

АЛЬМАНАХ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

49 (3) • 2021

Экспрессия контрольной точки иммунитета B7-H3 в опухоли и ее растворимой формы в сыворотке крови больных новообразованиями костей

Прогностическая роль aberrантной копийности генов *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, *c-Myc* у больных раком яичников

Новая коронавирусная инфекция у детей в Московской области: кликоэпидемиологические и терапевтические аспекты

Значение цистатина С и различных методик подсчета скорости клубочковой фильтрации в оценке нарушений функции почек у детей с острыми кишечными инфекциями

Клиническое наблюдение пациента с муковисцидозом с патогенным вариантом N1303K в генотипе с исследованием функции канала CFTR с помощью метода определения разницы кишечных потенциалов и форсколинового теста на кишечных органоидах

Пароксизмальная кинезиогенная дискинезия: длительный путь от симптома к диагнозу

Демиелинизирующие заболевания центральной нервной системы у детей: лекция для практикующих педиатров

БИОТЕХНОЛОГИИ В ОНКОЛОГИИ
ДЕТСКИЕ БОЛЕЗНИ

АЛЪМАНАХ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал
Издается с 1998 г.
Периодичность – 8 выпусков в год
Учредитель – ГБУЗ МО «Московский
областной научно-исследовательский
клинический институт
им. М.Ф. Владимирского» (МОНИКИ)

Том 49 • № 3 • 2021

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Глезер Мария Генриховна, д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры кардиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Сеченовского университета (Москва, Россия)

Заместитель главного редактора

Какорина Екатерина Петровна, д-р мед. наук, профессор, заместитель директора ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского по науке и международным связям (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Почетный член редколлегии: **Палеев Николай Романович**, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Алексеев Сергей Алексеевич, д-р мед. наук, профессор (Хабаровск, Россия)

Базарный Владимир Викторович, д-р мед. наук, профессор (Екатеринбург, Россия)

Баркан Ариель, д-р мед. наук, профессор (Энн-Арбор, США)

Белоусова Елена Александровна, д-р мед. наук, профессор (Москва, Россия)

Богачев-Прокофьев Александр Владимирович, д-р мед. наук (Новосибирск, Россия)

Брагин Анатолий Григорьевич, д-р биол. наук (Лос-Анджелес, США)

Бухфельдер Михаэль, д-р мед. наук, профессор (Эрланген, Германия)

Васюк Юрий Александрович, д-р мед. наук, профессор (Москва, Россия)

Великанова Людмила Иосифовна, д-р биол. наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия)

Вольффенбюттель Брюс, д-р мед. наук, профессор (Тронинген, Нидерланды)

Годков Михаил Андреевич, д-р мед. наук (Москва, Россия)

Голухова Елена Зеликовна, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Григорьев Евгений Валерьевич, д-р мед. наук, профессор, профессор РАН (Кемерово, Россия)

Гуляева Людмила Федоровна, д-р биол. наук, профессор (Новосибирск, Россия)

Густина Андреа, д-р мед. наук, президент Европейского общества эндокринологов (Милан, Италия)

Давыдов Михаил Михайлович, д-р мед. наук, чл.-корр. РАН (Москва, Россия)

Де Херт Стефан, д-р мед. наук, председатель научного комплекса Европейского общества анестезиологии (Гент, Бельгия)

Добрынина Лариса Анатольевна, д-р мед. наук (Москва, Россия)

Драпкина Оксана Михайловна, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН (Москва, Россия)

Зыбина Наталья Николаевна, д-р биол. наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия)

Научный редактор раздела «Детские болезни»

Мескина Елена Руслановна, д-р мед. наук, заведующая отделением детских инфекций отдела терапии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (Москва, Россия)

Ответственный редактор

Парпара Олеся Анатольевна (Москва, Россия)

Киров Михаил Юрьевич, д-р мед. наук, профессор (Архангельск, Россия)

Кушлинский Николай Евгеньевич, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Литвинов Рустем Игоревич, д-р мед. наук, профессор (Филадельфия, США)

Лобзин Юрий Владимирович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)

Майр Йоханнес, д-р мед. наук, профессор (Базель, Швейцария)

Мельниченко Галина Афанасьевна, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Молочков Антон Владимирович, д-р мед. наук, профессор (Москва, Россия)

Мурешану Дафин Ф., д-р мед. наук, профессор (Клуж-Напока, Румыния)

Наймарк Олег Борисович, д-р физ.-мат. наук, профессор (Пермь, Россия)

Нероев Владимир Владимирович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Овезов Алексей Мурадович, д-р мед. наук (Москва, Россия)

Пономаренко Геннадий Николаевич, д-р мед. наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия)

Потекаев Николай Николаевич, д-р мед. наук, профессор (Москва, Россия)

Райниш Уолтер, д-р мед. наук (Вена, Австрия)

Романко Юрий Сергеевич, д-р мед. наук (Москва, Россия)

Синицын Валентин Евгеньевич, д-р мед. наук, профессор (Москва, Россия)

Ситкин Станислав Игоревич, канд. мед. наук, д-р медицины Латвийской Республики (Санкт-Петербург, Россия)

Стилиди Иван Сократович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Шахова Наталия Михайловна, д-р мед. наук (Нижний Новгород, Россия)

Шишацкая Екатерина Игоревна, д-р биол. наук, канд. мед. наук, профессор РАН (Красноярск, Россия)

Ян Чи, д-р мед. наук, профессор (Шанхай, Китай)

Содержание

Биотехнологии в онкологии

Кушлинский Н.Е., Ковалева О.В., Алферов А.А.,
Кузьмин Ю.Б., Сушенцов Е.А., Стилиди И.С.

**Экспрессия контрольной точки иммунитета В7-Н3
в опухоли и ее растворимой формы в сыворотке
крови больных новообразованиями костей** 179

Вереникина Е.В., Петрусенко Н.А., Кечерюкова М.М.

**Прогностическая роль aberrантной копийности
генов *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, *c-Myc* у больных
раком яичников** 191

Детские болезни

Чугунова О.Л., Гребёнкина Е.Ю., Усенко Д.В.,
Володина И.И., Галеева Е.В., Дрожжин Е.А.,
Корсунский А.А., Легошина Н.Ю., Музыка А.Д.,
Нарышкина М.И., Павлушкина Л.В., Рыкова А.С.

**Значение цистатина С и различных методик
подсчета скорости клубочковой фильтрации
в оценке нарушений функции почек у детей
с острыми кишечными инфекциями** 197

Мескина Е.Р., Хадисова М.К., Сташко Т.В.,
Бицуева А.В.

**Новая коронавирусная инфекция
у детей в Московской области: клинико-
эпидемиологические и терапевтические
аспекты** 207

Кондратьева Е.И., Одинаева Н.Д., Шерман В.Д.,
Ефремова А.С., Мельяновская Ю.Л., Булатенко Н.В.,
Бухарова Т.Б., Гольдштейн Д.В.

