторов риска. *ApoE* является одним из генов с высокой экспрессией в альвеолярных клетках типа II легких. Вариант *ApoE* e4 влияет не только на функцию липопротеинов и развитие кардиометаболических заболеваний, но и на про-/противовоспалительные фенотипы макрофагов. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы понять биологические механизмы, связывающие генотипы *ApoE* с тяжестью COVID-19 [19].

Тот факт, что мужчины более подвержены риску тяжелой формы COVID-19, отчасти объясняется локализацией гена *ACE2* на X-хромосоме [20]. В области, охватывающей весь ген *ACE2* и 50 000 пар оснований вокруг него, обнаружены SNP, которые несут аллели, унаследованные от неандертальцев. Эти SNP не находятся в неравновесном сцеплении и, следовательно, не образуют непрерывный гаплотип. Неандертальские гаплотипы в гене *DPP4* (гомолог *DPP9*) ассоциированы с ~80% повышенного риска госпитализации после заражения SARS-CoV-2. S-белок SARS-CoV-2 связывается с мембраносвязанным рецептором DPP4 (известным как CD26) [21]. DPP4 участвует в нескольких физиологических системах, включая регуляцию метаболизма глюкозы. Ингибиторы DPP4 используются для лечения диабета, и предполагается, что они влияют на исходы COVID-19 [22]. Однако неандертальский вариант гена *DPP4* удваивает риск тяжелого заболевания COVID-19 [23]. Наиболее сильная ассоциация с тяжелой формой COVID-19 у SNP rs117888248 (OR 1,84). Неандертальские гаплотипы в гене *DPP4* и на хромосоме 3 увеличивают риск заболевания тяжелой формой COVID-19 с дыхательной недостаточностью и потребностью в ИВЛ на 100% каждый. Оба гаплотипа риска в генах *ACE2* и *DPP4* имеют более сильные эффекты, чем защитный неандертальский гаплотип на хромосоме 12, который снижает риск тяжелого заболевания на ~23% [11].

Неандертальский вариант гена *DPP4* присутствует у 1% европейцев, у 2,5% жителей Южной Азии, у 4% жителей Восточной Азии и у 0,7% американцев. Три доступных на сегодня генома неандертальцев из Европы и юга Сибири, возраст которых варьирует от 50 до 120 тыс. лет, гомозиготны по вариантам риска. Это означает, что если бы неандерталец был жив сегодня, у него был бы в 4–16 раз более высокий риск тяжелого заболевания при инфицировании вирусом SARS-CoV-2 [23].

Достижения протеомики в сочетании с данными генетики человека способствуют идентификации терапевтических мишеней и разработке лекарств против COVID-19. Выявление причинной связи между циркулирующими белками и восприимчивостью к инфекции SARS-CoV-2 или тяжестью течения COVID-19 является перспективным направлением развития фармакотерапии этого заболевания, при котором воздействие SARS-CoV-2 вызывает глубокие изменения в уровнях циркулирующих белков. Некоторые генетические ассоциации ведут к потенциальным терапевтическим подходам усиления интерферонового сигналинга, противодействия активации и инфильтрации лейкоцитов в легкие или специфического воздействия на воспалительные пути [8].

ГЕНЕТИКА КОРОНАВИРУСА SARS-CoV-2

Секвенированы геномы 5085 штаммов SARS-CoV-2 (1026 штаммов, относящихся к самым ранним подтвержденным случаям COVID-19, и 4059 штаммов, извлеченных в ходе массовой второй волны пандемии) в крупном мегаполисе (Хьюстон, США), этнически разнообразном регионе с 7 миллионами жителей. Анализ штаммов SARS-CoV-2, вызывавших заболевание в первой волне (05.03–11.05.2020), выявил множество разнообразных вирусных геномов, которые в совокупности представляют собой основные монофилогенетические группы, идентифицированные на сегодня в мире, хотя не все «веточки» эволюционного древа SARS-CoV-2 представлены в этих данных. Филогенетическое распределение штаммов с множественными заменами различных аминокислот в одном и том же сайте показало их независимое происхождение. Почти все штаммы (4054) второй волны имеют замену аминокислоты аспарагин-614 в рецептор-связывающем домене (RBD) S-белка на глицин, связанную с повышенной трансмиссивностью и инфекционностью. Штаммы с вариантом Gly614 в S-белке составляли 71% штаммов SARS-CoV-2 в начале 1-й волны и 99,9% во 2-й волне ($p < 0,0001$). Пациенты, инфицированные штаммами Gly614, имели значительно более высокую вирусную нагрузку в верхних дыхательных путях при первоначальном диагнозе, чем пациенты, инфицированные штаммами с вариантом Asp614. При этом сохраняется ассоциация тяжести заболевания с сопутствующими заболеваниями и генетикой человека. Наличие варианта Gly614 не коррелировало с исходом заболевания. Некоторые области S-белка —

основной мишени глобальных усилий по созданию вакцины — изобилуют аминокислотными заменами, что, возможно, указывает на действие отбора. В RBD S-белка аминокислотные замены встречаются относительно редко по сравнению с другими участками белка, но некоторые из них снижают распознавание нейтрализующим моноклональным антителом CR3022. Это согласуется с функциональной ролью RBD во взаимодействии с ACE2 и предположением о том, что новые варианты вируса возникают из-за давления со стороны иммунной системы хозяина [24]. Штаммы вируса с вариантом 614Gly демонстрируют значительно повышенную репликацию в эпителиальных клетках легких человека *in vitro* и повышенные титры в смывах из носа и трахеи пациентов. Таким образом, вариант 614Gly увеличивает приспособленность вируса к персистенции в верхних дыхательных путях [25].

Геном SARS-CoV-2 кодирует РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRp; также называемую Nsp12), участвующую в репликации вируса. Каждая из двух аминокислотных замен (Phe479Leu и Val556Leu) в гене, кодирующем RdRp, придает значительную устойчивость к ремдезивиру — аналогу аденозина [26, 27].

Нетранслируемые фланкирующие области (5'- и 3'-untranslated region, 5'- и 3'-UTR) генома SARS-CoV-2 кодируют исключительно консервативные вторичные структуры РНК с генорегулирующими функциями в вирусной репликации и транскрипции. UTR могут взаимодействовать с рядом белковых факторов человека и вируса и обеспечивать взаимодействия РНК-РНК или РНК-белок за счет циркуляризации генома. Чтобы исследовать геномную стабильность SARS-CoV-2, проанализированы варианты нуклеотидов в изолятах, собранных в ходе продолжающейся пандемии. Выявлены 87 вариантов (SNP) с частотой $>0,5\%$ (встречающихся как минимум в 93 геномах). В расширенном анализе 18 599 геномов SARS-CoV-2 вариант g.241C>T обнаружен с частотой 70,2%. Кроме того, 6 вариантов идентифицированы в 3'-UTR (g.29700A>G, g.29711G>T, g.29734G>C, g.29742G>T, g.29742G>A, g.29870C>A) и 3 в 5'-UTR (g.36C>T, g.187A>G, g.241C>T), которые обнаруживались с частотой 0,62–1,05% [28]. A. Mishra и соавт. [29] идентифицировали две позиции, соответствующие двум найденным в этом анализе заменам — g.241C>T в 5'-UTR и g.29742G>A/T в 3'-UTR. Если SNP возникает случайным образом, вероятность того, что это приводит к миссенс-, синонимичной и нонсенс-мутации составляет 73; 22

и 5% соответственно во всех 26 вирусных генах, кодирующих белки. Анализ наблюдаемых аминокислотных замен в 769 SNP с частотой вариантов 0,05% или выше обнаружил меньше, чем ожидалось, миссенс- и нонсенс-мутаций во всех генах, за исключением *ORF8*. Отклонения наблюдаемых пропорций от ожидаемых значений широко варьировали в зависимости от генов. В *ORF8*, например, частота миссенс-, синонимичной и нонсенс-мутаций составляла 77; 15 и 8% соответственно, что близко к ожидаемым. Напротив, для процессированного пептида nsp9 (non-structural protein 9), предполагаемая функция которого заключается в димеризации и связывании РНК, соответствующие пропорции составляли 18,2; 81,8 и 0% соответственно. Вероятно, отбор и эволюционное давление различаются в отдельных генах SARS-CoV-2. Таким образом, характеристика вариантов SARS-CoV-2 предполагает неслучайное давление отбора, которое указывает на скрытые движущие силы эволюции вирусного генома, связанные с функциональной или регуляторной ролью [28].

Анализ неравновесного сцепления (linkage disequilibrium, LD) SNP в 18 599 геномах идентифицировал в общей сложности 34 группы коэволюционирующих вариантов (coevolving variant, CEV) с частотой $\geq 0,1\%$. Две группы CEV включали в себя UTR и другие особенности генов, которые могут свидетельствовать о функциональных зависимостях или взаимодействиях геномных элементов, несущих варианты. Первая группа CEV (CEVg1), обнаруженная в 69,5% геномов SARS-CoV-2, состояла из четырех вариантов, расположенных в 5'-UTR (g.241C>T), nsp3 (g.3037C>T, синоним), гене РНК-зависимой РНК-полимеразы (g.14408C>T, p.P323L) и гене S-белка (g.23403A>G, p.D614G). Встречаемость CEVg1 резко увеличилась (с 12,2 до 93,4%) за трехмесячный период с февраля по май 2020 г. как в глобальном масштабе, так и для каждого региона по континентам. Мутация D614G, входящая в CEVg1, повышает контагиозность вируса. Другая группа CEV (CEVg5), ассоциированная с 3'-UTR и обнаруженная в 0,9% геномов, включала в себя 6 вариантов в генах лидерного белка nsp1 (g.490T>A, p.D75E), nsp3 (g.3177C>T, p.P153L), экзонуклеазы (g.18736T>C, p.F233L), S-белка (g.24034C>T, синоним), мембранного белка (g.26729T>C, синоним) и собственно 3'-UTR (g.29700A>G). Группа CEVg5 оставалась второстепенной в марте-апреле 2020 г., составляя 1,2 и 0,53% соответственно [28]. Белок nsp3 коронавирусов способен блокировать вро-

жденный иммунный ответ хозяина, а другие неструктурные белки (non-structural protein, nsp) играют роль в уклонении от распознавания иммунной системой [30]. В целом обзор вариантов в 18 599 геномах SARS-CoV-2, собранных в мае 2020 г., указывает на то, что коэволюционирующие и единичные варианты с вероятным функциональным влиянием на репликативную способность или патогенность вируса идентифицированы как в UTR, так и в функциональных элементах по всему геному [28].

В октябре 2020 г. стали доступными более 86 450 геномов SARS-CoV-2, в связи с чем групповой анализ коэволюционирующих вариантов более чем в 4 раза превысил размер первого набора данных из 18 599 геномов. Сравнение частоты групп CEV между наборами данных за май и октябрь 2020 г. дало новое представление об эволюции SARS-CoV-2. Во-первых, оно подтвердило глобальное доминирование CEVg1 с мутацией D614G в S-белке, которое увеличилось с 69,53 до 84,77% в период с мая по октябрь 2020 г. Во-вторых, постепенно исчезли группы CEVg3 и CEVg4. В-третьих, идентифицированы две новые группы возникающих коэволюционирующих мутаций (CEVg6 и CEVg8), которые показали быстрое увеличение частоты в течение короткого периода времени только на одном континенте и не появлялись на других континентах: так, CEVg6 появилась в Океании (ее частота выросла с 0% в апреле до 96% в июле 2020 г.), тогда как CEVg8 появилась в Европе (с частотой 0% в июне и 36% в сентябре 2020 г.). Группы CEVg6 и CEVg8 несут новые мутации в S-белке, S477N и A222V соответственно [28].

МикроРНК (miRNA) человека представляют собой эволюционно консервативные некодирующие РНК, которые могут посттранскрипционно угнетать экспрессию генов за счет гибридизации частично гомологичных последовательностей, в первую очередь с 3'-UTR РНК. Человеческие miRNA могут таргетировать вирусные РНК и положительно или отрицательно модулировать различные стадии вирусной репликации и жизненного цикла вируса [31]. Чтобы получить представление о возможном взаимодействии UTR SARS-CoV с микроРНК хозяина в модулировании патогенеза инфекции, проведен поиск гомологии последовательностей человеческих miRNA с последовательностями UTR SARS-CoV-2. Идентифицированы в общей сложности 8 микроРНК из базы данных miRBase, включая смысловые и антисмысловые последовательности, соответствующие 3'- и 5'-UTR. Три miRNA (hsa-miR-

1307-3p, hsa-miR-1304-3p и hsa-miR-15b-5p) экспрессируются во всех 23 тканях, включая легкие, сердце, печень, почки и тонкий кишечник, которые серьезно пострадали во время инфекции SARS-CoV-2. Последовательности, гомологичные человеческим hsa-miR-1307-3p и hsa-miR-1304-3p, локализованы в S2m — консервативном генетическом элементе вируса с неизвестной функцией. На основе компьютерного моделирования *in silico* взаимодействия между вирусным 3'-UTR и человеческой hsa-miR-1307-3p представлен возможный механизм выживания вируса, согласно которому мутация в 3'-UTR SARS-CoV-2 ослабляет иммунный ответ хозяина. М. Khan и соавт. [32] идентифицировали мишень miR-1307-3p в 3'-UTR, которая опосредует противовирусные реакции и ингибирует репликацию вируса [33]. Ранее hsa-miR-1307-3p связывали с функцией легких [34], а также с прогрессированием некоторых видов рака у больных COVID-19 [35]. Исследование L. Bavagnoli и соавт. продемонстрировало функциональную роль miR-1307 человека в регуляции репликации вируса гриппа A H1N1 [33] и предсказало комплементарность miR-1307 белку NS1 вируса H1N1, который ограничивает интерфероновые и провоспалительные реакции, позволяя вирусу уклоняться от врожденного и адаптивного иммунитета хозяина и эффективно реплицироваться в инфицированных клетках. Мутация C112A, позволяющая вирусу ускользнуть от miR-1307, ассоциирована с острым респираторным дистресс-синдромом. Примечательно, что в геноме SARS-CoV-2 сайт прерывания гибридизации с miR-1307-3p совпадает с локализацией мутации C112A в геноме H1N1. По-видимому, у SARS-CoV-2 общий с H1N1 механизм защиты от иммунитета хозяина, если SARS-CoV-2 несет аллель, который ослабляет функцию miR-1307. В поддержку этой гипотезы анализ вариаций SARS-CoV-2 выявил две близлежащие мутации в позициях 29742 и 29734, которые соответствуют 7-й и 15-й позициям miR-1307 соответственно. Мутации в этих двух сайтах могут нарушить гибридизацию РНК SARS-CoV-2 с miR-1307, чтобы избежать ингибирования инфекции. По состоянию на октябрь 2020 г. эти мутации обнаруживались с частотой <1,2%. Их связь с тяжестью клинических симптомов в настоящее время неизвестна и требует дальнейшего изучения [28].

Таким образом, комплексный подход к анализу вариаций геномов циркулирующих штаммов SARS-CoV-2 во время текущей пандемии идентифицировал возможные взаимодействия микроРНК

miR-1307-3p человека с 3'-UTR генома SARS-CoV-2 [28], что подтверждается другими исследователями [36]. N. Balme и соавт. [36] определили hsa-miR-1307-3p как лучшую miRNA из 1872 микроРНК с самым высоким сродством к геному SARS-CoV-2 и связанным с ним клеточными сигнальными путями. Результаты их исследования показали, что эта miRNA играет регуляторную роль в сигнальном пути PI3K/Act, а также участвует в эндоцитозе и предотвращении продукции корецептора вируса SARS-CoV-2, индуцируемой гипергликемией белка GRP78 (glucose regulating protein 78), экспрессия которого повышается в ответ на гипергликемию при диабете. Также hsa-miR-1307-3p участвует в предотвращении проникновения и пролиферации вируса, что создает потенциальные мишени для противовирусных вмешательств [36].

В настоящее время известны несколько вариантов белка Spike вируса SARS-CoV-2, появившиеся в результате мутаций. Неясно, могут ли эти варианты оказывать специфический эффект на сродство с рецептором ACE2, который, в свою очередь, характеризуется множеством аллелей в человеческой популяции. Среди 295 000 секвенированных геномов SARS-CoV-2, изолированных у разных пациентов, идентифицированы несколько мутаций белка Spike, влияющих на взаимодействие с ACE2: S477N, N439K, N501Y, Y453F, E484K, K417N, S477I и G476S. В частности, мутация N501Y является одним из событий, характеризующих штамм SARS-CoV-2 B.1.1.7 с повышенной инфективностью, частота которого в последнее время возросла в Европе [37].

Описан случай хронической инфекции SARS-CoV-2 с пониженной чувствительностью к нейтрализующим антителам у индивида с подавленным иммунитетом, получавшего лечение реконвалесцентной плазмой, которое генерирует изменения последовательности вирусного генома. Анализ охватил 23 временные точки в течение 101 дня. Небольшие изменения наблюдались в общей структуре вирусной популяции после двух курсов ремдесивира в течение первых 57 дней. Однако после лечения плазмой обнаружены большие динамические изменения популяции вируса с появлением доминирующего вирусного штамма, несущего мутации D796H в субъединице S2 и ΔH69/ΔV70 в субъединице S1 белка Spike. Мутация D796H оказалась основным фактором снижения чувствительности вируса к антителам плазмы, но вызвала дефект инфекционности. Вторая мутация — делеция ΔH69/

ΔV70 — увеличила инфекционность вдвое по сравнению с диким типом и компенсировала снижение инфекционности, возникшее в результате первой мутации D796H. Двойной мутант Spike escape, несущий делецию ΔH69/ΔV70 и замену D796H, обладал умеренно сниженной чувствительностью к антителам реконвалесцентной плазмы *in vitro*, сохраняя при этом инфекционность, аналогичную дикому типу. Эти данные свидетельствуют о сильном отборе SARS-CoV-2 во время терапии реконвалесцентной плазмой, связанным с появлением вирусных вариантов с пониженной чувствительностью к нейтрализующим антителам [38].

Штамм SARS-CoV-2 с 382-нуклеотидной делецией (Δ382) в гене *ORF8* появился в Ухане в начале пандемии. Делеция Δ382 усекает открытую рамку считывания и прерывает транскрипцию. Вариант Δ382 вызывает клинически значимое заболевание, включая пневмонию, но с более легким течением, по сравнению с инфекциями, вызванными вирусом дикого типа. Ни у одного (0%) из 29 пациентов, инфицированных этим вариантом, не было гипоксии, требующей дополнительного кислорода (индикатор тяжелой формы COVID-19, основная конечная точка исследования), в отличие от пациентов, инфицированных вирусом SARS-CoV-2 дикого типа (28%). Клинический эффект делеций в области *ORF8* проявляется меньшим системным высвобождением провоспалительных цитокинов, меньшим системным воспалением и более эффективным иммунным ответом на SARS-CoV-2. Более сильная продукция IFN-γ на ранней стадии инфекции, которая наблюдалась у пациентов, инфицированных вариантом Δ382, поддерживает эффекторные функции Т-клеток и быстрый и эффективный гуморальный ответ на SARS-CoV-2 [39].

Высокая трансмиссивность коронавируса SARS-CoV-2 воздушно-капельным и контактным путями привела к пандемии COVID-19, которая продолжает распространяться по всему миру, несмотря на строгие меры контроля. Более того, после ослабления политики социального дистанцирования во многих регионах наблюдается возобновление заболеваемости COVID-19. Один из ключевых вопросов COVID-19 — происходит ли реальное повторное заражение? Хотя нейтрализующие антитела быстро развиваются после инфицирования, титры антител начинают снижаться уже через 1–2 мес после острой инфекции. Пациенты, получившие отрицательный результат теста на РНК SARS-CoV-2 и выписанные из больниц, иногда имеют положи-

тельные результаты повторного тестирования. Эти зарегистрированные случаи вызвали разногласия между специалистами по поводу гипотез о стойком выделении вируса и повторном заражении.

Изучение вирусного генома, в частности секвенирование его последовательности, полезно не только для отслеживания его изменчивости и распространения, но и выяснения вопроса о возможности повторного заражения. Первое сообщение о случае реинфекции опубликовано в августе 2020 г. в Гонконге: 33-летний мужчина, который выздоровел от COVID-19 в апреле и был выписан из больницы после двух отрицательных ПЦР-тестов на присутствие SARS-CoV-2 в мазках, взятых из носоглотки и горла с интервалом 24 ч, через 4 мес дал положительный результат теста на РНК SARS-CoV-2 в слюне. Во время второго (бессимптомного) эпизода COVID-19 пациент оставался в хорошей физической форме, результаты анализа крови были нормальными или почти нормальными. На серийных рентгенограммах грудной клетки отклонений не выявлено. Пациенту не проводилось противовирусное лечение. Вирусные геномы из первого и второго эпизодов принадлежат разным штаммам SARS-CoV-2. Первый вирусный геном имеет стоп-кодон в гене *ORF8*, приводящий к усечению 58 аминокислот, и филогенетически связан со штаммами, собранными в марте/апреле 2020 г., в то время как геном второго вируса — со штаммами, собранными в июле/августе 2020 г. Еще 23 нуклеотидных и 13 аминокислотных различий, расположенных в 9 различных белках, обнаружены между вирусами из первого и второго эпизодов. Эпидемиологический, клинический, серологический и геномный анализы подтвердили, что у пациента была повторная инфекция, а не персистенция вируса после первой инфекции. Эти данные показывают, что SARS-CoV-2 может продолжать циркулировать среди людей, несмотря на коллективный иммунитет, возникший в результате естественной инфекции или вакцинации [40]. Позднее возможность реинфекции подтвердили другие сообщения.

Так, 25-летний мужчина, проживавший в США, был инфицирован SARS-CoV-2 дважды — в апреле и июне 2020 г. Вторая инфекция была симптоматически тяжелее первой. Генетическое несоответствие образцов SARS-CoV-2 в двух эпизодах инфекции было больше, чем можно объяснить краткосрочной эволюцией *in vivo* в организме пациента. Эти данные свидетельствуют о том, что пациент был инфицирован SARS-CoV-2 в двух разных

случаях генетически различными штаммами вируса. Таким образом, предыдущее воздействие SARS-CoV-2 не гарантирует появление иммунитета против его новых штаммов [41].

В сообщении из Бразилии описана целая серия (33 случая) реинфекций, из них 30 заболевших были медработниками. Секвенирование вирусного генома выявило повторное инфицирование филогенетически другим изолятом у каждого из этих пациентов. Реинфекция была связана со сниженным гуморальным ответом во время первого эпизода заболевания и доказывает необходимость постоянной бдительности без предположения о развитии иммунитета у реконвалесцентов [42].

Все авторы сообщений о случаях реинфекции настаивают на том, что выздоровевшие от COVID-19 пациенты должны соблюдать меры эпидемиологического контроля.

Коронавирусы приобретают генетические изменения медленнее, чем другие РНК-вирусы, благодаря корректирующей РНК-зависимой РНК-полимеразе (RdRp). Повторяющиеся делеции в гене S-белка, изменяющие участки аминокислот, могут стимулировать и, по-видимому, ускоряют адаптационную эволюцию SARS-CoV-2. Варианты делеции возникают на различном генетическом и географическом фоне, эффективно передаются и присутствуют в новых штаммах, включая те, которые вызывают текущую глобальную проблему. Участки генома с повторяющимися делециями (recurrent deletion regions, RDR) картируются с определенными эпитопами антител. Делеции в RDR придают устойчивость к нейтрализующим антителам. Например, повторяющиеся делеции, которые изменяют аминокислоты в позициях 144/145 и 243-244 S-белка, нарушают связывание антитела 4A8, которое определяет иммунодоминантный эпитоп в аминотерминальном домене (N-terminal domain, NTD) S-белка. Антигенное обновление вируса позволяет повторно инфицировать ранее иммунизированных индивидов. Во время длительных инфекций у пациентов с ослабленным иммунитетом вирус приобретает делеции в NTD S-белка. Этот процесс получил название «эволюционный паттерн», определяемый делециями, которые изменяют определенные эпитопы. Делеции и замены в основных эпитопах NTD и RBD, вероятно, будут продолжать вносить вклад в этот процесс. В отличие от нуклеотидных замен, делеции не могут быть исправлены путем корректуры RdRp-полимеразой, и это ускоряет адаптационную эволюцию SARS-CoV-2. Таким образом, де-

лелии представляют собой механизм, посредством которого происходит быстрое генетическое и антигенное обновление S-белка вируса SARS-CoV-2. Поскольку делеции являются продуктом репликации, они будут происходить с определенной скоростью, и, вероятно, эти варианты появятся в здоровых популяциях [43].

Антигены HLA класса I играют решающую роль в развитии специфического иммунного ответа на вирусные инфекции. М. Shkurnikov и соавт. [44] разработали шкалу риска, связанную со способностью молекул HLA класса I представлять пептиды коронавируса SARS-CoV-2. Показатели этой шкалы значительно выше в группе взрослых пациентов, умерших от COVID-19, по сравнению с пожилыми пациентами ($p=0,003$). В частности, наличие аллеля HLA-A*01:01 связано с высоким риском летального исхода, тогда как HLA-A*02:01 и HLA-A*03:01 — с низким. Анализ гомозиготных пациентов показал, что гомозиготность по аллелю HLA-A*01:01 ассоциирована с ранней смертью больных COVID-19. Оценка по шкале риска в независимой когорте испанских пациентов также была связана с тяжестью заболевания. Полученные результаты свидетельствуют о важной роли презентации вирусных пептидов молекулами HLA класса I в развитии специфического иммунного ответа на COVID-19. Этот вывод согласуется с данными итальянских исследователей о том, что встречаемость аллелей HLA-A*01:01 и HLA-A*02:01 ассоциирована с уровнем смертности в разных регионах Италии [45]. Для выявления возможных ассоциаций с клинической информацией необходимо провести анализ всего генотипа HLA класса I.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В этом обзоре мы стремились осветить имеющуюся информацию о генетических детерминантах восприимчивости к инфекции SARS-CoV-2 и тяжести течения COVID-19. Разработка новых лекарств для лечения этого заболевания требует знания молекулярных путей его развития и критически важных молекул-мишеней. Блокирование путей проникновения вируса, включая рецепторы и ферменты, и контроль иммунных ответов — перспективные стратегии для уменьшения полиорганной дисфункции.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным кри-

териям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard [Internet]. Available from: <https://covid19.who.int/>
2. Ahmadian E, Khatibi SM, Soofiyan SR, et al. COVID-19 and kidney injury: pathophysiology and molecular mechanisms. *Rev Med Virol.* 2020;e2176. doi: 10.1002/rmv.2176
3. Sakurai A, Sasaki T, Kato S, et al. Natural history of asymptomatic SARS-CoV-2 infection. *N Engl J Med.* 2020;383(3):885–886. doi: 10.1056/NEJMc2013020
4. Clohisey S, Baillie JK. Host susceptibility to severe influenza A virus infection. *Crit Care.* 2019;23(1):303. doi: 10.1186/s13054-019-2566-7
5. Zhang Q, Bastard P, Liu Z, et al. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. *Science.* 2020;370(6515):eabd4570. doi: 10.1126/science.abd4570
6. Kaser A. Genetic risk of severe Covid-19. *N Engl J Med.* 2020;383(16):1590–1591. doi: 10.1056/NEJMe2025501
7. Ellinghaus D, Degenhardt F, Bujanda L, et al; Severe COVID-19 GWAS Group. Genomewide association study of severe COVID-19 with respiratory failure. *N Engl J Med.* 2020;383(16):1522–1534. doi: 10.1056/NEJMoa2020283
8. Pairo-Castineira E, Clohisey S, Klaric L, et al. Genetic mechanisms of critical illness in Covid-19. *Nature.* 2021;591(7848):92–98. doi: 10.1038/s41586-020-03065-y
9. Zhou S, Butler-Laporte G, Nakanishi T, et al. A Neanderthal OAS1 isoform protects against COVID-19 susceptibility and severity: results from mendelian randomization and case-control studies. *medRxiv.* 2020. doi: 10.1101/2020.10.13.20212092
10. Zeberg H, Pääbo S. The major genetic risk factor for severe COVID-19 is inherited from Neanderthals. *Nature.* 2020b;587(7835):610–612. doi: 10.1038/s41586-020-2818-3
11. Zeberg H, Pääbo S. A genomic region associated with protection against severe COVID-19 is inherited from Neanderthals. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2021;118(9):e2026309118. doi: 10.1073/pnas.2026309118
12. WHO Solidarity Trial Consortium; Pan H, Peto R, Henao-Restre AM, et al. Repurposed antiviral drugs for Covid-19 – Interim WHO Solidarity Trial Results. *N Engl J Med.* 2021;384(6):497–511. doi: 10.1056/NEJMoa2023184
13. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet.* 2020;395(10234):1417–1418. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5
14. Zhang C, Shi L, Wang FS. Liver injury in COVID-19: management and challenges. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020a;5(5):428–430. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30057-1
15. Zhou Z, Ren L, Zhang L, et al. Heightened innate immune responses in the respiratory tract of COVID-19 patients. *Cell Host Microbe.* 2020;27(6):883–890.e2. doi: 10.1016/j.chom.2020.04.017
16. Hamming I, Timens WM, Bulthuis LC, et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol.* 2004;203(2):631–637. doi: 10.1002/path.1570
17. Jia H, Thelwell C, Dilger P, et al. Endothelial cell functions impaired by interferon in vitro: Insights into the molecular mechanism of thrombotic microangiopathy associated with interferon therapy. *Thromb Res.* 2018;163:105–116. doi: 10.1016/j.thromres.2018.01.039
18. Stebbing J, Sánchez Nieves G, Falcone M, et al. JAK inhibition reduces SARS-CoV-2 liver infectivity and modulates inflammatory responses to reduce morbidity and mortality. *Sci Adv.* 2021;7(1):eabe4724. doi: 10.1126/sciadv.abe4724
19. Kuo CL, Pilling LC, Atkins JL, et al. APOE ε4 Genotype Predicts Severe COVID-19 in the UK Biobank Community Cohort. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2020;75(11):2231–2232. doi: 10.1093/gerona/glaa131
20. Gemmati D, Bramanti B, Serino ML, et al. COVID-19 and individual genetic susceptibility/receptivity: role of ACE1/ACE2 genes, immunity, inflammation and coagulation. Might the double X-chromosome in females be protective against SARS-CoV-2 compared to the single X-chromosome in males? *Int J Mol Sci.* 2020;21(10):3474. doi: 10.3390/ijms21103474
21. Li Y, Zhang Z, Yang L, et al. The MERS-CoV Receptor DPP4 as a Candidate Binding Target of the SARS-CoV-2 Spike. *Science.* 2020b;23(8):101400. doi: 10.1016/j.isci.2020.101400
22. Lim S, Bae JH, Kwon HS, Nauck MA. COVID-19 and diabetes mellitus: from pathophysiology to clinical management. *Nat Rev Endocrinol.* 2021;17(1):11–30. doi: 10.1038/s41574-020-00435-4
23. Zeberg H, Pääbo S. The MERS-CoV receptor gene is among COVID-19 risk factors inherited from Neanderthals. *bioRxiv.* 2020c. doi: 10.1101/2020.12.11.422139
24. Long SW, Olsen RJ, Christensen PA, et al. Molecular architecture of early dissemination and massive second wave of the SARS-CoV-2 virus in a major metropolitan area. *mBio.* 2020;11(6):e02707-20. doi: 10.1128/mBio.02707-20
25. Plante JA, Liu Y, Liu J, et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness and neutralization susceptibility. *bioRxiv.* 2020;2020.09.01.278689. doi: 10.1101/2020.09.01.278689
26. Shannon A, Le NT, Selisko B, et al. Remdesivir and SARS-CoV-2: structural requirements at both nsp12 RdRp and nsp14 exonuclease active-sites. *Antiviral Res.* 2020;178:104793. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104793
27. Gordon CJ, Tchesnokov EP, Woolner E, et al. Remdesivir is a direct-acting antiviral that inhibits RNA-dependent RNA polymerase from severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 with high potency. *J Biol Chem.* 2020;295(20):6785–6797. doi: 10.1074/jbc.RA120.013679
28. Chan AP, Choi Y, Schork NJ. Conserved genomic terminals of SARS-CoV-2 as coevolving functional elements and potential therapeutic targets. *mSphere.* 2020;5(6):e00754-20. doi: 10.1128/mSphere.00754-20
29. Mishra A, Pandey AK, Gupta P, et al. Mutation landscape of SARS-CoV-2 reveals three mutually exclusive clusters of leading and trailing single nucleotide substitutions. *bioRxiv.* 2020. doi: 10.1101/2020.05.07.082768
30. Meini S, Zanichelli A, Sbrojavacca R, et al. Understanding the pathophysiology of COVID-19: could the contact system be the key? *Front Immunol.* 2020;11:2014. doi: 10.3389/fimmu.2020.02014

31. Girardi E, López P, Pfeffer S. On the importance of host microRNAs during viral infection. *Front Genet.* 2018;9:439. doi: 10.3389/fgene.2018.00439
32. Khan MA, Sany MR, Islam MS, Islam A. Epigenetic regulator miRNA pattern differences among SARS-CoV, SARS-CoV-2, and SARS-CoV-2 world-wide isolates delineated the mystery behind the epic pathogenicity and distinct clinical characteristics of pandemic COVID-19. *Front Genet.* 2020;11:765. doi: 10.3389/fgene.2020.00765
33. Bavagnoli L, Campanini G, Forte M, et al. Identification of a novel antiviral micro-RNA targeting the NS1 protein of the H1N1 pandemic human influenza virus and a corresponding viral escape mutation. *Antiviral Res.* 2019;171:104593. doi: 10.1016/j.antiviral.2019.104593
34. Herrera-Rivero M, Zhang R, Heilmann-Heimbach S, et al. Circulating microRNAs are associated with pulmonary hypertension and development of chronic lung disease in congenital diaphragmatic hernia. *Sci Rep.* 2018;8(1):10735. doi: 10.1038/s41598-018-29153-8
35. Qiu X, Dou Y. miR-1307 promotes the proliferation of prostate cancer by targeting FOXO3A. *Biomed Pharmacother.* 2017;88:430–435. doi: 10.1016/j.biopha.2016.11.120
36. Balmeh N, Mahmoudi S, Mohammadi N, Karabedianhajjabad A. Predicted therapeutic targets for COVID-19 disease by inhibiting SARS-CoV-2 and its related receptors. *Inform Med Unlocked.* 2020;20:100407. doi: 10.1016/j.imu.2020.100407
37. Ortuso F, Mercatelli D, Guzzi PH, Giorgi F. Structural genetics of circulating variants affecting the SARS-CoV-2 spike/human ACE2 complex. *J Biomol Struct Dyn.* 2021;1–11. doi: 10.1080/07391102.2021.1886175
38. Kemp SA, Collier DA, Datir RP, et al. SARS-CoV-2 evolution during treatment of chronic infection. *Nature.* 2021. doi: 10.1038/s41586-021-03291-y
39. Young BE, Fong SW, Chan YH, et al. Effects of a major deletion in the SARS-CoV-2 genome on the severity of infection and the inflammatory response: an observational cohort study. *Lancet.* 2020;396(10251):603–611. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31757-8
40. To KK, Hung IF, Ip JD, et al. COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing. *Clin Infect Dis.* 2020:ciaa1275. doi: 10.1093/cid/ciaa1275
41. Tillett RL, Sevinsky JR, Hartley PD, et al. Genomic evidence for reinfection with SARS-CoV-2: a case study. *Lancet Infect Dis.* 2021;21(1):52–58. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30764-7
42. Dos Santos LA, de Góis Filho PG, Fantini Silva AM, et al. Recurrent COVID-19 including evidence of reinfection and enhanced severity in thirty Brazilian healthcare workers. *J Infect.* 2021;82(3):399–406. doi: 10.1016/j.jinf.2021.01.020
43. McCarthy KR, Rennick LJ, Nambulli S, et al. Recurrent deletions in the SARS-CoV-2 spike glycoprotein drive antibody escape. *Science.* 2021;371(6534):1139–1142. doi: 10.1126/science.abf6950
44. Shkurnikov M, Nersisyan S, Jankevicius T, et al. Association of HLA class I genotypes with severity of Coronavirus Disease-19. *Front Immunol.* 2021;12:641900. doi: 10.3389/fimmu.2021.641900
45. Pisanti S, Deelen J, Gallina AM, et al. Correlation of the two most frequent HLA haplotypes in the Italian population to the differential regional incidence of Covid-19. *J Transl Med.* 2020;18(1):352. doi: 10.1186/s12967-020-02515-5

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Голота Александр Сергеевич, к.м.н., доцент;
адрес: Российская Федерация, 197706,
Санкт-Петербург, г. Сестрорецк, ул. Борисова, д. 9, лит. Б;
e-mail: golotaa@yahoo.com; eLibrary SPIN: 7234-7870;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5632-3963>

Соавторы:

Вологжанин Дмитрий Александрович, д.м.н.;
e-mail: volog@bk.ru; eLibrary SPIN: 7922-7302;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1176-794X>

Камилова Татьяна Аскарровна, к.б.н.;
e-mail: kamilovaspb@mail.ru; eLibrary SPIN: 2922-4404;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6360-132X>

Шнейдер Ольга Вадимовна, к.м.н.;
e-mail: o.shneider@gb40.ru; eLibrary SPIN: 8405-1051;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8341-2454>

Щербак Сергей Григорьевич, д.м.н., профессор;
e-mail: b40@zdrav.spb.ru; eLibrary SPIN: 1537-9822;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5047-2792>

AUTHORS INFO

Aleksandr S. Golota, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor; address: 9B Borisova st., 197706, Saint Petersburg, Sestroretsk, Russia;
e-mail: golotaa@yahoo.com; eLibrary SPIN: 7234-7870;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5632-3963>

Dmitry A. Vologzhanin, Dr. Sci. (Med.);
e-mail: volog@bk.ru; eLibrary SPIN: 7922-7302;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1176-794X>

Tatyana A. Kamilova, Cand. Sci. (Biol.);
e-mail: kamilovaspb@mail.ru; eLibrary SPIN: 2922-4404;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6360-132X>

Olga V. Shneider, Cand. Sci. (Med.);
e-mail: o.shneider@gb40.ru; eLibrary SPIN: 8405-1051;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8341-2454>

Sergey G. Scherbak, Dr. Sci. (Med.), Professor;
e-mail: b40@zdrav.spb.ru; eLibrary SPIN: 1537-9822;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5047-2792>

ПРИМЕНЕНИЕ МСК ДЛЯ ТЕРАПИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КИШЕЧНИКА

© М.А. Коноплянников^{1,2}, О.В. Князев^{3,4}, В.П. Баклаушев¹

¹ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Российская Федерация

² Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

³ Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Российская Федерация

⁴ Национальный медицинский исследовательский центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих, Москва, Российская Федерация

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), прежде всего язвенный колит и болезнь Крона, относятся к группе заболеваний, характеризующихся идиопатическим воспалением органов желудочно-кишечного тракта. Клинически ВЗК проявляются болью в животе, хронической диареей, кишечными кровотечениями, анемией, астенизацией и значимым снижением качества жизни больного. Кроме того, у пациентов с ВЗК существенно возрастает риск развития рака толстой кишки, тромбозов и первичного склерозирующего холангита. Более 4 млн человек в США и Европе страдают от ВЗК, каждый год в США диагностируется 70 000 новых случаев заболевания. Применение традиционных методов терапии ВЗК позволяет достичь стойкой ремиссии в 20–30%, при комбинированной терапии — в 50% случаев. Для терапии тяжелых форм ВЗК иногда требуется хирургическое удаление поврежденных участков желудочно-кишечного тракта. Одним из перспективных направлений в лечении ВЗК является регенеративная терапия биомедицинскими клеточными продуктами. В данном обзоре мы сфокусировали внимание на применении мезенхимальных стромальных клеток (МСК) при ВЗК. Проанализированы доступные в международных базах данных публикации по результатам доклинических и клинических исследований МСК, включая данные метаанализа, а также представленные в базе *Clinicaltrials.gov* 14 действующих клинических испытаний терапии ВЗК с помощью МСК. Проведенный анализ показал, что регенеративная терапия ВЗК с помощью МСК (как аутологичных, так и аллогенных) может быть эффективной альтернативой медикаментозным и хирургическим методам лечения.

Ключевые слова: клинические испытания; воспалительные заболевания кишечника; язвенный колит; болезнь Крона; клеточная терапия; мезенхимальные стромальные клетки; регенеративная медицина.

Для цитирования: Коноплянников М.А., Князев О.В., Баклаушев В.П. Применение МСК для терапии воспалительных заболеваний кишечника. *Клиническая практика*. 2021;12(1):53–65. doi: 10.17816/clinpract64530

Поступила 15.02.2021

Принята 25.02.2021

Опубликована 01.04.2021

ОБОСНОВАНИЕ

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) — это группа хронических воспалительных состояний желудочно-кишечного тракта, характеризующихся усиленным иммунным ответом слизистой оболочки. К наиболее значимым ВЗК относят болезнь Крона и язвенный колит, общим признаком которых является хроническое воспаление и структурное повреждение желудочно-кишечного тракта. Болезнь Крона может поражать любую

часть желудочно-кишечного тракта — от ротовой полости до анального сфинктера; чаще всего страдают дистальные отделы тонкой кишки (подвздошная кишка) в области илеоцекального перехода. Иногда отмечается выборочное поражение отделов желудочно-кишечного тракта, в других случаях патологический процесс распространяется на всю толщину стенки кишечника [1].

При язвенном колите повреждаются только толстая и прямая кишка. Воспаление возникает

в самом внутреннем слое слизистой оболочки кишечника, обычно в прямой и нижних отделах толстой кишки, но может также прогредиентно распространяться и поражать всю толстую кишку. Общими симптомами для всех ВЗК являются хроническая диарея, боль в животе, ректальные кровотечения, потеря веса, астенизация, снижение качества жизни. В некоторых редких случаях диагноз болезни Крона и неспецифического язвенного колита трудно дифференцировать, и тогда ставится диагноз неуточненного колита [2]. Этиология ВЗК до конца не известна: предполагают, что они являются результатом патологии иммунной системы. Считается, что при ВЗК иммунная система неадекватно реагирует на триггеры окружающей среды, что вызывает воспаление желудочно-кишечного тракта. Такая ненормальная реакция иммунной системы возникает, предположительно, у людей с соответствующим семейным анамнезом, унаследовавших определенные аллели HLA и других генов, определяющих предрасположенность к ВЗК [3].

Более 4 млн человек в США и Европе страдают ВЗК, в то время как в целом распространенность заболевания превышает 0,5% среди населения развитых стран мира. Каждый год в Соединенных Штатах диагностируется 70 000 новых случаев ВЗК, что утяжеляет в целом годовое финансовое бремя страны более чем на 31 млрд долларов [4, 5]. Большинству пациентов эти хронические пожизненные заболевания диагностируют в возрасте до 35 лет, что существенно влияет на качество жизни и финансовые затраты пациентов. Кроме того, больные ВЗК подвержены риску развития ряда тяжелых заболеваний, таких как рак толстой кишки, венозные тромбозы и первичный склерозирующий холангит [4, 5].

В некоторых случаях для терапии тяжелых форм ВЗК требуется хирургическое удаление поврежденных участков желудочно-кишечного тракта, однако в последние десятилетия применяется преимущественно лекарственная терапия с помощью пяти основных групп препаратов [4] — аминосалицилатов, кортикостероидов, иммуноде-

MSC THERAPY FOR INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

© M.A. Konoplyannikov^{1,2}, O.V. Knyazev^{3,4}, V.P. Baklaushev¹

¹ Federal Research and Clinical Center of Specialized Medical Care and Medical Technologies FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

³ Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russian Federation

⁴ State Scientific Centre of Coloproctology, Moscow, Russian Federation

Inflammatory bowel disease (IBD) belongs to the group of diseases characterized by idiopathic inflammation of the digestive tract organs. Two basic IBD types are distinguished: ulcerative colitis and Crohn's disease. The IBD symptoms including vomiting and diarrhea, abdominal pain, rectal bleeding, anemia have a significant negative impact on the general patient's state of health. Besides, IBD patients are susceptible to the risk of a number of serious diseases such as colorectal cancer, thrombosis and primary sclerosing cholangitis. More than 4 million people in the USA and Europe suffer from IBD, with 70000 new cases diagnosed yearly in the USA only.

In some cases, a surgical removal of the damaged digestive tract fragments is required to treat severe IBD forms. However, drug therapy of IBD has mainly been used in the last decades. The rate of remission with application of traditional IBD therapy is estimated as 20-30%, and is still no higher than 50% with the combined therapy. Cell therapy has been proven to be a very promising approach in the IBD treatment. In our review, we discuss mesenchymal stromal cells (MSC) and the most important preclinical and clinical results of their application for the IBD therapy.

Keywords: clinical trials; inflammatory bowel disease; ulcerative colitis; Crohn's disease; cell therapy; mesenchymal stromal cells; regenerative medicine.

For citation: Konoplyannikov MA, Knyazev OV, Baklaushev VP. MSC Therapy for Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Clinical Practice*. 2021;12(1):53–65. doi: 10.17816/clinpract64530

Submitted 15.02.2021

Revised 25.02.2021

Published 01.04.2021

прессантов, антибиотиков и ингибиторов фактора некроза опухолей.

Аминосалицилаты, такие как сульфасалазин, бальсалазид, месаламин и олсалазин, применяемые перорально или ректально, уменьшают воспаление стенки кишечника и используются в первую очередь для лечения неспецифического язвенного колита, но при этом не столь эффективны при лечении болезни Крона.

Кортикостероиды, такие как преднизолон и будесонид, уменьшают проявления иммунного воспаления, но эффективны лишь при краткосрочном применении во время обострений. Хроническое применение кортикостероидов чревато побочными эффектами, связанными с иммуносупрессией, развитием ожирения по стероидному типу, нарушением сна и другими осложнениями.

Иммунодепрессанты, такие как азатиоприн, 6-меркаптопурин (6-МП) и метотрексат, влияют на активность иммунной системы, токсичны и обычно используются для поддержания ремиссии пациентов, не отвечающих на другие препараты, или отвечающих только на стероиды.

Антибиотики, в частности цiproфлоксацин и метронидазол, приносят умеренную пользу при лечении пациентов с болезнью Крона, поражающей толстую кишку или область вокруг заднего прохода. Препараты используют при возникновении параректальных абсцессов и свищей.

Наиболее современной группой препаратов для терапии ВЗК являются ингибиторы фактора некроза опухолей альфа (tumor necrosis factor alpha, TNF-α), включающие адалимумаб, цертолизумаб пегол, голимумаб и инфликсимаб и др. Эти препараты обладают выраженным противовоспалительным действием, используются для терапии пациентов, страдающих ВЗК в тяжелой форме, при отсутствии достаточного эффекта от стандартного лечения, но, к сожалению, их применение также не всегда эффективно. В частности, опыт длительного применения инфликсимаба показал, что до 1/3 больных не отвечают на антицитокиновую терапию по причине первичной резистентности к нему или вследствие развития вторичной резистентности [6]. Кроме того, иногда могут возникать тяжелые осложнения, включая бактериальные, вирусные и грибковые инфекции, повышенный риск развития лимфомы, колоректального рака и других онкологических заболеваний.

Терапия воспалительных заболеваний кишечника с использованием мезенхимальных стромальных клеток

Ремиссия при применении традиционных методов терапии ВЗК составляет, по некоторым оценкам, 20–30%, максимум 50% при комбинированной терапии [7]. Весьма перспективным направлением в лечении ВЗК является использование клеточной терапии с помощью мезенхимальных стромальных клеток (МСК).

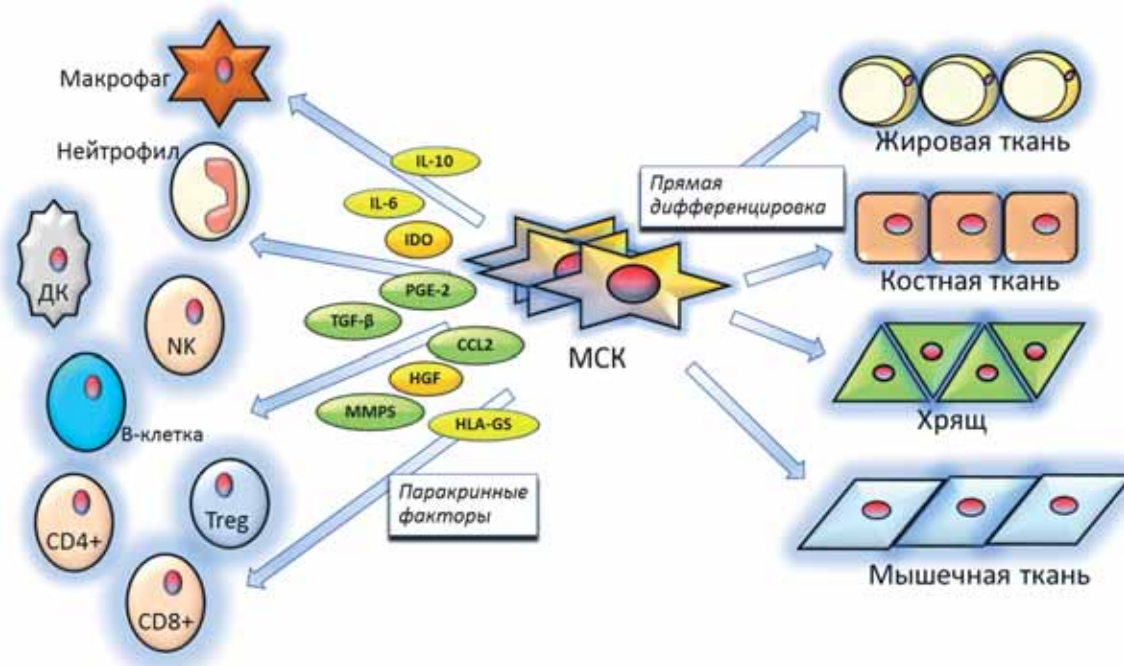
Свойства и механизмы действия МСК

МСК — мультипотентные стромальные клетки, которые могут быть выделены из костного мозга, жировой ткани, пульпы зуба, скелетных мышц и т.д. [8–11]. МСК экспрессируют молекулы комплекса гистосовместимости (major histocompatibility complex, МНС) класса I на низком уровне и не экспрессируют МНС класса II, следовательно, могут использоваться для аллогенной трансплантации [12]. МСК экспрессируют маркеры CD73, CD90, и CD105, но не экспрессируют гемопоэтические маркеры CD34 и CD45, а также эндотелиальный маркер CD31 [13], и могут дифференцироваться в адипоциты, остеобласты, хондроциты, миобласты и нейральные прогениторные клетки [14, 15].

Первый механизм действия МСК, описанный для аутологичных клеточных препаратов, заключается в их способности к миграции в патологический очаг и дифференцировке с образованием фибробластов, перицитов, остео- и миобластов и восполнению, таким образом, поврежденных клеток и тканей организма (кожа, хрящи, кости, мышцы и т.д.) [14, 16]. Вторым механизмом действия МСК, характерным как для аутологичных, так и для аллогенных трансплантированных клеток, заключается в их паракринной активности. Мигрируя в места повреждения и воспаления, МСК секретируют большое количество цитокинов (в основном противовоспалительных) и ростовых факторов (VEGF, FGF, IGF, PDGF и др.) и таким образом способствуют уменьшению воспаления, активизации собственных механизмов регенерации и восстановлению поврежденных тканей (рис. 1) [17]. МСК обладают иммуномодулирующим и противовоспалительным действием, подавляя пролиферацию и дифференцировку Т-клеток (как CD4+, так и CD8+ лимфоцитов), снижая активность NK и активируя Т-регуляторные клетки. МСК снижают секрецию провоспалительных (IL-1β, IL-6, TNF-α, IFN-γ) и увеличивают секрецию

Рис. 1. Общие эффекты МСК, сгруппированные по двум основным механизмам: прямая клеточная дифференцировка рекрутированных МСК (в клетки жировой, костной, хрящевой и мышечной ткани) для замены поврежденных клеток и индукция цитокинов, секретируемых МСК в воспалительную среду, влияющих на иммунную систему организма реципиента (IL-6 — интерлейкин-6; PGE2 — простагландин E2; TGF- β — β -трансформирующий фактор роста; IDO — индоламин-2,3-диоксигеназа; CCL-2 — C-C-хемокиновый лиганд 2; IL-10 — интерлейкин-10; HGF — фактор роста гепатоцитов; MMP — матричные металлопротеиназы; HLA-G — человеческий лейкоцитарный антиген-G). Адаптировано из [7].

Fig. 1. General MSC's effects grouped by the two fundamental mechanisms: 1) direct cell differentiation of recruited MSC (into cells of adipose, bone, cartilage and muscle tissues) to replace damaged cells and 2) induction of cytokines secreted by MSC into the inflammatory medium, affecting the recipient's immune system (IL-6: interleukin-6; PGE2: prostaglandin E2; TGF- β : β -transforming growth factor; IDO: indoleamine-2,3-dioxygenase; CCL-2: C-C-chemokine ligand 2; IL-10: interleukin -10; HGF: hepatocyte growth factor; MMP: matrix metalloproteinases; HLA-G: human leukocyte antigen-G). Adapted from [7].



противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 [18], что приводит к уменьшению иммунного воспаления, активации ангиогенеза, ингибированию апоптоза и уменьшению степени окислительного стресса [19].

Доклинические исследования

Т. Yabana и соавт. [20] продемонстрировали на крысах с моделированным колитом, вызванным декстраном сульфата натрия (dextran sodium sulfate, DSS), что МСК, введенные животным внутривенно, мигрировали в собственную пластинку (lamina propria) поврежденной толстой кишки, где они активировали экспрессию гладкомышечного актина (α -SMA), что способствовало восстановлению эпителия. Было также показано, что МСК участвовали в поддержании функции эпителиального барьера путем активации сборки клаудинов, апикальных белков плотных щелевых контактов.

В патогенезе ВЗК важнейшую роль играют, по-видимому, усиленная пролиферация и дефектный апоптоз иммунных клеток, что, предположительно, связано с дисбалансом Bcl-2 и Bax — ключевых белков, влияющих на апоптоз [21].

Среди патогенетических механизмов развития ВЗК выделяют дисбаланс в субпопуляциях Т-клеток. В итоге повышается уровень провоспалительных цитокинов: при болезни Крона из-за дифференцировки Th1- и Th17-клеток, при язвенном колите из-за дифференцировки Th2-клеток. Наоборот, уровень Т-регуляторных (Treg) клеток снижен в периферической крови пациентов с ВЗК [23]. Среди Treg-клеток ключевую роль в подавлении иммунной системы и поддержании толерантности играют CD4+CD25+FoxP3+ клетки [22]. К. Akiyama и соавт. [22] показали, что системная инфузия МСК из костного мозга (КМ-МСК) индуцирует апоптоз Т-клеток через Fas-лиганд-

зависимый путь (FasL) и может улучшить течение заболевания при экспериментальном колите мышей, индуцированном DSS. Было показано, что Fas-регулируемая секреция КМ-МСК белка MCP-1 рекрутирует Т-клетки для FasL-опосредованного апоптоза. Апоптоз Т-клеток приводит в свою очередь к индукции макрофагов, продуцирующих высокий уровень β -трансформирующего фактора роста бета (transforming growth factor beta, TGF- β), что сопровождается увеличением количества Т-регуляторных клеток и, в конечном итоге, способствует уменьшению степени иммунного воспаления. Q. Chen и соавт. [24] продемонстрировали, что внутривенное введение МСК сильно облегчает клиническую тяжесть язвенного колита мышей (потерю массы тела, диарею и воспаление), индуцированного тринитробензолсульфоновой кислотой (TNBS), и улучшает выживаемость животных. Показано также, что МСК достигали поврежденной толстой кишки и способствовали пролиферации эпителиальных клеток кишечника и дифференцировке стволовых клеток кишечника (определяемых путем обнаружения Lgr5+-клеток), что было опосредовано подавлением аутоиммунных и воспалительных реакций (IL-2, TNF- α , IFN- γ , T-bet; IL-6, IL-17, ROR γ t), обусловленных Th1-Th17-клетками, а также повышением активности Th2-клеток (IL-4, IL-10, GATA-3). Кроме того, было показано, что МСК индуцировали активированные CD4+CD25+Foxp3+ Т-регуляторные клетки (TGF- β , IL-10, Foxp3).

Макрофаги, дендритные клетки и другие антигенпрезентирующие клетки также вовлечены в патогенез ВЗК из-за их специализации в представлении антигена Т-клеткам и, в свою очередь, формировании генерируемого Т-клеточного ответа. Тканевые макрофаги играют ключевую роль в поддержании нормального гомеостаза кишечника, но могут участвовать и в патогенезе ВЗК. В здоровом кишечнике резидентные макрофаги проявляют фенотип M2, в то время как в воспаленной слизистой оболочке кишечника доминируют провоспалительные макрофаги M1. В связи с этим изменение баланса популяций макрофагов до фенотипа M2 стало новым подходом при терапии ВЗК. Многочисленные доклинические исследования показали, что МСК могут индуцировать иммуномодулирующие макрофаги, и их терапевтическая эффективность при экспериментальном язвенном колите опосредуется макрофагами с M2-подобным фенотипом [25].

Н. Jo и соавт. [26] культивировали незрелые дендритные клетки (imDC) и обработанные липополисахаридом (LPS) зрелые дендритные клетки (mDC) совместно с МСК в течение 48 ч, а затем анализировали профили поверхностных маркеров и цитокинов и регуляторную роль этих DC для первичных спленоцитов. Кроме того, терапевтические эффекты МСК и DC, совместно культивируемых с МСК, сравнивали у мышей с хроническим колитом. Авторы продемонстрировали, что после совместного культивирования МСК с незрелыми дендритными клетками (MSC-DC) или LPS-обработанными зрелыми дендритными клетками (LPS + MSC-DC) экспрессия CD11c, CD80, CD86, IL-6, TNF- α и IFN- γ была снижена, а экспрессия CD11b, IL-10 и TGF- β — повышена. Кроме того, MSC-DC и LPS + MSC-DC индуцировали экспрессию CD4, CD25 и Foxp3 в первичных спленоцитах, выделенных от мышей. У мышей с DSS-индуцированным колитом MSC и MSC-DC увеличивали длину толстой кишки, массу тела и выживаемость; вызывали восстановление нормальной морфологии, регистрируемое при гистологическом исследовании стенок кишечника. Более того, в MSC и MSC-DC группах, в тканях толстой кишки, экспрессия IL-6, TNF- α и IFN- γ также снижалась, а экспрессия IL-10, TGF- β и Foxp3 увеличивалась. Эти данные позволяют предположить, что МСК стимулируют дифференцировку дендритных клеток в регуляторные дендритные клетки, что улучшает эффективность терапии хронического колита.

Было показано также, что введение МСК может подавлять активацию и пролиферацию В-клеток, секретирующих IgG, и, наоборот, стимулировать образование CD5+ регуляторных В-клеток (Bregs), продуцирующих IL-10. Кроме того, было показано, что МСК могут подавлять пролиферацию НК-клеток, секретирующих провоспалительные цитокины [27].

Экзосомы из МСК

для экспериментальной терапии ВЗК

Экзосомы — внеклеточные везикулы, секретируемые МСК, содержат большое количество биологически активных факторов. Экзосомы играют важную роль в межклеточных коммуникациях, передавая от клетки к клетке микроРНК, регуляторные и функциональные белки и пептиды, липиды, гликопротеины, мРНК, внутриклеточные мессенджеры и др. [28]. Таким образом, экзосомы из МСК, аналогично самим МСК, обладают мощны-

ми физиологическими свойствами, влияющими на восстановление поврежденных тканей [29]. При этом экзосомы более стабильны, чем МСК, и более безопасны, т.к. принципиально не могут вызывать иммунного ответа организма-хозяина и провоцировать какие-либо еще реакции организма, которые потенциально возможны в ответ на введение клеточного препарата.

Ранее рядом исследователей было продемонстрировано, что экзосомы, секретируемые МСК, обладают выраженным восстанавливающим эффектом при терапии многих заболеваний, вызывающих повреждение тканей, включая ВЗК [30–32]. Так, Ф. Мао и соавт. показали, что экзосомы, высвобождаемые из МСК, полученных из пуповины человека (hucMSC), положительно влияют на лечение колита, индуцированного DSS, и изучили основной механизм их действия [32].

Экзосомы, меченные индоцианиновым зеленым (ICG), попадают в ткани толстой кишки мышей с ВЗК через 12 ч после инъекции. Экспрессия гена *IL-10* увеличивалась, в то время как экспрессия генов *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-6*, *iNOS* и *IL-7* снижалась в тканях толстой кишки и селезенке мышей, обработанных МСК-экзосомами. Кроме того, уменьшалась инфильтрация макрофагов в ткани толстой кишки. Было показано также, что совместное культивирование *in vitro* с экзосомами подавляло экспрессию *iNOS* и *IL-7* в макрофагах энтероцелия мышей. При этом исследователи обнаружили, что экспрессия *IL-7* выше в тканях толстой кишки пациентов с колитом, чем у здоровых людей из контрольной группы. В целом полученные результаты продемонстрировали, что экзосомы из hucMSCs оказывают сильное влияние на восстановление при DSS-индуцированном ВЗК, данный эффект может быть опосредован через модуляцию экспрессии *IL-7* в макрофагах.

В исследовании R. Yang и соавт. [33] экзосомы, выделенные из МСК, preconditionированных с IFN- γ , трансплантировали мышам с DSS-индуцированным колитом, что значительно улучшило индекс активности заболевания и гистологическую оценку колита, а также снизило соотношение Th17 и повысило соотношение Treg-клеток. Введение экзосом значительно снижало экспрессию Stat3 и p-Stat3, подавляя дифференцировку клеток Th17, при этом экзосомы из МСК, preconditionированных с IFN- γ , показали наиболее высокую эффективность ингибирования. Предварительная обработка IFN- γ увеличивала уровень

miR-125a и miR-125b в МСК-экзосомах, которые напрямую таргетировали Stat3, подавляющий дифференцировку клеток Th17. Более того, совместная инфузия miR-125a и miR-125b также продемонстрировала терапевтический эффект при колите, сопровождаемый снижением соотношения клеток Th17. В целом, это исследование демонстрирует, что обработка IFN- γ стимулировала эффективность экзосом из МСК для ослабления колита за счет увеличения уровня miR-125a и miR-125b, которые связываются с 3'-UTR Stat3 для подавления дифференцировки клеток Th17.

Клинические исследования

Завершенные клинические исследования

Благодаря своим терапевтическим свойствам, МСК, получаемые из костного мозга, плаценты или жировой ткани, активно применяются в клинических испытаниях по терапии пациентов с ВЗК как в виде локальных эндоскопических инъекций клеток, так и путем системной (внутривенной) инфузии.

Локальное введение МСК

Локальное введение МСК используется главным образом для терапии свищевой (экстралуминальной) формы болезни Крона [34]. Так, J. Panés и соавт. [35] провели двойное слепое рандомизированное плацебоконтролируемое исследование с целью определения долгосрочной эффективности и безопасности однократного местного введения аллогенных МСК, полученных из жировой ткани (препарат Sx601), при терапии пациентов с болезнью Крона и трудно поддающимися лечению дренирующими сложными перианальными свищами. Исследование было проведено в 49 клинических центрах Европы и Израиля, в него вошли 212 пациентов (ClinicalTrials.gov: NCT01541579). Пациенты были случайным образом распределены (1:1) в группы, которым в дополнение к стандартному уходу вводили однократную локальную инъекцию, или 120×10^6 клеток Sx601, или плацебо (контроль). Конечные точки эффективности, оцененные в модифицированной популяции намеренных лечиться (рандомизированно назначенных, получавших лечение и с одной или несколькими оценками эффективности после базового уровня) на 52-й нед, включали комбинированную ремиссию (закрытие всех обработанных наружных отверстий, дренирующих на исходном уровне при отсутствии скоплений >2 см, подтвержденных данными магнитно-резонансной томографии) и клиническую

ремиссию (отсутствие дренирующих свищей). Ранее те же исследователи сообщали о первичной конечной точке исследования на 24-й нед. (комбинированная ремиссия у 51,5% пациентов, получавших Сх601, по сравнению с 35,6% в контрольной группе: разница в 15,8 процентных пункта; 97,5% доверительный интервал [ДИ] 0,5–31,2; $p=0,021$). На 52-й нед. значительно большая часть пациентов, получавших Сх601, достигла комбинированной ремиссии (56,3%), по сравнению с контрольной группой (38,6%) (разница в 17,7 процентных пункта; 95% ДИ 4,2–31,2; $p=0,010$), и клинической ремиссии (59,2% по сравнению с 41,6% контрольной группы с разницей в 17,6 процентных пункта; 95% ДИ 4,1–31,1; $p=0,013$). Безопасность поддерживалась в течение 52 нед.; побочные эффекты наблюдались у 76,7% пациентов в группе Сх601 и у 72,5% пациентов контрольной группы. По результатам фазы III исследования пациентов с болезнью Крона и резистентными к лечению периаанальными свищами авторами сделан итоговый вывод, что препарат Сх601 безопасен и эффективен для закрытия наружных свищей по сравнению с плацебо через 1 год исследования.

М. Herreros и соавт. [36] опубликовали данные клинического исследования, оценивающего 45 пациентов с 52 хирургически резистентными анальными свищами различной этиологии (из них 18 пациентов с периаанальными свищами, вызванными болезнью Крона), и их ответ на терапию МСК различных типов, включая аллогенные МСК из жира (adipose-derived mesenchymal stem cell, ASC), аутологичные ASC и стромальную сосудистую фракцию (stromal-vascular fraction, SVF), которая, как считается, содержит ASC с минимальным количеством адипоцитов и эритроцитов. При рассмотрении 42 случаев периаанальных свищей в 40 (95,2%) из них наблюдалось заживление или улучшение/частичный ответ в среднем через 6,6 нед. (диапазон 2–36 нед). Излечение наступило в 22/42 (52,4%) случаях, при этом большинство пациентов вылечились в среднем за 5,8 мес (диапазон 0,5–24 мес). Излечение этих 42 пациентов было оценено в зависимости от типа использованных клеточных препаратов. Уровень излечения при использовании SVF составил 13/23 (56,5%) случаев, при аутологичных ASC — 3/9 (33,3%), при аллогенных ASC — 6/10 (60%). Введенная доза клеток также была проанализирована в периаанальных свищах со средним значением 43,9 млн (диапазон 3–210 млн) в случаях излечения.

Если рассматривать только периаанальный свищ вследствие болезни Крона [36, 37], 18/18 пациентов (100%) показали заживление или улучшение/частичный ответ, начиная в среднем через 5,3 нед. (диапазон 2–12 нед.). Излечение наступило в 10/18 (55,5%) случаях, большинство пациентов вылечились за 6,5 мес (диапазон 0,5–24 мес). Излечение этих 18 пациентов также было оценено в зависимости от типа клеточных препаратов. Уровень излечения при применении SVF отмечался в 40% случаев, при аутологичных ASC — в 66,6%, при аллогенных ASC — в 55,5%. Введенная доза клеток составила в среднем 43,9 млн (диапазон 3–210 млн) в случаях излечения пациентов. Во всех случаях терапии периаанального свища при болезни Крона применялась хирургическая техника — выскабливание, закрытие внутреннего отверстия свища и инъекция клеток [36, 37].

В случае периаанального криптогланулярного свища [38] 18 пациентов прошли процедуры выскабливания, закрытия внутреннего отверстия и инъекции ASC, продемонстрировав заживление в 9/18 (50%) случаях; 6 подверглись выскабливанию, эндоанальному продвижению лоскута и инъекции ASC, при этом закрытие свища отмечено в 3/6 (50%) случаях.

Клиническое испытание фазы II с использованием аутологичных МСК, полученных из жировой ткани (ASC-клетками) для лечения свищей при болезни Крона, характеризующихся разрушительным состоянием с высокой частотой рецидивов, продемонстрировало безопасность и терапевтический потенциал с устойчивым ответом в течение 2 лет [39]. В данном исследовании фазы II первоначально принимал участие 41 пациент. Через 24 мес полное заживление наблюдалось у 27 (75,0%) из 36 пациентов (данные для 5 из 41 пациента отсутствовали через 24 мес). Никаких побочных эффектов, связанных с введением ASC, не наблюдалось. Более того, полное закрытие свища после первоначального лечения было устойчивым. Результаты убедительно свидетельствуют об эффективности аутологичных ASC в лечении свищей Крона.

L. Scott и соавт. [40] опубликовали результаты применения препарата дарвадстроцел (Алофисел), представляющего собой суспензию размноженных аллогенных МСК человека (eASC), полученных из жировой ткани. Это первый препарат на основе МСК, одобренный Европейским союзом для лечения сложных периаанальных свищей у взрослых пациентов с неактивной/умеренно активной люми-

нальной болезнью Крона, когда свищи показали неадекватный ответ на одну или более стандартную терапию. В ключевой фазе III исследования ADMIRE-CD у этой трудно поддающейся лечению популяции пациентов после терапии фистулы, в соответствии со стандартным лечением, проводилась дополнительная терапия с локальным введением однократной дозы дарвадстроцела (120 мг еASC) в ткань, окружающую периаанальный комплекс: заживление свищей было значительно более эффективным, чем в группе плацебо (пациентам вводили физиологический раствор), при этом пациенты в группе дарвадстроцела имели более высокую комбинированную частоту ремиссии (заккрытие свищей по клинической оценке + отсутствие абсцессов по результатам магнитно-резонансной томографии) через 24 нед. после назначения лечения. Клиническая ремиссия сохранялась более чем у 50% пациентов через 52 нед. наблюдения. Учитывая очень ограниченные возможности лечения этого трудноизлечимого редкого состояния, терапия дарвадстроцелом является новаторским многообещающим малоинвазивным подходом.

Y. Cao и соавт. в 2021 г. опубликовали метаанализ и систематический обзор для оценки эффективности стволовых клеток (МСК из костного мозга и жировой ткани) для лечения свищей любой формы при болезни Крона [41]. Всего в данном обзоре было проанализировано 29 клинических исследований, включающих 1252 пациентов. В результате было показано, что в группе пациентов со свищами при болезни Крона, которым трансплантировали стволовые клетки, был более высокий уровень заживления свищей по сравнению с группой пациентов, получающей плацебо (61,75% против 40,46%, 95% ДИ 1,19–4,11; $p < 0,05$). Группа пациентов, получающих стволовые клетки 3×10^7 кл./мл, имела преимущество в скорости заживления свищей на 71,0% по сравнению с группой стволовых клеток с другими дозами (относительный риск, ОР, 1,3; 95% ДИ 0,76–2,22), и показатели выздоровления пациентов с периаанальными и транссфинктерными свищами были выше, чем с ректовагинальными (77,95 против 76,41%). Интересно, что показатели индекса активности болезни Крона по Бесту (Crohn disease activity index, CDAI) и свищевой формы (perianal disease activity index, PDAI) явно временно повышались при использовании стволовых клеток после 1 мес, в то время как возвращались к исходному уровню после введения стволовых клеток через 3 мес. Более того, частота побочных

эффектов, связанных с лечением, в группе стволовых клеток была значительно ниже, чем в группе плацебо (ОР 0,58; 95% ДИ 0,30–1,14). Проведенное исследование показало, что использование стволовых клеток, особенно ASC из жировой ткани, являются многообещающим методом лечения свищей при болезни Крона вследствие более высокой эффективности и меньшей частоты нежелательных явлений.

Внутривенное введение МСК

Системное (внутривенное) введение МСК используется главным образом для терапии люминальных (воспалительных) форм ВЗК [34].

В рандомизированном плацебоконтролируемом клиническом исследовании J. Hu и соавт. (регистрационный номер NCT01221428) [42] изучали безопасность и эффективность МСК, полученных из пуповины человека, при умеренном и тяжелом неспецифическом язвенном колите, при этом 34 пациента с неспецифическим язвенным колитом были включены в группу I и получили инфузию МСК в дополнение к основному лечению, а 36 пациентов вошли в группу II и получали физиологический раствор в дополнение к основному лечению. Через 1 мес после терапии у 30 пациентов в группе I заметно снизилось образование диффузных и глубоких язв, течение тяжелых воспалительных процессов на слизистой оболочке. Во время последующего наблюдения средний балл по шкале Майо и гистологический балл в группе I снизились, в то время как баллы по международному опроснику качества жизни пациентов с ВЗК (inflammatory bowel disease questionnaire, IBDQ) были значительно улучшены в сравнении с таковыми до лечения, а также в сравнении с группой II ($p < 0,05$). Среди других положительных эффектов авторы отмечают отсутствие явных побочных реакций после инфузии МСК, а также хронических побочных или затяжных реакций в течение всего периода наблюдения. Таким образом, достоверно продемонстрировано, что инфузия МСК является безопасным и эффективным методом лечения неспецифического язвенного колита.

J. Zhang и соавт. [43] изучали эффективность и безопасность применения МСК из пуповины (UC-MSCs) для терапии болезни Крона. В исследование были включены 82 пациента с диагностированной болезнью Крона, получавшие поддерживающую терапию стероидами более 6 мес, из них 41 пациент случайным образом был отобран для

получения четырех периферических внутривенных инфузий 10^6 UC-MSCs/кг, 1 инфузия/нед. Пациенты наблюдались в динамике до 12 мес с оценкой CDAI, индекса Харви-Брэдшоу (Harvey-Bradshaw index, HBI) и дозировки кортикостероидов. Через 12 мес после лечения CDAI, HBI и дозировка кортикостероидов снизились на $62,5 \pm 23,2$; $3,4 \pm 1,2$; $4,2 \pm 0,84$ и $23,6 \pm 12,4$; $1,2 \pm 0,58$; $1,2 \pm 0,35$ мг/сут соответственно в группах UC-MSC и контроле ($p < 0,01$, $p < 0,05$ и $p < 0,05$ для UC-MSC по сравнению с контролем соответственно). У 4 пациентов после инфузии клеток поднялась температура. Серьезных нежелательных явлений не наблюдалось. Исследователи делают вывод, что UC-MSCs эффективны при лечении болезни Крона, хотя и вызывают иногда незначительные побочные эффекты.

В исследовании нашей группы (О. Князев и соавт.) [44] проводили лечение 22 пациентов с обострением среднетяжелой и тяжелой форм неспецифического язвенного колита с применением аллогенных МСК из костного мозга. Пациентов с острой формой язвенного колита (менее 6 мес от дебюта заболевания) разделили на 2 группы. Больные неспецифическим язвенным колитом 1-й группы ($n=12$) помимо стандартной противовоспалительной терапии получали МСК по схеме: 0-я, 1-я и 26-я нед., затем в последующие годы наблюдения — каждые 6 мес. Пациенты 2-й группы ($n=10$) получали стандартную противовоспалительную терапию препаратами 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК) и глюкокортикоидами. Пациентов с тяжелой формой обострения язвенного колита в 1-й группе было 58,3%, во 2-й группе — 60%, с обострением средней степени тяжести — 41,7 и 40% соответственно. В 1-й группе тотальный колит констатирован у 33,3% больных, во 2-й группе — у 40%, левосторонний колит — у 66,7 и 60% соответственно. Больным 1-й группы снижали дозу глюкокортикоидов до 0,5 мг на 1 кг массы тела и осуществляли системное введение МСК в дозе 1,5–2 млн клеток на 1 кг массы тела по схеме 0-я, 1-я и 26-я нед. Через 3–5 дней после введения дозу ранее назначенных глюкокортикоидов (не более 30 мг/сут) снижали в течение 6–8 нед. до полной отмены. В дальнейшем в отсутствии рецидива заболевания больные получали поддерживающую терапию препаратами 5-АСК и/или пробиотиками. Больные 2-й группы получали стандартную терапию в соответствии с международными рекомендациями. Дата введения культуры клеток являлась точкой включения в клиническое исследование. Критери-

ем эффективности терапии служило безрецидивное течение заболевания в течение 12 мес. Клиническую активность неспецифического язвенного колита оценивали по шкале Рахмилевича, эндоскопическую — по шкале Майо. Контроль за динамикой клинических, лабораторных и эндоскопических показателей осуществляли через 2; 6 и 12 мес, затем ежегодно на протяжении 3 лет. Результаты исследования продемонстрировали, что включение МСК в комплексную терапию острой атаки язвенного колита не повлияло на частоту рецидивов, продолжительность ремиссии и средний уровень индексов клинической и эндоскопической активности в течение 1 года наблюдения: в 1-й группе рецидив язвенного колита произошел у 2 (16,7%) больных, во 2-й группе — у 3 (30%): ОР 0,3; 95% ДИ 0,08–1,36; $p=0,2$; $\chi^2=1,47$). Индекс Рахмилевича в 1-й группе больных составил $3,33 \pm 0,54$ балла, во 2-й — $4,4 \pm 1,13$ ($p=0,81$), индекс Майо — $3,1 \pm 0,85$ и $3,9 \pm 1,06$ балла соответственно ($p=0,66$). За 2 года наблюдения риск рецидива неспецифического язвенного колита в 1-й группе в 3 раза ниже, чем во 2-й группе ($p=0,03$). Средняя продолжительность ремиссии в 1-й группе составила 22 мес, во 2-й группе — 17 мес ($p=0,049$). Через 3 года наблюдения продолжительность ремиссии в 1-й и 2-й группах составила 22 и 20 мес соответственно ($p=0,66$). Индекс Рахмилевича в 1-й группе больных составил $4,75 \pm 1,13$ балла, во 2-й — $8,1 \pm 1,1$ ($p=0,001$). В итоге было достоверно показано, что введение МСК повышает эффективность противовоспалительной терапии у пациентов с острой формой язвенного колита.

В другом нашем исследовании (О. Князев и соавт.) [45] мы оценили эффективность терапии МСК из костного мозга у пациентов с воспалительной (люминальной) формой болезни Крона ($n=34$), получающих азатиоприн. В 1-й группе ($n=15$) больные получали противовоспалительную терапию с применением культуры МСК в комбинации с азатиоприном, во 2-й ($n=19$) — получала МСК без азатиоприна. Тяжесть атаки оценивали в баллах в соответствии с индексом CDAI. В сыворотке крови исследовали иммуноглобулины (IgA, IgG, IgM); интерлейкины (IL) 1 β , 4, 10; TNF- α , IFN- γ , TGF- β , С-реактивный белок (СРБ), тромбоциты и скорость оседания эритроцитов (СОЭ) через 2; 6 и 12 мес от начала терапии МСК. В результате исходный средний CDAI в 1-й группе составил $337,6 \pm 17,1$ балла, во 2-й — $332,7 \pm 11,0$ ($p=0,3$). В обеих группах больных отмечено достоверное снижение CDAI через

2 мес от начала терапии МСК: в 1-й группе — до $118,9 \pm 12,4$ балла, во 2-й — до $120,3 \pm 14,1$ ($p=0,7$), через 6 мес — $110,3 \pm 11,1$ и $114,3 \pm 11,8$ ($p=0,8$), через 12 мес — $99,9 \pm 10,8$ и $100,6 \pm 12,1$ ($p=0,8$), через 24 мес — $133,2 \pm 28,3$ и $120,8 \pm 15,5$ ($p=0,2$), через 36 мес — $139,9 \pm 23,4$ и $141,7 \pm 20,8$ балла ($p=0,9$) соответственно. Уровни IgA, IgG, IgM были достоверно ниже в группе больных с более продолжительным анамнезом заболевания и длительно принимающих азатиоприн. После введения МСК в обеих группах пациентов отмечалась тенденция к росту про- и противовоспалительных цитокинов с достоверно более низким уровнем провоспалительных цитокинов (IFN- γ , TNF- α , IL-1 β) в 1-й группе, свидетельствующим о потенцировании иммуносупрессивного действия МСК и азатиоприна, которое обеспечивает более выраженный противовоспалительный эффект. В итоге было продемонстрировано, что трансплантация МСК способствует повышению в сыворотке крови пациентов с болезнью Крона изначально сниженной концентрации иммуноглобулинов, цитокинов и восстановлению их баланса по мере наступления клинической ремиссии, а в сочетании с азатиоприном оказывает более выраженный противовоспалительный эффект.

Интересные результаты были получены при сравнении влияния комбинированного (локально-го и системного) введения МСК из костного мозга, антицитокиновой терапии (инфликсимаб) и терапии антибиотиками и иммуносупрессорами на заживление простых периаанальных свищей при болезни Крона [46]. Первая группа больных в возрасте от 19 до 58 (Me 29) лет ($n=12$) получала МСК системно по схеме и местно; вторая группа от 20 до 68 (Me 36) лет ($n=10$) получала инфликсимаб по схеме; третья группа от 20 до 62 (Me 28) лет ($n=14$) получала антибиотики и иммуносупрессоры. По результатам исследования через 12 нед. среди больных 1-й группы заживление простых свищей отмечено у 8 (66,6%), во 2-й — у 6 (60%), в 3-й — у 1 (7,14%); через 6 мес — у 8 (66,6%), 6 (60%) и 1 (7,14%); через 12 мес — у 7 (58,3%), 6 (60%) и 2 (14,3%); через 24 мес — у 5 (41,6%), 4 (40%) и 0 (0%) пациентов соответственно. В итоге было продемонстрировано, что комбинированная клеточная и антицитокиновая терапия болезни Крона с периаанальными поражениями достоверно способствует более частому и длительному закрытию простых свищей по сравнению с терапией антибиотиками и иммуносупрессорами, а также снижению частоты рецидивов заболевания.