**Клиническое наблюдение пациента
с муковисцидозом с патогенным вариантом N1303K
в генотипе с исследованием функции канала CFTR
с помощью метода определения разницы кишечных
потенциалов и форсколинового теста на кишечных
органоидах** 219

Ким Н.Л., Ямин М.А.

**Пароксизмальная кинезиогенная дискинезия:
длительный путь от симптома к диагнозу
(клиническое наблюдение)** 226

Востриков Н.А., Пономарева И.В., Черемисинов О.В.,
Шерман М.А.

**Тяжелая черепно-мозговая травма плода при
автомобильной аварии: обзор литературы
и клиническое наблюдение** 231

Котов А.С., Пантелеева М.В., Мухина Е.В.

**Демиелинизирующие заболевания центральной
нервной системы у детей: лекция для
практикующих педиатров** 239

Подписной индекс 81988

Объединенный каталог «Пресса России»

Журнал индексируется в системе

Российского индекса научного цитирования

(РИНЦ): www.elibrary.ru

© 2021 ГБУЗ МО МОНИКИ

им. М.Ф. Владимирского

www.monikiweb.ru

ISSN 2072-0505 (print)

ISSN 2587-9294 (online)

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе
по надзору в сфере связи, информационных
технологий и массовых коммуникаций.
Свидетельство ПИ № ФС77-34730 от 23.12.2008.

«Альманах клинической медицины» входит
в перечень рецензируемых научных изданий,
в которых должны быть опубликованы основные
научные результаты диссертаций на соискание
ученой степени кандидата наук, на соискание
ученой степени доктора наук (Перечень ВАК).

Шифры научных специальностей:

14.01.02 – Эндокринология (медицинские науки)

14.01.04 – Внутренние болезни (медицинские
науки)

14.01.05 – Кардиология (медицинские науки)

14.01.11 – Нервные болезни (медицинские науки)

14.01.13 – Лучевая диагностика, лучевая терапия
(медицинские науки)

Редакция не несет ответственности за содержа-
ние рекламных публикаций.

Полная или частичная перепечатка или размно-
жение каким-либо способом статей и иллюстра-
ций допускается только с письменного разреше-
ния редакции.

Адрес редакции:

129110, Москва, ул. Щепкина, 61/2, корп. 8

Тел.: +7 (495) 688 32 41

E-mail: o_papara@monikiweb.ru

www.almclinmed.ru

ALMANAC OF CLINICAL MEDICINE

The scientific and practical journal

Published since 1998

Founded and published by Moscow Regional
Research and Clinical Institute (MONIKI),
Moscow, Russian Federation

Publication frequency: 8 issues per year

Volume 49 • Number 3 • 2021

EDITOR-IN-CHIEF

Maria G. Glezer, MD, PhD, Professor, Chair of Cardiology, Functional and Ultrasonic Diagnostics, Institute of Clinical Medicine named after N.V. Sklifosovskiy, Sechenov University (Moscow, Russia)

Deputy Chief Editor

Ekaterina P. Kakorina, MD, PhD, Professor, Deputy Director on Science and International Communications, MONIKI (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

Honourable Member: **Nikolay R. Paleev**, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Sergei A. Alekseenko, MD, PhD (Khabarovsk, Russia)

Ariel L. Barkan, MD, Professor of Medicine, Professor of Neurosurgery (Ann Arbor, USA)

Vladimir V. Bazarnyi, MD, PhD, Professor (Yekaterinburg, Russia)

Elena A. Belousova, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Alexandr V. Bogachev-Prokophiev, MD, PhD (Novosibirsk, Russia)

Anatol J. Bragin, PhD (Los Angeles, USA)

Michael Buchfelder, MD, PhD, Professor (Erlangen, Germany)

Mikhail M. Davydov, MD, PhD, Corr. member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Stefan De Hert, MD, PHD, Chair of ESA Scientific Committee, Professor of Department of Anaesthesiology and Perioperative Medicine (Gent, Belgium)

Larisa A. Dobrynina, MD, PhD (Moscow, Russia)

Oksana M. Drapkina, MD, PhD, Professor, Corr. member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Andrea Giustina, MD, President of European Society of Endocrinology, Professor of Endocrinology (Milan, Italy)

Mikhail A. Godkov, MD, PhD (Moscow, Russia)

Elena Z. Golukhova, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Evgeny V. Grigoryev, MD, PhD, Professor, Professor of Russ. Acad. Sci. (Kemerovo, Russia)

Lyudmila F. Gulyaeva, Doctor of Biol. Sci., Professor (Novosibirsk, Russia)

Mikhail Yu. Kirov, MD, PhD, Professor (Arkhangelsk, Russia)

Nikolay E. Kushlinskii, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Rustem I. Litvinov, MD, PhD, Professor (Philadelphia, USA)

Yurii V. Lobzin, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Saint Petersburg, Russia)

Science Editor for Section "Childhood Diseases"

Elena R. Meskina, MD, PhD, Head of Department of Children's Infectious Disease, MONIKI (Moscow, Russia)

Managing Editor

Olesya A. Parpara (Moscow, Russia)

Johannes Mayr, MD, Professor of Pediatric Surgery (Basel, Switzerland)

Galina A. Mel'nichenko, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Anton V. Molochkov, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Dafin F. Muresanu, MD, PhD, MBA, FANA, Professor (Cluj-Napoca, Romania)

Oleg B. Naimark, ScD in Phys.-Math., Professor (Perm, Russia)

Vladimir V. Neroev, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Alexey M. Ovezov, MD, PhD (Moscow, Russia)

Gennadiy N. Ponomarenko, MD, PhD, Professor (Saint Petersburg, Russia)

Nikolay N. Potekaev, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Walter Reinisch, MD (Vienna, Austria)

Yury S. Romanko, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Natalia M. Shakhova, MD, PhD (Nizhny Novgorod, Russia)

Ekaterina I. Shishatskaya, ScD in Biology, PhD, Professor of Russ. Acad. Sci. (Krasnoyarsk, Russia)

Valentin E. Sinitsyn, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Stanislav I. Sitkin, Dr. med., PhD (Saint Petersburg, Russia)

Ivan S. Stilidi, MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci. (Moscow, Russia)

Yury A. Vasyuk, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Ludmila I. Velikanova, Doctor of Biol. Sci., Professor (Saint Petersburg, Russia)

Bruce H.R. Wolffenbuttel, MD, PhD, Professor of Endocrinology and Metabolism (Groningen, Netherlands)

Chi Yang, DDS, PhD, Professor (Shanghai, PRC)

Natalia N. Zybina, Doctor of Biol. Sci., Professor (Saint Petersburg, Russia)

Content

Biotechnology in Oncology

N.E. Kushlinskii, O.V. Kovaleva, A.A. Alferov,

Yu.B. Kuzmin, E.A. Sushentsov, I.S. Stilidi

Expression of the immune checkpoint B7-H3 in tumor and its soluble form in serum of patients with bone neoplasms 179

E.V. Verenikina, N.A. Petrusenko, M.M. Kecheryukova

The prognostic role of aberrant copy number of *DDBI*, *PRPF19*, *CDKN1B*, and *c-Myc* genes in ovarian cancer patients 191