Ж. Ко и соавт. [34] опубликовали в январе 2021 года детальный анализ безопасности и эффективности МСК-терапии ВЗК на основе 24 исследований (в 17 использовалось локальное введение МСК, в 7 — системное). В целом авторы приходят к выводу, что локальные инъекции МСК при свищевой (экстралюминальной) форме болезни Крона демонстрируют долгосрочную эффективность и благоприятный профиль безопасности. Доказательства же эффективности системной инфузии МСК для терапии воспалительной формы ВЗК остаются, по мнению авторов, неоднозначными, из-за выраженной методологической неоднородности исследований (прежде всего из-за разного источника МСК), усугубляемой отсутствием доказательств, показывающих, что МСК достигают кишечника после внутривенной инъекции, и не всегда ясно демонстрируемого профиля безопасности. Вместе с тем в уже упомянутых нами исследованиях нашей группы были получены довольно однозначные доказательства эффективности системной инфузии аллогенных МСК для терапии ВЗК [44–46].

Текущие клинические испытания

На сегодняшний день на сайте Clinicaltrials.gov зарегистрировано 14 действующих клинических испытаний (по состоянию на март 2021 г.) с использованием МСК-терапии для лечения ВЗК — в 2 случаях с аутологичными и в 12 — с аллогенными МСК (табл. 1). В 7 испытаниях используются МСК из костного мозга, в 5 — МСК из жировой ткани, в 1 — МСК из пуповинной крови, в 1 — МСК из Вартонова студня. В 10 случаях испытания проводятся для лечения болезни Крона, в 4 — для лечения язвенного колита. Локальное введение МСК используется в 12 испытаниях, системное — в 2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многочисленные открытые и рандомизированные клинические исследования МСК в терапии ВЗК однозначно показали безопасность этого подхода и его потенциальную эффективность, в том числе и в случаях, резистентных к традиционным способам терапии. Терапевтическое действие МСК обусловлено мощным иммуномодулирующим эффектом, в результате которого снижается активность аутоиммунного воспаления и стимулируется процесс репарации в слизистой оболочке кишечника, что в свою очередь увеличивает продолжительность ремиссии, снижает риск

Таблица 1 / Table 1
 Текущие клинические испытания МСК-терапии воспалительных заболеваний кишечника (по данным ClinicalTrials.gov на март 2021 г.)
 Proceeding clinical trials on the MSC therapy of IBD (according to clinicaltrials.gov by March, 2021)

№	Название, ClinicalTrials.gov ID	Заболевание	Тип клеток	Способ доставки	Организация, место проведения
1	Use of Mesenchymal Stem Cells in Inflammatory Bowel Disease; NCT03299413	ЯК	Аллогенные МСК из Вартонова студия	Внутривенное введение	Cell Therapy Center Amman, Иордания
2	Angiographic Delivery of AD-MSC for Ulcerative Colitis; NCT04312113	ЯК	Аутологичные МСК из жировой ткани	Внутриартериальное введение	Mayo Clinic in Rochester Rochester, Миннесота, США
3	Adipose Mesenchymal Stem Cells (AMSC) for Treatment of Ulcerative Colitis (AMSC_UC); NCT03609905	ЯК	Аллогенные МСК из жировой ткани	Локальное введение	Liaocheng city people's hospital Liaocheng, Шаньдун, Китай
4	Study of Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Medically Refractory Ulcerative Colitis (UC); NCT04543994	ЯК	Remestemcel-L (аллогенные МСК из костного мозга)	Локальное введение	Cleveland Clinic Cleveland, Огайо, США
5	Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Perianal Fistulizing Crohn's Disease; NCT04519671	БК	Аллогенные МСК из костного мозга	Локальное введение	Cleveland Clinic Cleveland, Огайо, США
6	Study of Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Ileal Pouch Fistula's in Participants With Crohn's Disease (IPAAF); NCT04519684	БК	Аллогенные МСК из костного мозга	Локальное введение	Cleveland Clinic Cleveland, Огайо, США
7	Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Rectovaginal Fistulas in Participants With Crohn's Disease; NCT04519697	БК	Аллогенные МСК из костного мозга	Локальное введение	Cleveland Clinic Cleveland, Огайо, США
8	Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Pouch Fistulas in Crohn's; NCT04073472	БК	Аллогенные МСК из костного мозга	Локальное введение	Cleveland Clinic Cleveland, Огайо, США
9	Study of Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Medically Refractory Crohn's Colitis; NCT04548583	БК	Аллогенные МСК из костного мозга	Локальное введение	Cleveland Clinic Cleveland, Огайо, США
10	A Follow-up Study to Evaluate the Safety of ALLO-ASC-CD in ALLO-ASC-CD-101 Clinical Trial; NCT03183661	БК	Аллогенные МСК из костного мозга	Локальное введение	Cleveland Clinic Cleveland, Огайо, США
11	MSC Intratissular Injection in Crohn Disease Patients; NCT03901235	БК	Аллогенные МСК из жировой ткани	Локальное введение	Anterogen Co., Ltd., Сеул, Корея
12	A Study to Evaluate the Safety of ALLO-ASC-CD for Treatment of Crohn's Disease; NCT02580617	БК	Аллогенные МСК из костного мозга	Локальное введение	CHU de Liège, Льеж, Бельгия
13	Long-term Safety and Efficacy of FURESTEM-CD Inj. in Patients With Moderately Active Crohn's Disease(CD); NCT02926300	БК	Аллогенные МСК из пуповины	Локальное введение	Yonsei University College of Medicine Seoul, Сеул, Корея Inje University Haeundae Paik Hospital Busan, Korea, Republic of Yeungnam University Medical Center Daegu, Korea, Republic of Seoul National University Bundang Hospital Seongnam-si, Korea (and 4 more...)
14	Pediatric MSC-AFP Sub-study for Crohn's Fistula; NCT03449069	БК	MSC-AFP (вставка, покрытая аутологичными МСК из жировой ткани)	Локальное введение	Mayo Clinic in Rochester Rochester, Миннесота, США

Примечание. ЯК — язвенный колит; БК — болезнь Крона; МСК — мезенхимальные стромальные клетки.

Note. UC — ulcerative colitis; CD — Crohn's disease; MSC — mesenchymal stromal cells.

рецидива заболевания и частоту госпитализаций пациентов.

На основании проведенных клинических испытаний в Евросоюзе был одобрен первый препарат на основе аллогенных МСК из жировой ткани дарвад-строцел (Алофисел, Takeda, Япония) для лечения сложных периаанальных свищей у пациентов с люминальной болезнью Крона. Вместе с тем в настоящее время не существует единого установленного оптимального протокола для трансплантации МСК для терапии ВЗК, что обуславливает актуальность дополнительных рандомизированных клинических исследований МСК, их источника, дозировки, способа и оптимальной частоты введения клеток. Помимо МСК из костного мозга и жировой ткани перспективно применение МСК из плаценты, что в сочетании с методами повышения эффективности производства МСК, такими как 3D-культивирование и применение биореакторов большого объема, может существенно удешевить производство МСК и сделать этот уникальный метод терапии доступным для широкого круга пациентов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов. М.А. Конопляников — анализ литературных источников, написание статьи; О.В. Князев, В.П. Баклаушев — анализ литературных источников, редактирование. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. M.A. Konoplyannikov — literature analysis, manuscript writing; O.V. Knyazev, V.P. Baklaushev — literature analysis, manuscript editing. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Sairenji T, Collins KL, Evans DV. An update on inflammatory bowel disease. *Prim Care*. 2017;44(4):673–692. doi: 10.1016/j.pop.2017.07.010
2. Guindi M, Riddell RH. Indeterminate colitis. *J Clin Pathol*. 2004;57(12):1233–1244. doi: 10.1136/jcp.2003.015214
3. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2011;474(7351):307–317. doi: 10.1038/nature10209
4. The facts about inflammatory bowel diseases. The Crohn's & Colitis Foundation of America (CCFA); 2014. Available from: <https://www.crohnscolitisfoundation.org/sites/default/files/2019-02/Updated%20IBD%20Factbook.pdf>
5. GBD 2017 Inflammatory Bowel Disease Collaborators. The global, regional, and national burden of inflammatory bowel disease in 195 countries and territories, 1990–2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5(1):17–30. doi: 10.1016/S2468-1253(19)30333-4
6. Magro F, Portela F. Management of inflammatory bowel disease with infliximab and other anti-tumor necrosis factor alpha therapies. *BioDrugs*. 2010;24(Suppl 1):3–14. doi: 10.2165/11586290-000000000-00000
7. Ocansey DK, Qiu W, Wang J, et al. The Achievements and Challenges of Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy in Inflammatory Bowel Disease and Its Associated Colorectal Cancer. *Stem Cells Int*. 2020;2020:7819824. doi: 10.1155/2020/7819824
8. Tolar J, Le Blanc K, Keating A, et al. Concise review: hitting the right spot with mesenchymal stromal cells. *Stem Cells*. 2010;28(8):1446–1455. doi: 10.1002/stem.459
9. Williams JT, Southerland SS, Souza J, et al. Cells isolated from adult human skeletal muscle capable of differentiating into multiple mesodermal phenotypes. *Am Surg*. 1999; 65:22–26.
10. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implication for cell-based therapies. *Tissue Engl*. 2001;7(2):211–228. doi: 10.1089/107632701300062859
11. Gronthos S, Arthur A, Bartold PM, et al. A method to isolate and culture expand human dental pulp stem cells. *J Methods Mol Biol*. 2011;698:107–121. doi: 10.1007/978-1-60761-999-4_9
12. Prockop D. Repair of tissues by adult stem/progenitor cells [MSCs]: controversies, myths, and changing paradigms. *Mol Ther*. 2009;17(6):939–946. doi: 10.1038/mt.2009.62
13. Lv FJ, Tuan RS, Cheung KM, et al. Concise review: the surface markers and identity of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. 2014;32(6):1408–1419. doi: 10.1002/stem.1681
14. Caplan AI, Correa D. The MSC: an injury drugstore. *Cell Stem Cell*. 2011;9(1):11–15. doi: 10.1016/j.stem.2011.06.008
15. Wang S, Miao Z, Yang Q, et al. The dynamic roles of mesenchymal stem cells in colon cancer. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2018;2018:7628763. doi: 10.1155/2018/7628763
16. Caplan AI. MSCs: The sentinel and safe-guards of injury. *J Cell Physiol*. 2016;231(7):1413–1416. doi: 10.1002/jcp.25255
17. Bernardo ME, Fibbe WE. Mesenchymal stromal cells: sensors and switchers of inflammation. *Cell Stem Cell*. 2013;13(4):392–402. doi: 10.1016/j.stem.2013.09.006
18. Spaggiari GM, Capobianco A, Abdelrazik HF, et al. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2, 3-dioxygenase and prostaglandin E2. *Blood*. 2008;111(3):1327–1333. doi: 10.1182/blood-2007-02-074997
19. Terai S, Tsuchiya A. Status of and candidates for cell therapy in liver cirrhosis: overcoming the “point of no return” in advanced liver cirrhosis. *J Gastroenterol*. 2017;52(2):129–140. doi: 10.1007/s00535-016-1258-1
20. Yabana T, Arimura Y, Tanaka H, et al. Enhancing epithelial engraftment of rat mesenchymal stem cells restores epithelial barrier integrity. *J Pathol*. 2009;218:350–359. doi: 10.1002/path.2535

21. Dias CB, Milanski M, Portovedo M, et al. Defective apoptosis in intestinal and mesenteric adipose tissue of Crohn's disease patients. *PLoS One*. 2014;9(6):e98547. doi: 10.1371/journal.pone.0098547
22. Akiyama K, Chen C, Wang D, et al. Mesenchymal-stem cell-induced immunoregulation involves FAS-ligand-/FAS-mediated T cell apoptosis. *Cell Stem Cell*. 2012;10(5):544–555. doi: 10.1016/j.stem.2012.03.007
23. Sisakhtnezhad S, Alimoradi E, Akrami H. External factors influencing mesenchymal stem cell fate in vitro. *Eur J Cell Biol*. 2017;96(1):13–33. doi: 10.1016/j.ejcb.2016.11.003
24. Chen Q, Yan L, Wang CZ, et al. Mesenchymal stem cells alleviate TNBS-induced colitis by modulating inflammatory and auto-immune responses. *World J Gastroenterol*. 2013;19(29):4702–4717. doi: 10.3748/wjg.v19.i29.4702
25. Hidalgo-Garcia L, Galvez J, Rodriguez-Cabezas ME, Anderson PO. Can a conversation between mesenchymal stromal cells and macrophages solve the crisis in the inflamed intestine? *Front Pharmacol*. 2018;9:179. doi: 10.3389/fphar.2018.00179
26. Jo H, Eom YW, Kim HS, et al. Regulatory dendritic cells induced by mesenchymal stem cells ameliorate dextran sodium sulfate-induced chronic colitis in mice. *Gut Liver*. 2018;12(6):664–673. doi: 10.5009/gnl18072
27. Liu J, Liu Q, Chen X. The immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells on regulatory B cells. *Front Immunol*. 2020;11:1843. doi: 10.3389/fimmu.2020.01843
28. Самойлова Е.М., Кальсин В.А., Беспалова В.А., и др. Экзосомы — от биологии к клинике // *Гены и клетки*. 2017. Т. 12, № 4. С. 7–19. [Samoilova EM, Kalsin VA, Bepalova VA, et al. Exosomes — from biology to the clinic. *Genes & Cells*. 2017;12(4):7–19. (In Russ).] doi: 10.23868/201707024
29. Zhao T, Sun F, Liu J, et al. Emerging role of mesenchymal stem cell-derived exosomes in regenerative medicine. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2019;14(6):482–494. doi: 10.2174/1574888X14666190228103230
30. Mianehsaz E, Mirzaei HR, Mahjoubin-Tehran M, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: a new therapeutic approach to osteoarthritis? *Stem Cell Res Ther*. 2019;10(1):340. doi: 10.1186/s13287-019-1445-0
31. Mendt M, Rezvani K, Shpall E. Mesenchymal stem cell-derived exosomes for clinical use. *Bone Marrow Transplant*. 2019;54(Suppl 2):789–792. doi: 10.1038/s41409-019-0616-z
32. Mao F, Yunbing Wu, Xudong Tang, et al. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells relieve inflammatory bowel disease in mice. *Biomed Res Int*. 2017;2017:5356760. doi: 10.1155/2017/5356760
33. Yang R, Huang H, Cui S, et al. IFN- γ promoted exosomes from mesenchymal stem cells to attenuate colitis via miR-125a and miR-125b. *Cell Death Dis*. 2020;11(7):603. doi: 10.1038/s41419-020-02788-0
34. Ko JZ, Johnson S, Dave M. Efficacy and safety of mesenchymal stem/stromal cell therapy for inflammatory bowel diseases: an up-to-date systematic review. *Biomolecules*. 2021;11(1):82. doi: 10.3390/biom11010082
35. Panés J, García-Olmo D, Van Assche G, et al; ADMIRE CD Study Group Collaborators. Long-term efficacy and safety of stem cell therapy (Cx601) for complex perianal fistulas in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2018;154(5):1334–1342.e4. doi: 10.1053/j.gastro.2017.12.020
36. Herreros MD, García-Olmo D, Guadalajara HT, et al. Stem cell therapy: a compassionate use program in perianal fistula. *Stem Cells Int*. 2019;2019:6132340. doi: 10.1155/2019/6132340
37. García-Olmo D, García-Arranz M, Herreros D, et al. A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum*. 2005;48(7):1416–1423. doi: 10.1007/s10350-005-0052-6
38. McNevin MS, Lee PY, Bax TW. Martius flap: an adjunct for repair of complex, low rectovaginal fistula. *Am J Surg*. 2007;193(5):597–599. doi: 10.1016/j.amjsurg.2007.01.009
39. Cho YB, Park KJ, Yoon SN, et al. Long-Term results of adipose-derived stem cell therapy for the treatment of Crohn's fistula: ASCs for the treatment of Crohn's fistula. *Stem Cells Transl Med*. 2015;4(5):532–537. doi: 10.5966/sctm.2014-0199
40. Scott LJ. Darvadstrocel: a review in treatment-refractory complex perianal fistulas in Crohn's disease. *BioDrugs*. 2018;32(6):627–634. doi: 10.1007/s40259-018-0311-4
41. Cao Y, Su Q, Zhang B, et al. Efficacy of stem cells therapy for Crohn's fistula: a meta-analysis and systematic review. *Stem Cell Res Ther*. 2021;12(1):32. doi: 10.1186/s13287-020-02095-7
42. Hu J, Zhao G, Zhang L, et al. Safety and therapeutic effect of mesenchymal stem cell infusion on moderate to severe ulcerative colitis. *Exp Ther Med*. 2016;12(5):2983–2989. doi: 10.3892/etm.2016.3724
43. Zhang J, Lv S, Liu X, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cell treatment for Crohn's disease: a randomized controlled clinical trial. *Gut and Liver*. 2018;12(1):73–78. doi: 10.5009/gnl17035
44. Князев О.В., Парфенов А.И., Конопляников А.Г., Болдырева О.Н. Использование мезенхимальных стромальных клеток в комплексной терапии язвенного колита // *Терапевтический архив*. 2016. Т. 88, № 2. С. 44–48. [Knyazev OV, Parfenov AI, Konoplyannikov AG, Boldyreva ON. The use of mesenchymal stromal cells in the complex therapy of ulcerative colitis. *Therapeutic archive*. 2016;88(2):44–48. (In Russ).]
45. Князев О.В., Каграманова А.В., Фадеева Н.А., и др. Мезенхимальные стромальные клетки костного мозга и азатиоприн в терапии болезни Крона // *Терапевтический архив*. 2018. Т. 90, № 2. С. 47–52. [Knyazev OV, Kagramanova AV, Fadeeva NA, et al. Bone marrow mesenchymal stromal cells and azathioprine in the treatment of Crohn's disease. *Therapeutic archive*. 2018;90(2):47–52. (In Russ).] doi: 10.26442/terarkh201890247-52
46. Князев О.В., Фадеева Н.А., Каграманова А.В., и др. Клеточная терапия перианальных проявлений болезни Крона // *Терапевтический архив*. 2018. Т. 90, № 3. С. 60–66. [Knyazev OV, Fadeeva NA, Kagramanova AV, et al. Cell therapy of the perianal manifestations of Crohn's disease. *Therapeutic archive*. 2018;90(3):60–66. (In Russ).] doi: 10.26442/terarkh201890360-66

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Конопляников Михаил Анатольевич, к.б.н.;
Российская Федерация, 115682, Москва,
Ореховый бульвар, д. 28; e-mail: mkonopl@mail.ru;
eLibrary SPIN: 9211-6391;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1180-2343>

Соавторы:

Князев Олег Владимирович, д.м.н.;
e-mail: oleg7@bk.ru; eLibrary SPIN: 3268-0360;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7250-0977>

Баклаушев Владимир Павлович, д.м.н.;
e-mail: serpoff@gmail.com; eLibrary SPIN: 3968-2971;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1039-4245>

AUTHORS INFO

Mikhail A. Konoplyannikov, Cand. Sci. (Biol.);
address: 28, Orekhovy blvd, Moscow, 115682, Russia;
e-mail: mkonopl@mail.ru; eLibrary SPIN: 9211-6391;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1180-2343>

Oleg V. Knyazev, Dr. Sci. (Med.);
e-mail: oleg7@bk.ru; eLibrary SPIN: 3268-0360;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7250-0977>

Vladimir P. Baklaushev, Dr. Sci. (Med.);
e-mail: serpoff@gmail.com; eLibrary SPIN: 3968-2971;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1039-4245>

МУТАЦИИ В ГЕНАХ KRAS И NRAS КАК БИОМАРКЕРЫ В ТЕРАПИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА И ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ИХ ДЕТЕКЦИИ

© О.И. Бровкина, А.Г. Никитин

Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий
Федерального медико-биологического агентства, Москва, Российская Федерация

Определение статуса мутаций в генах KRAS и NRAS является необходимым требованием в лечении пациентов с колоректальным раком (КРР). Пациенты с определенными мутациями в генах KRAS и NRAS являются резистентными к терапии анти-EGFR-препаратами и имеют медиану выживаемости ниже, чем при WT (wild type) генотипах, что говорит о негативном прогнозе в случае наличия мутаций. На настоящий момент не существует зарегистрированных таргетных препаратов для носителей мутаций в генах KRAS и NRAS, однако ведутся разработки на основе малых молекул. Золотым стандартом выявления мутаций в генах KRAS и NRAS является анализ биопсийного материала в парафиновых блоках. Однако такой метод сопряжен с существенными ограничениями, которые можно обойти с помощью анализа циркулирующей опухолевой ДНК — нового перспективного метода в диагностике КРР.

Ключевые слова: колоректальный рак; мутации в генах KRAS, NRAS; биомаркеры; циркулирующая опухолевая ДНК.

Для цитирования: Бровкина О.И., Никитин А.Г. Мутации в генах KRAS и NRAS как биомаркеры в терапии колоректального рака и основные методы их детекции. Клиническая практика. 2021;12(1):66–71. doi: 10.17816/clinpract63875

Поступила 21.01.2020

Принята 25.02.2021

Опубликована 01.04.2021

KRAS AND NRAS GENES MUTATIONS AS BIOMARKERS IN THE THERAPY OF COLORECTAL CANCER AND THE BASIC METHODS OF THEIR DETECTION

© O.I. Brovkina, A.G. Nikitin

Federal Research and Clinical Center of Specialized Medical Care and Medical Technologies FMBA of Russia,
Moscow, Russian Federation

Determination of the mutations' status in the KRAS and NRAS genes is a necessary requirement in the treatment of patients with colorectal cancer (CRC). Patients with certain mutations in the KRAS and NRAS genes are resistant to anti-EGFR drug therapy and have a lower median survival rate than those with WT (wild type) genotypes, that indicates a negative prognosis in the case when mutations are present. Currently, there are no registered targeted drugs for carriers of the KRAS and NRAS genes mutations, however, preparations based on small molecules are under way. The gold standard for detecting mutations in the KRAS and NRAS genes is the analysis of the biopsy material in paraffin blocks. However, this method has significant limitations that can be circumvented by the analysis of circulating tumor DNA — a promising new method in the diagnosis of colorectal cancer.

Keywords: colorectal cancer; mutations in the KRAS, NRAS genes; biomarkers; circulating tumor DNA.

For citation: Brovkina OI, Nikitin AG. KRAS and NRAS genes mutations as biomarkers in the therapy of colorectal cancer and the basic methods of their detection. *Journal of Clinical Practice*. 2021;12(1):66–71. doi: 10.17816/clinpract63875

Submitted 21.01.2020

Revised 25.02.2021

Published 01.04.2021

ОБОСНОВАНИЕ

Колоректальный рак (КРР) занимает третье место по распространенности среди онкологических заболеваний в мире [1, 2], однако его диагностика довольно затруднительна в силу ряда ограничений, связанных со сложностью сбора биопсийного материала и его анализа вследствие разрушения морфологии образцов, поэтому значительную часть случаев КРР удается выявить только на поздних стадиях. Кроме того, КРР представляет собой крайне гетерогенную группу, состоящую из подклассов с различными молекулярными и клиническими характеристиками [3–5]. Так, например, пациенты с высоким уровнем микросателлитной нестабильности (high microsatellite instability, MSI-H) имеют отличные от пациентов с низким уровнем MSI этиологию заболевания и протокол лечения [6].

Патогенез КРР основан на нарушении нескольких молекулярных механизмов — аберрантного метилирования, дисрегуляции факторов транскрипции и мутации в онкогенах (*KRAS*, *NRAS*, *BRAF* и *PIK3CA*) и онкосупрессорах (*APC*, *TP53*, *SMAD4* и *PTEN*) [7]. Такие нарушения затрагивают ключевые сигнальные пути, включающие Wnt/ β -катенин, рецептор эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR), митоген-активированную протеинкиназу (mitogen-activated protein kinase, MAPK), фосфоинозитид-3-киназу (phosphoinositide-3-kinase, PI3K), суперсемейство Ras-ГТФазы (Ras superfamily of small guanosine triphosphatases) и трансформирующий фактор роста бета (transforming growth factor beta, TGF- β). Перечисленные аберрации можно разделить на две группы:

- 1) КРР с хромосомной нестабильностью, ассоциированной с потерей функции белка APC и мутациями в генах, кодирующих Wnt- и Ras-сигнальные пути;
- 2) КРР с микросателлитной нестабильностью, которая часто связана с мутациями в генах системы репарации ошибочно спаренных нуклеотидов (mismatch repair, MMR).

КРР с хромосомной нестабильностью является наиболее распространенной группой. Мутации гена *APC* инициируют начальные стадии КРР: APC является негативным регулятором β -катенина, а при наличии мутации концентрация β -катенина в цитоплазме существенно вырастает и ведет к активации Wnt-сигнальных путей, которые в свою очередь стимулируют деление и миграцию опухлевых клеток [8].

Трансформация аденомы в карциному происходит при нарушении структуры ГТФаз [9–11]. ГТФазы участвуют в трансдукции внеклеточных сигналов MAPK. Аминокислотная замена в Ras-белках препятствует их гидролизу, вследствие чего активируются белковые каскады: RAF/MEK/ERK и PI3K-AKT сигнальные пути, отвечающие за клеточный рост и деление [12]. В результате клетка находится в перманентно активированном состоянии, что позволяет ей избежать апоптоза и начать неконтролируемое деление.

В представленном обзоре описаны роль мутаций в генах *KRAS* и *NRAS* в лечении пациентов с КРР и мониторинг эффективности таргетной анти-EGFR-терапии, дано сравнение различных методов для выявления мутаций.

МУТАЦИИ В ГЕНАХ *KRAS* И *NRAS* ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

В последнее десятилетие выживаемость пациентов с метастатическим КРР существенно выросла. Такой успех связан с введением в практику лечения таргетных препаратов, таких как моноклональные антитела (MoAbs) против EGFR. Анти-EGFR MoAbs могут быть использованы как в монотерапии, так и в сочетании с традиционной химиотерапией [13]. На настоящий момент для клинической практики одобрены два таргетных анти-EGFR-препарата — цетуксимаб (Erbix) и панитумумаб (Vectibix), которые, тем не менее, имеют высокую токсичность. Именно поэтому остро стоит вопрос о выявлении целевой группы пациентов, чувствительных к ингибиторам EGFR.

Связывание рецептора внеклеточной части EGFR приводит к блокированию внутриклеточного тирозинкиназного домена и, соответственно, деактивирует сигнальные пути Ras. Обнаружено, что мутации в генах *KRAS* и *NRAS*, выявляемые приблизительно у 50% пациентов с КРР, ассоциированы с резистентностью к анти-EGFR-терапии [14, 15]. Более того, последние исследования по развитию резистентности к анти-EGFR-терапии показывают, что у пациентов с диким типом генов *KRAS* и *NRAS* возможно наличие небольших субпопуляций клеток, несущих мутации в генах семейства *RAS* (Retrovirus Associated) [16]. В таких случаях резистентность к MoAbs-терапии стремительно развивается в течение нескольких месяцев.

Наиболее известными онкогенными мутациями являются мутации в экзонах 2, 3 и 4 в генах *KRAS* и *NRAS* (табл. 1). При этом *KRAS*-мутации встреча-

Таблица 1 / Table 1

Спектр мутаций в генах *KRAS* и *NRAS*
Spectrum of mutations in the *KRAS* and *NRAS* genes

<i>KRAS</i>				<i>NRAS</i>			
Экзон	Кодон	Название мутации	Локация	Экзон	Кодон	Название мутации	Локация
2	12	p.G12A	c.35G>C	2	12	p.G12A	c.35G>C
		p.G12C	c.34G>T			p.G12C	c.34G>T
		p.G12C	c.33_34TG>CT			p.G12D	c.35G>A
		p.G12D	c.35G>A			p.G12S	c.34G>A
		p.G12F	c.34_35GG>TT			p.G12R	c.34G>C
		p.G12H	c.34_35GG>CA			p.G12N	c.34_35GG>AA
		p.G12R	c.34G>C			p.G12P	c.34_35GG>CC
		p.G12S	c.34G>A			p.G12Y	c.34_35GG>TA
		p.G12V	c.35G>T			p.G12V	c.35G>T
		p.G12I	c.34_35GG>AT			p.G12E	c.35_36GT>AG
		p. G12N	c.33_34GG>AA		13	p.G13R	c.37G>C
		p.G12L	c.34_35GG>CT			p.G13V	c.38G>T
		p.G12Y	c.34_35GG>TA			p.G13S	c.37G>A
		p.G12F	c.34_35GG>TT			p.G13C	c.37G>T
		p.G12R	c.34_36GGT>AGA			p.G13N	c.37_38GG>AA
		p.G12L	c.34_36GGT>CTG			p.G13Y	c.37_38GG>TA
		p.G12C	c.34_36GGT>TGC			p.G13D	c.38G>A
		p.G12W	c.34_36GGT>TGG			p.G13A	c.38G>C
		p.G12D	c.35G>A			p.G13V	c.38_39GT >T C
	13	p.G12A	c.35G>C	3	59	p.A59T	c.175G>A
		p.G12V	c.35G>T			p.A59P	c.175G>C
		p.G12fs*3	c.35delG			p.A59S	c.175G>T
		p.G13C	c.37G>T			p.A59D	c.176C>A
		p.G13S	c.37G>A			p.A59G	c.176C>G
		p.G13R	c.37G>C			p.A59V	c.176C>T
		p.G13C	c.36_37TG>AT		61	p.Q61H	c.183A>C
		p.G13N	c.37_38GG>AA			p.Q61K	c.181C>A
		p.G13I	c.37_38GG>AT			p.Q61L	c.182A>T
		p.G13Y	c.37_38GG>TA			p.Q61R	c.182A>G
		p.G13F	c.37_38GG>TT			p.Q61E	c.181C>G
		p.G13D	c.38G>A			p.Q61K	c.181_183CAA>AAG
		p.G13R	c.37_39GGC>CGT			p.Q61P	c.182A>C
		p.G13A	c.38G>C			p.Q61R	c.181_182CA>AG
		p.G13V	c.38G>T			p.Q61L	c.181_182CA>TT
		p.G13E	c.38_39GC>AA			p.Q61R	c.182_183AA>GG

KRAS				NRAS			
Экзон	Кодон	Название мутации	Локация	Экзон	Кодон	Название мутации	Локация
2	13	p.G13E	c.38_39GC>AG	3	61	p.Q61H	c.183A>T
		p.G13D	c.38_39GC>AT			p.Q61Q	c.183A>G
		p.G13V	c.38_39GC>TG			p.Q61L	c.182_183AA>TG
		p.G13V	c.38_39GC>TT			p.Q61_E62>HK	c.183_184AG>CA
		p.G13_V14>DI	c.38_40GCG>ACA				
3	59	p.A59T	c.175G>A	4	117	p.K117R	c.350 A> G
		p.A59S	c.175G>T			p.K117N	c.351A>C
		p.A59P	c.175G>C			p.K117E	c.349A>G
		p.A59E	c.176G>A			p.K117Q	c.349A>C
		p.A59G	c.176G>G			p.K117T	c.350A>C
		p.A59V	c.176G>T			p.K117M	c.350A>T
		p.A59del	c.176_178delCAG			p.K117N	c.351A>T
	61	p.Q61K	c.181C>A		146	p.A146P	c.436G>C
		p.Q61E	c.181C>G			p.A146T	c.436G>A
		p.Q61*(Ter)	c.181C>T			p.A146V	c.437C>T
		p.Q61H	c.183A>C			p.A146S	c.436G>T
		p.Q61H	c.183A>T			p.A146G	c.437C>G
		p.Q61L	c.182A>T			p.A146D	c.437C>A
		p.Q61P	c.182A>C				
	61	p.Q61K	c.180_181TC>AA				
		p.Q61R	c.182A>G				
		p.Q61R	c.182_183AA>GT				
		p.Q61Q	c.183A>G				
4	117	p.K117R	c.350 A> G		117	p.K117R	c.350 A> G
		p.K117N	c.351A>C			p.K117N	c.351A>C
		p.K117E	c.349A>G			p.K117E	c.349A>G
		p.K117Q	c.349A>C			p.K117Q	c.349A>C
		p.K117T	c.350A>C			p.K117T	c.350A>C
		p.K117I	c.350A>T			p.K117I	c.350A>T
		p.K117N	c.351A>T			p.K117N	c.351A>T
	146	p.A146P	c.436G>C		146	p.A146P	c.436G>C
		p.A146T	c.436G>A			p.A146T	c.436G>A
		p.A146V	c.437C>T			p.A146V	c.437C>T
		p.A146S	c.436G>T			p.A146S	c.436G>T
		p.A146G	c.437C>G			p.A146G	c.437C>G
		p.A146E	c.437C>A			p.A146E	c.437C>A

ются чаще, что может быть обусловлено наличием большого количества редких кодонов в гене *KRAS*, приводящих к снижению трансляции белка [17]. Как правило, пациенты с такими мутациями имеют более агрессивный характер злокачественных новообразований и тяжело поддаются лечению [18]. Именно поэтому в настоящее время идет испытание таргетных препаратов, ингибирующих белки семейства Ras.

Главными соединениями, способными ингибировать белки Ras, считаются малые молекулы — химические компаунды с молекулярной массой не более 900 Дальтон [15]. Однако ингибирование мутантных белков Ras сопряжено с высокой токсичностью для нормальных тканей в силу того, что семейство Ras имеет до 300 субстратов [19]. Другая немаловажная причина для анализа спектра мутаций *KRAS* и *NRAS* заключается в том, что часть пациентов с мутациями в данных генах все же оказывается чувствительной к анти-EGFR-терапии. Например, носители мутации G13D оказываются чувствительными к терапии цетуксимабом [20, 21]. Потенциальное

объяснение такого феномена заключается в том, что в клетках с G12D-мутацией активируются преимущественно RAF- и PI3K-сигнальные пути, в то время как G12V, G12C или G13D мутации влияют на активацию RAL-сигнальных путей.

Таким образом, анализ наличия и спектра мутаций генов *KRAS* и *NRAS* становится необходимым требованием для лечения пациентов с КРР. Однако эффективность различных методов для анализа может существенно отличаться.

МЕТОДЫ АНАЛИЗА МУТАЦИЙ В ГЕНАХ *KRAS* И *NRAS*

На сегодняшний день золотым стандартом диагностики КРР является колоноскопия — инвазивный метод, сопряженный с существенным неудобством для пациента и высокой себестоимостью.

Другим подходом к диагностике КРР является молекулярно-генетический анализ биопсийного материала пациента в парафинизированных образцах, фиксированных в формалине (FFPE-блоки) [22], однако метод, так же связанный с инвазивной процедурой (биопсия опухоли), может иметь ложноотрицательные результаты анализа вследствие того, что опухолевые клетки в биопсийном материале могут отсутствовать или содержаться в крайне низком количестве. Гетерогенность опухоли в большинстве случаев обуславливает различные молекулярно-генетические профили, что является еще одним ограничением метода. Наконец, сама подготовка и фиксация материала приводит к значительной деградации и ухудшению качества анализируемой ДНК, поэтому исследование биопсийного материала не всегда дает полное представление об этиологии, а оценка динамики развития злокачественных новообразований невозможна.

В связи с этим в настоящее время активно развивается новое направление в диагностике — жидкая биопсия. В данном случае анализируется опухолевая ДНК, циркулирующая в кровотоке пациента (цДНК). При этом не требуется проведения классической биопсии, а для анализа берется венозная кровь пациента. За счет лизиса опухолевых клеток количество опухолевой цДНК в плазме увеличивается: это увеличение особенно заметно на поздних стадиях развития заболевания. На ранних стадиях количество клеток с мутациями не так велико, поэтому необходимо использовать достаточно чувствительные методы [23], например избирательное выявление мутантного аллеля методами цифровой полимеразной цепной реакции (ПЦР) или подавление

амплификации последовательностей дикого типа при ПЦР в режиме реального времени. Возможность подавлять амплификацию последовательностей дикого типа появляется при использовании комплементарных LNA-олигонуклеотидов (locked nucleic acids), где вместо обычных присутствуют основания с замкнутым кольцом рибозы в позициях C2 и C4 и метильная группа. За счет этого повышается температура плавления цепей примерно на 20°C по сравнению с обычными нуклеотидами, поэтому в реакции амплифицируется только мутантный аллель.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мутации в генах *KRAS* и *NRAS* являются наиболее значимыми прогностическими и терапевтическими биомаркерами у пациентов с КРР. Наличие мутантного аллеля в одном из этих генов говорит о неблагоприятных прогнозах для пациента и нечувствительности к анти-EGFR-терапии. В настоящий момент не существует официально зарегистрированного препарата, ингибирующего ГТФазы Ras, однако анализ мутаций позволяет выявить группу пациентов, отвечающих на анти-EGFR-терапию.

Жидкая биопсия является перспективным направлением для анализа мутаций в генах *KRAS* и *NRAS*. Цифровая ПЦР либо ПЦР с подавлением амплификации последовательностей дикого типа обладает необходимой чувствительностью для анализа опухолевой цДНК и позволяет избежать ограничений, связанных с исследованием биопсийного материала в FFPE-блоках.

В настоящий момент времени остро стоит вопрос о стандартизации методов анализа опухолевой цДНК и введении их в клиническую практику.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов. О.И. Бровкина — анализ литературных источников, написание статьи; А.Г. Никитин — анализ литературных источников, редактирование. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. O.I. Brovkina — literature analysis, manuscript writing; A.G. Nikitin — literature analysis, manuscript editing. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the ver-

sion to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Haggard FA, Boushey RP. Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clin Colon Rectal Surg.* 2009;22(4):191–197. doi: 10.1055/s-0029-1242458
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer.* 2015;136(5):E359–386. doi: 10.1002/ijc.29210
3. Pancione M, Remo A, Colantuoni V. Genetic and epigenetic events generate multiple pathways in colorectal cancer progression. *Pathol Res Int.* 2012;2012:509348. doi: 10.1155/2012/509348
4. Bishehsari F, Mahdavinia M, Vacca M, et al. Epidemiological transition of colorectal cancer in developing countries: Environmental factors, molecular pathways, and opportunities for prevention. *World J Gastroenterol.* 2014;20(20):6055–6072. doi: 10.3748/wjg.v20.i20.6055
5. Kondo Y, Issa JP. Epigenetic changes in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2004;23(1-2):29–39. doi: 10.1023/a:1025806911782
6. Cohen R, Pudlitz T, Delattre JF, et al. Molecular targets for the treatment of metastatic colorectal cancer. *Cancers (Basel).* 2020;12(9):2350. doi: 10.3390/cancers12092350
7. Issa JP. Colon Cancer: It's CIN or CIMP. *Clin Cancer Res.* 2008;14(19):5939–5940. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1596
8. Kwong LN, Dove WF. APC and its modifiers in colon cancer. *Adv Exp Med Biol.* 2009;656:85–106. doi: 10.1007/978-1-4419-1145-2_8
9. Linardou H, Briassoulis E, Dahabreh IJ, et al. All about KRAS for clinical oncology practice: gene profile, clinical implications and laboratory recommendations for somatic mutational testing in colorectal cancer. *Cancer Treat Rev.* 2011;37(3):221–233. doi: 10.1016/j.ctrv.2010.07.008
10. Писарева Е.Е., Любченко Л.Н., Коваленко С.П., Шамагин В.А. Анализ мутаций в генах KRAS и BRAF при раке тол-

стой и прямой кишки в российской популяции // Сибирский онкологический журнал. 2016. Т. 15, № 2. С. 36–41. [Pisareva EE, Ljubchenko LN, Kovalenko SP, Shamanin VA. Analysis of mutations in *kras* and *braf* genes in colorectal cancer in Russian patients. *Siberian Journal of Oncology.* 2016;15(2):36–41. (In Russ).] doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-2-36-41

11. Vaughn CP, Zobel SD, Furtado LV, et al. Frequency of KRAS, BRAF, and NRAS mutations in colorectal cancer. *Genes Chromosomes Cancer.* 2011;50(5):307–312. doi: 10.1002/gcc.20854

12. Molina JR, Adjei AA. The Ras/Raf/MAPK Pathway. *J Thorac Oncol Elsevier.* 2006;1(1):7–9.

13. Grothey A, Lenz HJ. Explaining the unexplainable: EGFR antibodies in colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2012;30(15):1735–1737. doi: 10.1200/JCO.2011.40.4194

14. Lièvre A, Bachet JB, Corre DL, et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res.* 2006;66(8):3992–3995. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0191

15. Cox AD, Fesik SW, Kimmelman AC, et al. Drugging the undruggable RAS: Mission Possible? *Nat Rev Drug Discov.* 2014;13(11):828–851. doi: 10.1038/nrd4389

16. Díaz LA, Williams R, Wu J, et al. The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers. *Nature.* 2012;486(7404):537–540. doi: 10.1038/nature11219

17. Lampson BL, Pershing NL, Prinz JA, et al. Rare codons regulate KRas oncogenesis. *Curr Biol.* 2013;23(1):70–75. doi: 10.1016/j.cub.2012.11.031

18. Porru M, Pompili L, Caruso C, et al. Targeting KRAS in metastatic colorectal cancer: current strategies and emerging opportunities. *J Exp Clin Cancer Res.* 2018;37(1):57. doi: 10.1186/s13046-018-0719-1

19. Liu M, Sjogren AK, Karlsson C, et al. Targeting the protein prenyltransferases efficiently reduces tumor development in mice with K-RAS-induced lung cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(14):6471–6476. doi: 10.1073/pnas.0908396107

20. Tejpar S, Celik I, Schlichting M, et al. Association of KRAS G13D tumor mutations with outcome in patients with metastatic colorectal cancer treated with first-line chemotherapy with or without cetuximab. *J Clin Oncol.* 2012;30(29):3570–3577. doi: 10.1200/JCO.2012.42.2592

21. Tural D, Selcukbiricik F, Erdamar S, et al. Association KRAS G13D tumor mutated outcome in patients with chemotherapy refractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *Hepato-gastroenterology.* 2013;60(125):1035–1040. doi: 10.5754/hge12983

22. Kapp JR, Diss T, Spicer J, et al. Variation in pre-PCR processing of FFPE samples leads to discrepancies in BRAF and EGFR mutation detection: a diagnostic RING trial. *J Clin Pathol.* 2014;68(2):111–118. doi: 10.1136/jclinpath-2014-202644

23. Емельянова М.А., Мазуренко Н.Н., Гагарин И.М., и др. Определение мутаций в гене EGFR при немелкоклеточном раке легкого с помощью биологических микрочипов // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2012. Т. 23, № 3. Р. 15–23. [Emel'yanova MA, Mazurenko NN, Gagarin I., et al. EGFR mutation detection using biological microchips in non-small cell lung cancer. *Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS.* 2012;23(3):15–23. (In Russ).]

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Никитин Алексей Георгиевич, к.б.н.;
Российская Федерация, 115682, Москва,
Ореховый бульвар, д. 28; e-mail: avialn@gmail.com;
eLibrary SPIN: 3367-0680;
ORCID: http://orcid.org/0000-0001-9762-3383

Соавтор:

Бровкина Ольга Игоревна, к.б.н.;
e-mail: brov.olia@gmail.com; eLibrary SPIN: 3631-1397;
ORCID: http://orcid.org/0000-0002-0946-7331

AUTHORS INFO

Alexey G. Nikitin, Cand. Sci. (Biol.); address: 28,
Orekhovy boulevard, Moscow, 115682, Russia;
e-mail: avialn@gmail.com; eLibrary SPIN: 3367-0680;
ORCID: http://orcid.org/0000-0001-9762-3383

Olga I. Brovkina, Cand. Sci. (Biol.);
e-mail: brov.olia@gmail.com; eLibrary SPIN: 3631-1397;
ORCID: http://orcid.org/0000-0002-0946-7331

НЕЙРОВИЗУАЛИЗАЦИЯ ПРИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕНИНГИТАХ У ДЕТЕЙ

© Н.В. Марченко¹, В.Б. Войтенков^{1,2}, Н.В. Скрипченко^{1,3}, Д.Л. Дубицкий¹, М.А. Бедова¹, А.С. Овчинников¹, Д.Н. Чуркина¹

¹ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Российская Федерация

² Академия постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России», Москва, Российская Федерация

³ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Представлены сведения о применении нейровизуализационных методов, а именно компьютерной томографии (КТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ), в качестве одного из инструментов диагностики при менингитах различной этиологии, в первую очередь при бактериальных гнойных менингитах. Каждая из методик имеет свое поле использования в зависимости от периода течения заболевания и состояния пациента (необходимость в проведении мероприятий интенсивной терапии, вентиляционной поддержке). Сведения о диагностической ценности данных КТ и структурной МРТ различаются и зависят от этиологии и периода воспалительного процесса. В последние годы в практику широко внедряются методики мультипараметрической МРТ, включающей, помимо структурной, диффузионно-взвешенные изображения (DWI), диффузионно-тензорные изображения (DTI) и МР-спектроскопию (МРС), а также исследования с искусственным контрастированием, применение которых, согласно ряду сообщений, более эффективно в этой роли. Таким образом, применение методик мультипараметрической МРТ и КТ с искусственным контрастированием перспективно и обоснованно в качестве инструмента диагностики у пациентов с бактериальными гнойными менингитами с точки зрения улучшения чувствительности методов.

Ключевые слова: магнитно-резонансная томография; компьютерная томография; бактериальный гнойный менингит.

Для цитирования: Марченко Н.В., Войтенков В.Б., Скрипченко Н.В., Дубицкий Д.Л., Бедова М.А., Овчинников А.С., Чуркина Д.Н. Нейровизуализация при бактериальных менингитах у детей. Клиническая практика. 2021;12(1):72–81. doi: 10.17816/clinpract64008

Поступила 19.02.2021

Принята 16.03.2021

Опубликована 01.04.2021

ОБОСНОВАНИЕ

Инфекции центральной нервной системы связаны с высокой смертностью и заболеваемостью во всех группах населения. Ранняя диагностика и лечение бактериального гнойного менингита и абсцесса головного мозга как возможного осложнения способствует улучшению исходов заболевания [1].

Бактериальные гнойные менингиты (БГМ) — группа заболеваний, имеющих сходные клинические и патоморфологические проявления, характеризующиеся сочетанием системной воспалительной реакции с воспалительным процессом в мягких мозговых оболочках в ответ на инвазию различных бактериальных агентов [2].

Заболеваемость БГМ зависит от региональных особенностей, социальных условий и наличия спе-

цифической профилактики инфицирования наиболее частыми возбудителями БГМ в той или другой стране. Общая заболеваемость БГМ колеблется от 2–5 случаев в развитых странах до 40–100 и более на 100 тыс. населения в странах «менингитного пояса» на Африканском континенте. В Российской Федерации заболеваемость БГМ у детей до 18 лет составляет 4–6 на 100 тыс. [2].

Летальность при БГМ может достигать 20–30%, в связи с чем диагноз бактериального менингита должен устанавливаться на ранней стадии, а исследование и лечение должны быть начаты незамедлительно [1].

Этиология БГМ варьирует в разные возрастные периоды и во многом зависит от предшествующих заболеванию факторов. БГМ может развиваться

ся как первично, без предшествующей общей инфекции или заболевания какого-либо органа, либо вторично, осложняя течение других инфекционных заболеваний, воспалительных поражений органов и систем [3]. В период новорожденности и у детей первых 3 мес жизни основными возбудителями являются *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* (B), *Staphylococcus spp.*, *Proteus mirabilis*, *Proteus morgani*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella spp.*, *Streptococcus spp. (non B)*, *Enterobacter spp.* У детей в возрасте от 3 мес до 5 лет наиболее часто менингиты вызывают *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* (b) (в странах, где не проводится плановая иммунизация от гемофильной инфекции, в том числе в Российской Федерации); у детей старше 5 лет и у взрослых подавляющее число менингитов (до 90–95%) обусловлено *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*. При вторичных менингитах наиболее часто встречаются *S. pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *E. coli*, *P. aeruginosa* [4].

Цель обзора — систематизация сведений о применении нейровизуализационных методов,

в первую очередь компьютерной (КТ) и магнитно-резонансной (МРТ) томографии, в качестве одного из инструментов диагностики при менингитах различной этиологии с учетом новых сведений о применении мультипараметрических методов.

НЕЙРОВИЗУАЛИЗАЦИОННЫЕ МЕТОДЫ — ИНСТРУМЕНТ ДИАГНОСТИКИ ПРИ МЕНИНГИТАХ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

К «классическим» клиническим проявлениям БГМ относится сочетание интенсивной головной боли, лихорадки, изменения сознания/психического статуса, симптомов менингизма (ригидность мышц шеи, гиперэстезия, фотофобия), однако у детей, особенно раннего возраста, характерных симптомов может не отмечаться.

Пациенты должны быть оценены на наличие признаков инфекций среднего уха, сосцевидного отростка или синусита, которые могут предшествовать менингиту. Исследования должны проводиться незамедлительно, чтобы подтвердить диагноз менингита и избежать задержки начала лечения. Люмбальная пункция с анализом цереброспиналь-

BACTERIAL MENINGITIS IMAGING IN CHILDREN

© N.V. Marchenko¹, V.B. Voitenkov^{1,2}, N.V. Scripchenko^{1,3}, D.L. Dubitsky¹, M.A. Bedova¹, A.S. Ovchinnikov¹, D.N. Churkina¹

¹ Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint Petersburg, Russian Federation

² Academy of Postgraduate Education under the FSBU "Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Assistance and Medical Technologies of the Federal Medical Biological Agency", Moscow, Russian Federation

³ Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russian Federation

In this review, we provide the data on the modern use of different MRI modalities and computer tomography (CT) as diagnostic and prognostic tools for meningitis of various etiology, first of all, bacterial purulent meningitis. Each of these techniques has its own field of application depending on the stage of the disease and the patient's condition (necessity of intensive care procedures, ventilation support). The opinions on the diagnostic value of CT and structural MRI data differ and depend on the etiology and phase of the inflammatory process. In the recent years, the techniques of multiparametric MRI are widely implemented in the practice. Beside structural MRI, they include diffusion-weighted imaging (DWI), diffusion tensor imaging (DTI) and MR spectroscopy (MRS), as well as studies with artificial contrast; there are some reports that these modalities are more effective as a diagnostic tool in meningitis. Thus, the use of multiparametric MRI techniques and CT with contrast is promising and justified for the diagnostics of patients with bacterial purulent meningitis from the viewpoint of enhanced sensitivity.

Keywords: magnetic resonance imaging; computed tomography; meningitis.

For citation: Marchenko NV, Voitenkov VB, Scripchenko NV, Dubitsky DL, Bedova MA, Ovchinnikov AS, Churkina DN. Bacterial Meningitis Imaging in Children. *Journal of Clinical Practice*. 2021;12(1):72–81. doi: 10.17816/clinpract64008

ной жидкости является наиболее важным исследованием для подтверждения бактериального менингита [5].

У детей перед проведением люмбальной пункции проводится ультразвуковое исследование (нейросонография) головного мозга: оценивается состояние пациента на наличие признаков смещения срединных структур и вклинения, очаговых изменений, что является противопоказанием к люмбальной пункции. Наиболее эффективна нейросонография у детей раннего возраста, когда еще сохраняются акустические доступы через роднички, и толщина костей черепа небольшая. Ультразвуковое исследование с доплерографией способно с высокой точностью диагностировать смещение срединных структур, отек головного мозга, тромбозы венозных синусов, субдуральный выпот, гидроцефалию, выявить признаки вентрикулита. Нейросонография менее эффективна в диагностике инсульта, церебрита, эмпиемы оболочек мозга [6].

В качестве дополнения к клиническому обследованию пациентов широко применяются методы инструментальной диагностики, в первую очередь экспертной нейровизуализации [6]. Среди методов нейровизуализации особое место занимают КТ, позволяющая сканировать пациентов с достаточной детализацией в течение короткого времени [6] и МРТ, имеющая максимальную мягкотканную разрешающую контрастность исследуемых органов и тканей [5]. По характеру проводимого исследования и задействуемых протоколов МРТ можно разделить на структурное, функциональное и исследование с искусственным контрастированием [5]. МРТ позволяет оценить анатомические особенности, распространенность общих и/или очаговых нарушений и их характер. Мультипараметрическая МРТ состоит из следующих методик: структурная МРТ, диффузионно-взвешенные изображения (diffusion weighted imaging, DWI), диффузионно-тензорные изображения (diffusion tensor imaging, DTI), МР-спектроскопия (МРС), T2-перфузия и отсроченное внутривенное контрастирование. При исследовании с искусственным контрастированием осуществляется введение контрастного вещества с последующей оценкой характера васкуляризации зоны интереса, целостности гематоэнцефалического барьера.

Применение нейровизуализационных показателей в прогнозировании течения воспалительных заболеваний головного мозга и его оболочек в настоящее время активно развивается [7]. Нейрови-

зуализационные методы позволяют выявлять отклонения от нормальной анатомической картины. Мозг покрыт несколькими защитными слоями — твердыми и мягкими. К ним относятся кости свода черепа; твердая, паутинная и мягкая оболочки; между ними находятся эпидуральное, субдуральное, субарахноидальное пространство. При воспалительных изменениях в подлежащих своду черепа структурах развивается менингит, при вовлечении в процесс вещества головного мозга — менингоэнцефалит.

Показаниями к КТ/МРТ головного мозга при подозрении на бактериальный гнойный менингит являются [2]:

- клиническая картина нарастающей внутричерепной гипертензии / отека головного мозга;
- наличие фонового заболевания центральной нервной системы;
- длительные судороги (особенно фокальные), впервые возникшие судороги;
- очаговая неврологическая симптоматика;
- пациенты с глубоким угнетением сознания (уровень по шкале комы Глазго <10);
- пациентам с тяжелыми иммунодефицитами.

Перед проведением КТ/МРТ необходимо стабилизировать гемодинамику больного [2].

Признаки менингеального усиления можно увидеть на КТ с контрастным усилением или МРТ, но зачастую сканирование является нативным (без применения контрастных веществ). Общее обоснование для выполнения КТ связано с опасениями по поводу выполнения люмбальной пункции при наличии значительно повышенного внутричерепного давления, что может привести к смещению структур мозга [2].

Нормальные проявления на КТ головы не исключают повышенного внутричерепного давления при бактериальном менингите, но данные могут быть использованы для исключения значительных объемных поражений, которые были бы противопоказаны при люмбальной пункции. В этой ситуации важно исключить абсцесс головного мозга и дислокацию структур.

КТ головного мозга проводится в основном при осложненном течении серозного менингита и направлена на выявление тяжелых нарушений, таких как дислокационный и гидроцефалический синдромы [8, 9]. Расширение субарахноидального пространства регистрируется у 50% пациентов с БГМ [6]. В тоже время роль КТ в оценке прогноза течения серозного менингита в настоящее вре-

мя не изучена [10, 11]. Проведенный нами анализ доступной литературы не дал работ с указанием конкретных значений чувствительности, специфичности и общей диагностической ценности данных методов. Все сведения носят разрозненный, иногда декларативный характер [9–11]. Отечность извилин и сглаженность борозд являются характерными и в тоже время неспецифичными признаками менингита, выявляемыми при проведении нативной КТ и МРТ [12, 13]. МР-визуализация является наиболее чувствительным способом выявления менингита: может быть видна аномальная гиперинтенсивность на FLAIR (fluid-attenuated inversion recovery — восстановление инверсии с ослаблением жидкости) и DWI-изображениях ($b > 800$ с/мм²) вдоль мозговых борозд.

Приблизительно у 55–70% пациентов с клинически доказанным менингитом при внутривенном контрастировании возможно обнаружение тонкого линейного накопления контрастного вещества в бороздах коры головного мозга [5]. На сегодняшний день показано, что чувствительность импульсных последовательностей FLAIR и DIR (double inversion recovery — восстановление двойной инверсии) в выявлении патологических изменений в оболочках головного мозга превосходит чувствительность T1-взвешенных изображений (T1-ВИ) вследствие подавления МР-сигнала от нежелательных тканей и меньшей зависимости от неоднородности магнитных полей [14] (рис. 1).

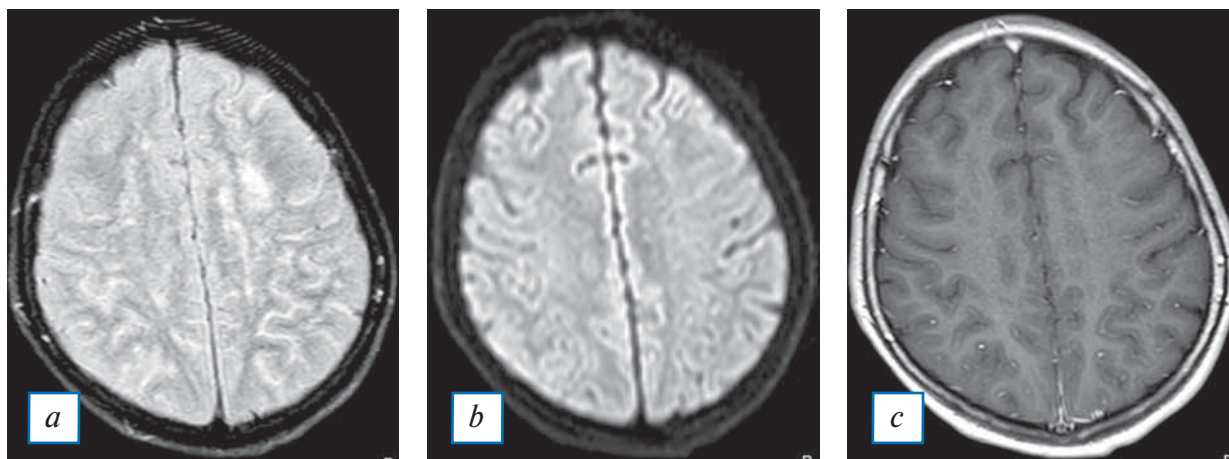
При введении контрастного вещества в норме может регистрироваться усиление сигнала от оболочек мозга, чаще парасагиттально; в наибольшей степени усиливается сигнал от твердой оболочки [6]. Паутинная оболочка в норме слишком тонкая, чтобы надлежащим образом визуализироваться при введении контрастного вещества [12]. Патологическое усиление сигнала будет в основном асимметричным, без четких границ, часто с распространением далеко вглубь по краям извилины [6]. Усиление сигнала от оболочек мозга в зависимости от его характера подразделяется на пахименингеальное, лептоменингеальное (диффузное и очаговое), гириформное корковое и эпендимальное.

Тонкие линейные участки усиления в бороздах мозга — типичный, но не облигатный паттерн острого бактериального и вирусного менингита, в то же время узловатое и более выраженное накопление контрастного вещества в базальных цистернах более характерно для гранулематозных менингитов и карциноматоза [15].

Терапия препаратами глюкокортикостероидов при БГМ, возможно, приводит к восстановлению поврежденного гематоэнцефалического барьера, что при нейровизуализации может проявляться нивелированием накопления контрастного вещества в оболочках и структурах мозга и приводить к диссоциации диагностической и клинической картины [6]. В тоже время существует мнение, что накопление контрастного вещества в оболочках мозга

Рис. 1. МРТ головного мозга пациента в возрасте 3 лет с бактериальным менингитом. Диффузное усиление МР-сигнала в FLAIR-режиме в области борозд мозга (а), изоинтенсивное — в режиме DWI (100 с/мм²) (б), без МР-признаков накопления контрастного вещества (с). Фокальные субкортикальные изменения без признаков повреждения гематоэнцефалического барьера (собственные данные).

Fig. 1. Brain MRI of a 3 year-old patient with bacterial meningitis. Diffuse increase in the MR signal in the FLAIR mode in the furrows of the brain, isointense in the DWI mode (1000 s/mm²), no signs of the contrast accumulation. Focal changes in the subcortical parts of the brain without signs of blood-brain barrier disturbance.



может быть связано со стазом его в расширенных просветах мелких сосудов мягкой и паутинной оболочек с развитием их гиперемии и отека [16, 17]. Данный вопрос до настоящего времени остается дискуссионным и требует дальнейшего изучения.

При менингите помимо собственно воспаления оболочек мозга может возникнуть ряд осложнений, таких как отек головного мозга (15–45%), субдуральный выпот (3,2–47%), васкулиты, тромбозы венозных синусов и инфаркты мозга (5–25%), гидроцефалия (3–10%), дислокационный синдром и эмпиема оболочек (3%) [18]. Обе нейровизуализационные методики играют важную роль при выявлении вышеперечисленных осложнений БГМ.

Лучевая картина изолированного неосложненного инфекционного поражения мозговых оболочек, как правило, неспецифична и не должна рассматриваться в отрыве от клинко-лабораторных данных конкретного пациента [19, 20]. Так, изменения при туберкулезном менингите выявляются, по некоторым сообщениям, лишь в 24% случаев [21], патогномичные паттерны, как правило, — при осложненном течении менингита и развитии менингоэнцефалита [16].

Применение современной последовательности MPTDWI позволяет выявлять ранние паренхима-

тозные и экстрааксиальные (внемозговые) осложнения менингитов отличие от структурной МРТ [2]. МРС и DWI позволяют лучше проводить дифференциальную диагностику между абсцессом головного мозга и кистозными опухолями [8].

Предполагается, что показатели фракционной анизотропии и измеряемого коэффициента диффузии (apparent diffusion coefficient, ADC) являются лучшими индикаторами активного диффузного воспаления оболочек по сравнению с T1-ВИ-последовательностью после проведения контрастирования. По данным DTI выявлено также, что у новорожденных с БГМ перивентрикулярно снижаются показатели фракционной анизотропии, что может указывать на наличие васкулита в этих областях с поражением белого вещества головного мозга [22].

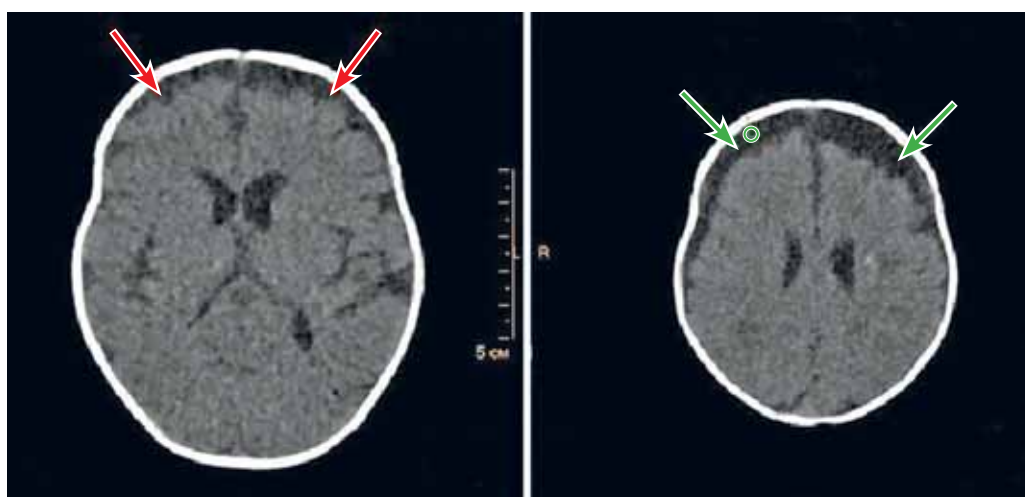
Пример изменений, выявляемых с помощью КТ при БГМ у детей, представлен на рис. 2.

Экстрааксиальное (внемозговое) накопление жидкости может быть стерильным (эффузии) или гнойным (эмпиема). Субдуральный выпот — характерное проявление гиперпродукции ликвора, часто наблюдаемое при БГМ [18, 23, 24].

КТ и МРТ имеют важное значение в диагностике фокальных пиогенных инфекций головного мозга [9, 11]. Характеристики КТ и МРТ варьируют в за-

Рис. 2. Бесконтрастная КТ головного мозга пациентки М., 3 мес, с диагнозом бактериального менингита менингококковой этиологии. Динамическое наблюдение в остром периоде с разницей 6 сут (первое наблюдение — в первые сутки поступления, красные стрелки). Нарастание изменений в виде расширения субарахноидального пространства (зеленые стрелки), снижения плотностных показателей серого вещества в области передних и задних рогов боковых желудочков (собственные данные).

Fig. 2. Contrast-free CT of the brain of a patient M, 3 months, diagnosis-bacterial meningitis of meningococcal etiology. Dynamic observation in the acute period with a difference of 6 days (the first observation on the first day of admission, red arrows). Increase of changes in the form of expansion of the subarachnoid space (green arrows), decrease in the density indicators of gray matter in the area of the anterior and posterior horns of the lateral ventricles (own data).



висимости от различных фаз мозговых инфекций, их можно произвольно разделить на четыре фазы. В начальной фазе церебрита КТ показывает низкоточный участок с нечеткими контурами и невыраженным масс-эффектом, что согласуется с проявлениями нейтрофильной инфильтрации в ответ на локальную инвазию инфекционного агента [11]. МР-изображения показывают очаг с гиперинтенсивным сигналом на T2-ВИ (и FLAIR) и гипоинтенсивным сигналом на T1-ВИ, с отеком вокруг очага поражения [12, 25, 26]. В данной фазе нет гнойной жидкости в очаге, но имеются признаки ограничения диффузии (на DWI); контрастное усиление в очаге поражения незначительно или отсутствует [27].

В поздней фазе церебрита фибробласты концентрируются по краям, поэтому на неконтрастных КТ-изображениях может быть выявлена неровная нечеткая зона отека. При контрастировании выявляется толстое кольцообразное или узелковое усиление. Периферия может продемонстрировать изоинтенсивный или незначительный гиперинтенсивный ободок на T1-ВИ (изо- или гипо- на T2-ВИ). Периферический отек вокруг зоны поражения гиперинтенсивен на T2-ВИ [27].

Некроз обычно располагается в центральной зоне поражения и имеет истинное ограничение диффузии на DWI. Сначала поражение проявляется в виде диффузного или узелкового усиления, после этого развивается центральный некроз с формированием утолщенного кольцевидного усиления

в капсуле абсцесса (рис. 3). Когда формирование капсулы завершено, абсцесс проявляется в виде округлой или яйцевидной области, что можно визуализировать также и на преконтрастных КТ-изображениях [28].

В позднюю фазу абсцесса центральная некротическая зона очага поражения уменьшается в размерах, и капсула становится изо- или гиперинтенсивной на T2-ВИ со сниженным накоплением контрастного вещества [28].

При пиогенной инфекции мозга гной может накапливаться в субдуральном и эпидуральном пространствах. Субдуральная эмпиема оболочек, как правило, развивается при тромбозе, распространяющемся через эмиссарные вены черепа из зараженной области. Эпидуральная эмпиема локализуется снаружи от твердой мозговой оболочки [26].

Скопление жидкости в основном регистрируется по фронтальной и темпоральной поверхности мозга, как правило, возникает масс-эффект [13, 29]. Повышение сигнала на последовательности T1-ВИ в подлежащей коре и наличие тромбоза расположенных рядом вен подтверждают наличие эмпиемы; также в данном случае отмечается усиление сигнала при DWI (>800 с/мм²) [30, 31].

Необходимо дифференцировать субдуральный выпот от субдуральной эмпиемы, т.к. последняя может вызвать такие осложнения, как тромбоз и энцефалит. При эмпиеме плотность

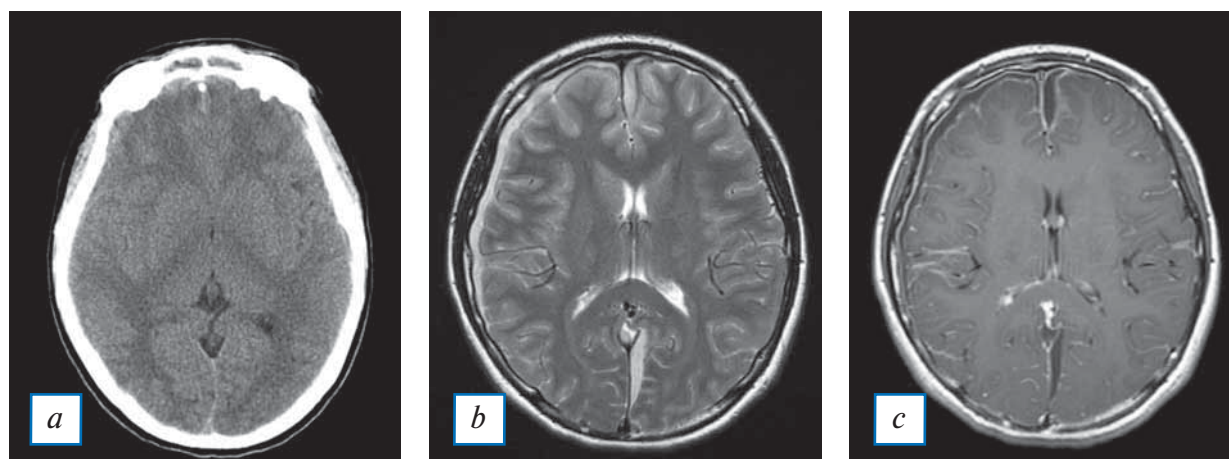
Рис. 3. МРТ головного мозга ребенка с клинически подтвержденным бактериальным эндокардитом (обведено красным): *a* — FLAIR (абсцесс в левой затылочной доле); *b* — карта измеряемого коэффициента диффузии (ограничение диффузии от содержимого абсцесса); *c* — T1-ВИ с внутривенным контрастированием (накопление контрастного препарата стенкой абсцесса).

Fig. 3. Brain MRI of a child with clinically confirmed bacterial endocarditis: *a* — FLAIR (abscess in the left occipital lobe); *b* — ADC map (restriction of diffusion from the contents of the abscess); *c* — T1-weighted brain MRI with contrast (contrast enhancement in the abscess wall).



Рис. 4. Нативная КТ и МРТ головного мозга с контрастным усилением у ребенка с клинически подтвержденным бактериальным менингитом: *a* — нативная КТ (экстрааксиальное скопление трансудата в левой лобной области, лобной пазухе); *b* — T2-ВИМРТ (обширная субдуральная эмпиема); *c* — T1-ВИМРТ (субдуральная эмпиема, лептоменингеальное накопление контрастного препарата) (собственные данные).

Fig. 4. Native CT and MRI in the T2 and T1 modes with contrast enhancement in a child with clinically confirmed bacterial meningitis. Own data. *a* — native brain CT scan (extra-axial collection medial to the left frontal lobe, frontal sinuses are opacified); *b* — T2-weighted MRI scan of brain (subdural empyema); *c* — T1-weighted brain MRI with contrast (subdural empyema, leptomeningeal contrast enhancement) (own data).



жидкости немного выше на КТ-изображениях (рис. 5), имеет повышенный МР-сигнал на T1-ВИ и FLAIR-изображениях из-за более высокой концентрации белка. При внутривенном контрастировании оболочки эмпиемы умеренно накапливают контрастное вещество. С появлением DWI дифференцировка простого выпота и эмпиемы при МРТ стала более доступной: эмпиема показывает более высокий сигнал на $DWI > 800 \text{ с/мм}^2$ и низкие значения ADC, такие же как в абсцессе. Протонная МРС может дополнять DWI и обычное МР-изображение. Некротическая жидкость бактериального абсцесса в поздней стадии лишена нормальных метаболитов головного мозга, таких как N-ацетиласпарат, холин и креатин.

Между тем увеличенные пиковые значения цитозольных аминокислот (0,9 ppm) и лактата (1,3 ppm) являются характеристиками нелеченого пиогенного абсцесса, которые могут сопровождаться пиками ацетата (1,9 ppm) и сукцината (2,4 ppm). Присутствие ацетата и сукцината позволяет предположить анаэробную природу развившегося состояния [15].

Вентрикулит является редким осложнением менингита. T1-ВИ, FLAIR и DWI чувствительны для демонстрации повышенного МР-сигнала от гноя в желудочковой системе. При контрастировании выявляется накопление контрастного вещества в эпандиме. Как упоминалось ранее, DWI полезны

в дифференциальной диагностике пиогенного абсцесса и других кольцевидных поражений (первичное новообразование, метастаз и гематома): при абсцессе снижение ADC обычно более выражено [12].

Развитие инфаркта вещества головного мозга при менингите является тяжелым осложнением. Среди пациентов с бактериальным менингитом инсульт может осложняться в 17–43% случаев. Дети наиболее подвержены повреждениям мозговой ткани при менингите. Указывается, что у 1/3 детей с острым бактериальным менингитом может развиться ишемический инсульт (инфаркт) (рис. 6) [32].

Патофизиология инфаркта головного мозга при бактериальном менингите установлена недостаточно: возможные причины — церебральная ангиопатия, стенозы артерий, васкулит, способствование свертываемости крови при инфекции [32].

Менингит может привести к артерииту крупных и мелких сосудов, что повышает риск развития артериального ишемического инсульта с формированием петехиальных кровоизлияний (реже к образованию гематом). Тромбозы венозных синусов также могут приводить к развитию инфарктов в головном мозге. Прогрессирующая артериопатия крупных сосудов приводит к неравномерным стенозам, в т.ч. сосудов Виллизиева круга, с возможными рецидивами инсультов [32].

Рис. 5. КТ (аксиальная плоскость) головного мозга пациента М., 4 мес, с диагностированным при поступлении менингитом неясной этиологии. Исследование выполнено в первые часы после поступления. Определяется расширение наружных ликворных пространств лобных областей с частично отграниченным скоплением белковой жидкости и формированием уровней седиментации (эмпиема указана стрелками). Фрагментарное неравномерное накопление контрастного вещества в паутинной оболочке: а — нативное сканирование; б — венозная фаза контрастирования (собственные данные).

Fig. 5. CT scan of the brain of a patient M., 4 months. Diagnosis at admission – meningitis of unknown etiology. The study was performed in the first hours after admission. The expansion of the external cerebrospinal fluid spaces of the frontal areas with a partially delimited accumulation of protein fluid and formation of sedimentation levels (empyema is marked by an arrow) is determined. Fragmented uneven accumulation of the contrast medium in the arachnoid membrane: a — CT scan of the brain, axial plane, native scan; b — CT scan of the brain, venous phase of contrast, axial plane (own data).

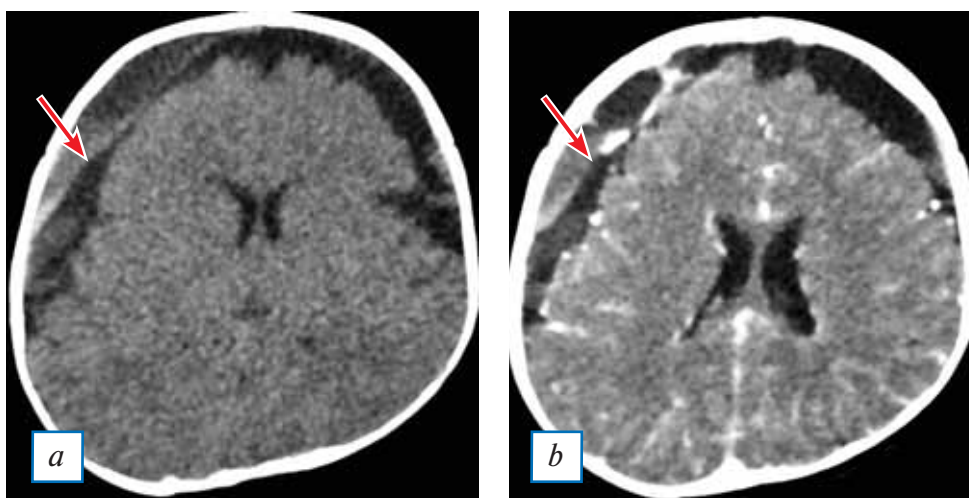
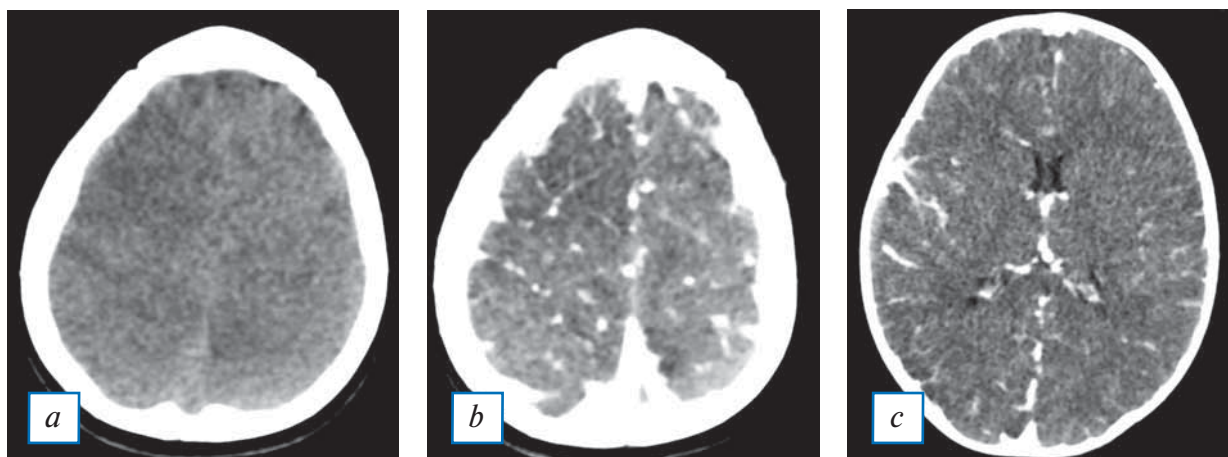


Рис. 6. Нативная КТ головного мозга (а) и КТ головного мозга с внутривенным контрастированием (b, c) пациента в возрасте 2 лет с менингитом, вызванным *Haemophilus influenzae* тип b. При нативной КТ в правой лобной доле определяется нечеткий гиподенсный (+25HU против +35HU) участок без признаков накопления контрастного вещества. Повышенное накопление контрастного вещества в прилегающих оболочках мозга (собственные данные).

Fig. 6. A 2-year old patient. Meningitis, etiology — *Haemophilus influenzae* (b). With native CT in the right frontal lobe, a fuzzy hypodensity (+ 25HUvs+ 35HU) area is determined without signs of contrast agent accumulation. Increased accumulation of the contrast medium in the adjacent shells of the brain. (own data). a — native CT scan of brain; b — CT scan of the brain with contrast; c — CT scan of brain with contrast, (own data).



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, применение КТ и МРТ в качестве инструмента диагностики при БГМ хорошо изучено, в особенности для выявления осложнений — поражения вещества мозга, эмпиемы, васкулита и т.д. Сведения о прогностической ценности данных методов нейровизуализации различаются по данным разных авторов и требуют дальнейшего изучения.

В последние годы в практику широко внедряются методики мультипараметрической МРТ, применение которой в качестве инструмента диагностики и прогнозирования характера течения БГМ перспективно и обоснованно ввиду возможности более глубокого изучения строения и функционирования пораженной ткани головного мозга, а не только его оболочек.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Woodhouse A. Bacterial meningitis and brain abscess. *Medicine*. 2017;45(11):657–663. doi: 10.1016/j.mpmed.2017.08.012
2. Скрипченко Н.В., Вильниц А.А., Иванова М.В. Федеральные рекомендации (протоколы) по диагностике и лечению бактериальных гнойных менингитов у детей. Санкт-Петербург, 2013. 60 с. [Skrpichenko NV, Vilnits AA, Ivanova MV. Federal recommendations (protocols) on diagnostic and management of the

bacterial meningitis in children. Saint Petersburg; 2013. 60 p. (In Russ).]

3. Скрипченко Н.В., Лобзин Ю.В., Иванова Г.П., и др. Нейроинфекции у детей // *Детские инфекции*. 2014. Т. 13, № 1. С. 8–18. [Skrpichenko NV, Lobzin YuV, Ivanova GP, et al. Neuroinfections in children. *Detskie infekcii*. 2014;13(1):8–18. (In Russ).]

4. Алексеева Л.А., Бессонова Т.В., Васильева Ю.П., и др. Гнойные менингиты у детей. Руководство для врачей. 2-е изд., переработанное. Санкт-Петербург: СИНЭЛ, 2017. 404 с. [Alexeeva LA, Bessonova TV, Vasilyeva YuP, et al. Bacterial meningitis in children. *Rukovodstvo dlya vrachev*. 2nd ed., revised. Saint Petersburg: SINEL; 2017. 404 p. (In Russ).]

5. Van de Beek D, Cabellos C, Dzupova O, et al. ESC-MID guideline: diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22 (Suppl 3):37–62. doi: 10.1016/j.cmi.2016.01.007

6. Bo G, Hongjun L, Meng L, eds. *Imaging of CNS Infections and Neuroimmunology*. Springer; 2019. 213 p.

7. Song Z, Chen X, Tang Y, Tang B. [Diagnostic value of magnetic resonance spectroscopy and intraoperative magnetic resonance imaging in the treatment of brain abscesses. (In Chinese)]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2014;94(25):1925–1928.