Childhood Diseases

O.L. Chugunova, E.Yu. Grebenkina, D.V. Usenko,

I.I. Volodina, E.V. Galeeva, E.A. Drozhzhin,

A.A. Korsunskiy, N.Yu. Legoshina, A.D. Muzyka,

M.I. Naryshkina, L.V. Pavlushkina, A.S. Rykova

The role of cystatin C and various methods of glomerular filtration rate calculation in evaluation of renal dysfunction in children with acute infectious diarrhea 197

E.R. Meskina, M.K. Khadisova, T.V. Stashko, A.V. Bitsueva

New coronavirus infection in children in the Moscow region: clinical, epidemiological and treatment aspects 207

E.I. Kondratyeva, N.D. Odinaeva, V.D. Sherman,

A.S. Efremova, Yu.L. Melyanovskaya, N.V. Bulatenko,

T.B. Bukharova, D.V. Goldshtein

A clinical case of cystic fibrosis patient with pathogenic N1303K genotype variant with assessment of the CFTR channel function by intestinal current measurement and forskolin-induced swelling in rectal organoids... 219

N.L. Kim, M.A. Yamin

The case of paroxysmal kinesigenic dyskinesia: a long way from a symptom to the diagnosis 226

N.A. Vostrikov, I.V. Ponomareva, O.V. Cheremisinov,

M.A. Sherman

Severe brain trauma to the fetus in a car accident: Literature review and a clinical case 231

A.S. Kotov, M.V. Panteleeva, E.V. Mukhina

Demyelinating diseases of the central nervous system in children: lecture for practicing pediatricians 239

Subscription index 81988
in the united Pressa Rossii catalogue

The journal is indexed by Russian Index of Scientific
Citation (RISC): www.elibrary.ru

© 2021 MONIKI
www.monikiweb.ru

ISSN 2072-0505 (print)
ISSN 2587-9294 (online)

The journal is registered by Federal Service for Supervision in the Sphere of Telecom, Information Technologies and Mass Communications. Registration certificate ПИ № ФС77-34730 was issued on December 23, 2008.

Since 2001 the Almanac of Clinical Medicine is included in the List of leading referred journals, recommended by VAK (Higher Attestation Committee) for publication of scientific results of dissertations for the degrees of doctors and candidates of sciences.

Editorial board and the editors are not responsible for claims made in the advertisements published in the journal.

All articles published in this journal are protected by copyright, which covers the exclusive rights to reproduce and distribute the article. No material published in this journal may be reproduced photographically or stored on microfilm, in electronic data base, on video discs, etc., without first obtaining written permission from the publisher (respective of the copyright owner if other than MONIKI).

Editorial Office

Almanac of Clinical Medicine, MONIKI,
61/2–8 Shchepkina ul., Moscow, 129110,
Russian Federation. Tel.: +7 (495) 688 32 41
E-mail: o_parpara@monikiweb.ru
www.almclinmed.ru



Обзор

Экспрессия контрольной точки иммунитета В7-Н3 в опухоли и ее растворимой формы в сыворотке крови больных новообразованиями костей

Кушлинский Н.Е.¹ • Ковалева О.В.¹ • Алферов А.А.¹ • Кузьмин Ю.Б.¹ • Сушенцов Е.А.¹ • Стилиди И.С.¹

Кушлинский Николай Евгеньевич – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, руководитель лаборатории клинической биохимии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>

✉ 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация. Тел.: +7 (499) 324 11 59.
E-mail: biochimia@yandex.ru

Ковалева Ольга Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов Научно-исследовательского института канцерогенеза¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6132-9924>

Алферов Александр Андреевич – врач клинической лабораторной диагностики лаборатории клинической биохимии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3585-5693>

Кузьмин Юрий Борисович – лаборант-исследователь лаборатории клинической биохимии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9684-2509>

Сушенцов Евгений Александрович – канд. мед. наук, заведующий отделением хирургических методов лечения № 14 (онкоортопедии)¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3672-1742>

Стилиди Иван Сократович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0493-1166>

В7-Н3, также называемый CD276, представляет собой трансмембранный гликопротеин типа I, который кодируется на хромосоме 15 человека. Он был открыт еще в 2001 г. Первоначальное исследование описало его как положительный костимулятор вследствие способности стимулировать Т-клеточный ответ и продукцию IFN-γ. Однако недавние исследования показали, что В7-Н3 участвует в ингибировании Т-клеток. Рецептор для В7-Н3 еще не идентифицирован. Это объясняет сложную иммуномодулирующую активность В7-Н3, который может иметь более одного партнера по связыванию с различными функциями. Экспрессию белка В7-Н3 наблюдали на активированных иммунных клетках, таких как Т-клетки, NK-клетки и антигенпрезентирующие клетки. Интересно, что он гиперэкспрессирован в широком спектре опухолевых клеток и связан с прогрессией заболевания и прогнозом. Особый интерес представляет также

растворимая форма данного белка. Повышение содержания sВ7-Н3 в плазме крови больных опухолями костей может оказаться важным диагностическим критерием.

Ключевые слова: В7-Н3, иммунитет, опухоли костей, иммунотерапия

Для цитирования: Кушлинский НЕ, Ковалева ОВ, Алферов АА, Кузьмин ЮБ, Сушенцов ЕА, Стилиди ИС. Экспрессия контрольной точки иммунитета В7-Н3 в опухоли и ее растворимой формы в сыворотке крови больных новообразованиями костей. Альманах клинической медицины. 2021;49(3):179–190. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-013.

Поступила 27.02.2021; доработана 09.03.2021; принята к публикации 22.03.2021; опубликована онлайн 31.03.2021

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация

Первичные опухоли костей – редкие и гетерогенные спорадические злокачественные новообразования мезенхимальных тканей [1]. Несмотря на относительно низкую встречаемость, саркомы костей представляют собой уникальную проблему с высокими показателями летальности. Частота первичных сарком костей связана с возрастной заболеваемостью, варьирующей в зависимости от гистологического подтипа новообразования [2–7]. По данным SEER (Surveillance, Epidemiology, and End Results Program – База данных эпиднадзора, эпидемиологии и конечных результатов), с 2010 по 2016 г. 5-летняя общая выживаемость больных

саркомами костей равнялась 66% [8]. Частота рецидивов также остается высокой и составляет примерно 35% [9]. У пациентов с метастатическим поражением прогноз еще хуже: 5-летняя общая выживаемость колеблется в диапазоне от 10 до 30% [9, 10]. Классическая химиотерапия не относится к успешным методам лечения опухолей данной локализации. Учитывая резистентность этого типа опухолей к имеющимся схемам лечения, существует острая необходимость поиска новых терапевтических возможностей, которые позволили бы повысить эффективность терапии. Перспективным видится внедрение в клиническую практику новых методов иммунотерапии,



направленных на так называемые контрольные точки иммунитета. Настоящий обзор посвящен анализу исследований одной из контрольных точек иммунитета – В7-Н3 семейства CD28 – у больных основными вариантами сарком костей.

Классификация опухолей костей

Согласно современной классификации опухолей костей (Всемирная организация здравоохранения, 2013), к наиболее распространенным злокачественным опухолям костей относят остеосаркому (36%), хондросаркому (20–25%), саркому Юинга (16%) [11, 12]. Саркомы костей имеют склонность поражать детей и подростков – на их долю приходится 6% от всех детских злокачественных новообразований. В целом у детей гораздо чаще выявляют остеосаркому (56%), чем саркому Юинга (34%), хондросаркому (6%) и хордому (менее 5%) [13]. У взрослых чаще встречается хондросаркома, составляющая более 40% первичных сарком костей, далее следуют остеосаркома (28%), хордома (10%), саркома Юинга (8%) и недифференцированная плеоморфная саркома (4%) [13]. Эти опухоли часто возникают в длинных костях, особенно нижних конечностей, а также костях таза, позвоночника или крестца в случае хордомы. Клинически осевые поражения имеют тенденцию к более агрессивному течению по сравнению с аппендикулярными саркомами.

Остеосаркома представляет собой группу высокоагрессивных опухолей костей различных морфологических вариантов [14–16]. Опухоль возникает из мезенхимальных клеток обычно в метафизарном отделе длинных костей: бедренной, большеберцовой и плечевой [17]. Хирургическому удалению первичной опухоли и метастазов отводят главенствующее место в любой стратегии лечения остеосаркомы. После публикации работы М.Р. Link и соавт. в 1986 г. химиотерапия признана необходимой для полноценного лечения остеосаркомы. С тех пор исследователи знают, что все пациенты с микрометастазами остеосаркомы на момент установления диагноза нуждаются в системной терапии [18]. Как правило, операция первичной опухоли проводится после химиотерапии, этот подход впервые применили в 1970-х гг. G. Rosen и соавт. [19]. Оценка гистологического ответа опухоли на неoadъювантную химиотерапию остается приемлемым стандартом лечения для большинства больных остеосаркомой.

Хондросаркома – группа гетерогенных первичных злокачественных опухолей костей, характеризующихся образованием гиалиновой хрящевой неопластической ткани. У взрослых людей

хондросаркома – вторая по распространенности первичная опухоль кости после остеосаркомы [20]. Наиболее часто хондросаркома локализуется в метафизах длинных костей, костях таза, метадиафизе плечевой кости, ребрах и грудине. Аксиально расположенные опухоли, как правило, менее дифференцированные (high grade). Большинство (90%) классических хондросарком характеризуются 1–2-й степенью дифференцировки, растут медленно, редко дают метастазы, прогноз у таких пациентов благоприятный и коррелирует со степенью дифференцировки и адекватным хирургическим удалением опухоли [21].

Саркома Юинга впервые описана профессором патологии Корнеллского университета Джеймсом Юингом (James S. Ewing) в 1921 г. [22]. Первоначально опухоль была названа эндотелиомой кости, так как предполагалось, что она возникла из кровеносных сосудов костной ткани [23].

В настоящее время существует так называемое семейство саркомы Юинга, к которому относятся высокоагрессивные мезенхимальные опухоли с высокой частотой метастазирования в легкие и пиком заболеваемости в 15 лет [24–27]. Данные злокачественные новообразования происходят из нейроэктодермальных и/или мезенхимальных клеток. К семейству сарком Юинга относят недифференцированные типичные саркомы Юинга, опухоли Аскина (злокачественная мелкоклеточная нейроэктодермальная опухоль трахопульмональной зоны) и периферические примитивные нейроэктодермальные опухоли (англ. primitive neuroectodermal tumors, PNETs) [28]. Опухоли вышеописанного семейства имеют схожий нейрогенный фенотип и возникают вследствие одной и той же хромосомной транслокации. Именно поэтому сегодня их рассматривают как варианты одной опухоли, имеющей разную степень дифференцировки [27].

Показатели 5-летней выживаемости больных саркомой Юинга до начала эры химиотерапии оставались крайне низкими (менее 10%). Попытки применения лучевой терапии, предпринимавшиеся с 20-х гг. XX века, не принесли ожидаемого эффекта: большинство пациентов умирали в течение первых 2 лет после установления диагноза. Международные рандомизированные исследования, проведенные в последующие десятилетия, обеспечили улучшение терапии локализованных форм данных опухолей. На основании этих исследований были сформулированы 3 основных принципа терапии больных локализованной саркомой Юинга: индукционная лекарственная



терапия в течение 12–24 недель, последующее локальное (хирургическое и/или лучевое) воздействие на первичную опухоль, продолжение системной химиотерапии в адьювантном режиме. Соблюдение такого протокола комплексной терапии обеспечивало излечение более 50% больных [24, 25].

Хордомы – редкие злокачественные новообразования костей, происходящие из клеток нотохорды. Нотохорда (греч. *noton* – спина, *chorde* – струна) представляет собой клеточный тяж, или временный скелет зародыша, который в норме устраняется к 8-й неделе внутриутробного развития [29, 30]. Однако у некоторых людей клетки нотохорды остаются в основании черепа, в позвонках, и именно из них впоследствии может развиваться злокачественная опухоль. Данное новообразование выявляется очень редко (0,08–1,0 случая на 1 млн в год) и достигает пика в течение 6-го десятилетия жизни [4]. Хордомы, развивающиеся в молодом возрасте, составляют менее 5% всех выявленных случаев. В 10% случаев хордома возникает в детском возрасте, 86% пациентов составляют люди в возрасте от 18 до 65 лет и 4% – старше 65 лет [31]. Наиболее распространенной локализацией хордом считается крестцово-копчиковая область (50–60%), затем следуют кости основания черепа (30%) [32–34]. Несмотря на их общую редкость, хордомы составляют более 50% от всех первичных новообразований в крестце.

Золотым стандартом терапии хордом признано радикальное хирургическое вмешательство. Однако выполнение радикальной операции остается технически сложной задачей, поскольку опухоль часто прилегает к жизненно важным структурам с инвазией в окружающие мягкие ткани [35]. Важно отметить, что после хирургического удаления опухоли возможен высокий риск рецидива [36, 37], и у 5–40% пациентов после операции развиваются метастазы [38, 39]. Особенности клинического течения, локальное вторжение хондромы в структуры нервной системы усложняют ведение пациентов и вносят значимый вклад в показатели их заболеваемости и смертности. Согласно базе данных SEER, показатель общей выживаемости пациентов с хордомой равен 67,6, 39,9 и 13,1% соответственно для 5, 10, 20 лет, со средней выживаемостью 6,29 года [4, 8]. У пациентов с метастатическим заболеванием медиана выживаемости составляет около 1 года [40].

Хордомы нечувствительны к системной химиотерапии, и для них не существует специфических таргетных лекарственных препаратов.

В этой связи для данных больных необходима разработка новых терапевтических стратегий. Предположительно, терапия ингибиторами контрольных точек иммунитета может улучшить результаты лечения.