8. Zhang J, Hu X, Hu X, Ye Y. Clinical features, outcomes and molecular profiles of drug resistance in tuberculous meningitis in non-HIV patients. *Sci Rep*. 2016;6:19072. doi: 10.1038/srep19072

9. Shukla B, Aguilera EA. Aseptic Meningitis in adults and children: diagnostic and management challenges. *J Clin Virol*. 2017;94:110–114. doi: 10.1016/j.jcv.2017.07.016

10. Costerus JM, Brouwer MC. Cranial computed tomography, lumbar puncture, and clinical deterioration in bacterial meningitis: a nationwide cohort study. *Clin Infect Dis*. 2018;67(6):920–926. doi: 10.1093/cid/ciy200

11. Tuncer O, Caksen H. Cranial computed tomography in purulent meningitis of childhood. *Int J Neuroscience*. 2009;114(2):167–174. doi: 10.1080/00207450490269435

12. Mohan S, Jain KK, Arabi M, Shah GV. Imaging of meningitis and ventriculitis. *Neuroimaging Clin N Am*. 2012;22(4):557–583. doi: 10.1016/j.nic.2012.04.003

13. Saberi A, Roudbary SA, Ghayeghran A, et al. Diagnosis of meningitis caused by pathogenic microorganisms using magnetic resonance imaging: a systematic review. *Basic Clin Neurosci*. 2018;9(2):73–86. doi: 10.29252/nirp.bcn.9.2.73

14. Redpath TW, Smith FW. Use of a double inversion recovery pulse sequence to image selectively grey or white brain matter. *Br J Radiol*. 1994;67(804):1258–1263. doi: 10.1259/0007-1285-67-804-1258

15. Toh CH, Wei KC, Ng SH, et al. Differentiation of brain abscesses from necrotic glioblastomas and cystic metastatic brain tumors with diffusion tensor imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2011;32(9):1646–1651. doi: 10.3174/ajnr.A2581

16. Tosaka M, Sato N, Fujimaki H, Saito N. Wave-like appearance of diffuse pachymeningeal enhancement associated with intracranial hypotension. *Neurorad*. 2005;47(5):362–367. doi: 10.1007/s00234-005-1366-8

17. Bang OY, Kim DI, Yoon SR, Choi IS. Idiopathic hypertrophic pachymeningeal lesions: correlation between clinical patterns and neuroimaging characteristics. *Eur Neurol*. 1998;39(1):49–56. doi: 10.1159/000007897

18. Лобзин Ю.В., Рычкова С.В., Скрипченко Н.В., и др. Состояние инфекционной заболеваемости у детей в Российской Федерации за 2016–2017 гг. // *Медицина экстремальных ситуаций*. 2018. Т. 20, № 3. С. 253–261. [Lobzin YuV, Rychkova SV, Skripchenko NV, et al. Infectious diseases in children in Russian Federation in 2016–2017. *Medicina extremalih situacij*. 2018;20(3):253–261. (In Russ).]

19. Vachha B, Moonis G, Holodny A. Infections of the Brain and Meninges. *Semin Roentgenol*. 2017;52(1):2–9. doi: 10.1053/j.ro.2016.07.003

20. Biaukulaa VL, Tikoduadua L. Meningitis in children in Fiji: etiology, epidemiology, and neurological sequelae. *Int J Infect Dis*. 2012;16(4):289–295. doi: 10.1016/j.ijid.2011.12.013

21. Трофимова Т.Н., Ананьева Н.И., Назинкина Ю.В. Нейрорадиология. Санкт-Петербург: СПб МАПО, 2005. 288 с. [Trofimova TN, Ananyeva NI, Nazinkina YuV. Neuroradiology. Saint Petersburg: Saint Petersburg MAPO; 2005. 288 p. (In Russ).]

22. Kastrup O, Wanke I, Maschke M. Neuroimaging of infections of the central nervous system. *Semin Neurol*. 2008;28(4):511–522. doi: 10.1055/s-0028-1083688

23. Lin WC, Chen PC, Wang HC, et al. Diffusion tensor imaging study of white matter damage in chronic meningitis. *PLoS One*. 2014;9(6):e98210. doi: 10.1371/journal.pone.0098210

24. Mishra AM, Gupta RK, Saksena S, et al. Biological correlates of diffusivity in brain abscess. *Magn Reson Med*. 2005;54(4):878–885. doi: 10.1002/mrm.20645

25. Ekusheva E., Danilov A.B., Vein A.M. Hemiparesis syndrome: clinical-pathophysiological analysis. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2002; 102 (11): 18.

26. Muccio CF, Caranci F, D'Arco F, et al. Magnetic resonance features of pyogenic brain abscesses and differential diagnosis using morphological and functional imaging studies: a pictorial essay. *J Neuroradiol*. 2014;41(3):153–167. doi: 10.1016/j.neurad.2014.05.004

27. Kumar P, Suresh S. Acute Bacterial Meningitis Beyond the Neonatal Period. In: Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases, New York; 2018.

28. Weinberg GA. Brain Abscess. *Pediatr Rev*. 2018;39(5):270–272. doi: 10.1542/pir.2017-0147

29. Azad R, Tayal M, Azad S, et al. Qualitative and quantitative comparison of contrast-enhanced fluid-attenuated inversion recovery, magnetization transfer spin echo, and fat-saturation t1-weighted sequences in infectious meningitis. *Korean J Radiol*. 2017;18(6):973–982. doi: 10.3348/kjr.2017.18.6.973

30. Maruyama S, Kadera K, Kuratiji G, Suda M. [An infant in whom contrast-enhanced fluid attenuated inversion recovery (FLAIR) MRI was useful for the diagnosis of meningitis and devising a treatment strategy. (In Japanese)]. *No To Hattatsu*. 2017;49(1):42–45.

31. Екушева Е.В., Данилов А.Б. Наследственная спастическая параплегия. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2002; 8: 44.

32. Dunbar M. Stroke in pediatric bacterial meningitis: population-based epidemiology. *Pediatric Neurology*. 2018;89:11–18. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2018.09.005

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Бедова Мария Алексеевна;

адрес: Российская Федерация, 197022, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 9;

e-mail: dr.bedova@yandex.ru, eLibrary SPIN: 9667-3210,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8924-5300>

Соавторы:

Марченко Наталья Викторовна, к.м.н.;

e-mail: gmv2006@mail.ru, eLibrary SPIN: 9813-1529,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2684-9980>

Войтенков Владислав Борисович, к.м.н.;

e-mail: vlad203@inbox.ru, eLibrary SPIN: 6190-6930,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0448-7402>

Скрипченко Наталья Викторовна, д.м.н., профессор;

e-mail: snv@niidi.ru; eLibrary SPIN: 7980-4060;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8927-3176>

Дубицкий Дмитрий Леонидович, к.м.н.;

e-mail: ddl_spb@mail.ru; eLibrary SPIN: 6120-3730;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8277-6050>

Овчинников Артём Сергеевич;

e-mail: md-ovchinnikov@mail.ru;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9785-5512>

Чуркина Дарья Николаевна;

e-mail: churkina_darya@mail.ru;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6940-5431>

AUTHORS INFO

Mariia A. Bedova, MD;

address: 9 Prof. Popov street, 197022 Saint-Petersburg, Russia; e-mail: dr.bedova@yandex.ru,

eLibrary SPIN: 9667-3210, ORCID:

<https://orcid.org/0000-0001-8924-5300>

Natalia V. Marchenko, Cand. Sci. (Med.);

e-mail: gmv2006@mail.ru, eLibrary SPIN: 9813-1529,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2684-9980>

Vladislav B. Voitenkov, Cand. Sci. (Med.);

e-mail: vlad203@inbox.ru, eLibrary SPIN: 6190-6930,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0448-7402>

Natalia V. Skripchenko, Dr. Sci. (Med.), Professor;

e-mail: snv@niidi.ru; eLibrary SPIN: 7980-4060;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8927-3176>

Dmitry L. Dubitsky, Cand. Sci. (Med.);

e-mail: ddl_spb@mail.ru; eLibrary SPIN: 6120-3730;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8277-6050>

Artem S. Ovchinnikov, MD;

e-mail: md-ovchinnikov@mail.ru;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9785-5512>

Darya N. Churkina, MD;

e-mail: churkina_darya@mail.ru;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6940-5431>

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ В ПРАКТИКЕ ПАП-ТЕСТА МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ЦИТОЛОГИИ

© А.К. Аксаментов¹, Н.В. Мельникова^{1, 2}, Н.А. Колышкина¹, О.Н. Кучерова³, В.П. Баклаушев¹

¹ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий
Федерального медико-биологического агентства, Москва, Российская Федерация

² Российский научный центр рентгенорадиологии, Москва, Российская Федерация

³ Городская клиническая больница имени В.В. Виноградова Департамента здравоохранения города Москвы,
Москва, Российская Федерация

Роль проонкогенных штаммов вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки не вызывает сомнений. В настоящее время в программах скрининга рака шейки матки применяется стратегия котестирования, включающая цитологическое и ВПЧ-исследования, которые могут быть осуществлены одномоментно при помощи инновационного метода — жидкостной цитологии (ЖЦ). Новейшая технология позволяет проводить дополнительные диагностические генетические исследования, благодаря которым возможна более эффективная сортировка пациентов с целью оптимизации объема диагностических и лечебных мероприятий. В статье изучена эффективность диагностических тестов на основе оценки экспрессии микроРНК и мРНК, а также тестов на основе анализа метилирования ДНК по материалу ЖЦ. Внедрение в клиническую практику исследований новых молекулярно-генетических предикторов развития рака шейки матки расширяет возможности скрининговых программ, применяемых в настоящее время.

Ключевые слова: ПАП-тест; скрининг; рак шейки матки; микроРНК; мРНК; жидкостная цитология; метилирование ДНК.

Для цитирования: Аксаментов А.К., Мельникова Н.В., Колышкина Н.А., Кучерова О.Н., Баклаушев В.П. Дополнительные диагностические возможности в практике ПАП-теста методом жидкостной цитологии. *Клиническая практика*. 2021;12(1):82–89. doi: 10.17816/clinpract64982

Поступила 08.02.2021

Принята 08.03.2021

Опубликована 01.04.2021

Список сокращений

ВПЧ — вирус папилломы человека	CIN (cervical intraepithelial neoplasia) — цервикальная интраэпителиальная неоплазия
ВПЧ-ВР — вирус папилломы человека высокого онкогенного риска	HPV (human papilloma virus) — вирус папилломы человека
ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота	HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesion) — высокая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения
ЖЦ — жидкостная цитология	LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesion) — низкая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения
мРНК — матричная рибонуклеиновая кислота	RT-qPCR (real-time quantitative polymerase chain reaction) — количественная полимеразная цепная реакция в режиме реального времени
ПАП-тест — цервикальный мазок по Папаниколу	
РШМ — рак шейки матки	
ASCUS (atypical squamous cells undetermined significance) — атипичные клетки плоского эпителия неопределенного значения	
ASC-H (atypical squamous cells cannot exclude HSIL) — атипичные клетки плоского эпителия, не исключаящие HSIL	

ОБОСНОВАНИЕ

Ежегодно инфицирование проонкогенными штаммами вируса папилломы человека (ВПЧ) становится причиной 570 000 новых случаев рака шей-

ки матки (РШМ) в мире [1]. В России в 2019 г. злокачественные новообразования шейки матки были выявлены у 73 918 женщин (22,25 на 100 000 населения), при этом РШМ в стадии *in situ* диагности-

рован только в 4964 (28,2%) случаях. Показатель заболеваемости РШМ в Российской Федерации в 2019 г. находился на пятом месте среди всех злокачественных новообразований у женщин (5,0%).

РШМ является причиной смерти женщин моложе 30 лет в 8,0% случаев, а в возрасте 30–39 лет — в 24% [2].

В настоящее время для выявления предраковых поражений и РШМ следует придерживаться стратегии котестирования (цитологический + ВПЧ-анализ) последних клинических рекомендаций [3]. Цитологическое исследование может выполняться как традиционным, так и методом жидкостной цитологии, при использовании которого уменьшается процент некачественных мазков и существенно возрастает точность диагностики [4–6].

Жидкостная цитология (ЖЦ) — метод приготовления цитологических препаратов, при котором клетки перед фиксацией на предметном стекле погружаются в консервирующую жидкость, что позволяет улучшить качество и стандартизировать методику цитологического исследования [7]. ЖЦ все чаще используется в скрининге РШМ [8]. Чувствительность выявления $\geq$ CIN (cervical intraepi-

thelial neoplasia) III при цитологическом исследовании составляет от 46 до 50%, в то время как при ВПЧ-тестировании — 86–97%; $\geq$ CIN II — 38–65 и 63–98% соответственно [9]. Хотя общий риск инфицирования штаммами ВПЧ высокого онкогенного риска (ВПЧ-ВР) достаточно высок, более чем в 90% случаев инфекция элиминируется в течение 24 мес [10, 11].

Ограниченная чувствительность скрининга на основе только цитологического исследования обусловила внедрение первичного ВПЧ-тестирования в Великобритании, Нидерландах, Сан-Марино, Турции и Германии [12, 13], однако результатами ряда исследований были подтверждены низкая положительная прогностическая значимость и низкая специфичность (от 30 до 60% при обнаружении $\geq$ CIN III) ВПЧ-скрининга для выявления предраковых процессов и РШМ [14–18].

С целью дифференциальной диагностики тяжести поражения шейки матки наряду с ВПЧ-тестированием может производиться иммуноцитохимическое исследование для определения коэкспрессии онкобелков p16/Ki67 [3]. Совместное выполнение иммуноцитохимического и

ADDITIONAL DIAGNOSTIC CAPABILITIES IN THE PRACTICE OF A PAP-TEST USING LIQUID-BASED CYTOLOGY

© A.K. Aksamentov¹, N.V. Melnikova^{1,2}, N.A. Kolyshkina¹, O.N. Kucheroва³, V.P. Baklaushev¹

¹ Federal Research and Clinical Center of Specialized Medical Care and Medical Technologies FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation

² Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, Moscow, Russian Federation

³ City Clinical Hospital named after V.V. Vinogradov of the Department of Health of the city of Moscow, Moscow, Russian Federation

The role of oncogenic strains of human papillomavirus in the development of cervical cancer is currently not in doubt. In cervical cancer screening, a co-testing strategy is used, in which cytology and HPV testing are performed. When performing a cytological examination by liquid-based cytology, it is possible to conduct additional diagnostic studies that can be used to more effectively sort patients in order to optimize the volume of diagnostic and therapeutic measures. The article highlights the possibilities of diagnostic tests based on the assessment of microRNA and mRNA expression, as well as tests based on the analysis of DNA methylation from the cytological material. The introduction of new molecular genetic predictors of the cervical cancer development into clinical practice can increase the effectiveness of currently used screening programs.

Keywords: PAP-test; screening; cervical cancer; miRNA, mRNA, liquid-based cytology, DNA methylation.

For citation: Aksamentov AK, Melnikova NV, Kolyshkina NA, Kucheroва ON, Baklaushev VP. Additional Diagnostic Capabilities in the Practice of a PAP-test Using Liquid-Based Cytology. *Journal of Clinical Practice*. 2021;12(1):82–89. doi: 10.17816/clinpract64982

цитологического исследования несколько улучшает чувствительность и специфичность тестирования [19–22], но является достаточно субъективным, что накладывает ограничения на его использование [19, 23].

Таким образом, существует потребность в поиске новых, эффективных и специфичных биологических маркеров, которые точно и быстро определяют стадии развития патологического процесса шейки матки, что будет способствовать ведению пациента без излишнего медицинского вмешательства. С целью оптимизации молекулярно-генетических исследований следует рассмотреть использование остаточного материала консервирующей жидкости, применяемой при ЖЦ [24–27].

Цель — проанализировать возможности улучшения медицинской сортировки пациенток с предраковыми процессами шейки матки с помощью метода жидкостной цитологии с окраской по Папаниколау (ПАП-тест).

Анализ микроРНК

МикроРНК — короткие некодирующие РНК, состоящие в среднем из 22 нуклеотидов. Многие микроРНК тканеспецифичны и являются посттранскрипционными регуляторами экспрессии генов путем связывания оснований с целевыми РНК-носителями. МикроРНК могут быть сверхэкспрессированы или подавлены при раке и связаны с генетическими (например, делеции, амплификации и точечные мутации) и эпигенетическими (модификации гистонов и aberrантное метилирование ДНК) изменениями [28, 29].

В исследованиях, в которых для тестирования использовался остаточный материал ЖЦ, показана потенциальная эффективность применения в качестве молекулярного маркера прогрессирования плоскоклеточных интраэпителиальных поражений некоторых микроРНК (miR-34a, miR-218, miR-375, miR-424, miR-125b и let-7c) [30–32]. В частности, исследователи заявляют, что по сравнению с ПАП-тестом обнаружение как miR-424, так и miR-375 обеспечивает более высокую чувствительность (76,0 и 74,9 против 63,8%; $p < 0,05$) и сопоставимую специфичность при идентификации $\geq$ CIN II [32].

Анализ метилирования ДНК

Другим молекулярным маркером предраковых поражений и РШМ в современной литературе обсуждается анализ метилирования ДНК у ВПЧ-ВР-по-

ложительных пациентов. Метилирование ДНК — это индуцированная ферментом химическая модификация богатых цитозин-гуанином динуклеотидных участков (CpG-островков) в промоторных и/или кодирующих областях генов, приводящая к нормальным эпигенетическим функциональным изменениям генома. Аберрантное метилирование промотора гена — один из важных механизмов транскрипционной репрессии гена в процессе канцерогенеза [33, 34]. В литературе сообщается об эффективности как анализа метилирования ДНК человека, так и ДНК ВПЧ. Наиболее полно метилирование последовательности генома ВПЧ было изучено для вируса 16-го типа. Авторы сообщают, что гиперметилирование областей L1, L2, E2 и E4 связано с повышенным риском поражения $\geq$ CIN II при чувствительности 91% и специфичности 60% [35–37].

Сообщается, что более 100 генов человека являются возможными биомаркерами метилирования РШМ [38]. Проведено исследование оценки клинической эффективности молекулярного сортировочного теста на основе метилирования QIASure Methylation Test (Qiagen, Нидерланды) по материалу ПАП-теста ThinPrep (Hologic, США) и SurePath (Becton, Dickinson and Company, BD, США). QIASure Methylation Test — это тест-система на основе мультиплексной, специфичной к метилированию полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени для выявления гиперметилирования промоторов генов *FAM19A4* и *hsa-mir124-2*. Тест был оценен в 2384 ВПЧ-положительных образцах, полученных у женщин в возрасте 29–76 лет из четырех стран мира (Шотландия, Дания, Словения, Нидерланды). В 899 случаях результаты QIASure Methylation Test были сопоставлены с таковыми гистологического исследования: по результатам последнего, в 527 (58,6%) случаях не было выявлено предраковых поражений, в 124 подтверждена CIN II (5,2%), в 228 — CIN III (9,6%), в 20 — РШМ (0,8%). Авторы сообщают, что 19 из 20 выявленных образцов РШМ имели модификацию молекулы ДНК. Таким образом, чувствительность для группы РШМ составила 95%, для CIN II — 46,8%, для CIN III — 77,2%, для SCC — 95%, при этом общая специфичность для группы $\geq$ CIN II составила 78,3% [39].

Проведено также сравнение двух наиболее известных, коммерчески доступных диагностических тестов на основе метилирования ДНК — GynTest® (поиск метилированных участков ДНК в промоторных/-5'-областях генов *ASTN1*, *DLX1*, *ITGA4*, *RFXP3*,

SOX17 и ZNF671) и QIASure Methylation Test — с ассоциированными маркерами метилирования FAM19A4 и hsa-mir124-2. Так, GynTest® на примере 95 соскобов с шейки матки показал значимо более высокую специфичность по сравнению с QIASure Methylation Test: 87,6 против 67,4% ($p < 0,001$) для $\geq$ CIN II и 84,1 против 68,2% ($p = 0,002$) для $\geq$ CIN III. Авторы заявили также о высоких показателях метилирования FAM19A4 и hsa-mir124-2 в группе ВПЧ-ВР-положительных пациентов (52,4%), у которых CIN при гистологическом исследовании не получил подтверждения, при этом в другом исследовании показатель положительности теста на метилирование QIASure Methylation Test составлял 23,2% для ВПЧ-ВР-положительных случаев без CIN [40, 41].

Помимо маркеров метилирования ASTN1, DLX1, ITGA4, RXFP3, SOX17, ZNF671 (GynTest®) и FAM19A4, hsa-mir124-2 (QIASure Methylation Test) обсуждается также применение других детерминант. Так, маркерная панель CADM1/MAL/hsa-mir124-2 показала сходные характеристики при использовании материала ПАП-теста ThinPrep в качестве маркера сортировки ВПЧ-ВР-положительных пациентов (чувствительность 73,8%, специфичность 81,5%) [42]. Цитологические образцы ПАП-теста ThinPrep были использованы для оценки показателей метилирования EPB41L3 и JAM3 и дифференцирования случаев $\geq$ CIN II, диагностированных при гистологическом исследовании. Диагностическая точность метилирования ДНК сравнивалась со стратегиями на основе идентификации ВПЧ-ВР. Чувствительность оценки $\geq$ CIN II составила 72,13%, специфичность 91,53%, при этом чувствительность обнаружения ВПЧ-ВР достигла 89,62%, специфичность — 25,42% [43].

В другом исследовании анализ метилирования был выполнен для шести маркеров — ANKRD18CP, C13orf18, EPB41L3, JAM3, SOX1 и ZSCAN1. Биоматериал для исследования отбирался из остаточной консервирующей жидкости ThinPrep. Наиболее значимыми для обнаружения патологических изменений $\geq$ CIN II были показатели чувствительности и специфичности панели генов C13orf18/EPB41L3/JAM3 (80 и 66% соответственно) и панели SOX1/ZSCAN1 (63 и 84% соответственно) [44].

В исследовании, включавшем 205 образцов остаточного материала SurePath пациентов с различными результатами ПАП-теста, был проведен анализ метилирования ДНК четырех генов — ADCYAP1, PAX1, MAL и CADM1. Клетки РШМ

показали резко повышенный уровень метилирования всех четырех проанализированных генов. ADCYAP1 и PAX1 также имели тенденцию к повышенным уровням метилирования в образцах HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesion). Чувствительность к метилированным ADCYAP1, PAX1, MAL и CADM1 для выявления РШМ составила 79,2; 75,0; 70,8 и 52,1%, а специфичность, соответственно, 92,0; 94,0; 94,7 и 94,0% [45].

Исследование экспрессии мРНК генов человека

В литературе подчеркивается ценность детекции мРНК с помощью количественной ПЦР в жидкостной цитологии как менее субъективного исследования, нежели морфологическая оценка цитологического или гистологического препарата, и позволяющего оценить всю слизистую оболочку шейки матки в отличие от иммуногистохимического окрашивания [46–48].

Del Pino и соавт. [47] впервые показали возможность использования детекции мРНК прогностических генов хозяина в остаточной консервирующей жидкости от материала для ЖЦ. В образцах 123 пациентов с цитологически и гистологически подтвержденными патологическими изменениями эпителия шейки матки с помощью количественной ПЦР была проанализирована экспрессия мРНК 6 генов — CDKN2A, BIRC5, MMP9, TOP2A, MCM5 и MKI67. Исследование показало, что определение мРНК некоторых генов в остаточной консервирующей жидкости от материала для ЖЦ может быть полезным для обнаружения HSIL. Так, почти все исследуемые биомаркеры показали чувствительность к HSIL выше 81%. Оценка уровня экспрессии TOP2A продемонстрировала чувствительность, аналогичную тестированию на ВПЧ-ВР и лучшую (96%), чем цитология. Оценка уровня экспрессии CDKN2A/p16 при самой низкой чувствительности для диагностики HSIL продемонстрировала самую высокую специфичность (69%) по сравнению с другими биомаркерами. Комбинация оценки уровней экспрессии мРНК генов TOP2A и CDKN2A/p16 привела к адекватному балансу между чувствительностью и специфичностью и может быть использована при идентификации HSIL.

Исследование Н.У. Wang и соавт. [49] показало, что оценка коэкспрессии вирусной мРНК E6/E7 и мРНК hTERT гена человека может использоваться в качестве метода сортировки предраковых поражений шейки матки высокой и низкой степе-

ни. В работе использовалась комбинация тестов CervicGen HPV RT-qDX для обнаружения мПНК E6/E7 в 16 типах ВПЧ-ВР и CervicGen hTERT RT-qDX для исследования экспрессии *hTERT* (Optipharma, Osong, Корея) в диагностике поражений шейки матки высокой степени и злокачественных опухолей, а также для оценки прогнозируемых результатов с использованием 545 образцов ПАП-теста ThinPrep, при этом гистологически подтвержден 131 случай с использованием образцов биопсии или иссечения. Чувствительность и специфичность обнаружения мПНК E6/E7 с использованием множественной RT-qPCR в 545 образцах ПАП-теста ThinPrep составляли 91,1 и 96,7% соответственно по сравнению с цитологическими диагнозами. В образцах, которые были гистологически верифицированы как РШМ, CIN III, CIN II и CIN I, мПНК E6/E7 экспрессировалась в 95; 88; 100 и 50% случаев соответственно. Доля образцов, положительных по экспрессии мПНК *hTERT*, составляла 88,9; 100 и 100% для цитологически идентифицированных образцов РШМ, HSIL и ASC-H соответственно. Процент образцов, положительных для анализа мПНК *hTERT*, составлял 95,5; 100; 100 и 100% для образцов с гистологически диагностированным РШМ, CIN III, CIN II и CIN I соответственно. Уровень экспрессии мПНК *hTERT* был значимо выше при ASC-H и HSIL/РШМ ($p=0,0001$) по сравнению с образцами без патологических изменений. Уровни экспрессии мПНК *hTERT* во всех нормальных ($n=288$) образцах были ниже порогового значения, и поэтому специфичность RT-qPCR мПНК *hTERT* составляла 100%. Соответственно, анализ уровней экспрессии *hTERT* может использоваться для уменьшения ложноотрицательных результатов при цитологическом исследовании, но только в качестве дополнения к морфологическому исследованию.

Комбинация результатов оценки экспрессии мПНК E6/E7 и *hTERT* показала 100% чувствительность в случаях HSIL и РШМ и 100% — в образцах LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesion) и ASC-US (atypical squamous cells undertermined significance — атипичные клетки плоского эпителия неопределенного значения), которые были гистологически диагностированы как предраковые поражения, при этом детекция ДНК ВПЧ была ниже (56,8%).

В одном из наших предыдущих исследований [50] мы оценили возможность проведения дифференцировки пациенток с $\geq$ CIN II и $\leq$ CIN I на основе экспрессии 21-генной панели мПНК методом

количественной ПЦР в материале консервирующей жидкости флакона с образцами ПАП-теста CellPrep.

Для оценки возможности дифференцировки пациенток с $\geq$ CIN II и $\leq$ CIN I была оценена экспрессия мПНК 21-генной панели. Уровень экспрессии мПНК 21 гена (*Ki-67*, *STK-15*, *CCNB1*, *CCND1*, *MYC*, *MYBL2*, *P16INK4A*, *PTEN*, *BIRC5*, *BCL2*, *BAG1*, *TERT*, *NDRG1*, *ESR1*, *PGR*, *HER2*, *GRB7*, *MGB1*, *MMP11*, *CTSL2*, *CD68*) определяли методом количественной ПЦР в материале консервирующей жидкости флакона после ПАП-теста CellPrep у 59 пациенток, проходивших лечение в ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России в 2015–2016 гг. Критерием достоверности были результаты сопоставления с последующим гистологическим исследованием. По данным дискриминантного анализа установлено, что сочетанная оценка уровней экспрессии мПНК генов *ESR1* и *MYBL2* позволяет провести правильную классификацию для пациенток с изменениями $\geq$ CIN II в 88,24% случаев, а для пациенток с гистологически подтвержденной $\leq$ CIN I — в 84,0%. Сочетанная оценка уровней экспрессии мПНК 17 генов (*ESR1*, *MYBL2*, *CD68*, *PTEN*, *CCND1*, *BCL2*, *HER2*, *MMP11*, *TERT*, *STK15*, *P16INK4A*, *BAG1*, *CTSL2*, *Ki67*, *CCNB1*, *GRB7*, *NDRG1*) позволяет с точностью 98,3% дифференцировать группы $\geq$ CIN II и $\leq$ CIN I. Совпадение классификации с данными гистологического исследования для группы $\geq$ CIN II составило 100,0% случаев, для группы с гистологически подтвержденной $\leq$ CIN I — 96,0%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время в Российской Федерации рекомендовано котестирование с использованием цитологического метода в качестве первичной сортировки с последующим ВПЧ-ВР-исследованием, которое характеризуется большей чувствительностью, определяющим необходимость направления пациента на кольпоскопию. Исследование новых молекулярно-генетических предикторов, получившее развитие в последнее десятилетие, поможет улучшить возможности сортировки пациентов, что будет способствовать оптимизации объема диагностических и лечебных мероприятий. Внедрение методов такой количественной оценки в качестве дополнения к существующей морфологической оценке позволит более эффективно решать проблему выявления предраковых поражений шейки матки.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов. А.К. Аксаметов — анализ литературы, написание рукописи; В.П. Баклаушев, Н.В. Мельникова — идея и концепция обзора, анализ литературы, редактирование рукописи; Н.А. Колышкина, О.Н. Кучерова — анализ литературы с точки зрения клинической релевантности, редактирование рукописи. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. A.K. Aksamentov — literature analysis, manuscript writing; V.P. Baklaushev, N.V. Melnikova — concept of the review, literature analysis, manuscript editing; N.A. Kolyshkina, O.N. Kucheroва — literature analysis from the viewpoint of clinical relevance, manuscript editing. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования

Поисково-аналитическая работа проведена на личные средства авторского коллектива.

Funding source. The study had no sponsorship.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wild CP, Weiderpass E, Stewart BW. World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2020. Available from: <https://www.iarc.who.int/featured-news/new-world-cancer-report/>
2. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. 252 с. [Malignant neoplasms in Russia in 2019 (morbidity and mortality). Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow: P.A. Herzen Moscow State Medical Research Institute-branch of the Federal State Budgetary Institution «NMIC of Radiology» of the Ministry of Health of Russia; 2020. 252 p. (In Russ).]
3. Клинические рекомендации. Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки. Общероссийская общественная организация «Российское общество специалистов по профилактике и лечению опухолей репродуктивной системы», Российское общество акушеров-гине-

кологов, 2020. [Clinical recommendations. Cervical intraepithelial neoplasia, erosion and ectropion of the cervix. All-Russian public organization «Russian Society of Specialists in the Prevention and Treatment of Tumors of the Reproductive System», Russian Society of Obstetricians and Gynecologists; 2020. (In Russ).] Режим доступа: <https://sudact.ru/law/klinicheskie-rekomendatsii-tservikalnaia-intraepitelialnaia-neoplazii-erozii-i-klinicheskie-rekomendatsii/>. Дата обращения: 12.02.2021.

4. Rozemeijer K, Penning C, Siebers AG, et al. Comparing SurePath, ThinPrep, and conventional cytology as primary test method: SurePath is associated with increased CIN II + detection rates. *Cancer Causes Control*. 2016;27(1):15–25. doi: 10.1007/s10552-015-0678-1
5. De Oliveira AC, Domingues MF, Neufeld PM, et al. Comparison between Conventional Cytology and Liquid-Based Cytology in the Tertiary Brazilian Navy Hospital in Rio de Janeiro. *Acta Cytol*. 2020;64(6):539–546. doi: 10.1159/000508018
6. Taylor S, Kuhn L, Dupree W, et al. Direct comparison of liquid-based and conventional cytology in a South African screening trial. *Int J Cancer*. 2006;118(4):957–962. doi: 10.1002/ijc.21434
7. Comprehensive Cytopathology. 3th Edition. Bibbo M.D., Wilbur, Elsevier; 2008.
8. Hoda RS, VandenBussche C, Hoda SA. Liquid-Based Specimen Collection, Preparation, and Morphology. In: Hoda RS, VandenBussche C, Hoda SA, ed. Diagnostic Liquid-Based Cytology. Berlin, Heidelberg: Springer; 2017. P. 1–12.
9. Whitlock EP, Vesco KK, Eder M, et al. Liquid-based cytology and human papillomavirus testing to screen for cervical cancer: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2011;155(10):687–697. doi: 10.7326/0003-4819-155-10-201111150-00376
10. Ho GY, et al. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med*. 1998;338(7):423–428. doi: 10.1056/NEJM199802123380703
11. Koliopoulos G, et al. Diagnostic accuracy of human papillomavirus testing in primary cervical screening: a systematic review and meta-analysis of non-randomized studies. *Gynecol Oncol*. 2007;104(1):232–246. doi: 10.1016/j.ygyno.2006.08.053
12. Mayrand MH, et al. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med*. 2007;357(16):1579–1588. doi: 10.1056/NEJMoa071430
13. Altobelli E, et al. HPV-vaccination and cancer cervical screening in 53 WHO European Countries: An update on prevention programs according to income level. *Cancer Med*. 2019;8(5):2524–2534. doi: 10.1002/cam4.2048
14. Leeman A, et al. Reliable identification of women with CIN3+ using hrHPV genotyping and methylation markers in a cytology-screened referral population. *Int J Cancer*. 2019;144(1):160–168. doi: 10.1002/ijc.31787
15. Schmitz M, et al. Performance of a methylation specific real-time PCR assay as a triage test for HPV-positive women. *Clin Epigenetics*. 2017;9. doi: 10.1186/s13148-017-0419-2
16. Arbyn M, et al. Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer. *Vaccine*. 2012;30(Suppl 5):F88–99. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.06.095
17. Bergeron C, et al. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results. *Cancer Cytopathol*. 2015;123(6):373–381. doi: 10.1002/cncy.21542
18. Lannér L, Lindström AK. Incidence of HPV and HPV related dysplasia in elderly women in Sweden. *PLoS One*. 2020;15(3):e0229758. doi: 10.1371/journal.pone.0229758
19. Luttmer R, et al. p16/Ki-67 dual-stained cytology for detecting cervical (pre)cancer in a HPV-positive gynecologic outpatient population. *Mod Pathol Off. J. U. S. Can Acad Pathol Inc*. 2016;29(8):870–878. doi: 10.1038/modpathol.2016.80
20. Wentzensen N, et al. p16/Ki-67 Dual Stain Cytology for Detection of Cervical Precancer in HPV-Positive Women. *JNCI J. Natl. Cancer Inst*. 2015;107(12). doi: 10.1093/jnci/djv257

21. Wentzensen N, et al. Clinical Evaluation of Human Papillomavirus Screening With p16/Ki-67 Dual Stain Triage in a Large Organized Cervical Cancer Screening Program. *JAMA Intern Med.* 2019;179(7):881–888. doi: 10.1001/jamainternmed.2019.0306
22. Carozzi F, et al. Use of p16-INK4A overexpression to increase the specificity of human papillomavirus testing: a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2008;9(10):937–945. doi: 10.1016/S1470-2045(08)70208-0
23. Ovestad IT, et al. Clinical value of fully automated p16/Ki-67 dual staining in the triage of HPV-positive women in the Norwegian Cervical Cancer Screening Program. *Cancer Cytopathol.* 2017;125(4):283–291. doi: 10.1002/cncy.21807
24. Collaço LM, Zardo L. CHAPTER 3 – Cytologic Screening Programs. *Comprehensive Cytopathology (Third Edition)*. Ed. Bibbo M., Wilbur D. Edinburgh: W.B. Saunders; 2008. P. 47–57.
25. Jamison J, Wilson RT, Carson J. The evaluation of human papillomavirus genotyping in cervical liquid-based cytology specimens; using the Roche Linear Array HPV genotyping assay. *Cytopathol Off J Br Soc Clin Cytol.* 2009;20(4):242–248. doi: 10.1111/j.1365-2303.2009.00643.x
26. Sahebali S, et al. Immunocytochemistry in liquid-based cervical cytology: analysis of clinical use following a cross-sectional study. *Int J Cancer.* 2006;118(5):1254–1260. doi: 10.1002/ijc.21489
27. Bubendorf L. Multiprobe fluorescence in situ hybridization (UroVysion) for the detection of urothelial carcinoma – FISHing for the right catch. *Acta Cytol.* 2011;55(2):113–119. doi: 10.1159/000323652
28. Macfarlane LA, Murphy PR. MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer. *Curr Genomics.* 2010;11(7):537–561. doi: 10.2174/138920210793175895
29. Iorio MV, Croce CM. Causes and consequences of microRNA dysregulation. *Cancer J Sudbury Mass.* 2012;18(3):215–222. doi: 10.1097/PPO.0b013e318250c001
30. Ribeiro J, et al. miR-34a and miR-125b Expression in HPV Infection and Cervical Cancer Development. *BioMed Res. Int.* 2015;(2015):304584. doi: 10.1155/2015/304584
31. Malta M, et al. Let-7c is a Candidate Biomarker for Cervical Intraepithelial Lesions: A Pilot Study. *Mol Diagn Ther.* 2015;19(3):191–196. doi: 10.1007/s40291-015-0145-4
32. Tian Q, et al. MicroRNA detection in cervical exfoliated cells as a triage for human papillomavirus-positive women. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106:9. doi: 10.1093/jnci/dju241
33. Lu J, et al. Regulation of Canonical Oncogenic Signaling Pathways in Cancer via DNA Methylation. *Cancers.* 2020;12:11. doi: 10.3390/cancers12113199
34. Tirado-Magallanes R, et al. Whole genome DNA methylation: beyond genes silencing. *Oncotarget.* 2016;8(3):5629–5637. doi: 10.18632/oncotarget.13562
35. Mirabello L, et al. Elevated methylation of HPV16 DNA is associated with the development of high grade cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer.* 2013;132(6):1412–1422. doi: 10.1002/ijc.27750
36. Piyathilake CJ, et al. A higher degree of methylation of the HPV 16 E6 gene is associated with a lower likelihood of being diagnosed with cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer.* 2011;117(5):957–963. doi: 10.1002/cncr.25511
37. Kottaridi C, et al. Quantitative Measurement of L1 Human Papillomavirus Type 16 Methylation for the Prediction of Preinvasive and Invasive Cervical Disease. *J Infect Dis.* 2017;215(5):764–771. doi: 10.1093/infdis/jiw645
38. Lorincz AT. Virtues and Weaknesses of DNA Methylation as a Test for Cervical Cancer Prevention. *Acta Cytol.* 2016;60(6):501–512. doi: 10.1159/000450595
39. Bonde J, et al. Methylation markers FAM19A4 and MIR124-2 as triage strategy for primary human papillomavirus screen positive women: A large European multicenter study. *Int J Cancer.* 2021;148(2):396–405. doi: 10.1002/ijc.33320
40. Leeman A, et al. Expression of p16 and HPV E4 on biopsy samples and methylation of FAM19A4 and miR124-2 on cervical cytology samples in the classification of cervical squamous intraepithelial lesions. *Cancer Med.* 2020;9(7):2454–2461. doi: 10.1002/cam4.2855
41. Dippmann C, et al. Triage of hrHPV-positive women: comparison of two commercial methylation-specific PCR assays. *Clin Epigenetics.* 2020;12. doi: 10.1186/s13148-020-00963-w
42. De Vuyst H, et al. Methylation Levels of CADM1, MAL, and MIR124-2 in Cervical Scrapes for Triage of HIV-Infected, High-Risk HPV-Positive Women in Kenya. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2015;70(3):311–318. doi: 10.1097/QAI.0000000000000744
43. Kong L, et al. DNA methylation for cervical cancer screening: a training set in China. *Clin Epigenetics.* 2020;12. doi: 10.1186/s13148-020-00885-7
44. van Leeuwen RW, et al. DNA methylation markers as a triage test for identification of cervical lesions in a high risk human papillomavirus positive screening cohort. *Int J Cancer.* 2019;144(4):746–754. doi: 10.1002/ijc.31897
45. Kim MK, et al. DNA methylation in human papillomavirus-infected cervical cells is elevated in high-grade squamous intraepithelial lesions and cancer. *J Gynecol Oncol.* 2016;27:2. doi: 10.3802/jgo.2016.27.e14
46. Tsoumpou I, et al. p16(INK4a) immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev.* 2009;35(3):210–220. doi: 10.1016/j.ctrv.2008.10.005
47. Del Pino M, et al. mRNA biomarker detection in liquid-based cytology: a new approach in the prevention of cervical cancer. *Mod Pathol Off J. U. S. Can Acad Pathol Inc.* 2015;28(2):312–320. doi: 10.1038/modpathol.2014.106
48. Мельникова Н.В., Антонова И.Б., Бабаева Н.А., и др. Результаты выявления, типирования и количественного определения вируса папилломы человека методом ПЦР в практике жидкостной цитологии у женщин в постменопаузе // *Вестник Российского научного центра рентгенрадиологии.* 2020. Т. 20, № 4. С. 134–151. [Melnikova NV, Antonova IB, Babaeva NA, et al. Results of detection, typing and quantification of human papillomavirus by PCR in the practice of liquid cytology in postmenopausal women. *Bulletin of the Russian Scientific Center of Roentgenoradiology.* 2020;20(4): 134–151. (In Russ).]
49. Wang HY, et al. Use of hTERT and HPV E6/E7 mRNA RT-qPCR TaqMan assays in combination for diagnosing high-grade cervical lesions and malignant tumors. *Am J Clin Pathol.* 2015;143(3):344–351. doi: 10.1309/AJCPF2XGZ2XIYQX
50. Мельникова Н.В., Боженко В.К., Антонова И.Б., и др. Цервикальные интраэпителиальные неоплазии: анализ профиля МРНК в практике жидкостной цитологии // *Акушерство и гинекология.* 2017. № 4. 95–100. [Melnikova NV, Bozhenko VK, Antonova IB, et al. Cervical intraepithelial neoplasia: analysis of mrna profile in the practice of liquid-based cytology. *Obstetrics and gynecology.* 2017;(4). 95–100. (In Russ).] doi: 10.18565/AIG.2017.4.95-100

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Аксаментов Артём Константинович;

адрес: Российская Федерация, 115682, Москва, Ореховый бульвар, д. 28; e-mail: temaaxe@rambler.ru; eLibrary SPIN: 7861-6556; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7980-2537>

AUTHORS INFO

Artem K. Aksamentov, MD;

address: 28 Orekhovy boulevard, Moscow, 115682, Russia; e-mail: temaaxe@rambler.ru; eLibrary SPIN: 7861-6556; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7980-2537>

Соавторы:

Мельникова Надежда Васильевна, к.м.н.;
e-mail: n_melnikova@list.ru; eLibrary SPIN: 5050-8605;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1193-352X>

Колышкина Надежда Александровна,
e-mail: baklab_83@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4486-5412>

Кучерова Ольга Николаевна, к.м.н.;
e-mail: ola-kucheroва@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3773-9629>

Баклаушев Владимир Павлович, д.м.н.;
e-mail: baklaushev.vp@fnkc-fmba.ru;
eLibrary SPIN: 3968-2971;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1039-4245>

Nadezhda V. Melnikova, Cand. Sci. (Med.);
e-mail: n_melnikova@list.ru; eLibrary SPIN: 5050-8605;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1193-352X>

Nadezhda A. Kolyshkina, MD;
e-mail: baklab_83@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4486-5412>

Olga N. Kucheroва, Cand. Sci. (Med);
e-mail: ola-kucheroва@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3773-9629>

Vladimir P. Baklaushev, Dr. Sci. (Med.);
e-mail: baklaushev.vp@fnkc-fmba.ru;
eLibrary SPIN: 3968-2971;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1039-4245>

ПРИМЕНЕНИЕ АДДИТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ 3D-ПЕЧАТИ В НЕЙРОХИРУРГИИ, ВЕРТЕБРОЛОГИИ, ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ

© А.В. Яриков^{1,2}, Р.О. Горбатов^{3,4}, А.А. Денисов⁵, И.И. Смирнов², А.П. Фраерман², А.Г. Соснин¹, О.А. Перльмуттер², А.А. Калинин⁶

¹ Приволжский окружной медицинский центр Федерального медико-биологического агентства, Нижний Новгород, Российская Федерация

² Городская клиническая больница № 39, Нижний Новгород, Российская Федерация

³ Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Российская Федерация

⁴ ООО «Гито-Инновация», Нижний Новгород, Российская Федерация

⁵ Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Р.Р. Вредена, Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁶ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Российская Федерация

Аддитивные технологии в настоящее время находят широкое применение в различных областях клинической медицины. В частности, широкое распространение 3D-печать получила в нейрохирургии, вертеб্রологии и травматологии-ортопедии. В статье подробно изложены основные принципы медицинской 3D-печати; дана современная классификация 3D-принтеров (FDM, SLA, SLS и др.), основанных на принципах печати. Изложены основные преимущества и недостатки вышеперечисленных 3D-принтеров и области клинической медицины, в которых они применяются. Представлен опыт применения 3D-печати с учетом данных современной научной литературы. Особая роль уделена использованию 3D-печати в изготовлении индивидуальных имплантатов при краниопластиках. Технологии 3D-печати в реконструктивной нейрохирургии дают возможность создания высокоточных имплантатов, снижения времени оперативного вмешательства и улучшения эстетического эффекта операции. Приведены данные современной литературы о применении 3D-печати в вертеб্রологии, где особая роль уделена направлятелям для установки транспедикулярных винтов и индивидуальным лордозизирующим кейджам. Применение индивидуальных направлятелей, особенно при тяжелых деформациях позвоночника, позволяет снизить риск мальпозиции металлоконструкции и длительность оперативного вмешательства. Широкое распространение данная методика получила также в травматологии и ортопедии, где при помощи 3D-печати создаются индивидуальные имплантаты из титана и костнозамещающего материала, благодаря которым появилась возможность замещения любых по форме, сложности и размерам костных дефектов и создания гибридных экзопротезов. Описана роль 3D-моделирования и 3D-печати в обучении медицинских кадров на современном этапе. Представлен собственный опыт применения 3D-моделирования и 3D-печати в реконструктивной нейрохирургии и вертеб্রологии.