Биологические маркеры опухолей костей

В отличие от других новообразований, полезные биологические маркеры, используемые в диагностике, лечении и принятии клинических решений у больных опухолями костей, на сегодня отсутствуют [41, 42]. При этом, например, известно, что остеосаркома характеризуется образованием остеонной или незрелой костной ткани, поэтому биохимические маркеры, отражающие метаболизм кости, считаются клинически полезными в оценке прогрессирования опухолевого процесса и прогнозе остеосаркомы. В настоящее время только щелочная фосфатаза широко применяется в клинической практике онкоортопедов как биомаркер остеосаркомы, однако в ряде наблюдений она дает ложноположительные результаты [43, 44]. Следовательно, идентификация клинически значимых биомаркеров в диагностике и оценке прогноза крайне важна для больных опухолями костей.

Семейство контрольных точек иммунитета B7-CD28

Остается неоспоримым тот факт, что у больных опухолями костей нарушения молекулярно-биологических процессов, в том числе противоопухолевого иммунитета, лежат в основе клеточной пролиферации, инвазии и метастазирования. В последнее время в литературе представлено большое количество данных об эффективности иммунотерапии при лечении различных опухолей, но остеосаркоме и саркоме Юинга посвящены лишь единичные сообщения [45–50].

Известно, что в регуляции противоопухолевого иммунитета у онкологических больных важную роль играют контрольные точки иммунитета. При этом большим достижением двух последних десятилетий считают разработку и клиническое применение новых ингибиторов белков контрольных точек иммунитета. Сегодня известно довольно много молекул контрольных точек иммунитета, и их разделяют на семейства. Так, например, в семействе B7-CD28, куда входит B7-H3, можно филогенетически выделить 3 группы, молекулы в которых взаимодействуют с контрольными точками иммунитета CTLA-4 и PD-1. Первая группа состоит из белков B7-1/B7-2/CD28/CTLA-4 и B7h/ICOS;



вторая группа содержит PD-L1/PD-L2/PD-1; третья группа включает B7-H3 (CD276), B7x (B7-H4/B7S1) и HHLA2 (B7-H7/B7-H5)/TMIGD2 (IGPR-1/CD28H) [51–53].

Строение, экспрессия и регуляция B7-H3

B7-H3 – белок гомолога 3 B7 (B7-H3), также известный как CD276, был открыт в 2001 г. А.И. Charoval и соавт. Ген B7-H3 человека расположен на хромосоме 15q24.1. B7-H3 представляет собой трансмембранный гликопротеин I типа, состоящий из 316 аминокислот. Молекулярная масса B7-H3 составляет 45–66 кДа [54]. Белок B7-H3 имеет 20–27% гомологии с другими лигандами семейства B7 [55], он содержит сигнальный пептид, V- и C-подобные домены иммуноглобулинов (IgV и IgC), трансмембранный участок и внутриклеточный цитоплазматический домен [56]. Физиологическая роль B7-H3 остается дискуссионной и связана как с костимулирующими, так и с коингибирующими функциями в регуляции T-клеточного ответа.

Показано, что на уровне мРНК B7-H3 широко экспрессируется во многих нормальных тканях человека, включая печень, тонкую и толстую кишку, поджелудочную железу, яички, сердце. Уровень экспрессии белка B7-H3 в нормальных клетках и инактивированных T-лимфоцитах низкий, однако он может быть индуцирован колониестимулирующим фактором гранулоцитов-макрофагов (GM-CSF) или липополисахаридами (LPS) в B- и T-клетках, моноцитах и NK-клетках [57–59]. Различия в паттернах экспрессии мРНК и белков указывает на наличие сложных механизмов его регуляции, которые на данный момент слабо охарактеризованы [59, 60]. Возможно, что в регуляции экспрессии B7-H3 принимает участие микроРНК – miR-29, так как было показано, что уровень экспрессии B7-H3 обратно коррелирует с уровнем miR-29 [61, 62].

Функции B7-H3

Известно, что лиганды семейства B7 оказывают влияние на иммунный ответ посредством взаимодействия с рецепторами. Например, B7-1 или B7-2 связываются с CD28 и CTLA-4 [63], B7-H1 или B7-DC – с PD-1, а B7-H6 – с NKp30 [64]. В 2008 и 2012 гг. М. Hashiguchi и соавт. [65, 66] идентифицировали предполагаемый рецептор B7-H3 человека, экспрессируемый на миелоидных клетках, как (TREM)-подобный транскрипт 2 (TLT-2 или TREML2). Однако исследования [67] опровергли полученные данные. Таким образом, в отличие от других членов семейства B7, специфический

рецептор B7-H3 пока не идентифицирован [67, 68].

B7-H3 был первоначально идентифицирован как костимулирующая молекула. В присутствии антитела к CD3 белок B7-H3 усиливал пролиферацию как CD4⁺, так и CD8⁺ T-клеток и повышал активность цитотоксических T-лимфоцитов (CTL) [56].

В мышиной модели рака толстой кишки внутритюморолевая инъекция Ad-B7-H3-GFP привела к значительной индукции CD8⁺ T-клеток, продукции интерферона (IFN)- γ и интерлейкина (IL)-12 [69]. Аналогичные результаты были получены и на ортотопической модели рака толстой кишки [70]. На модели мастоцитомы P815 трансфекция конструктами, кодирующими B7-H3, усиливала опухолеспецифический иммунитет, опосредованный CD8⁺ CTL.

В последующем была описана коингибирующая роль B7-H3 в отношении T-клеток, способствующая развитию опухоли и ее уходу от иммунологического надзора. В нескольких исследованиях показано, что B7-H3 ингибировал пролиферацию CD4⁺ и CD8⁺ T-клеток и снижал продукцию IL-2 и IFN- γ , что, предположительно, связано с подавлением транскрипционного фактора NF- κ B [57]. Блокирование B7-H3 с помощью соответствующих антител значительно увеличило пролиферацию T-клеток и уровень IL-2. У экспериментальных животных с нокаутом по B7-H3 на модели аутоиммунного энцефаломиелита было отмечено снижение воспалительных реакций по сравнению с животными дикого типа [57].

Опубликована работа, согласно результатам которой B7-H3 не оказывает никакого воздействия на функциональную активность T-лимфоцитов [54]. Таким образом, различные исследовательские группы, используя похожие экспериментальные системы, получают противоречивые результаты в отношении функциональной активности B7-H3.

Роль B7-H3 в патогенезе онкологических заболеваний

Существует большое количество публикаций, описывающих экспрессию B7-H3 в различных типах опухолевых клеток. Так, экспрессия B7-H3 выявлена в 74,7% случаев плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта [71], в 91,8% образцов остеосаркомы [46, 72, 73], в 93–100% рака [74, 75], 58,6% образцов рака мочевого пузыря [76], уротелиальной карциноме [77], 80,5–90,6% случаев рака молочной железы [78, 79], 83% случаев рака яичников [80], 75,7% рака эндометрия



[81], 72,2% рака шейки матки [82], желудка [83], в 93,7% рака поджелудочной железы [84, 85], в 86% случаев колоректального рака [86], гигантоклеточной опухоли [87], в 19% клеток опухоли и в 98% в эндотелии при почечно-клеточном раке [88, 89], в 37,1–69,5% рака легкого [90, 91]. Однако экспрессия В7-Н3 не определяется в глиомах [92, 93].

Иммуногистохимическое окрашивание 240 гепатоцеллюлярных карцином выявило экспрессию В7-Н3 в 93,8% образцов, при этом высокий уровень экспрессии данного белка коррелировал с инвазивностью опухоли, стадией, плохой выживаемостью и увеличением числа рецидивов [94]. При изучении влияния В7-Н3 на процесс метастазирования Y. Li и соавт. (2017) обнаружили активацию сигнальных путей Akt, ERK и JAK2/STAT3 [95]. Отмечено, что гиперэкспрессия В7-Н3 усиливает экспрессию антиапоптотических белков Bcl-2 и Bcl-x1 посредством сигнального пути JAK2/STAT3 [96]. На экспериментальной модели опухоли предстательной железы показано, что при повышенной экспрессии В7-Н3 размеры опухоли были значительно больше, чем в контроле. Авторы предположили, что это происходит по причине В7-Н3-опосредованной инфильтрации в опухоль FoxP3⁺ регуляторных Т-клеток и, как следствие, иммуносупрессии [97]. Кроме того, было обнаружено, что В7-Н3 модулирует экспрессию некоторых белков, ассоциированных с опухолевой прогрессией, включая MMP-2, TIMP-1, TIMP-2, STAT3 и IL-8 [98]. J. Leitner и соавт. (2009) выявили, что В7-Н3 приводит к подавлению Т-клеточного ответа посредством ингибирования IFN- γ , IL-2, IL-10 и IL-13 [67]. Данный факт подтверждают и другие авторы, которые описывают В7-Н3 как молекулу, оказывающую ингибирующее действие на иммунную систему, поскольку этот белок подавляет активацию, пролиферацию и продукцию ряда цитокинов Т-лимфоцитами [57, 92, 93, 99, 100].

Ассоциация гиперэкспрессии В7-Н3 в опухолях с прогрессией заболевания и плохим прогнозом указывает на то, что В7-Н3 может служить потенциальной мишенью для иммунотерапии. Однако в литературе описано достаточное количество противоположных результатов, указывающих на противоопухолевое действие В7-Н3. Так, на моделях острого моноцитарного лейкоза и глиом подавление экспрессии В7-Н3 ингибировало прогрессирование опухоли за счет нарушения клеточного цикла и повышения чувствительности к химиотерапевтическим препаратам [101, 102]. Установлено также, что введение в опухоль

EL-4 плазмиды, кодирующей В7-Н3, приводит к снижению роста опухоли [103]. Данные, полученные на больных раком поджелудочной железы, показали, что у 88% пациентов экспрессировался В7-Н3, при этом у пациентов с высокой экспрессией данного белка наблюдались лучшие показатели послеоперационной выживаемости [84]. Аналогичным образом в работе С.Р. Wu и соавт. (2006) [104] продолжительность жизни больных раком желудка с высокой экспрессией В7-Н3 оказалась выше по сравнению с пациентами с более низкой экспрессией. Описанные данные указывают на то, что В7-Н3 может оказывать как стимулирующее, так и ингибирующее действие в отношении опухолевой прогрессии.

Таким образом, в последнее десятилетие В7-Н3 привлек внимание исследователей, поскольку широко экспрессируется во многих опухолях. Некоторые факторы, такие как IFN- γ , LPS, IL-4, miR-29 или ILT-4, могут регулировать экспрессию В7-Н3. Регуляция экспрессии В7-Н3 тесно связана с ростом, инвазией, метастазированием опухоли, а также ускользанием от иммунологического надзора.

В7-Н3 в опухолях костей

В литературе представлено небольшое число работ по исследованию экспрессии В7-Н3 при опухолях костей, а также терапии остеосаркомы и саркомы Юинга с использованием В7-Н3 в качестве мишени. Так, L. Wang и соавт. [46] показали, что высокая мембранная экспрессия В7-Н3 присутствовала в 91,8% исследованных образцов остеосаркомы, при этом интенсивность его экспрессии в опухоли значимо коррелировала с прогрессией заболевания, иммунной инфильтрацией опухоли и общей выживаемостью. Авторы предположили, что В7-Н3 может быть потенциальным прогностическим фактором и терапевтической мишенью у больных остеосаркомой [46]. В последующем L. Wang и соавт. (2016) показали, что экспрессия В7-Н3 в остеосаркоме ассоциирована с микроРНК-124 (miR-124) [105].

В работе Y.W. Chen и соавт. (2008) [72] выявлено, что В7-Н3 может участвовать в процессе канцерогенеза при остеосаркоме. S.J. Yin и соавт. (2015) обнаружили: экспрессия мРНК и белка В7-Н3 изменяется при развитии опухоли и увеличивается к более поздним стадиям. Это исследование показало, что В7-Н3 может выступать опухолевым маркером при остеосаркоме [73]. Подобные выводы были сделаны в исследовании L. Wang и соавт. (2018) [106], в котором экспрессия В7-Н3 при остеосаркоме была связана



с клиническим исходом заболевания, а именно с распространением опухоли и метастазированием. Кроме того, экспрессия В7-Н3 была обратно ассоциирована с интенсивностью инфильтрации CD8⁺ Т-лимфоцитами опухоли, что также косвенно отражает неблагоприятный прогноз заболевания.

Следует отметить работы по изучению экспрессии В7-Н3 при пограничной гигантоклеточной опухоли кости, известной под названием «остеокластома». Эта опухоль обычно доброкачественная, но ее агрессивные гигантоклеточные варианты могут метастазировать в легкие [107]. Клетки агрессивной гигантоклеточной опухоли характеризуются низкой экспрессией антигена HLA класса I, высокой экспрессией В7-Н3 и низким уровнем инфильтрирующих CD8⁺ Т-клеток [87]. В7-Н3 может влиять на поведение гигантских опухолевых клеток посредством miR-124 [105].

Растворимая форма контрольной точки иммунитета В7-Н3

В последнее время большое внимание исследователей привлекают растворимые формы белков контрольных точек иммунитета. При этом самое большое число публикаций посвящено одной из них – рецептору программируемой гибели клеток (англ. programmed cell death protein 1, PD-1) sPD-1 и его лигандам sPD-L1 и sPD-L2 у больных с различными новообразованиями. Изучение экспрессии маркеров растворимых форм ключевой точки иммунитета PD-1/PD-L1 у больных опухолями костей только начинается, опубликованы единичные работы [108–110].