Ключевые слова: аддитивные технологии; персонифицированная медицина; 3D-печать; 3D-моделирование; 3D-печать в медицине; предоперационные макеты.

Для цитирования: Яриков А.В., Горбатов Р.О., Денисов А.А., Смирнов И.И., Фраерман А.П., Соснин А.Г., Перльмуттер О.А., Калинин А.А. Применение аддитивных технологий 3D-печати в нейрохирургии, вертеб্রологии, травматологии и ортопедии. *Клиническая практика*. 2021;12(1):90–104. doi: 10.17816/clinpract64944

Поступила 01.02.2021

Принята 16.02.2021

Опубликована 01.04.2021

ОБОСНОВАНИЕ

XXI век продолжает удивлять нас новыми технологиями, которые постепенно внедряются в медицину [1–3]. Одним из интересных и полезных достижений последнего времени является 3D-печать

(3D printing, 3DP), которая в настоящее время стала доступна всем желающим [4–6]. 3D-принтер — это устройство, позволяющее на основе разработанной компьютерной модели изготовить полностью идентичный объект [5–8]. Аддитивные технологии

Список сокращений

МСКТ — мультиспиральная компьютерная томография	FDM (fused deposition modeling) — технология послойного наплавления
ТПВ — транспедикулярный винт	LOM (laminated object manufacturing) — изготовление объектов методом ламинирования
3DP (3D-printing) — трехмерная печать	SLA (laser stereolithography) — лазерная стереолитография
3DM — 3D-модели	SLM (selective laser melting) — выборочная лазерная плавка
DLMS (direct laser metal sintering) — прямое лазерное спекание металлов	SLS (selective laser sintering) — выборочное лазерное спекание
DLP (digital light processing) — цифровая светодиодная проекция	
EBM (electronbeam melting) — электронно-лучевая плавка	

APPLICATION OF ADDITIVE 3D PRINTING TECHNOLOGIES IN NEUROSURGERY, VERTEBROLOGY AND TRAUMATOLOGY AND ORTHOPEDICS

© A.V. Yarikov^{1, 2}, R.O. Gorbatov^{3, 4}, A.A. Denisov⁵, I.I. Smirnov², A.P. Fraerman², A.G. Sosnin¹, O.A. Perlmutter², A.A. Kalinkin⁶

¹ Privolzhsky District Medical Center FMBA of Russia, Nizhny Novgorod, Russian Federation

² City Clinical Hospital No. 39, Nizhny Novgorod, Russian Federation

³ Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation

⁴ LLC "Gito-Innovation", Nizhny Novgorod, Russian Federation

⁵ Vreden National Medical Center for Traumatology and Orthopedics, Saint Petersburg, Russian Federation

⁶ Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Assistance and Medical Technologies of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Additive technologies are now widely used in various fields of clinical medicine. In particular, 3D printing is widely used in neurosurgery, vertebrology and traumatology-orthopedics. The article describes in detail the basic principles of medical 3D printing. The modern classification of 3D printers is presented based on the following principles of printing: FDM, SLA, SLS and others. The main advantages and disadvantages of the above-mentioned 3D printers and the areas of clinical medicine in which they are used are described. Further in the review, the authors discuss the experience with 3D printing applications, based on the data of the modern scientific literature. A special attention is paid to the use of 3D printing in the manufacture of individual implants for cranioplasty. 3D printing technologies in reconstructive neurosurgery make it possible to create high-precision implants, reduce the time of surgical intervention and improve the aesthetic effect of the operation. The article also presents the data of the modern literature on the use of 3D printing in vertebrology, where a special role is given to the use of guides for the installation of transpedicular screws and the use of individual lordosing cages. The use of individual guides, especially for severe spinal deformities, reduces the risk of metal structure malposition and the duration of surgical intervention. This technique is also widely used in traumatology and orthopedics, where individual implants made of titanium, a bone-substituting material, are created using 3D printing, thanks to which it is possible to replace bone defects of any shape, complexity and size and create hybrid exoprostheses. The role of 3D modeling and 3D printing in the training of medical personnel at the present stage is described. In conclusion, the authors present their experience of using 3D modeling and 3D printing in reconstructive neurosurgery and vertebrology.

Keywords: additive technologies; personalized medicine; 3D printing; 3D modeling; 3D printing in medicine; preoperative layouts.

For citation: Yarikov AV, Gorbatov RO, Denisov AA, Smirnov II, Fraerman AP, Sosnin AG, Perlmutter OA, Kalinkin AA. Application of Additive 3D Printing Technologies in Neurosurgery, Vertebrology and Traumatology and Orthopedics. *Journal of Clinical Practice*. 2021;12(1):90–104. doi: 10.17816/clinpract64944

(прототипирование) отличаются от традиционных способов изготовления изделий, которые основаны на вычитании (фрезеровка, шлифование) и формообразовании (литье, штамповка) материала, тем, что построение объекта происходит послойно путем добавления материала [9, 10]. Медицинское прототипирование в настоящее время используется в различных областях медицины [11, 12], однако особенно активно в последнее время 3DP применяется в нейрохирургии, вертебрологии, травматологии, ортопедии, челюстно-лицевой и пластической хирургии [13–15]. С каждым годом увеличивается количество материалов для медицинских 3D-принтеров, появляются материалы с новыми свойствами, совершенствуются технологии 3DP. Производство индивидуальных медицинских изделий становится все более доступным, простым и дешевым [2, 16]. В период с 1988 по 2015 г. среднегодовой темп прироста рынка 3DP составил 26,2% [10].

ОСНОВЫ МЕДИЦИНСКОЙ 3DP

С целью создания индивидуального медицинского изделия на первом этапе пациенту проводится мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) с шагом 1–2 мм [17, 18]. В результате исследования получают послойные срезы обследуемого органа, которые экспортируются в виде серии цифровых снимков в формате DICOM в программу для построения 3D-модели (3DM) [19]. На втором этапе с использованием специализированного программного обеспечения создается объемная полигональная 3DM [20, 21]. Далее возможно ее изготовление на 3D-принтере либо выполнение компьютерного моделирования с созданием 3DM-имплантата, хирургического шаблона и др. После завершения этапа компьютерного моделирования осуществляется аддитивное производство индивидуального медицинского изделия [22]. Для получения данных с целью создания 3DM-изделия возможно использовать 3D-сканирование, измерение антропометрических параметров пациента и т.д. [2].

Существует множество различных методов 3DP [11–23]. Рассмотрим наиболее распространенные из них.

I. Экструзионный:

- технология послойного наплавления (fused deposition modeling, FDM).

II. Фотополимеризация:

- лазерная стереолитография (laser stereolithography, SLA);

- цифровая светодиодная проекция (digital light processing, DLP).

III. Порошковый:

- электронно-лучевая плавка (electronbeam melting, EBM);
- выборочная лазерная плавка (selective laser melting, SLM);
- выборочное лазерное спекание (selective laser sintering, SLS);
- прямое лазерное спекание металлов (direct laser metal sintering, DLMS).

IV. Ламинирование:

- изготовление объектов методом ламинирования (laminated object manufacturing, LOM).

V. Струйный:

- струйная трехмерная печать (three-dimensional printing, 3DP).

Выбор оптимальной технологии 3DP в каждой клинической ситуации зависит от требований, предъявляемых к изготавливаемому индивидуальному изделию медицинского назначения, скорости и стоимости его производства [24, 25]. Для этого необходимо учитывать особенности различных технологий 3DP, применяемых в медицине (табл. 1) [26–28].

SLA-, SLS- и DLMS 3DP идентичны по точности получаемых биомodelей, но являются в разы более дорогостоящими по сравнению с FDM [23, 27].

ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ 3DP В НЕЙРОХИРУРГИИ, ВЕРТЕБРОЛОГИИ, ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ Нейрохирургия

Моделирование формы имплантата для краниопластики раньше в большинстве случаев проводилось непосредственно во время операции, что значительно увеличивало ее продолжительность [29, 30]. В ситуациях, когда дефекты затрагивали верхние отделы лицевого скелета (край орбиты, скуловой отросток, воздухоносные пазухи), интраоперационное формирование имплантата было очень затруднительным и не позволяло прецизионно достичь желаемого косметического результата [31–33]. При пластике дефектов черепа в настоящее время все чаще применяются аддитивные технологии, обеспечивающие возможность изготовления индивидуальных высокоточных имплантатов (рис. 1) [2, 34, 35], что позволяет достичь наилучших косметических результатов, сократить время нейрохирургического вмешательства и повысить удовлетворенность пациента результатом [32, 36,

Таблица 1 / Table 1

 Особенности различных технологий 3DP
 Specifics of different 3DP technologies

Технология	Основные принципы	Материал	Средняя стоимость	Преимущества	Недостатки	Область применения в медицине
FDM	3DP происходит за счет экструзии быстротвердевающего материала. В экструдере 3D-принтера термопластик нагревается до температуры плавления с последующим выдавливанием жидкой массы через печатающее сопло. Экструдер движется по траектории, соответствующей структуре и форме изделия, что формирует единичный слой. Создание изделия происходит последовательным нанесением слоев поверх уже напечатанных	Термопластик	Оборудование: 20–400 тыс. руб. Материал: 1–10 тыс. руб./кг	При 3DP применяются недорогие расходные материалы. Высокая доступность данного вида 3DP. Прототипы могут обладать различными физическими и механическими свойствами	Трудности при изготовлении сложных геометрических форм (например, основание черепа, клиновидная пазуха, пирамида височной кости). Поверхность прототипа после 3DP имеет шероховатости, слоистость из-за чего необходимо проведение постобработки изделия	Макеты для обучения и предоперационного планирования, хирургические шаблоны, ортезы, стельки, корсеты, матрицы для имплантатов из костнозамещающих материалов
SLA	В точках соприкосновения луча лазера и фотополимера происходит его полимеризация и формирование твердого физического объекта. Луч лазера проходит по поверхности жидкого полимера в соответствии с конфигурацией формируемого слоя. После фотополимеризации предыдущего слоя рабочая платформа погружается в емкость с жидкой смолой на расстояние, соответствующее толщине следующего печатного слоя. Далее процесс печати повторяется. После 3DP изделие промывается с целью удаления неиспользованного в процессе печати материала и при необходимости подвергается постобработке в ультрафиолетовой камере для окончательного затвердевания материала изделия	Фотополимеры	Оборудование: от 200 тыс. до 10 млн руб. Материал: 10–30 тыс. руб./л	Высокая точность 3DP, возможность создания объектов сложной геометрической формы (пирамида височной кости, клиновидная кость, решетчатый лабиринт). Низкий уровень шума в процессе 3DP. Прототипы могут обладать различными физическими и механическими свойствами	Высокая стоимость используемых материалов и оборудования	Макеты для обучения и предоперационного планирования, хирургические шаблоны и направлятели, индивидуальный медицинский инструментарий
SLS	Выборочное спекание мелкодисперсного порошкового (обычно металлического) материала под воздействием управляемого процессором луча, как правило, CO ₂ -лазера	Порошкообразные материалы	Оборудование: 90–200 млн руб. Материал: 70–130 тыс. руб./кг	Возможность создания имплантатов из титанового сплава, керамических материалов	Высокая стоимость оборудования и материалов. Необходимость постобработки с использованием специализированного дорогостоящего оборудования	Имплантаты из титанового сплава и керамики

Рис. 1. Индивидуальный титановый имплантат для краниопластики, изготовленный на 3D-принтере SLS [2] (собственные данные).

Fig. 1. An individual titanium implant for cranioplasty manufactured using a 3D SLS printer [2] (Own data).



37]. При краниофациальных повреждениях индивидуальные макеты, напечатанные на 3DP, позволяют нейрохирургу получить более полную информацию о степени имеющегося поражения, спланировать ход вмешательства и более точно ориентироваться во время операции [38, 39]. Широкая доступность программного обеспечения дает возможность врачам принимать непосредственное участие в моделировании имплантатов [40, 41].

В 2013 г. нейрохирурги из США провели операцию по замене костей черепа человеку, пострадавшему в дорожно-транспортном происшествии. Благодаря титановым сетчатым протезам, изготовленным с помощью 3DP, больному удалось заменить около 70% черепа [5].

В 2014 г. С.А. Еолчийн продемонстрировал, что применение индивидуальных имплантатов для краниопластики имеет неоспоримые преимущества по сравнению с традиционными: высокая точность импланта, уменьшение травматичности, сокращение длительности операции и достижение наилучшего косметического результата [42].

В 2015 г. D.J. Bonda и соавт. в своем обзоре указали, что использование индивидуальных имплантатов, полученных с помощью 3DP, представляется очевидной перспективой развития реконструктивной нейрохирургии [43].

В 2020 г. Н.А. Копорушко и соавт. представили опыт проведения краниопластики у 161 пациента. Все больные были поделены на две группы: 80 человек с титановыми пластинами, изготовленными при помощи 3DP (группа 1), и 81 больной с применением стандартных титановых имплантатов (группа 2). В группе 1 в 100% случаев получены отличные косметические результаты, в группе 2 отличный результат получен в 76% случаев, хороший — в 9%,

удовлетворительный — в 8%, неудовлетворительный — в 5% [44].

В настоящее время применение индивидуальных имплантатов регламентировано Программой государственной гарантии оказания высокотехнологичной помощи в разделе «Нейрохирургия»: микрохирургическая реконструкция при врожденных и приобретенных сложных и гигантских дефектах и деформациях свода, лицевого скелета и основания черепа с компьютерным и стереолитографическим моделированием с применением биосовместимых пластических материалов и ресурсоемких имплантатов [31, 45, 46].

Вертебрология

С каждым годом возрастает число пациентов с травмами и заболеваниями позвоночника, которым осуществлено хирургическое лечение с помощью аддитивных технологий 3DP [47–49].

В 2011 г. J. Yang и соавт. сообщили об успешном применении 3DM и направляющих для установки транспедикулярных винтов (ТПВ) при проведении корригирующих операций у 20 пациентов с тяжелыми деформациями грудного отдела позвоночника. Авторы исследования отмечают, что высокая точность 3DM позволила добиться хороших и отличных результатов при выполнении инструментальной фиксации. Прецизионность проведения ТПВ подтверждена результатами МСКТ [50].

В 2015 г. M. Yang и соавт. в ретроспективном исследовании оценили результаты оперативного лечения 126 пациентов с подростковым идиопатическим сколиозом Lenke-1 [51]. Все больные были разделены на 2 группы: в 1-й группе ($n=50$) для предоперационного планирования использовались индивидуальные макеты позвоночника, изго-

товленные с помощью 3DP, во 2-й группе ($n=76$) выполнено стандартное предоперационное планирование. По результатам исследования было доказано, что 3DM способствуют сокращению времени операции, кровопотери и объема гемотрансфузии. Статистически достоверной разницы в частоте осложнений, продолжительности пребывания в стационаре, рентгенологических исходах или мальпозиции ТПВ между пациентами исследуемых групп не выявлено.

В 2018 г. А.А. Кулешов и соавт. анонсировали опыт применения 3DP при оперативном лечении деформаций позвоночника [52]. Для 52 пациентов с помощью аддитивных технологий были изготовлены индивидуальные макеты с деформациями позвоночника: с врожденной многоплоскостной деформацией позвоночника ($n=20$), деформацией верхнего отдела шейного отдела позвоночника ($n=12$), со спондилолистезом 3–4-й степени ($n=10$), нейрогенным сколиозом ($n=8$), нейрофиброматозом ($n=2$). 3DM изготавливали в масштабе 1:1 при SLA. Во всех случаях они применялись для предоперационного планирования, включая предполагаемую коррекцию деформации, декомпрессию и фиксацию позвоночника. На основании выполненных 3DM позвоночника в 26 случаях были изготовлены индивидуальные металлоконструкции для коррекции деформации и фиксации соответствующего отдела позвоночника. Во всех случаях применение 3DM позвоночника позволило получить существенную дополнительную информацию как при предоперационном планировании, так и во время операции. Период наблюдения составил 3 года: операции по декомпрессии невралических структур и коррекции деформаций у всех пациентов дали хорошие клинические и рентгенологические результаты. Применение индивидуальных имплантатов позволило достичь стабильной фиксации позвоночника во всех случаях, за исключением трех, в которых пришлось удалить имплантаты из-за инфекционных осложнений ($n=1$) и проблем с заживлением послеоперационной раны ($n=2$).

В 2018 г. А.В. Бурцев и соавт. доказали эффективность методики компьютерного моделирования и 3DP индивидуальных направителей, используемых при фиксации шейного отдела позвоночника. В направителях формировали отверстие диаметром 2,2 мм для сверла. После стерилизации интраоперационно их плотно прикладывали к дужке и остистому отростку позвонка, затем с помощью бора и сверла через направитель формировали от-

верстие, куда и имплантировали ТПВ. На основании отработанной методики провели клиническую апробацию у 3 пациентов. По МСКТ зафиксировано отклонение 1 ТПВ относительно заданной траектории не более чем на 2 мм, при этом мальпозиций не выявлено [53].

В 2018 г. Y. Pan и соавт. выполнили анализ по использованию навигационных лекал ($n=20$, 396 ТПВ) и метода *free hand* ($n=17$, 312 ТПВ) у подростков с деформациями позвоночника. Время операции и степень коррекции значительно не отличались в группах, а безопасность стабилизации была статистически выше в группе лекал: перфорация 1-й степени наблюдалась в 7,3%, 2-й степени — в 3,3%. В группе *free hand* перфорация 1-й степени отмечена в 11,9%, 2-й степени — в 11,5%, 3-й степени — в 1,6%; $p=0,000$ [54].

В 2019 г. Р.А. Коваленко с соавт. провели анализ безопасности и точности имплантации ТПВ в шейном и грудном отделах позвоночника с использованием индивидуальных лекал различного дизайна [18, 55]. На 3 кадаверах с их применением выполнена имплантация 60 ТПВ в C2–Th4. Используются 3 вида направителей: группа А — односторонние матрицы ($n=20$), группа Б — двусторонние ($n=20$), группа В — двусторонние матрицы с опорой на остистый отросток ($n=20$). Точность и безопасность введения ТПВ оценивали по результатам МСКТ. Направители с трехточечной опорой (группа В) показали самую высокую безопасность имплантации. Средняя девиация ТПВ в точке ввода в группе А составила $5,0 \pm 0,5$ мм, в группе Б — $1,7 \pm 0,3$ мм, в группе В — $0,35 \pm 0,05$ мм. Средняя девиация ТПВ в конечной точке в группе А составила $5,1 \pm 0,7$ мм, в группе Б — $3,5 \pm 0,6$ мм, в группе В — $0,53 \pm 0,05$ мм [18].

В 2020 г. та же группа авторов провела анализ имплантации ТПВ в грудном отделе позвоночника с использованием лекал различных 3DM в сравнении с методикой *free hand*. В 1-й группе ТПВ в грудном отделе позвоночника были установлены по методике *free hand* ($n=23$, 112 ТПВ). Во 2-й группе ($n=11$, 42 ТПВ) установка осуществлялась с помощью билатеральных одноуровневых лекал, в 3-й группе ($n=13$, 54 ТПВ) — с помощью билатеральных одноуровневых лекал с опорой на остистый отросток. В группе 1 нулевая степень безопасности зарегистрирована в 67% случаев, степень 1 — в 18,8%, степень 2 — в 9,8%, степень 3 — в 4,5%. В группе 2 нулевая степень безопасности зарегистрирована в 85,71% случаев, степень 1 — в 14,29%; в группе

3 — в 90,74 и 9,26% соответственно. Случаев перфорации кости более чем на половину диаметра ТПВ в группах 2 и 3 не было. Применение индивидуальных лекал для имплантации ТПВ в грудном отделе позвоночника представляется более безопасным методом по сравнению с free hand [56].

Применение аддитивных технологий нашло свое применение также в изготовлении индивидуальных имплантатов, позволяющих производить корригирующие операции на позвоночнике без применения остеотомий. Альтернативой для коррекции сагиттального и фронтального баланса в позвоночнике является использование индивидуальных лордозирующих кейджей, изготавливаемых при помощи 3DP (рис. 2) [57].

Считается, что в коррекции сагиттального баланса восстановление сегментарного лордоза является одной из основных целей вмешательства. Современные лордозирующие кейджи, используемые для ALIF, LLIF, позволяют скорректировать сегментарный лордоз в среднем до 20°. Их можно устанавливать через вентральный минимально инвазивный доступ (рис. 3), что дает возможность осуществлять сопоставимый объем оперативного вмешательства, как и при задних открытых методиках с применением вертебротомий и инструментальной фиксации позвоночника.

В 2020 г. А.А. Денисов и соавт. подтвердили, что применение лордозирующих кейджей с углами 20–30° значительно увеличивают сегментарный лордоз и лордоз поясничного отдела позвоночника (рис. 4) [57].

В 30 случаях были имплантированы кейджи с индивидуальным, заранее запланированным углом лордоза. Степень полученной коррекции сегментарного лордоза практически была идентична прогнозируемым результатам для группы ALIF. Ав-

Рис. 2. Индивидуальные кейджи для ALIF, изготовленные при помощи 3DP (собственные данные).

Fig. 2. Individual cages for ALIF manufactured using 3DP (Own data).



Рис. 3. Установка индивидуального кейжда (собственные данные).

Fig. 3. Installation of an individual cage (Own data).



Рис. 4. Измерение сегментарного и лордоза поясничного отдела позвоночника.

Fig. 4. Measurement of segmental lumbar lordosis.



Примечание. *a* — рентгенограмма пациента до операции (слева представлены значения углов L5–S1 = 7,9, L4–L5 = 0,9); *b* — рентгенограмма того же пациента после установки индивидуальных межтеловых имплантатов (значения полученных углов сегментарного лордоза: L5–S1 = 27,5; L4–L5 = 14,8) (данные А.А. Денисова).

Note. *a* — a radiograph of a patient before the surgery (on the left, the angles L5–S1=7.9, L4–L5=0.9 are displayed); *b* — a radiograph of the same patient after installation of individual intervertebral implants (the angles of segmental lordosis are L5–S1=27.5, L4–L5=14.8). (Own data of A.A. Denisov).

торы связывают полученные результаты как с техникой установки имплантатов, которая в случае использования вентрального доступа требует полного освобождения передней продольной связки, так с наличием конструктивных преимуществ используемого имплантата (форма клина).

Рис. 5. Этап моделирования операции на физическом прототипе голеностопного сустава и стопы пациента (данные Р.О. Горбатова).

Fig. 5. The stage of modeling the surgery using a physical prototype of the patient's ankle joint and foot (Data of Gorbato R.O.)



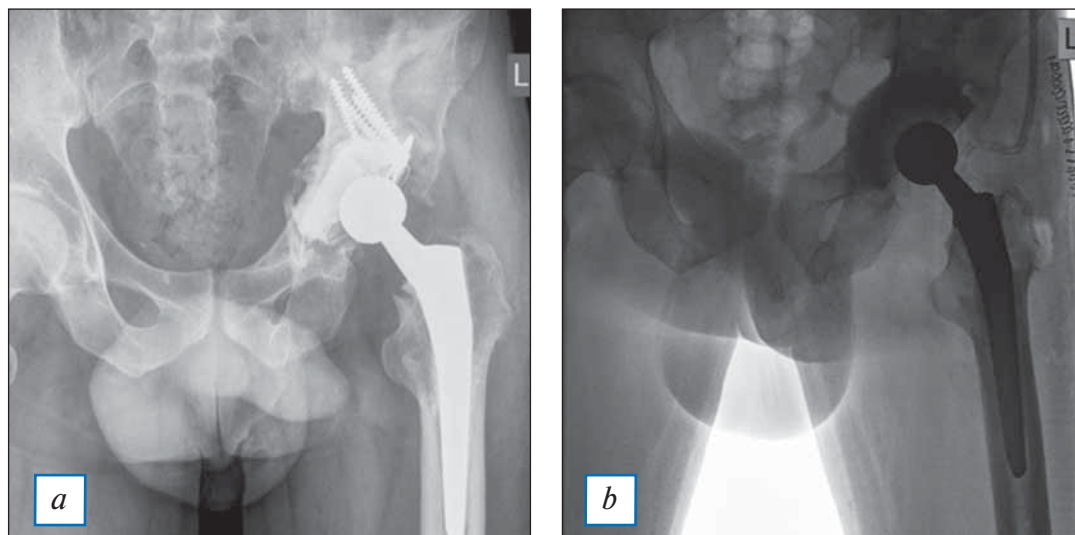
Травматология и ортопедия

В травматологии и ортопедии наиболее часто 3DP применяются при создании индивидуальных экзопротезов, ортезов, позволяющих заменить гипсовую повязку, индивидуальных стелек, хирургических шаблонов для остеотомий или резекций, высокоточных 3DM для предоперационного планирования, которые позволяют выполнить моделирование операции еще на предоперационном этапе, подобрать необходимые металлоконструкции, выполнить их персонификацию [58] (рис. 5).

С помощью 3DP в травматологии и ортопедии создаются индивидуальные имплантаты из титана и костнозамещающего материала, благодаря которым появилась возможность замещения любых по форме, сложности и размерам костных дефектов. Для их создания необходимы только данные МСКТ-обследования пациента [2, 14]. Одним из перспективных направлений использования аддитивных технологий 3DP является создание гибридных эндопротезов, включающих титановый и костнозамещающий компоненты (рис. 6). Кроме синтетических материалов в качестве костнозамещающего вещества возможно использовать алло- и аутокость. В настоящее время уже разработаны технологии изготовления гибридных эндопротезов тазобедренного, коленного, плечевого и лучезапястного суставов [22, 59]. Проведенные исследования статистически достоверно доказали их эффективность, в том числе при лечении пациентов с перипротезной инфекцией. По данным оценки клинико-рентгенологических послеоперационных результатов не выявлено ни одного случая рецидива периимплантной инфекции, а также развития неинфекционных осложнений, включая вывихи, миграцию компонентов эндопротеза, переломы костнозамещающего компонента имплантата. После операции полностью отказались от приема обезболивающих препаратов 73% ($n=11$) пациентов. Все больные после эндопротезирования тазобедренного и коленного суставов могли передви-

Рис. 6. Рентгенограмма таза: *a* — септическая нестабильность эндопротеза левого тазобедренного сустава, *b* — рентгенограмма после ревизионного эндопротезирования с имплантацией индивидуального спейсера, изготовленного с помощью 3DP (данные Р.О. Горбатова).

Fig. 6. Pelvic radiographs: *a* — Septic instability of an endoprosthesis of the left hip joint; *b* — Same patient, revision endoprosthesis with implantation of an individual spacer fabricated using 3DP (Data of Gorbato R.O.).



гаться с помощью костылей с частичной опорой на оперированную конечность. У всех пациентов после ревизионного эндопротезирования плечевого сустава сохранились движения в нем. Использование индивидуальных гибридных эндопротезов в ревизионном эндопротезировании крупных суставов позволило не только купировать инфекционный процесс, сохранить функцию опоры и передвижения, артикуляцию, но и прецизионно заместить дефекты костной ткани [59].

ОБУЧЕНИЕ НЕЙРОХИРУРГОВ, ТРАВМАТОЛОГОВ И ОРТОПЕДОВ

Необходимость постоянной отработки мануальных навыков является ключевым разделом обучения в хирургии [27, 60]. В особенности важны данные вопросы в нейрохирургии, травматологии и ортопедии, где нужно не только непрерывное совершенствование и оттачивание мануальных навыков, но и постоянное закрепления знаний по нормальной и патологической анатомии, топографии и др. [8, 27, 61]. Отработка мануальных навыков позволяет придать уверенность врачу в условиях высокого стресса и отточить движения. В настоящее время в РФ введен проект о непрерывном образовании медицинских и фармацевтических работников, что активизирует специалистов к участию в различных конференциях, мастер-классах, кадавер-курсах, школах и семинарах [62]. В рамках данных мероприятий зачастую проводятся курсы по совершенствованию мануальных навыков, где они оттачиваются на муляжах, препаратах и 3DM [7, 13, 63]. Стандартом для обучения являются занятия на кадаверном материале, но данный вид обучения дорогостоящий, требует наличия специальных условий для проведения обучающего процесса. Следовательно, применение муляжей и биомоделей, максимально приближенных к реальным, представляется крайне востребованным [11]. 3DP позволяет изготавливать прототипы с высокой точностью соответствия анатомическим объектам [13, 60, 64]. Кроме того, они обеспечивают прецизионную симуляцию большинства характеристик костной ткани для достижения максимально реалистичных ощущений хирурга при работе с инструментарием, а также во избежание разрушения и деформации изделия при выполнении пропила [13]. FDM дает возможность создавать макеты для отработки навыков краниотомии [65, 66]. В спинальной нейрохирургии симуляционные прототипы также нашли широкое применение [13, 67, 68]: они

используются для отработки доступов к спинному мозгу и телам позвонков, а также при других оперативных вмешательствах — стабилизации позвоночника, вертебропластики [64]. Кроме того, 3DP позволяет оттачивать навыки в хирургии деформаций опорно-двигательного аппарата, что трудно выполнить на кадаверных материалах. Таким образом, динамично развивающиеся современные технологии 3DP все глубже внедряются в нейрохирургию, травматологию и ортопедию, обеспечивая возможность качественного освоения мануальных навыков и улучшения результатов проводимых хирургических вмешательств [27, 69].

ПРАВОВОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ 3DP В РОССИИ

В настоящий момент использование индивидуальных медицинских изделий регулируется пунктом 5 статьи 38 Федерального закона от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» где определено, что медицинские изделия, изготовленные по индивидуальным заказам пациентов, к которым предъявляются специальные требования по назначению медицинских работников и которые предназначены исключительно для личного использования конкретным пациентом, государственной регистрации не подлежат. Это подтверждается также Постановлением Правительства РФ от 27.12.2012 № 1416 «Об утверждении Правил государственной регистрации медицинских изделий» и Письмом Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения от 21.07.2015 № 04-21338/15. Таким образом, индивидуальные медицинские изделия, изготовленные с использованием 3DP по антропометрическим показателям определенных пациентов, не подлежат государственной регистрации, однако государственной регистрации подлежит материал, из которого они изготавливаются [3].

Собственный опыт

В клинической работе нейрохирургической клиники ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России (Нижний Новгород) активно применяются аддитивные технологии (FDM 3D-принтер). При проведении краниопластики изготавливается 3DM утраченного участка черепа пациента, по которой в дальнейшем моделируется трансплантат, что, по нашему опыту, позволяет сократить время операции, добиться отличных косметических результатов. Мы считаем, что ис-

пользование 3DP является обязательным при реконструкции костных дефектов большой площади, сложной геометрической формы и локализации (рис. 7).

3DP применяется в хирургии деформаций позвоночника. Изготовление индивидуальных прототипов позвоночника позволяет спланировать оперативное лечение, предоставляет тактильную информацию и возможность определения оптимальных траекторий введения ТПВ (рис. 8).

3DM, созданные на 3DP, позволяют нейрохирургу рассказать пациенту подробно о его заболевании и подходах к его лечению, что улучшает коммуникацию между пациентом и врачом. Некоторые исследования показали, что использование 3DM во время сеансов общения врача и пациента может увеличить согласие пациента и его удовлетворенность по сравнению с использованием традиционных 2D-изображений [70, 71]. Несомненно, 3DP значительно упрощает работу нейрохирургов в операционной, позволяя заранее в полной мере планировать все этапы вмешательства. На наш

Рис. 7. 3DM черепа, напечатанная на 3D FDM-принтере, для планирования краниопластики. Белым цветом напечатана область гигантского сложного посттрепанационного костного дефекта, по которому изготавливался индивидуальный титановый имплантат (фото А.В. Ярикова).

Fig. 7. 3DM of the cranium printed with the use of a 3D FDM printer for the design of cranioplasty. The region of a giant complicated post-trepanation bone defect which is to be repaired with the fabricated titanium implant, is displayed in white color (Photo by Yarikov A.V.).



Рис. 8. Биомодель позвоночника при сложном сколиозе (фото А.В. Ярикова).

Fig. 8. A biomodel of the spine with complex scoliosis (Photo by Yarikov A.V.).

взгляд, оптимизация рабочего времени нейрохирургов и качество получаемых изделий являются приоритетными задачами, и в то же время цена индивидуальных изделий может быть снижена не за счет перекладывания задач 3D-моделирования на нейрохирургов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С каждым годом аддитивные технологии 3DP все шире внедряются в практическое здравоохранение. Увеличивается количество разработанных технологий, оборудования и материалов для медицинской 3DP. Ежегодно возрастает число пролеченных пациентов с использованием аддитивных технологий. Медицинская 3DP уже сейчас используется в нейрохирургии, травматологии и ортопедии для создания ортезов, стелек, корсетов, макетов для обучения и предоперационного планирования, индивидуальных имплантатов и инструментария для их установки, персонифицированных направителей и др. Аддитивные технологии становятся одним из основных инструментов персонифицированной медицины.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов. А.В. Яриков — написание статьи, лечение пациентов; Р.О. Горбатов — написание статьи, обзор публикаций по теме статьи; А.А. Денисов — написание статьи, лечение пациентов; И.И. Смирнов — обзор публикаций по теме статьи; А.Г. Соснин — лечение пациентов; О.А. Перльмуттер — редактирование статьи; А.П. Фраерман — редактирование статьи, концепция и дизайн ра-

боты; А.А. Калинин — редактирование статьи, утверждение окончательной версии для публикации. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Authors contribution. A.V. Yarikov — manuscript writing, treatment of patients; R.O. Gorbatov — manuscript writing, literature analysis; A.A. Denisov — manuscript writing, treatment of patients; Smirnov I.I. — literature analysis; Sosnin A.G. — treatment of patients; O.A. Perlmutter — manuscript editing; A.P. Fraerman — manuscript editing, concept and design of the study; A.A. Kalinkin — manuscript editing, approval of the final version for publication. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Кравчук А.Д., Маряхин А.Д., Охлопков В.А., и др. Аддитивные технологии в реконструктивной хирургии дефектов черепа / 3D-технологии в медицине: материалы IV Всероссийской научно-практической конференции. Нижний Новгород, 2019. С. 24–25. [Kravchuk AD, Maragin AD, Okhlopov VA, et al. Additive technology in reconstructive surgery of skull defects. 3D-technologies in medicine proceedings of the IV all-Russian scientific-practical conference. Nizhny Novgorod; 2019. P. 24–25. (In Russ).]
2. Николаенко С.А., Халапян А.А., Федоров Ю.В., Шапиро Л.А. Реконструкция обширного челюстно-лицевого дефекта с применением эпитеза на магнитной фиксации. Клинический случай // Клиническая стоматология. 2019. № 1. С. 63–65. [Nikolaenko SA, Calapan AA, Fedorov YuV, Shapiro LA. Reconstruction of extensive maxillofacial defect with the use of epitheta on magnetic fixing. Clinical case. *Clinical dentistry*. 2019;(1):63–65. (In Russ).]
3. Холодильов А.А., Яковлева А.В. Применение аддитивных технологий в социальной адаптации слабовидящих людей // Современные научные исследования и разработки. 2019. № 1. С. 1085–1089. [Kholodilov AA, Yakovleva AV. Application of additive technologies in the social adaptation of visually impaired

people. *Modern scientific research and development*. 2019;(1):1085–1089. (In Russ).]

4. Сафонов М.Г., Строгий В.В. Применение 3D-печати в медицине // Международный студенческий научный вестник. 2015. № 3-3. С. 394–395. [Safonov MG, Stern VV. Application of 3D printing in medicine. *International student scientific bulletin*. 2015;(3-3):394–395. (In Russ).]

5. Холодильов А.А., Яковлева А.В. Инновационное применение аддитивных технологий в медицине // Молодой ученый. 2019. № 5. С. 35–38. [Holodilov AA, Yakovlev VA. Innovative application of additive technologies in medicine. *Young scientist*. 2019;(5):35–38. (In Russ).]

6. Холодильов А.А., Фалеева Е.В., Холодильова М.В. Анализ технологии перевода трехмерной модели из CAD-формата в управляющий код при 3D-печати // Научно-техническое и экономическое сотрудничество стран АТР в XXI веке. 2020. № 2. С. 296–301. [Kholodilov AA, Faleeva EV, Kholodilova MV. Analysis of the technology of translating a three-dimensional model from CAD-format into a control code for 3D printing. *Scientific-technical and economic cooperation of the APR countries in the XXI century*. 2020;(2):296–301. (In Russ).]

7. Приходько А.А., Виноградов К.А., Вахрушев С.Г. Меры по развитию медицинских аддитивных технологий в Российской Федерации // Медицинские технологии. Оценка и выбор. 2019. № 2. С. 10–15. [Prikhodko AA, Vinogradov KA, Vakhrushev SG. Measures for the development of medical additive technologies in the Russian Federation. *Medical technologies. Evaluation and selection*. 2019;(2):10–15. (In Russ).]

8. Коваленко Р.А., Пташников Д.А., Черевилло В.Ю., и др. Применение индивидуальных 3D моделей в хирургии позвоночника: обзор литературы и первый опыт использования // Российский нейрохирургический журнал им. профессора А.Л. Поленова. 2018. Т. 10, № 3-4. С. 43–48. [Kovalenko RA, Ptashnikov DA, Cherebillo VYu, et al. Application of individual 3D models in spine surgery-literature review and first use experience. *Russian Neurosurgical Journal named after Professor A.L. Polenov*. 2018;(3-4):43–48. (In Russ).]

9. Холодильов А.А., Пузынина М.В. Обзор программ-слайсеров для послойного деления 3D-моделей и возможности расширения их функционала / Труды Всероссийской научно-практической конференции творческой молодежи с международным участием: сб. «Научно-техническое и социально-экономическое сотрудничество стран АТР в XXI веке» под ред. С.А. Кудрявцева. Хабаровск, 2018. С. 91–94. [Kholodilov AA, Puzynina MV. Review of slicer programs for layer-by-layer division of 3D models and the possibility of expanding their functionality. In the collection: *Scientific-technical and socio-economic cooperation of the APR countries in the XXI century. Proceedings of the All-Russian scientific-practical Conference of Creative Youth with international participation*. Ed. by S.A. Kudryavtsev. Khabarovsk; 2018. P. 91–94. (In Russ).]

10. Лялюцкая М.Ю. Анализ рынка 3D-печати в Красноярске // Актуальные проблемы авиации и космонавтики. 2017. Т. 3, № 13. С. 54–56. [Lyulutskaia MYu. Analysis of the 3D printing market in Krasnoyarsk. *Actual problems of aviation and cosmonautics*. 2017;3(13):54–56. (In Russ).]

11. Иванов В.П., Ким А.В., Хачатрян В.А. 3D-печать в краниофациальной хирургии и нейрохирургии. Опыт ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» // Нейрохирургия и неврология детского возраста. 2018. № 3. С. 28–39. [Ivanov VP, Kim AV, Khachatryan VA. 3D printing in craniofacial surgery and neurosurgery. Experience of the Federal State Budgetary Institution «Almazov NMIC». *Neurosurgery and neurology of childhood*. 2018;(3):28–39. (In Russ).]

12. Семенов В.В., Верхозина Ю.А. 3D-принтеры — основа нашего будущего // Молодежный вестник ИрГТУ. 2017. № 4. С. 1. [Semenov VV, Verhozina YuA. 3D-printers-the basis of our future. *Molodezhny vestnik IrGTU*. 2017;(4):1. (In Russ).]

13. Кравчук А.Д., Маряхин А.Д., Потапов А.А., и др. Применение аддитивных технологий в нейрохирургии / Материалы V международной конференции: в сб. «Аддитивные технологии: настоящее и будущее». Москва, 2019. С. 253–274. [Kravchuk AD,

Maryakhin AD, Potapov AA, et al. Application of additive technologies in neurosurgery. In the collection: Additive technologies: present and future Proceedings of the V International Conference. Moscow; 2019. P. 253–274. (In Russ.)]

14. Карякин Н.Н., Горбатов Р.О., Новиков А.Е., Нифтуллаев Р.М. Хирургическое лечение пациентов с опухолями длинных трубчатых костей верхних конечностей с использованием индивидуальных имплантатов из костнозамещающего материала, созданных по технологиям 3D-печати // *Гений ортопедии*. 2017. Т. 23, № 3. С. 323–330. [Karyakin NN, Gorbatov RO, Novikov AE, Niftullaev RM. Surgical treatment of patients with tumors of the long tubular bones of the upper extremities using individual implants made of bone-substituting material created using 3D printing technologies. *Genij Ortopedii*. 2017;23(3):323–330. (In Russ.)]

15. Нестеренко Т.С. Полимеры и 3D-печать в ортопедии / Сб. статей Международной научно-практической конференции «Интеллектуальный и научный потенциал XXI века». Волгоград, 2017. С. 111–116. [Nesterenko TS. Polymers and 3D printing in orthopedics. In the collection: Intellectual and scientific potential of the XXI century. Collection of articles of the International Scientific and Practical Conference: in 4 parts. Volgograd; 2017. P. 111–116. (In Russ.)]

16. Лялюцкая М.Ю. Формирование кластера аддитивных технологий в регионе. В сб. Международной научно-практической конференции «Инновационное развитие как фактор конкурентоспособности национальных экономик». Стерлитамак, 2018. С. 73–79. [Lyalutskaia MYu. Formation of a cluster of additive technologies in the region. In the collection: Innovative development as a factor of competitiveness of national economies. Collection of articles on the results. International Scientific and practical Conference. Sterlitamak; 2018. P. 73–79. (In Russ.)]

17. Черевилло С.А., Евсеев А.В., Ипполитов Е.В., и др. Пластика дефектов черепа с использованием трехмерного моделирования и лазерной стереолитографии // *Перспективные материалы*. 2011. № S13. С. 917–922. [Cherebillo SA, Evseev AV, Ippolitov EV, et al. Plastic skull defects using three-dimensional modeling and laser stereolithography. *Perspective materials*. 2011;(S13):917–922. (In Russ.)]

18. Коваленко Р.А., Кашин В.А., Черевилло В.Ю., и др. Определение оптимального дизайна навигационных матриц для транспедикулярной имплантации в шейном и грудном отделах позвоночника: результаты кадавер-исследования // *Хирургия позвоночника*. 2019. Т. 16, № 4. С. 77–83. [Kovalenko RA, Kashin VA, Cherebillo VYu, et al. Determining the optimal design of navigation matrices for transpedicular implantation in the cervical and thoracic spine: results of cadaver research. *Spinal surgery*. 2019;16(4):77–83. (In Russ.)]

19. Потапов А.А., Корниенко В.Н., Кравчук А.Д., и др. Современные технологии в хирургическом лечении последствий травмы черепа и головного мозга // *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2012. Т. 67. № 9. С. 31–38. [Potapov AA, Kornienko VN, Kravchuk AD, et al. Modern technologies in the surgical treatment of injuries of the skull and brain. *Bulletin of the Russian Academy of medical Sciences*. 2012;67(9):31–38. (In Russ.)]

20. Внук В.В., Ипполитов Е.В., Новиков М.М., Черевилло С.А. Применение систем автоматизированного проектирования и аддитивных технологий в восстановительной хирургии // *Труды Международной конференции по компьютерной графике и зрению «ГрафиКон»*. 2019. № 29. С. 176–180. [Vnuk VV, Ippolitov EV, Novikov MM, Cerebelo SA. Application of computer-aided design and additive technology in reconstructive surgery. *Proceedings of the International conference on computer graphics and vision "GraphiCon"*. 2019;(29):176–180. (In Russ.)]

21. Николаенко А.Н. Применение 3D-моделирования и трехмерной печати в хирургии (обзор литературы) // *Medline.ru. Российский биомедицинский журнал*. 2018. Т. 19, № 1. С. 20–44. [Nikolaenko AN. Application of 3D modeling and three-dimensional printing in surgery (literature review). *Medline.ru. Russian Biomedical Journal*. 2018;19(1):20–44. (In Russ.)]

22. Мишинов С.В., Ступак В.В., Копорушко Н.А. Краниопластика: обзор методик и новые технологии в создании имплан-

татов. современное состояние проблемы // *Политравма*. 2018. № 4. С. 82–89. [Mishinov SV, Stupak VV, Koporushko NA. Cranioplasty: review of methods and new technologies in the creation of implants, the current state of the problem. *Polytrauma*. 2018;(4):82–89. (In Russ.)]

23. Сушенцов Е.А., Мусаев Э.Р., Софронов Д.И., и др. Компьютерные технологии и 3D-принтинг в лечении больных с опухолями костей таза // *Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи*. 2018. № 1. С. 29–32. [Sushentsov EA, Musaev ER, Sofronov DI, et al. Computer technologies and 3D-printing in the treatment of patients with pelvic bone tumors. *Sarcoma of bones, soft tissues and skin tumors*. 2018;(1):29–32. (In Russ.)]

24. Мишинов С.В., Ступак В.В., Копорушко Н.А., и др. Реконструктивные нейрохирургические вмешательства с использованием индивидуальных титановых имплантатов // *Медицинская техника*. 2018. № 3. С. 5–7. [Merinov SV, Stupak VV, Caporusso NA, et al. Reconstructive neurosurgical intervention, using a titanium implants. *Medical equipment*. 2018;(3):5–7. (In Russ.)]

25. Малаев И.А., Пивовар М.Л. Аддитивные технологии: применение в медицине и фармации // *Вестник фармации*. 2019. № 2. С. 98–107. [Malaev IA, Pivovar ML. Additive technologies: application in medicine and pharmacy. *Bulletin of Pharmacy*. 2019;(2):98–107. (In Russ.)]

26. Левченко О.В. Современные методы краниопластики // *Нейрохирургия*. 2010. № 2. С. 5–13. [Levchenko OV. Modern methods of cranioplasty. *Neurosurgery*. 2010;(2):5–13. (In Russ.)]

27. Мишинов С.В., Ступак В.В., Мамуладзе Т.З., и др. Использование трехмерного моделирования и трехмерной печати в обучении нейрохирургов // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2016. Т. 11, № 6. С. 1063–1067. [Merinov SV, Stupak VV, Mamuladze TZ, et al. The Use of three-dimensional modeling and three-dimensional printing in the training of neurosurgeons. *International journal of applied and fundamental research*. 2016;11(6):1063–1067. (In Russ.)]

28. Мишинов С.В., Ступак В.В., Панченко А.А., Красовский И.Б. Реконструкция лобно-скуло-орбитальной зоны с использованием индивидуального титанового имплантата, созданного методом прямого лазерного спекания на 3D-принтере. Клинический случай // *Российский нейрохирургический журнал им. профессора А.Л. Поленова*. 2017. Т. 9, № 1. С. 80–82. [Mishinov SV, Stupak VV, Panchenko AA, Krasovsky IB. Reconstruction of the frontal-zygomatic-orbital zone using an individual titanium implant created by direct laser sintering on a 3D printer. Clinical case. *Russian Neurosurgical Journal named after Professor A.L. Polenov*. 2017;9(1):80–82. (In Russ.)]

29. Иванов О.В., Семичев Е.В., Шнякин П.Г., Собакар Е.Г. Пластика дефектов черепа: от аутокости к современным биоматериалам (обзор литературы) // *Медицинская наука и образование Урала*. 2018. Т. 19, № 3. С. 143–149. [Ivanov OV, Semichev EV, Shnyakin PG, Sobakar EG. Plastique of skull defects: from autokost to modern biomaterials (literature review). *Meditsinskaya nauka i obrazovanie Ural*. 2018;19(3):143–149. (In Russ.)]

30. Копорушко Н.А., Мишинов С.В., Ступак В.В. Клинические результаты реконструктивных нейрохирургических вмешательств на черепе с использованием компьютерного моделирования и трехмерной печати // *Политравма*. 2020. № 3. С. 54–64. [Koporushko NA, Mishinov SV, Stupak VV. Clinical results of reconstructive neurosurgical interventions on the skull using computer modeling and three-dimensional printing. *Polytrauma*. 2020;(3):54–64. (In Russ.)]

31. Ступак В.В., Копорушко Н.А., Мишинов С.В., и др. Эпидемиологические данные приобретенных дефектов черепа у больных, перенесших черепно-мозговую травму, на примере крупного промышленного города (Новосибирска) // *Политравма*. 2019. № 1. С. 6–10. [Stupak VV, Caporusso NA, Merinov SV, et al. Epidemiological data acquired defects of the skull in patients with traumatic brain injury, for example, a large industrial city (Novosibirsk). *Polytrauma*. 2019;(1):6–10. (In Russ.)]

32. Гаيبов С.С., Воробьев Д.П., Захарчук Е.В. Пластика сложного гигантского дефекта черепа (клинический случай) // *Университетская медицина Урала*. 2018. Т. 4, № 3.

С. 7–9. [Gaibov SS, Vorob'ev DP, Zakharchuk IA, Zakharchuk EV. Plastika slozhnogo gigantic defect of the skull (clinical case). *Universitetskaya medicina Ural*. 2018;4(3):7–9. (In Russ).]

33. Иванов А.Л., Сатанин Л.А., Агапов П.И., и др. Компьютерное планирование и биомоделирование в лечении пациента со сложным посттравматическим дефектом и деформацией краниофациальной области (клиническое наблюдение) // *Нейрохирургия и неврология детского возраста*. 2012. № 2-3. С. 144–151. [Ivanov AL, Satanin LA, Agapov PI, et al. Computer-aided planning and biodelivery in the treatment of patients with complex post-traumatic defect and deformity of the craniofacial region (clinical observation). *Neurosurgery and neurology of children's age*. 2012;(2-3):144–151. (In Russ).]

34. Ступак В.В., Мишинов С.В., Садовой М.А., и др. Современные материалы, используемые для закрытия дефектов костей черепа // *Современные проблемы науки и образования*. 2017. № 4. С. 38. [Stupak VV, Mishinov SV, Sadovoy MA, et al. Modern materials used for closing defects of the skull bones. *Modern problems of science and education*. 2017;(4):38. (In Russ).]

35. Офицеров А.А., Боровкова Н.В., Талыпов А.Э., Пономарев И.Н. Современные материалы для реконструкции костей свода черепа // *Трансплантология*. 2019. Т. 11, № 3. С. 234–243. [Ofitserov AA, Borovkova NV, Talypov AE, Ponomarev IN. Modern materials for the reconstruction of the bones of the skull arch. *Transplantologiya*. 2019;11(3):234–243. (In Russ).]

36. Иванов О.В., Семичев Е.В., Собакар Е.Г., и др. Опыт пластики дефектов черепа титановыми сетчатыми имплантатами в Сибирском научно-клиническом центре ФМБА России. В сб.: *Актуальные вопросы современной хирургии*. Красноярск, 2018. С. 285–289. [Ivanov OV, Semichev EV, Sobakar EG, et al. Experience of plastic surgery of skull defects with titanium mesh implants in the Siberian Scientific and Clinical Center of the FMBA of Russia. In the collection: *Actual issues of modern surgery*. Krasnoyarsk; 2018. P. 285–289. (In Russ).]

37. Иванов О.В., Семичев Е.В., Собакар Е.Е., и др. Опыт пластики обширных дефектов черепа титановыми имплантатами. В сб. статей научно-практической конференции «Современные технологии лечения пациентов с травмой опорно-двигательного аппарата и центральной нервной системы». Красноярск, 2019. С. 97–102. [Ivanov OV, Semichev EV, Sobakar EE, et al. Experience of plastic surgery of extensive skull defects with titanium implants. In the collection: *Modern technologies of treatment of patients with injuries of the musculoskeletal system and the central nervous system*. Krasnoyarsk; 2019. P. 97–102. (In Russ).]

38. Михайлюков В.М., Давыдов Д.В., Левченко О.В. Посттравматические дефекты и деформации глазницы. Особенности диагностики и принципы лечения (обзор литературы) // *Голова и шея*. 2013. № 2. С. 40–48. [Mikhailyukov VM, Davydov DV, Levchenko OV. Posttraumatic defects and deformities of the eye socket. Features of diagnosis and principles of treatment (literature review). *Head and Neck*. 2013;(2):40–48. (In Russ).]

39. Мишинов С.В., Ступак В.В., Копорушко Н.А., и др. Применение индивидуальных титановых имплантатов, полученных методом трехмерной печати. В сб.: *Второй Сибирский нейрохирургический конгресс*. Новосибирск, 2018. С. 82. [Mishinov SV, Stupak VV, Koporushko NA, et al. The use of individual titanium implants obtained by the method of three-dimensional printing. In: *The Second Siberian Neurosurgical Congress. Collection of abstracts*. Novosibirsk; 2018. P. 82. (In Russ).]

40. Левченко О.В., Шалумов А.З., Крылов В.В. Пластика дефектов лобно-глазничной локализации с использованием безрамной навигации // *Нейрохирургия*. 2010. № 3. С. 30–35. [Levchenko OV, Shalumov AZ, Krylov VV. Plasty of defects of frontal-orbital localization with the use of frameless navigation. *Neurosurgery*. 2010;(3):30–35. (In Russ).]

41. Копорушко Н.А., Ступак В.В., Мишинов С.В., Вардосанидзе В.К. Этиология и эпидемиология пациентов с приобретенными дефектами костей черепа в Новосибирске / Цивильное чтение: материалы XI Всероссийской научно-практической

конференции с международным участием. Новосибирск, 2019. С. 108–110. [Koporushko NA, Stupak VV, Mishinov SV, Vardosandze VK. Etiology and epidemiology of patients with acquired defects of the skull bones in Novosibirsk. Materials of the XI All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation. Novosibirsk; 2019. P. 108–110. (In Russ).]

42. Еолчийан С.А. Пластика сложных дефектов черепа имплантатами из титана и полиэтерэтеркетона (РЕЕК), изготовленными по CAD/CAM технологиям // *Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко*. 2014. Т. 78, № 4. С. 3–13. [Eolchiyan SA. Plastic surgery of complex skull defects with implants made of titanium and polyetheretherketone (REEK), made using CAD/CAM technologies. *Questions of neurosurgery named after N.N. Burdenko*. 2014;78(4):3–13. (In Russ).]

43. Bonda DJ, Manjila S, Selman WR, Dean D. The Recent Revolution in the Design and Manufacture of Cranial Implants: Modern Advancements and Future Directions. *Neurosurgery*. 2015;77(5):814–824. doi: 10.1227/NEU.0000000000000899

44. Копорушко Н.А., Мишинов С.В., Кангельдиев А.Э., Ступак В.В. Косметические результаты реконструктивных нейрохирургических вмешательств на черепе // *Политравма*. 2020. № 1. С. 47–55. [Koporushko NA, Mishinov SV, Kangelidiev AE, Stupak VV. Cosmetic results of reconstructive neurosurgical interventions on the skull. *Polytrauma*. 2020;(1):47–55. (In Russ).]

45. Копорушко Н.А., Ступак В.В., Мишинов С.В., и др. Этиология и эпидемиология приобретенных дефектов костей черепа, полученных при различной патологии центральной нервной системы, и число больных, нуждающихся в их закрытии, на примере крупного промышленного города // *Современные проблемы науки и образования*. 2019. № 2. С. 120. [Koporushko NA, Stupak VV, Mishinov SV, et al. Etiology and epidemiology of acquired defects of the skull bones obtained in various pathologies of the central nervous system, and the number of patients who need their closure, on the example of a large industrial city. *Modern problems of science and education*. 2019;(2):120. (In Russ).]

46. Копорушко Н.А., Ступак В.В., Мишинов С.В., и др. Эпидемиология и этиология приобретенных дефектов костей черепа на примере крупного промышленного города // *Российский нейрохирургический журнал им. профессора А.Л. Поленова*. 2019. Т. 11, № S. С. 209–210. [Koporushko NA, Stupak VV, Mishinov SV, et al. Epidemiology and pidemiology and etiology of acquired skull bone defects on the example of a large industrial city. *Russian Neurosurgical Journal named after Professor A.L. Polenov*. 2019;11(S):209–210. (In Russ).]

47. Бурцев А.В., Губин А.В., Рябых С.О., Сергиенко О.М. Применение 3D-моделирования и печати при задней стабилизации шейного отдела позвоночника винтовыми конструкциями / 3D-технологии в медицине: материалы IV Всероссийской научно-практической конференции. Нижний Новгород, 2019. С. 10–11. [Burtsev AV, Gubin AV, Ryabykh SO, Sergienko OM. Application of 3D-modeling and printing in the posterior stabilization of the cervical spine with screw structures. 3D-technologies in medicine: Materials of the IV All-Russian Scientific and practical conference. Nizhny Novgorod; 2019. P. 10–11. (In Russ).]

48. Коваленко Р.А., Кашин В.А., Черebilло В.Ю., Руденко В.В. Индивидуальные 3D-модели позвоночника как инструмент периперационного планирования при травмах шейного отдела позвоночника. В сб. тезисов Пятого юбилейного конгресса с международным участием «Перспективы импортозамещения в России». Санкт-Петербург, 2020. С. 119–120. [Kovalenko RA, Kashin VA, Cherebillo VYu, Rudenko VV. Individual 3D models of the spine as a tool for perioperative planning in injuries of the cervical spine. In the book: *Medical care for injuries. New in organization and technology. Prospects for import substitution in Russia* Collection of abstracts of the Fifth Anniversary Congress with international participation. Saint Petersburg; 2020. P. 119–120. (In Russ).]

49. Коваленко Р.А., Руденко В.В., Кашин В.А., и др. Применение индивидуальных 3D-навигационных матриц для транс-

педикулярной фиксации субаксиальных шейных и верхнегрудных позвонков // *Хирургия позвоночника*. 2019. Т. 16, № 2. С. 35–41. [Kovalenko RA, Rudenko VV, Kashin VA, et al. Application of individual 3D-navigation matrices for transpedicular fixation of subaxial cervical and upper thoracic vertebrae. *Spine Surgery*. 2019;16(2):35–41. (In Russ).]

50. Yang JC, Xiang Yang Ma XY, Lin J, et al. Personalised modified osteotomy using computer-aided design-rapid prototyping to correct thoracic deformities. *Int Orthop*. 2011;35(12):1827–1832. doi: 10.1007/s00264-010-1155-9

51. Yang M, Li C, Li Y, et al. Application of 3D rapid prototyping technology in posterior corrective surgery for Lenke 1 adolescent idiopathic scoliosis patients. *Medicine*. 2015;94(8):e582. doi: 10.1097/md.0000000000000582

52. Кулешов А.А., Ветрилэ М.С., Шкарубо А.Н., и др. Аддитивные технологии в хирургии деформаций позвоночника // *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2018. № 3-4. С. 19–29. [Kuleshov AA, Vetrile MS, Shkarubo AN, et al. Additive technologies in spinal deformity surgery. *Bulletin of Traumatology and Orthopedics named after N.N. Priorov*. 2018;(3-4):19–29. (In Russ).]

53. Бурцев А.В., Павлова О.М., Рябых С.О., Губин А.В. Компьютерное 3D-моделирование с изготовлением индивидуальных лекал для навигирования введения винтов в шейном отделе позвоночника // *Хирургия позвоночника*. 2018. Т. 15, № 2. С. 33–38. [Burtsev AV, Pavlova OM, Ryabykh SO, Gubin AV. Computer 3D-modeling with the production of individual patterns for navigating the introduction of screws in the cervical spine. *Spine Surgery*. 2018;15(2):33–38. (In Russ).]

54. Pan Y, Lü GH, Kuang L, Wang B. Accuracy of thoracic pedicle screw placement in adolescent patients with severe spinal deformities: a retrospective study comparing drill guide template with freehand technique. *Eur Spine J*. 2018;27(2):319–326. doi: 10.1007/s00586-017-5410-2

55. Коваленко Р.А., Черевилло В.Ю., Кашин В.А., и др. Определение оптимального дизайна навигационных матриц при транспедикулярной имплантации в шейном и верхнегрудном отделах позвоночника / 3D-технологии в медицине: материалы IV Всероссийской научно-практической конференции. Нижний Новгород, 2019. С. 18–19. [Kovalenko RA, Cherebillo VYu, Kashin VA, et al. Determining the optimal design of navigation matrices for transpedicular implantation in the cervical and upper thoracic spine. 3D-technologies in medicine Materials of the IV All-Russian Scientific and practical conference. Nizhny Novgorod; 2019. P. 18–19. (In Russ).]

56. Коваленко Р.А., Пташников Д.А., Черевилло В.Ю., Кашин В.А. Сравнительный анализ результатов имплантации транспедикулярных винтов в грудном отделе позвоночника с использованием индивидуальных навигационных матриц и методики free hand // *Травматология и ортопедия России*. 2020. Т. 26, № 3. С. 49–60. [Kovalenko RA, Ptashnikov DA, Cherebillo VYu, Kashin VA. Comparative analysis of the results of implantation of transpedicular screws in the thoracic spine using individual navigation matrices and free hand techniques. *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2020;26(3):49–60. (In Russ).]

57. Денисов А.А., Пташников Д.А., Михайлов Д.А., и др. Рентгенологическая оценка коррекции сегментарного и общего поясничного лордоза при применении индивидуальных лордозирующих межтеловых имплантатов у пациентов с дегенеративным сколиозом // *Травматология и ортопедия России*. 2020. Т. 26, № 2. С. 71–78. [Denisov AA, Ptashnikov DA, Mikhailov DA, et al. Radiological assessment of segmental and general lumbar lordosis correction in the use of individual lordosing interbody implants in patients with degenerative scoliosis. *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2020;26(2):71–78. (In Russ).]

58. Горбатов Р.О., Клеменова И.А., Новиков А.В., и др. Ревизионное эндопротезирование крупных суставов с использованием индивидуальных гибридных эндопротезов // *Современные проблемы науки и образования*. 2019. № 4. С. 50. [Gorbatov RO, Klimentova IA, Novikov AV, et al. Revision endoprosthesis replacement of large joints, using a hybrid mesh. *Modern problems of science and education*. 2019;(4): 50. (In Russ).]

59. Ширшин А.В., Кушнарев С.В., Макаров Д.А. Опыт применения аддитивных технологий в военно-медицинской академии имени С.М. Кирова. В сб. статей II Всероссийской научно-технической конференции «Состояние и перспективы развития современной науки по направлению». Анапа, 2020. С. 66–71. [Shirshin AV, Kushnarev SV, Makarov DA. Experience in the application of additive technologies in the Military Medical Academy named after S.M. Kirov. The collection of: The State and prospects of development of modern science in the direction of «Biotechnical systems and technology». Collection of articles of the II all-Russian scientific-technical conference. Anapa; 2020. P. 66–71. (In Russ).]

60. Бывальцев В.А., Калинин А.А., Белых Е.Г., Степанов И.А. Симуляционные технологии в спинальной хирургии // *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2016. Т. 71, № 4. С. 297–303. [Byvaltshev VA, Kalinkin AA, Belykh EG, Stepanov IA. Simulation technologies in spinal surgery. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016;71(4):297–303. (In Russ).]

61. Бывальцев В.А., Белых Е.Г., Коновалов Н.А. Новые симуляционные технологии в нейрохирургии // *Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко*. 2016. Т. 80, № 2. С. 102–107. [Byvaltshev VA, Belykh EG, Kononov NA. New simulation technologies in neurosurgery. *Questions of neurosurgery named after N.N. Burdenko*. 2016;80(2):102–107. (In Russ).]

62. Яковенко И.В., Кондаков Е.Н., Закондырин Д.Е. Симуляционные технологии в нейрохирургическом обучении // *Нейрохирургия*. 2015. № 1. С. 97–100. [Yakovenko IV, Kondakov EN, Zakondyrin DE. Simulation technologies in neurosurgical training. *Neurosurgery*. 2015;(1):97–100. (In Russ).]

63. Закондырин Д.Е., Кондаков Е.Н., Петришин В.Л., Пирская Т.Н. Симуляционное обучение навыкам оперативных вмешательств на позвоночнике // *Хирургия позвоночника*. 2015. Т. 12, № 2. С. 67–70. [Zakondyrin DE, Kondakov EN, Petrishin VL, Pirskaia TN. Simulation training in the skills of surgical interventions on the spine. *Spine Surgery*. 2015;12(2):67–70. (In Russ).]

64. Park HJ, Wang C, Choi KH, Kim HN. Use of a life-size three-dimensional-printed spine model for pedicle screw instrumentation training. *J Orthop Surg Res*. 2018;13(1):86. doi: 10.1186/s13018-018-0788-z

65. Мишинов С.В., Ступак В.В., Копорушко Н.А., и др. Трехмерное моделирование и печать в нейрохирургии / VIII Всероссийский съезд нейрохирургов: материалы съезда. Санкт-Петербург, 2018. С. 169. [Ishinov SV, Stupak VV, Koporushko NA, et al. Three-dimensional modeling and printing in neurosurgery. In the VIII All-Russian Congress of Neurosurgeons Materials of the Congress. Saint Petersburg; 2018. C. 169. (In Russ).]

66. Крылов В.В., Левченко О.В., Закондырин Д.Е. Практическая подготовка нейрохирургов в России. Часть 2. Опыт и перспективы // *Нейрохирургия*. 2017. № 2. С. 66–71. [Krylov VV, Levchenko OV, Zakondyrin DE. Practical training of neurosurgeons in Russia. Part 2. Experience and prospects. *Neurosurgery*. 2017;(2): 66–71. (In Russ).]

67. Мишинов С.В., Ступак В.В., Мамонова Н.В., и др. Методы трехмерного прототипирования и печати в реконструктивной нейрохирургии // *Медицинская техника*. 2017. № 2. С. 22–26. [Mishinov SV, Stupak VV, Mamonova NV, et al. Methods of three-dimensional prototyping and printing in reconstructive neurosurgery. *Medical equipment*. 2017;(2):22–26. (In Russ).]

68. Нагибович О.А., Свистов Д.В., Пелешок С.А., и др. Применение технологии 3D-печати в медицине // *Клиническая патофизиология*. 2017. Т. 23, № 3. С. 14–22. [Nagibovich OA, Svislov DV, Peleshok SA, et al. Application of 3D printing technology in medicine. *Clinical pathophysiology*. 2017;23(3):14–22. (In Russ).]

69. Алехнович А.В., Фокин Ю.Н., Есипов А.А. Состояние и перспективы развития аддитивных технологий в военных лечебно-профилактических учреждениях // *Госпитальная медицина: наука и практика*. 2019. Т. 1, № 2. С. 62–64. [Alekhovich AV, Fokin YuN, Esipov AA. The state and prospects of the development of additive technologies in military medical and preventive institutions. *Hospital medicine: science and practice*. 2019;1(2):62–64. (In Russ).]

70. Zheng W, Chen C, Zhang C, et al. The feasibility of 3D printing technology on the treatment of pilon fracture and its effect on doctor-patient communication. *Biomed Res Int*. 2018;2018:8054698. doi: 10.1155/2018/8054698

71. Liew Y, Beveridge E, Demetriades AK, Hughes MA. 3D printing of patient-specific anatomy: a tool to improve patient consent and enhance imaging interpretation by trainees. *Br J Neurosurg*. 2015;29(5):712–714. doi: 10.3109/02688697.2015.1026799

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Яриков Антон Викторович, к.м.н.;
адрес: Российская Федерация, 603001, Нижний Новгород, наб. Нижне-Волжская, д. 2;
e-mail: anton-yarikov@mail.ru; eLibrary SPIN: 8151-2292;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4437-4480>

Соавторы:

Горбатов Роман Олегович, к.м.н.;
e-mail: gorbатов.ro@yandex.ru; eLibrary SPIN: 4328-2363;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6920-0770>

Денисов Антон Андреевич;
e-mail: denisov1993@gmail.com; eLibrary SPIN: 7505-7491;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9178-8715>

Смирнов Игорь Игоревич;
e-mail: igorev_19931993@mail.ru; eLibrary SPIN: 6390-0872;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1766-9515>

Фраерман Александр Петрович, д.м.н., профессор,
заслуженный деятель науки РФ;
e-mail: operacii39@mail.ru; eLibrary SPIN: 2974-3349;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3486-6124>

Соснин Андрей Геннадьевич, к.м.н.;
e-mail: sosdoc@yandex.ru; eLibrary SPIN: 6493-2303;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4437-0581>

Перльмуттер Ольга Александровна, д.м.н.
профессор; e-mail: oaperlmutter@mail.ru; eLibrary SPIN:
1243-9601; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7934-1437>

Калинкин Александр Александрович, к.м.н.,
e-mail: aleksandr_kalinkin27@mail.ru;
eLibrary SPIN: 9919-5834;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0720-4850>

AUTHORS INFO

Anton V. Yarikov, Cand. Sci. (Med.);
address: 2, nab. Nizhnevolzhskaya, 603001,
Nizhny Novgorod, Russia; e-mail: anton-yarikov@mail.ru;
eLibrary SPIN: 8151-2292; ORCID:
<https://orcid.org/0000-0002-4437-4480>

Roman O. Gorbатов, Cand. Sci. (Med.);
e-mail: gorbатов.ro@yandex.ru; eLibrary SPIN: 4328-2363;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6920-0770>

Anton A. Denisov, MD;
e-mail: denisov1993@gmail.com; eLibrary SPIN: 7505-7491;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9178-8715>

Igor I. Smirnov, MD;
e-mail: igorev_19931993@mail.ru; eLibrary SPIN: 6390-0872;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1766-9515>

Alexandr P. Fraerman, Dr. Sci. (Med.), Professor;
e-mail: operacii39@mail.ru;
eLibrary SPIN: 2974-3349;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3486-6124>

Andrey G. Sosnin, Cand. Sci. (Med.);
e-mail: sosdoc@yandex.ru; eLibrary SPIN: 6493-2303;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4437-0581>

Olga A. Perlmutter, Dr. Sci. (Med.), Professor;
e-mail: oaperlmutter@mail.ru; eLibrary SPIN: 1243-9601;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7934-1437>

Alexandr A. Kalinkin, Cand. Sci. (Med.);
e-mail: aleksandr_kalinkin27@mail.ru;
eLibrary SPIN: 9919-5834;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0720-4850>

ИПСИЛАТЕРАЛЬНЫЙ БЛОК, ИЛИ МОЖНО ЛИ ПО ОДНОЙ ЭКГ ПОСТАВИТЬ ДИАГНОЗ?

© А.В. Конев, Е.В. Симоненко, О.В. Химий, С.В. Королев, Д.П. Дундуа

Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий
Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Российская Федерация

Обоснование. Синдром преждевременного возбуждения желудочков является врожденной аномалией строения проводящей системы сердца и заключается в наличии дополнительного предсердно-желудочкового соединения. Возможность предположить по данным электрокардиограммы наличие синдрома предвозбуждения желудочков, сопровождающегося развитием тахикардии, дает ключ к постановке верного диагноза и последующему лечению пациента.

Описание клинического случая. Представлен клинический случай пациента 56 лет, который был госпитализирован в клинику ФНКЦ ФМБА России в январе 2021 г. с пароксизмами ранее недиагностированной тахикардии. При проведении холтеровского мониторирования зафиксирован эпизод учащенного сердцебиения. При анализе фрагмента пленки удалось методом подсчета длины цикла тахикардии заподозрить наличие скрытого синдрома предвозбуждения желудочков, который сопровождался ипсилатеральной блокадой — развитием ортодромной атриовентрикулярной реципрокной тахикардии с блокадой ножки пучка Гиса на стороне дополнительного предсердно-желудочкового соединения. Пациенту выполнено эндокардиальное электрофизиологическое исследование с целью подтверждения наличия пучка с последующим катетерным лечением дополнительного предсердно-желудочкового соединения. Получен хороший послеоперационный клинический результат. **Заключение.** Важно уметь проводить дифференциальную диагностику между скрытым синдромом предвозбуждения, ипсилатеральной блокадой и другими наджелудочковыми тахикардиями с аберрацией по одной из ножек пучка Гиса с целью определения тактики ведения пациента и контроля эффективности проведенного лечения.

Ключевые слова: синдром WPW; ипсилатеральный блок; пароксизмальная ортодромная АВ-реципрокная тахикардия; клинический случай; радиочастотная катетерная абляция.

Для цитирования: Конев А.В., Симоненко Е.В., Химий О.В., Королев С.В., Дундуа Д.П. Ипсилатеральный блок, или можно ли по одной ЭКГ поставить диагноз? Клиническая практика. 2021;12(1):105–112. doi: 10.17816/clinpract65078

Поступила 18.01.2021

Принята 19.02.2021

Опубликована 01.04.2021

Список сокращений

АВРТ — атриовентрикулярная реципрокная тахикардия	времени прохождения возбуждения по предсердиям и атриовентрикулярному узлу до миокарда желудочков
ДАВС — дополнительное атриовентрикулярное соединение	QRS — желудочковый комплекс, самый большой на ЭКГ, который регистрируется во время возбуждения желудочков сердца
ЛНПГ — левая ножка пучка Гиса	RR — интервал, измеренный по ЭКГ, между двумя соседними зубцами R
ХМ ЭКГ — холтеровское мониторирование электрокардиограммы	WPW (Wolff, Parkinson, White syndrome) — синдром Вольфа–Паркинсона–Уайта
ЭКГ — электрокардиограмма	
PQ — интервал, измеренный по ЭКГ, от начала зубца P до начала зубца Q, соответствующий	

ОБОСНОВАНИЕ

Синдром Вольфа–Паркинсона–Уайта (Wolff, Parkinson, White syndrome, WPW), или синдром

предвозбуждения желудочков, — известный электрокардиографический паттерн (наличие дополнительного предсердно-желудочкового пути проведе-

ния в сочетании с тахикардией), регистрируемый у людей с врожденной патологией сердца. При наличии только классических электрокардиографических признаков предвозбуждения желудочков (укорочение интервала PQ менее 120 мсек, расширение комплекса QRS более 120 мсек, наличие дельта-волны), без пароксизмов тахикардии, говорят о феномене WPW. Именно наличие аномального атриовентрикулярного соединения является одним из звеньев, участвующих в формировании и поддержании атриовентрикулярной реципрокной тахикардии (ABPT), которая по механизму возникновения является риденти тахикардией.

На основании электрофизиологических механизмов формирования синдрома WPW принято выделять манифестирующий, интермиттирующий (преходящий) и скрытый варианты [1].

В случае регистрации на электрокардиограмме (ЭКГ) дельта-волны, которая отражает преждевре-

менное возбуждение миокарда желудочков путем антеградного (от предсердия к желудочкам) проведения импульса по дополнительному атриовентрикулярному соединению (ДАВС), можно говорить о манифестирующем синдроме WPW.

Интермиттирующий синдром WPW характеризуется транзиторным возникновением признаков предвозбуждения желудочков на ЭКГ, что проявляется чередованием нормальных комплексов QRS и деформированных комплексов QRS с дельта-волной.

Значимую проблему представляет выявление скрытого синдрома WPW, т.к. на поверхностной ЭКГ признаки предвозбуждения желудочков никогда не регистрируются. Это связано с неспособностью ДАВС проводить электрические импульсы в антеградном направлении. В связи с этим диагноз скрытого синдрома WPW ставится, как правило, ретроспективно после проведения эндокардиаль-

IPSILATERAL BLOCK OR CAN A SINGLE ECG BE USED FOR THE DIAGNOSIS?

© A.V. Konev, E.V. Simonenko, O.V. Khimiy, S.V. Korolev, D.P. Dundua

Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Assistance and Medical Technologies of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Background: Pre-excitation syndrome (premature excitation of the ventricles) is a congenital anomaly in the structure of the cardiac conduction system and consists in the presence of an additional atrioventricular connection. The possibility to assume the presence of pre-excitation syndrome accompanied by tachycardia based on an electrocardiogram provides a clue to the correct diagnosis and subsequent treatment of the patient. **Clinical case description:** A clinical case of a 56-year-old patient is presented, who was admitted to the FRCC of the FMBA of Russia in January, 2021 with paroxysms of previously undiagnosed tachycardia. During Holter monitoring, an episode of heart palpitations was recorded. When analyzing an ECG fragment, it was possible, by calculating the tachycardia cycle length, to suspect the presence of a latent ventricular pre-excitation syndrome, which was accompanied by the development of orthodromic atrioventricular reciprocal tachycardia with a bundle branch block on the side of the additional atrioventricular connection (ipsilateral block). The patient underwent endocardial electrophysiological examination to confirm the presence of the bundle, followed by the catheter treatment of the atrioventricular connection. A good postoperative clinical result was obtained. **Conclusion:** It is important to be able to make a differential diagnosis between the presence of a latent pre-excitation syndrome with the development of orthodromic atrioventricular reciprocal tachycardia with the bundle branch block on the side of the extra atrioventricular junction (ipsilateral block) and other supraventricular tachycardias with an aberration along one of the bundle branches, in order to determine the tactics of the patient management and to control the effectiveness of the treatment.

Keywords: WPW syndrome; ipsilateral bundle branch block; paroxysmal orthodromic reciprocal tachycardia; case report; radiofrequency catheter ablation.

For citation: Konev AV, Simonenko EV, Khimiy OV, Korolev SV, Dundua DP. Ipsilateral Block, or Can One ECG Be Diagnosed? *Journal of Clinical Practice*. 2021;12(1):105–112. doi: 10.17816/clinpract65078

Submitted 18.01.2021

Revised 19.02.2021

Published 01.04.2021

ного электрофизиологического исследования, во время которого впервые верифицируется ДАВС.

Однако в редких случаях АВРТ при синдроме WPW может сопровождаться блокадой одной из ножек пучка Гиса на стороне ДАВС, так называемой ипсилатеральной блокадой, которая имеет отличительные ЭКГ-признаки [1–4] и позволяет верифицировать диагноз скрытого синдрома WPW еще до проведения эндокардиального электрофизиологического исследования.

Именно такой редкий клинический случай мы хотим представить вашему вниманию, когда по одному зафиксированному пароксизму тахикардии стало возможным безошибочно диагностировать скрытый синдром WPW, проявившийся развитием ортодромной АВРТ при наличии ипсилатеральной блокады.

КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР

О пациенте

Пациент А., 56 лет, поступил в клинику с жалобами на эпизоды учащенного ритмичного сердцебиения. Подобные приступы максимальной продолжительностью до 30–40 мин беспокоят с 2014 г. до 3–4 раз в год. Возникают внезапно, без провоцирующих факторов, сопровождаются выраженной слабостью, прекращаются самостоятельно или купируются применением β -блокаторов. Частота сердечных сокращений во время приступа, при самостоятельном измерении, составляет 150–170 уд./мин.