Появились и первые работы по исследованию растворимой формы В7-Н3 в сыворотке крови больных опухолями костей [106]. Проведено сравнительное исследование уровней sB7-Н3 в сыворотке крови 37 больных остеосаркомой, 42 пациентов с доброкачественными новообразованиями кости (остеохондрома – 25, костно-фиброзная дисплазия – 17) и 40 здоровых добровольцев. Результаты иммуноферментного анализа (англ. enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) показали, что sB7-Н3 был выше у пациентов с остеосаркомой, чем у пациентов с доброкачественными новообразованиями или контрольной группы. Так, средняя концентрация sB7-Н3 в сыворотке больных остеохондромой ($58,11 \pm 9,12$ нг/мл) и пациентов с фиброзной дисплазией ($41,85 \pm 10,88$ нг/мл) была сравнительно выше, чем у здоровых добровольцев ($32,59 \pm 9,02$ нг/мл). Кроме того, средняя концентрация sB7-Н3 в сыворотке крови пациентов

с остеосаркомой ($78,47 \pm 21,01$ нг/мл) была значительно выше, чем у больных остеохондромой ($p < 0,05$), костно-фиброзной дисплазией ($p < 0,001$) и здоровых добровольцев ($p < 0,001$). Это исследование также показало, что уровень В7-Н3 в сыворотке крови больных остеосаркомой не имел статистически значимой корреляционной связи с возрастом ($p = 0,103$), полом ($p = 0,135$), локализацией опухоли ($p = 0,801$), гистологическим типом новообразования ($p = 0,479$) и размером опухоли ($p = 0,055$). Однако у пациентов с низкой степенью дифференцировки остеосаркомы отмечен более высокий уровень sB7-Н3, чем при опухолях с высокой степенью дифференцировки ($109,83 \pm 18,76$ против $69,84 \pm 24,25$; $p = 0,0412$). Пациенты с плохим ответом на химиотерапию имели относительно более высокую концентрацию sB7-Н3 по сравнению с пациентами с хорошим ответом ($88,27 \pm 11,34$ против $58,07 \pm 9,98$; $p < 0,05$). Отмечено увеличение уровней sB7-Н3 в сыворотке крови больных остеосаркомой с повышением стадии опухолевого процесса. Так, уровень sB7-Н3 при III стадии был заметно выше, чем при IIВ или IIА стадиях ($110,73 \pm 13,87$ против $72,83 \pm 9,14$ или $64,91 \pm 7,43$; $p < 0,05$ в обоих случаях). Аналогично, уровень sB7-Н3 у больных остеосаркомой с отдаленными метастазами был значительно выше, чем без таковых ($105,8 \pm 17,89$ против $80,95 \pm 30,12$; $p < 0,05$). Представленные данные показывают, что уровень sB7-Н3 связан с развитием и прогрессией остеосаркомы.

В своей работе L.Wang и соавт. (2018) [106] также обнаружили, что выживаемость больных остеосаркомой с более низкими уровнями sB7-Н3 была выше (70,62 мес) по сравнению с пациентами с высокими уровнями содержания sB7-Н3 (48,69 мес) в сыворотке крови. По результатам однофакторного анализа важнейшими показателями, влияющими на выживаемость пациентов с остеосаркомой, были размер опухоли и ее дифференцировка, стадия TNM, метастазирование, ответ на химиотерапию и уровень sB7-Н3. Эти данные свидетельствуют о том, что высокий уровень sB7-Н3 может служить потенциальным маркером плохого прогноза у пациентов с остеосаркомой.

Отметим: происхождение растворимых форм молекул контрольных точек иммунитета, в том числе и sB7-Н3, точно не установлено. Предполагают, что sB7-Н3 образуется преимущественно вследствие протеолитического отщепления внеклеточной части трансмембранного белка или в результате альтернативного сплайсинга. До сих пор открытым остается вопрос, какие клетки



могут служить источником циркулирующего в периферической крови sB7-H3: опухолевые или иммунные? Так, показано, что растворимая форма B7-H3 (sB7-H3) экспрессируется и высвобождается моноцитами, дендритными клетками и активированными Т-клетками, а также различными опухолевыми клетками [101, 111].

Недавние исследования выявили повышенный уровень sB7-H3 у пациентов с немелкоклеточным раком легкого и карциномой поджелудочной железы [112, 113]. При этом повышенный уровень sB7-H3 коррелирует со стадией немелкоклеточного рака легкого, однако потенциальный механизм такого воздействия еще предстоит идентифицировать.

Таким образом, проведенные исследования показывают, что экспрессия sB7-H3 может быть маркером неблагоприятного прогноза, коррелировать со стадией заболевания и выступать потенциальным инновационным неинвазивным биомаркером периферической крови для ранней диагностики опухолей костей.

Ингибиторы B7-H3 в клинической практике

Совсем недавно было разработано и передано на клинические испытания гуманизованное моноклональное антитело (Fc-mAb IgG1) эноблитузумаб (MGA271) против B7-H3 [114]. Из проводимых клинических испытаний эноблитузумаба одно уже завершено, но окончательные результаты пока не доступны (NCT01391143, NCT02923180). Другая молекула – MGD009 – представляет собой биспецифическое моноклональное антитело, предназначенное для одновременного связывания CD3 на Т-клетках и B7-H3 на опухолевых клетках [115]. Она изучается в двух клинических исследованиях фазы I у пациентов с экспрессией B7-H3 (NCT02628535, NCT03406949) [36]. Кроме того, 8H9 (омбуртамаб) представляет собой антитело, специфичное к B7-H3 [116]. Препарат показал положительную клиническую эффективность в качестве конъюгата «антитело – лекарство» после того, как был помечен радиоактивным йодом-131 (¹³¹I) и введен пациентам с метастатической нейробластомой центральной нервной системы [117]. В настоящее время оцениваются клинические испытания с радиоактивно меченым 8H9 при раке брюшины и центральной нервной системы, а также глиомах (NCT01099644, NCT01502917, NCT00089245 и др.). Последний результат NCT01502917 позволил продолжить дальнейшие исследования на расширенной когорте [118].

Известно, что механизмы, лежащие в основе метастазирования опухоли, часто перекрываются механизмами, обеспечивающими ее химиорезистентность. В работах *in vitro* Н. Liu и соавт. (2011) [119] обнаружили, что подавление продукции белков B7-H3 сенсибилизирует клеточные линии рака молочной железы к паклитакселу, тогда как индуцированная гиперэкспрессия данного белка приводит к устойчивости к этому препарату. Авторы также описали сигнальный путь, посредством которого это происходит. Результаты данных исследований *in vitro* подтверждены результатами исследований *in vivo*: опухоли с нокдауном B7-H3 росли значительно медленнее, чем аналоги с его гиперэкспрессией. Эти данные подтверждают участие B7-H3 как в росте опухоли, так и в устойчивости к химиотерапии [119]. Следовательно, терапевтическое ингибирование B7-H3 не только может иметь прямое влияние на распространение опухоли, но и позволит получить более выраженный ответ на проводимое лечение.