С 2019 г. отметил ухудшение течения аритмического синдрома в виде учащения эпизодов тахикардии до нескольких раз в месяц, увеличения их продолжительности до 2 ч. На ЭКГ и по данным суточного холтеровского мониторирования (ХМ ЭКГ) тахикардию зафиксировать не удавалось.

Из анамнеза известно о длительной гипертонической болезни с максимальными показателями артериального давления 210/100 мм рт.ст., на фоне приема гипотензивной терапии — 130/80 мм рт.ст. С 2018 г. диагностируется сахарный диабет 2-го типа с достижением целевых значений гликированного гемоглобина менее 7,0% посредством низкоуглеводной диеты.

Инструментальная диагностика

Пациенту проведено обследование, направленное на исключение ишемического генеза аритмического синдрома. Выполнена диагностическая

коронароангиография, по данным которой гемодинамически значимых стенозов коронарных артерий не выявлено. По результатам эхокардиографии патологии клапанного аппарата не обнаружено, глобальная сократительная способность миокарда не нарушена, фракция выброса левого желудочка сохранна. При проведении ХМ ЭКГ от 26.01.2021 у пациента возник приступ учащенного сердцебиения, который впервые был зафиксирован на нативных пленках (рис. 1).

Клинический диагноз

Увидев только лишь эту ЭКГ, стало возможным поставить точный диагноз: «Скрытый синдром Вольфа–Паркинсона–Уайта. Пароксизмальная ортодромная атриовентрикулярная реципрокная тахикардия с участием левого дополнительного атриовентрикулярного соединения».

В данном клиническом случае, мы говорим о скрытом синдроме WPW, т.к. на всех ранее предоставленных пациентом нативных пленках ЭКГ классические признаки предвозбуждения желудочков не регистрировались.

На рис. 1 первые два комплекса являются синусовыми, вслед за которыми следует предсердная экстрасистола (третий комплекс), запускающая тахикардию с «широкими» комплексами, которая в свою очередь переходит в «узкокомплексную» тахикардию. Ключ к постановке диагноза как раз и находится в сочетании «ширококомплексной» и «узкокомплексной» тахикардий на одной ЭКГ.

С целью определения тактики ведения пациента при регистрации вышеуказанных изменений на ЭКГ необходимо проводить дифференциальную диагностику между развитием блокады одной из ножек пучка Гиса при наджелудочковой тахикардии и ипсилатеральной блокадой при АВРТ в рамках синдрома WPW.

При WPW-синдроме возможно возникновение двух видов пароксизмальных АВРТ — ортодромной и антидромной. В нашем клиническом примере речь идет об ортодромной АВРТ.

Одним из условий возникновения ортодромной АВРТ и реализации механизма ризентри является наличие двух разнородных путей проведения — быстрый (ДАВС) и медленный атриовентрикулярный узел. В понятие «быстрый» и «медленный» путь вкладывают скорость распространения волны деполяризации по проводящей системе миокарда. Эктопический водитель ритма, в данном случае предсердная экстрасистола, блокирует

Рис. 1. Фрагмент холтеровского мониторингирования электрокардиограммы с зафиксированным пароксизмом тахикардии.

Fig. 1. A fragment of the Holter ECG with the detected paroxysm of tachycardia.



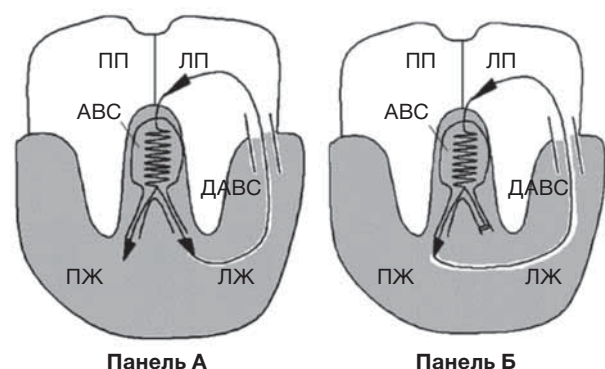
быстрый путь проведения, вследствие чего фронт возбуждения из синусового узла антеградно проводится только по атриовентрикулярному соединению на проводящую систему ножек пучка Гиса, тем временем ДАВС находится в рефрактерном периоде. В то время как импульс проходит по «медленному» атриовентрикулярному узлу, проведение по «быстрому» ДАВС восстанавливается (дополнительный путь проведения выходит из состояния рефрактерности). Возбуждение, следуя по проводящей системе ножек пучка Гиса, проводится ретроградно по ДАВС на предсердия с реализацией механизма риентри и регистрацией на поверхностной ЭКГ ортодромной АВРТ [5–8] (рис. 2, панель А). Однако в нашем случае «узкокомплексной» тахикардии предшествует «ширококомплексная» тахикардия по типу блокады левой ножки пучка Гиса, что объясняется наличием ипсилатерального блока, который определяют как блокаду ножки пучка Гиса на стороне расположения ДАВС (рис. 2, панель Б).

Дифференциальный диагноз

Для того чтобы отличить aberrацию проведения по левой ножке пучка Гиса (ЛНПГ) при наджелудочковой тахикардии от ортодромной АВРТ с ретроградным проведением по ДАВС с блокадой ЛНПГ, необходимо посчитать длину цикла тахикардии (расстояние между двумя соседними R-зубцами

Рис. 2. Схема формирования ортодромной АВРТ: у пациентов с синдромом WPW (панель А); при возникновении ипсилатеральной, соответствующей расположению ДАВС, блокады ножки пучка Гиса (панель Б).

Fig. 2. Panel A: A diagram of formation of orthodromic atrioventricular reciprocal tachycardia in patients with WPW syndrome. Panel B: A diagram of formation of orthodromic atrioventricular reciprocal tachycardia in the case of ipsilateral (corresponding to the location of the additional atrioventricular connection) bundle branch block.



Примечание. Здесь и на рис. 3: ЛЖ/ПЖ — левый/правый желудочек; АВС/ДАВС — атриовентрикулярное / дополнительное атриовентрикулярное соединение.

Note. Here and in Fig. 3: ЛЖ/ПЖ — left /right ventricle; АВС/ДАВС — trioventricular / additional atrioventricular connection.

тахикардии, RR-интервал). На ЭКГ при тахикардии с «узкими» комплексами RR-интервал составляет 315 мс, при тахикардии с «широкими» комплексами — 400 мс (рис. 3).

При ортодромной АВРТ, сопровождающейся возникновением ипсилатерального блока проведения в системе левой ножки пучка Гиса, отмечается увеличение RR-интервала на 85 мс. Разница RR-интервалов заключается в том, что при блокировании ЛНПГ электрический импульс перенаправляется на миокард желудочков по правой ножке пучка Гиса, что и приводит к увеличению петли риентри и, соответственно, длины цикла тахикардии, в отличие от наджелудочковой тахикардии с блокадой ножки пучка Гиса, когда удлинения RR-интервала не происходит (RR-интервалы при «ширококомплексной» и «узкокомплексной» тахикардиях будут одинаковыми) [3–5].

Таким образом, на разбираемом фрагменте ХМ ЭКГ регистрируется удлинение цикла тахикардии с расширением комплексов QRS по типу блокады ЛНПГ, что говорит о наличии ортодромной АВРТ с участием левого ДАВС (ипсилатерально).

Динамика и исход

Пациент в феврале 2021 г. был госпитализирован в нашу клинику с целью проведения катетерного лечения — радиочастотной абляции ДАВС.

Через бедренный венозный доступ позиционированы электрофизиологические диагностические катетеры: 4-полюсный катетер в верхушке правого желудочка; 10-полюсный — в коронарном синусе. Выполнено электрофизиологическое исследование: исходно синусовый ритм с частотой сердечных сокращений 80/мин, PQ 192 мс, QRS 98 мс. Признаки предвозбуждения желудочков не регистрируются. Выполнена асинхронная и программированная антеградная стимуляция из предсердия: базовая частота стимуляции 500 мс. Антеградный эффективный рефрактерный период атриовентрикулярного соединения 240 мс. Антеградная точка Венкебаха 360 мс. При проведении асинхронной и программированной ретроградной стимуляции определяется эффективный рефрактерный период ДАВС 320 мс, ретроградный эффективный рефрактерный период атриовентрикулярного соединения 220 мс. На эндограм-

Рис. 3. Длина цикла тахикардии изменяется с 400 до 315 мс. Разница в 85 мс соответствует увеличению длины петли риентри за счет того, что блокируется ЛНПГ, и электрический импульс распространяется к миокарду желудочков только по правой ножке пучка Гиса, возбуждая миокард правого желудочка, и только затем распространяется на миокард левого желудочка.

Fig. 3. The length of the tachycardia cycle changes from 400 msec to 315 msec. The 85 msec difference corresponds to the increase in the length of the re-entry loop, due to the left bundle branch block. The electric pulse propagates to the myocardium of the ventricles along the right bundle branch only, exciting the right ventricle myocardium, and only later propagates to the left ventricle myocardium.



Рис. 4. Этап дооперационного электрофизиологического исследования: определяется сближение предсердного и желудочкового потенциалов менее 50 мсек в области левых полюсов диагностического катетера из коронарного синуса (указано стрелкой).

Fig. 4. Pre-operative electrophysiology study. One can see the atrial and ventricular potentials getting closer (<50 msec) in the region of the left poles of the diagnostic catheter from the coronary sinus (marked with an arrow).



ме с катетера коронарного синуса определяется сближение предсердного и желудочкового потенциала слева (рис. 4).

Выполнен доступ в левое предсердие посредством пункции межпредсердной перегородки, в левое предсердие проведен ирригационный радиочастотный абляционный катетер и позиционирован в проекции левого бокового ДАВС. После получения удовлетворительных электрофизиологических параметров (раннее опережение на аб-

ляционном катетере, соотношение предсердного и желудочкового спайков в соотношении 1:3) выполнено 10 радиочастотных аппликаций по 60 сек каждая, энергией 45 Вт и температурой 45°C, параметры ирригации катетера — 30 мл/мин. При проведении контрольного электрофизиологического исследования данных за функционирование ДПЖС нет (рис. 5), антеградная точка Венкебаха 360 мс. Наблюдение — 30 мин с последующим контролем электрофизиологических параметров.

Рис. 5. Послеоперационное электрофизиологическое исследование: определяется центральный тип активации проводящей системы без признаков предсердно-желудочкового соединения (указано стрелкой).

Fig. 5. Post-operative electrophysiology study. One can see the central type of the conducting system, without signs of an atrioventricular connection (marked with an arrow).



ОБСУЖДЕНИЕ

Развитие АВРТ при скрытом синдроме WPW, сопровождающейся ипсилатеральной блокадой (блокада ножки пучка Гиса на стороне расположения ДАВС), зафиксированной на пленке ЭКГ, встречается довольно редко в практической деятельности врача-кардиолога, что усложняет постановку предварительного клинического диагноза. Таким образом, однажды увидев переход «ширококомплексной» тахикардии в тахикардию с узкими комплексами, или, наоборот, переход тахикардии с узкими комплексами в тахикардию с широкими комплексами, и применив правило подсчета длины цикла тахикардии, представленное выше, открывается возможность постановки верного клинического диагноза лишь по одной пленке ЭКГ без применения дополнительных методов диагностики.

Однако окончательным методом подтверждения электрофизиологического субстрата ДАВС является проведение эндокардиального электрофизиологического исследования. При этом полная элиминация синдрома WPW достигается широким внедрением катетерного лечения — радиочастотной абляции ДАВС, что позволяет улучшить качество жизни пациента. Другими словами, без правильно интерпретированных первичных изменений на пленке ЭКГ дальнейший диагностический поиск был бы невозможен.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В практике кардиолога, когда на ЭКГ или ХМ ЭКГ удастся зарегистрировать переход «узкокомплексной» тахикардии в «ширококомплексную» тахикардию (или наоборот, как в описанном нами случае), достаточно применить простой прием расчета и сравнения RR-интервалов «узкокомплексной» и «ширококомплексной» тахикардий, чтобы поставить диагноз синдрома WPW с ипсилатеральной блокадой на стороне расположения дополнительного атриовентрикулярного соединения (в этом случае RR-интервал «узкокомплексной» тахикардии будет меньше RR-интервала «ширококомплексной» тахикардии) либо диагностировать другую суправентрикулярную тахикардию с аберрацией проведения по одной из ножек пучка Гиса (в этом случае RR-интервалы «узкокомплексной» и «ширококомплексной» тахикардии будут равны).

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов. А.В. Конев — идея описания клинического случая, консультация пациента, кор-

ректура и написание статьи; Д.П. Дундуа — корректура статьи, общее руководство; О.В. Химий — подготовка рисунков в статью, подбор обзора литературы; Е.В. Симоненко — поисково-аналитическая работа, написание статьи; С.В. Королев — обеспечение интраоперационными иллюстрациями. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contributions. A.V. Konev — concept of the clinical case presentation, consult of the patient, manuscript writing and editing; D.P. Dundua — patients' care management, manuscript editing; O.V. Khomiy — literature review, illustrations; E.V. Simonenko — literature search, manuscript writing; S.V. Korolev — intraoperative illustrations. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Информированное согласие. От пациента получено информированное согласие на обработку персональных данных, медицинское вмешательство и использование анонимизированных медицинских данных в научных целях.

Consent for publication. Written consent was obtained from the patient for publication of relevant medical information and all of accompanying images within the manuscript.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ардашев А.В. Синдром Вольфа-Паркинсона-Уайта: клиника, диагностика, лечение. Москва: Медпрактика-М, 2014. С. 16–30. [Ardashev A.B. Wolf-Parkinson-White syndrome: clinic,

diagnosis, treatment. Moscow: Medpraktika-M; 2014. P. 16–30. (In Russ).]

2. Ардашев В.Н., Ардашев А.В., Стеклов В.И. Лечение нарушений сердечного ритма. Москва: Медпрактика-М, 2005. С. 223–227. [Ardashev VN, Ardashev AB, Steklov VI. Treatment of cardiac arrhythmias. Moscow: Medpraktika-M; 2005. P. 223–227. (In Russ).]

3. Ревিশвили А.Ш., Давтян К.В., Лабарткава Е.З. Особенности электрофизиологической диагностики при синдроме предвозбуждения: множественные дополнительные предсердно-желудочковые соединения // *Вестник аритмологии*. 2008. № 51. С. 61–68. [Revishvili ASH, Davtyan KV, Labartkava EZ. Features of electrophysiological diagnostics in preexcitation syndrome: multiple additional atrioventricular connections. *Bulletin of Arrhythmology*. 2008;(51):61–68. (In Russ).]

4. Benson DW, Cohen MI. Wolff-Parkinson-White syndrome: lessons learnt and lessons remaining. *Cardiol Young*. 2017;27(S1):S62–S67.

5. Бокерия О.Л., Ахобеков А.А. Синдром Вольфа-Паркинсона-Уайта // *Анналы аритмологии*. 2015. Т. 12, № 1. С. 25–37. [Bockeria OL, Akhobekov AA. Wolff-Parkinson-White syndrome. *Annaly aritmologii*. 2015;12(1):25–37. (In Russ).] doi: 10.15275/annaritmol.2015.1.4

6. Ардашев А.В., Рыбаченко М.С. Эффективность лечения больных синдромом Вольфа-Паркинсона-Уайта методом радиочастотной катетерной абляции дополнительного атрио-вентрикулярного соединения // *Военно-медицинский журнал*. 2007. Т. 328, № 6. С. 73–74. [Ardashev AV, Rybachenko MS. Effectiveness of treatment of patients with Wolf syndrome-Parkinson's disease-White's method of radiofrequency catheter ablation of an additional atrioventricular junction. *Military Medical journal*. 2007;328(6):73–74. (In Russ).]

7. Bhatia A, Sra J, Akhtar M. Preexcitation Syndromes. *Curr Probl Cardiol*. 2016;41(3):99–137.

8. Kesler K, Lahham S. Tachyarrhythmia in Wolff-Parkinson-White Syndrome. *West J Emerg Med*. 2016;17(4):469–470.

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Конев Алексей Васильевич, к.м.н.;
адрес: Российская Федерация, 115682, Москва,
Ореховый бульвар, д. 28; e-mail: konevalexv@mail.ru;
eLibrary SPIN: 7559-8450;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1762-6822>

Соавторы:

Симоненко Евгения Викторовна;
e-mail: evgeniya12089@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2526-0741>

Химий Орыся Васильевна;
e-mail: Orysya_himii@mail.ru; eLibrary SPIN: 8007-1319;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8828-9384>

Королев Сергей Владимирович, к.м.н.;
e-mail: sergejkorolev@yandex.ru;
eLibrary SPIN: 4545-3450;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5513-2332>

Дундуа Давид Петрович, д.м.н., профессор;
e-mail: david.doundoua@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7345-0385>

AUTHORS INFO

Aleksey V. Konev, Cand. Sci. (Med.);
address: 28 Orekhovy Boulevard street, 115682 Moscow,
Russia; e-mail: konevalexv@mail.ru;
eLibrary SPIN: 7559-8450;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1762-6822>

Evgeniya V. Simonenko, MD, resident;
e-mail: evgeniya12089@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2526-0741>

Orysya V. Khimiy, MD;
e-mail: Orysya_himii@mail.ru; eLibrary SPIN: 8007-1319;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8828-9384>

Sergey V. Korolev, Cand. Sci. (Med.);
e-mail: sergejkorolev@yandex.ru;
eLibrary SPIN: 4545-3450;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5513-2332>

David P. Dundua, Doct. Sci. (Med.), Professor;
e-mail: david.doundoua@gmail.com;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7345-0385>

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ УСПЕШНОГО ЭТАПНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТА С РАССЛАИВАЮЩЕЙ АНЕВРИЗМОЙ ВОСХОДЯЩЕГО ОТДЕЛА АОРТЫ С ВОВЛЕЧЕНИЕМ СТВОЛА ЛЕВОЙ КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ

© А.В. Бочаров¹, Л.В. Попов²

¹ Костромская областная клиническая больница имени Королева Е.И., Кострома, Российская Федерация

² Национальный медико-хирургический центр имени Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

Обоснование. Представленный клинический случай демонстрирует вариант успешного этапного оказания медицинской помощи пациенту с расслаивающей аневризмой восходящего отдела аорты с вовлечением ствола левой коронарной артерии в сосудистом центре без кардиохирургической поддержки. **Описание клинического случая.** Пациент поступил в региональный сосудистый центр Костромской области с симптомами острого коронарного синдрома. При обследовании в клинике подтвержден диагноз острого коронарного синдрома с подъемом сегмента ST, выявлена также расслаивающая аневризма восходящего отдела аорты. По данным экстренной коронарографии визуализировано расслоение ствола левой коронарной артерии, проведено успешное стентирование ствола левой коронарной артерии голометаллическим стентом. В федеральном центре, куда был переведен пациент, ему выполнено протезирование аорты. **Заключение.** У пациентов с расслаивающей аневризмой грудного отдела аорты с вовлечением ствола левой коронарной артерии и острым повреждением миокарда, поступающих в сосудистый центр без кардиохирургической поддержки, может быть эффективна стратегия этапного лечения: стентирование ствола левой коронарной артерии голометаллическим стентом и перевод в центр кардиохирургии для дальнейшего оперативного лечения.

Ключевые слова: аневризма аорты; острый коронарный синдром; этапное лечение; голометаллический стент; клинический случай.

Для цитирования: Бочаров А.В., Попов Л.В. Клинический случай успешного этапного лечения пациента с расслаивающей аневризмой восходящего отдела аорты с вовлечением ствола левой коронарной артерии. *Клиническая практика.* 2021;12(1):113–118. doi: 10.17816/clinpract62873

Поступила 08.02.2021

Принята 25.02.2021

Опубликована 01.04.2021

ОБОСНОВАНИЕ

Расслаивающая аневризма грудного отдела аорты — грозное проявление разнообразных патологических процессов, в частности атеросклероза, генетически связанных нарушений соединительной ткани, идиопатического медиального некроза, воспалительных процессов стенки аорты [1–3]. По данным литературы, летальность при данной патологии достигает 12% при хирургическом вмешательстве и 100% без оперативного лечения [4, 5]. Клинически расслаивающая аневризма аорты проявляется чаще болевым синдромом в грудной клетке, одышкой, отсутствием реакции на введение анальгетиков, однако при вовлечении брахиоцефальных артерий превалирует мозговая симптоматика, при вовлечении аортального клапана — сердечная недостаточность, а при охвате коронарной артерии — признаки острого коронарного синдрома.

У пациентов с расслаивающей аневризмой аорты с вовлечением коронарных артерий крайне редко применяются этапное лечение, а именно: эндоваскулярное вмешательство на симптоматической артерии на первом этапе и отсроченное хирургическое лечение на втором этапе. Однако вышеназванная тактика может быть эффективной стратегией лечения этой патологии в сосудистых центрах без кардиохирургической поддержки при условии применения стентов, позволяющих произвести раннюю отмену антиагрегантной терапии для выполнения протезирования аорты.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

О пациенте

Пациент К., 64 года, поступил в региональный сосудистый центр ГБУЗ «Костромская област-

ная клиническая больница имени Королева Е.И.» 03.07.2020 по направлению скорой медицинской помощи с диагнозом острого коронарного синдрома с подъемом сегмента ST, отека легких.

При поступлении предъявляет жалобы на давящую боль в области сердца в течение последнего часа, не купируемую приемом нитроглицерина. Подобный приступ стенокардии возник впервые. Отмечает также ощущение нехватки воздуха, одышку в покое.

До настоящего времени хронических заболеваний не имел, у врача не наблюдался. Последние 5 лет отмечал периодические подъемы артериального давления до 170/100 мм рт.ст., которые купировал приемом Андипала. Постоянную терапию не получал.

Образование высшее; наследственной отягощенности не отмечает; туберкулез, венерические заболевания отрицает. Перенесенные заболевания: детские инфекции, острые респираторные вирусные инфекции.

Физикальная диагностика

При осмотре: состояние тяжелое; сознание ясное; кожные покровы несколько бледные, сухие. Телосложение правильное, гиперстеническое. Ожирение 1-й степени, индекс массы тела 34 балла. Пульс 106 уд./мин, ритмичный, пониженных характеристик. Неинвазивное артериальное давление 150/90 мм рт.ст. Аускультативно определяется грубый систолический шум в проекции восходящей аорты. Частота дыхательных движений 25/мин. Дыхание ослабленное, множество влажных хрипов по всей поверхности легких. Со стороны остальных систем и органов без значимых изменений.

Предварительный диагноз

На основании жалоб и сбора анамнеза установлен предварительный диагноз: Ишемическая болезнь сердца. Острый коронарный синдром с подъемом сегмента ST. Необходим дифференциальный диагноз с исключением тромбоэмболии легочной артерии и расслаивающей аневризмы аорты.

A CLINICAL CASE OF A SUCCESSFUL STEP-BY-STEP TREATMENT OF A PATIENT WITH A DISSECTING ANEURYSM OF THE ASCENDING AORTA INVOLVING THE TRUNK OF THE LEFT CORONARY ARTERY

© A.A. Bocharov¹, L.V. Popov²

¹ Kostroma Regional Clinical Hospital named after Korolev E.I., Kostroma, Russian Federation

² National Medical and Surgical Center named after N.I. Pirogov, Moscow, Russian Federation

Background: The presented clinical case shows a version of successful step-by-step medical care for a patient with a dissecting aneurysm of the ascending aorta involving the trunk of the left coronary artery in a vascular center without a cardiac surgical support. **Clinical case description:** The patient was admitted to the Kostroma Regional Vascular Center with the symptoms of Acute Coronary Syndrome. During the examination in the clinic, the diagnosis of acute coronary syndrome with ST segment elevation was confirmed, and a dissecting aneurysm of the ascending aorta was also revealed. According to emergency coronary angiography, the dissection of the left coronary artery trunk was visualized, and the left coronary artery trunk was successfully stented with a bare metal stent. Later, the patient was transferred to a federal center, where aortic prosthetic reconstruction was performed. **Conclusion:** In patients with a dissecting thoracic aortic aneurysm involving the trunk of the left coronary artery and acute myocardial damage, who are admitted to a vascular center without a cardiac surgery support, the following step-by-step treatment strategy is likely to be effective: stenting the trunk of the left coronary artery with a bare metal stent and a further transfer to a center of cardiac surgery for a surgical treatment.

Keywords: aortic aneurysm; acute coronary syndrome; step-by-step treatment; bare metal stent; clinical case.

For citation: Bocharov AA, Popov LV. A Clinical Case of a Successful Step-By-Step Treatment of a Patient with a Dissecting Aneurysm of the Ascending Aorta Involving the Trunk of the Left Coronary Artery. *Journal of Clinical Practice*. 2021;12(1):113–118. doi: 10.17816/clinpract62873

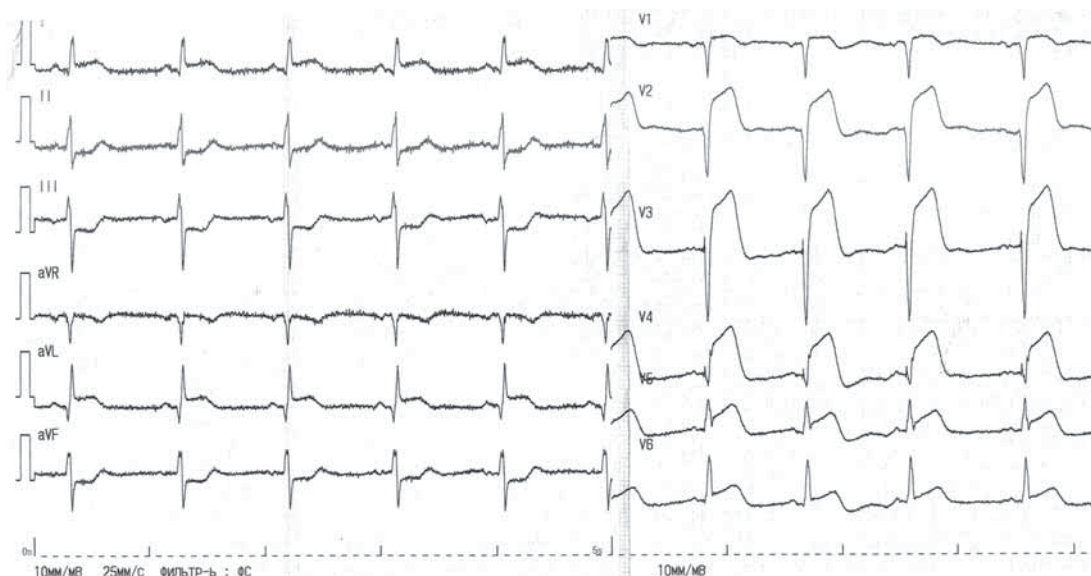
Submitted 08.02.2021

Revised 25.02.2021

Published 01.04.2021

Рис. 1. Пациент К. с расслаивающей аневризмой грудного отдела аорты, 64 года: электрокардиограмма при поступлении в отделение реанимации кардиологического отделения.

Fig. 1. Patient K. with a dissecting thoracic aortic aneurysm, 64 y.o.: ECG upon admission to the ICU of the Cardiology Department.



Примечание. Элевация сегмента ST в I, aVL, V₁–V₆ отведениях, дискордантные изменения в виде депрессии сегмента ST во II, III и aVF отведениях.

Note. ST segment elevation in I, aVL, V₁–V₆ leads, discordant changes in the form of ST segment depression in II, III and aVF leads

Лечение

С учетом предварительного диагноза пациент был госпитализирован в палату реанимации кардиологического отделения регионального сосудистого центра. Болевой синдром в области сердца полностью купирован наркотическими анальгетиками; пульс 100 уд./мин, неинвазивное артериальное давление 140/90 мм рт.ст., насыщение крови кислородом (SpO₂) 95%.

По данным электрокардиограммы отмечается острейшее повреждение миокарда в зоне кровоснабжения левой коронарной артерии (рис. 1).

Данные лабораторных исследований без особенностей. Качественный тропонин положителен.

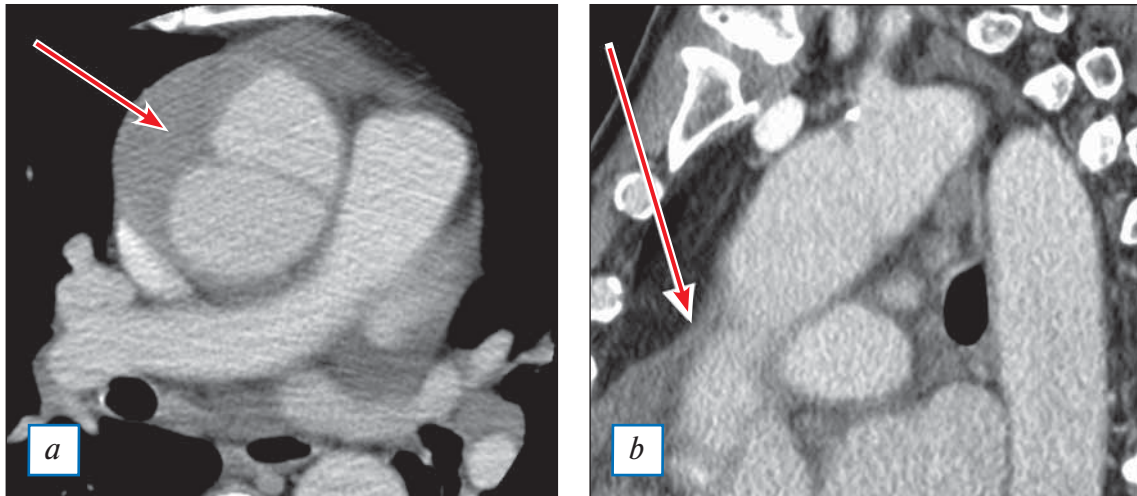
Эхокардиография: диаметр аорты на уровне корня 33 мм, восходящего отдела — 64 мм, дуги — 41 мм. В восходящем отделе, начиная с надклапанного отдела и до дуги аорты, в просвете лоцируется линейная структура (признаки отслоения интимы), признаки тромбирования ложного канала. Левое предсердие 56 мм. Левый желудочек: конечно-диастолический размер 62 мм, межжелудочковая перегородка 14 мм (диастола), задняя стенка 13 мм (диастола), фракция выброса 37%. Правый желудочек 38 мм. Правое предсердие 55 мм. Митральный и аортальный клапаны: регургитация 1-й степени.

Заключение: признаки расслоения аневризмы аорты в восходящем отделе. Дилатация всех камер сердца.

Компьютерно-томографическая (КТ) аортография: в проксимальном отделе восходящей аорты визуализируется надрыв интимы с формированием расслоения, которое распространяется дистально по левой поверхности дуги до уровня отхождения левой подключичной артерии без перехода на ее устье, слепо заканчивается по левой нижней стенке; визуализируется переход расслоения на ствол левой коронарной артерии (рис. 2). Расслоение восходящей аорты типа А по Стенфордской классификации.

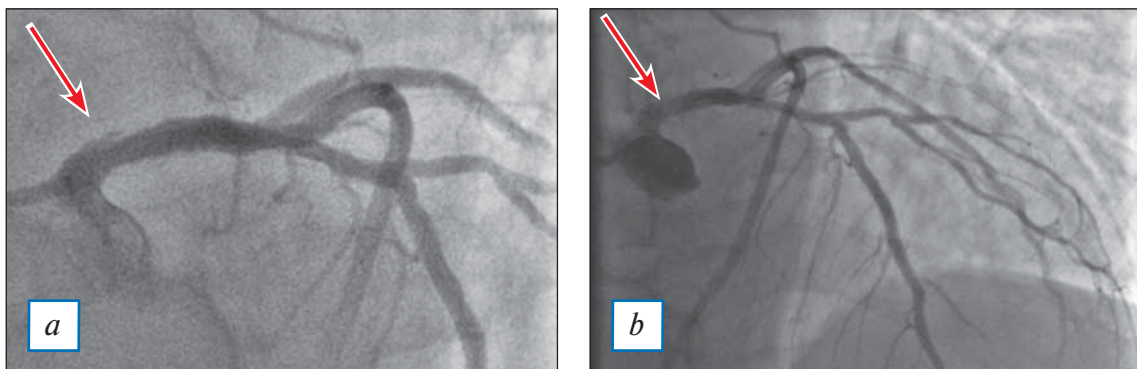
На основании вышеизложенных данных и с учетом КТ-аортографической картины (расслоение находится в восходящем отделе аорты) кардиокомандой принято решение о необходимости экстренного эндоваскулярного вмешательства безректным доступом.

По данным селективной коронарографии визуализируется расслоение ствола левой коронарной артерии (рис. 3, а), остальной бассейн левой коронарной артерии без гемодинамически значимых поражений (рис. 3, б); правая коронарная артерия без особенностей (рис. 4). Левый тип кровоснабжения миокарда.

Рис. 2. Тот же пациент: КТ-аортография.**Fig. 2.** The same patient: CT-aortography.

Примечание. *a* — поперечный срез восходящего отдела аорты (стрелкой обозначен канал расслоения аорты); *b* — продольный срез восходящего отдела аорты (стрелкой обозначен канал расслоения аорты).

Note. *a* — cross-section of the ascending aorta (the canal of aortic dissection is marked with an arrow); *b* — longitudinal section of the ascending aorta (the canal of aortic dissection is marked with an arrow).

Рис. 3. Тот же пациент: селективная коронарография левой коронарной артерии.**Fig. 3.** The same patient: selective coronary angiography of the left coronary artery.

Примечание. *a* — увеличенное изображение (расслоение ствола левой коронарной артерии отмечено стрелкой); *b* — передняя нисходящая, огибающая, диагональная артерии и ветвь тупого края без гемодинамически значимых поражений (стрелкой отмечено расслоение ствола левой коронарной артерии).

Note. *a* — enlarged image (dissection of the trunk of the left coronary artery is marked with an arrow); *b* — left anterior descending, circumflex, diagonal arteries and obtuse marginal branch without a hemodynamically significant damage (dissection of the trunk of the left coronary artery is marked with an arrow)

С учетом высокой вероятности распространения диссекции на переднюю нисходящую и огибающую артерии, при наличии острейшего повреждения миокарда и необходимости выполнения хирургического лечения на восходящем отделе аорты принято решение об имплантации голометаллического стента в ствол левой коронарной артерии.

Выполнена успешная имплантация стента «Синус» (НПК «Ангиолайн», Россия) диаметром 5 мм и длиной 12 мм в ствол левой коронарной артерии (рис. 5).

Динамика и исходы

Послеоперационный период протекал без особенностей, болевой синдром не рецидивировал, полный регресс ишемических изменений на электрокардиограмме. В качестве двойной антиагрегантной терапии были выбраны тикагре-лор в дозе 90 мг 2 раза/сут и ацетилсалициловая кислота по 100 мг/сут. На 7-е сут после стентирования ствола левой коронарной артерии пациент был переведен в федеральный центр, где выполнено успешное протезирование восходящего отдела аорты.

Рис. 4. Тот же пациент: селективная коронарография правой коронарной артерии.

Fig. 4. The same patient: selective coronary angiography of the right coronary artery.



Рис. 5. Тот же пациент: результат стентирования ствола левой коронарной артерии.

Fig. 5. The same patient: results of the left coronary artery stenting.



В отдаленном периоде наблюдения (7 месяцев) пациент жалоб не предъявляет, осложнений нет.

ОБСУЖДЕНИЕ

В представленном клиническом случае применена вынужденная тактика этапной стратегии: для эндоваскулярного лечения острого коронарного синдрома с подъемом сегмента ST, вызванным продолжением расслоения восходящего отдела аорты на ствол левой коронарной артерии, был выбран феморальный доступ, имплантирован голометаллический коронарный стент.

Согласно действующим рекомендациям по лечению пациентов с острым коронарным синдромом

следует применять лучевой доступ и имплантировать исключительно стенты с лекарственным покрытием [6–8].

С учетом данных КТ-аортографии (расслоение аорты распространяется до устья левой подключичной артерии) доступ через правую лучевую артерию был признан опасным с точки зрения попадания эндоваскулярного инструментария в ложный просвет; доступ через левую лучевую артерию также был отвергнут, так как риск попадания инструментария в ложный просвет все же превышал предполагаемую пользу. Исходя из представленной позиции, было принято решение о том, что в данном случае оптимальным является доступ через бедренную артерию с его закрытием с помощью ушивающего устройства по окончании интервенции.

Согласно современным рекомендациям [6–8], в настоящее время рекомендована имплантация только коронарных стентов с лекарственным покрытием, так как в отдаленном периоде наблюдения они достоверно реже приводят к возникновению неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (сердечно-сосудистая смерть, острый инфаркт миокарда, повторные вмешательства на целевых сосудах, возврат симптомов стенокардии) по сравнению с голометаллическими стентами. С другой стороны, ранняя отмена двойной антиагрегантной терапии (ранее 30 дней после имплантации стента) у пациентов с имплантированными стентами с лекарственным покрытием резко повышает вероятность тромбоза стента с развитием больших неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. Учитывая вышеизложенное, а также необходимость срочного вмешательства на восходящем отделе грудной аорты, требующего отмены двойной антиагрегантной терапии, большой диаметр (5 мм) и малую длину (12 мм) необходимо к имплантации стента, операционной бригадой принято решение об имплантации голометаллического стента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для пациентов с расслаивающей аневризмой грудного отдела аорты с вовлечением ствола левой коронарной артерии и острым повреждением миокарда, поступающих в сосудистый центр без кардиохирургической поддержки, вероятно, будет эффективной стратегия этапного лечения: стентирование ствола левой коронарной артерии голометаллическим стентом и перевод в центр кардиохирургии для дальнейшего оперативного лечения.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов. А.В. Бочаров — сбор и обработка материала; А.В. Бочаров, Л.В. Попов — концепция и дизайн; написание текста; редактирование. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. A.V. Bocharov — collection and processing of the material; A.V. Bocharov, L.V. Popov — study concept and design; manuscript writing, editing. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Информированное согласие. От пациента получено письменное добровольное информированное согласие на публикацию результатов его обследования и лечения в научных целях (дата подписания 03.07.2020).

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Бочаров Александр Владимирович, д.м.н.;
адрес: Российская Федерация, 156013, Кострома,
пр. Мира, д. 114; e-mail: bocharovav@mail.ru;
eLibrary SPIN: 6073-1445;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6027-2898>

Соавтор:

Попов Леонид Валентинович, д.м.н., профессор;
e-mail: popovcardio@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0530-3268>

Consent for publication. Written consent was obtained from the patient for publication of relevant medical information and all of accompanying images within the manuscript (signed July 03, 2020).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Balistreri CR, Pisano C, Candore G, et al. Focus on the unique mechanisms involved in thoracic aortic aneurysm formation in bicuspid aortic valve versus tricuspid aortic valve patients: Clinical implications of a pilot study. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2013;43(6):e180–e186. doi: 10.1093/ejcts/ezs630
2. Pisano C, Maresi E, Merlo D, et al. A particular phenotype of ascending aorta aneurysms as precursor of type A aortic dissection. *Interact Cardio Vasc Thorac Surg.* 2012;15(5):840–846. doi: 10.1093/icvts/ivs347
3. Saliba E, Sia Y. The ascending aortic aneurysm: When to intervene. *IJC Heart & Vasculture.* 2015;6:91–100. doi: 10.1016/j.ijcha.2015.01.009
4. Erbel R, Aboyans V, Boileau C, et al. 2014 ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of aortic diseases: Document covering acute and chronic aortic diseases of the thoracic and abdominal aorta of the adult. The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Aortic Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2014;35:2873–2926. doi: 10.1093/eurheartj/ehu281
5. Hiratzka LF, Bakris GL, Beckman JA, et al. 2010 ACCF/AHA/AATS/ACR/ASA/SCA/SCAI/SIR/STS/SVM guidelines for the diagnosis and management of patients with Thoracic Aortic Disease: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, American Association for Thoracic Surgery, American College of Radiology, American Stroke Association, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Interventional Radiology, Society of Thoracic Surgeons, and Society for Vascular Medicine. *Circulation.* 2010;121(13):e266–369. doi: 10.1161/CIR.0b013e3181d4739e
6. Ibanez B, James S, Agewall S, et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2018;39(2):119–177. doi: 10.1093/eurheartj/ehx393
7. Collet JP, Thiele H, Barbato E, et al. The Task Force for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2020;1–79. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa575
8. Newmann FJ, Sousa-Uva M, Ahlsson A, et al. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur Heart J.* 2019;40(2):87–165. doi: 10.1093/eurheartj/ehy394

AUTHORS INFO

Aleksandr V. Bocharov, Dr. Sci. (Med.);
address: 114 avenue Prospekt Mira, 156013 Kostroma,
Russia; e-mail: bocharovav@mail.ru;
eLibrary SPIN: 6073-1445; ORCID:
<https://orcid.org/0000-0002-6027-2898>

Соавтор:

Leonid V. Popov, Dr. Sci. (Med.), Professor;
e-mail: popovcardio@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0530-3268>