Заключение

Роль B7-H3 в отношении модулирования иммунного ответа пока представляется противоречивой. Исследования показывают, что B7-H3 преимущественно экспрессируется в злокачественных опухолях, однако повсеместная низкая экспрессия наблюдается и в нормальных тканях. Это делает его интересной мишенью для терапии новообразований. Особенно актуальным видится изучение sB7-H3 при опухолях костей, так как все варианты данной патологии относятся к опухолям неблагоприятного прогноза. Если предположить, что анализ содержания sB7-H3 войдет в клиническую практику, это может иметь важное значение для пациентов. Так, пациенты с остеосаркомой и высокой экспрессией sB7-H3 в сыворотке могут иметь более высокий риск прогрессирования и, следовательно, должны получить более агрессивное лечение или активное наблюдение. Напротив, пациенты с остеосаркомой, которые демонстрируют низкую экспрессию sB7-H3, должны быть определены в группу щадящего лечения. Таким образом, исследование содержания sB7-H3 в сыворотке крови может быть полезным для развития новых стратегий противоопухолевой терапии и мониторинга ответа на лечение при саркомах костей и в частности при остеосаркоме. Вместе с тем вопрос целесообразности использования sB7-H3 в качестве биологического маркера в дифференциальной диагностике остеосаркомы и других опухолей костей, несомненно, нуждается в дальнейших исследованиях. ©



Дополнительная информация

Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Конфликт интересов

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

Участие авторов

Н.Е. Кушлинский – концепция и дизайн статьи, редактирование текста; О.В. Ковалева – поиск и анализ литературы, обработка

исходного материала, написание текста; А.А. Алферов и Ю.Б. Кузьмин – анализ литературы, написание текста; Е.А. Сушенцов – анализ литературы, редактирование текста; И.С. Стилиди – редактирование текста, утверждение итогового варианта текста рукописи. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантии, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

1. Соловьев ЮН. Патология опухолей костей: практическое руководство. М.: Практическая медицина; 2019. 272 с. [Solov'ev YuN. [Bone tumor pathology: a guideline to practice]. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2019. 272 p. Russian.]
2. Raymond AK, Ayala AG, Knuutila S. Conventional osteosarcoma. In: Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F, editors. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Soft Tissue and Bone. Lyon: IARC Press; 2002. p. 264–270.
3. Angelini A, Guerra G, Mavrogenis AF, Pala E, Picci P, Ruggieri P. Clinical outcome of central conventional chondrosarcoma. *J Surg Oncol*. 2012;106(8):929–937. doi: 10.1002/jso.23173.
4. Walcott BP, Nahed BV, Mohyeldin A, Coumans JV, Kahle KT, Ferreira MJ. Chordoma: current concepts, management, and future directions. *Lancet Oncol*. 2012;13(2):e69–e76. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70337-0.
5. Isakoff MS, Bielack SS, Meltzer P, Gorlick R. Osteosarcoma: Current Treatment and a Collaborative Pathway to Success. *J Clin Oncol*. 2015;33(27):3029–3035. doi: 10.1200/JCO.2014.59.4895.
6. Gelderblom AG, Bovee JVMG. Chondrosarcoma [Internet]. 2021 Feb. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/chondrosarcoma>.
7. Grünwald TGP, Cidre-Aranaz F, Surdez D, Tomazou EM, de Álava E, Kovar H, Sorensen PH, Delattre O, Dirksen U. Ewing sarcoma. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4(1):5. doi: 10.1038/s41572-018-0003-x.
8. National Cancer Institute. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. Cancer Stat Facts: Bone and Joint Cancer [Internet]. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/bones.html>.
9. Dean DC, Shen S, Hornicek FJ, Duan Z. From genomics to metabolomics: emerging metastatic biomarkers in osteosarcoma. *Cancer Metastasis Rev*. 2018;37(4):719–731. doi: 10.1007/s10555-018-9763-8.
10. Thompson PA, Chintagumpala M. Targeted therapy in bone and soft tissue sarcoma in children and adolescents. *Curr Oncol Rep*. 2012;14(2):197–205. doi: 10.1007/s11912-012-0223-2.
11. ESMO/European Sarcoma Network Working Group. Bone sarcomas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2014;25 Suppl 3:iii113–iii123. doi: 10.1093/annonc/mdu256. Erratum in: *Ann Oncol*. 2015;26 Suppl 5:v174–v177.
12. Casali PG, Bielack S, Abecassis N, Aro HT, Bauer S, Biagini R, Bonvalot S, Boukovinas I, Bovee JVMG, Brennan B, Brodowicz T, Broto JM, Brugières L, Buonadonna A, De Álava E, Dei Tos AP, Del Muro XG, Dileo P, Dhooge C, Eriksson M, Fagioli F, Fedenko A, Ferraresi V, Ferrari A, Ferrari S, Frezza AM, Gaspar N, Gasperoni S, Gelderblom H, Gil T, Grignani G, Gronchi A, Haas RL, Hassan B, Hecker-Nolting S, Hohenberger P, Issels R, Joensuu H, Jones RL, Judson I, Jutte P, Kaal S, Kager L, Kasper B, Kopeckova K, Krákorová DA, Ladenstein R, Le Cesne A, Lugowska I, Merimsky O, Montemurro M, Morland B, Pantaleo MA, Piana R, Picci P, Piperno-Neumann S, Pousa AL, Reichardt P, Robinson MH, Rutkowski P, Safwat AA, Schöffski P, Sleijfer S, Stacchiotti S, Strauss SJ, Sundby Hall K, Unk M, Van Coevorden F, van der Graaf WTA, Whelan J, Wardelmann E, Zaiakova O, Blay JY; ESMO Guidelines Committee, PaedCan and ERN EURACAN. Bone sarcomas: ESMO-PaedCan-EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2018;29(Suppl 4):iv79–iv95. doi: 10.1093/annonc/mdy310.
13. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(1):7–30. doi: 10.3322/caac.21442.
14. Anfinson KP, Devesa SS, Bray F, Troisi R, Jonasdottir TJ, Bruland OS, Grotmol T. Age-period-cohort analysis of primary bone cancer incidence rates in the United States (1976–2005). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2011;20(8):1770–1777. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0136.
15. Joo MW, Shin SH, Kang YK, Kawai A, Kim HS, Asavamongkolkul A, Jeon DG, Kim JD, Niu X, Tsuchiya H, Puri A, Wang EH, Chung SH, Chung YG. Osteosarcoma in Asian Populations Over the Age of 40 Years: A Multicenter Study. *Ann Surg Oncol*. 2015;22(11):3557–3564. doi: 10.1245/s10434-015-4414-6.
16. Valery PC, Laversanne M, Bray F. Bone cancer incidence by morphological subtype: a global assessment. *Cancer Causes Control*. 2015;26(8):1127–1139. doi: 10.1007/s10552-015-0607-3.
17. Kansara M, Teng MW, Smyth MJ, Thomas DM. Translational biology of osteosarcoma. *Nat Rev Cancer*. 2014;14(11):722–735. doi: 10.1038/nrc3838.
18. Link MP, Goorin AM, Miser AW, Green AA, Pratt CB, Belasco JB, Pritchard J, Malpas JS, Baker AR, Kirkpatrick JA, et al. The effect of adjuvant chemotherapy on relapse-free survival in patients with osteosarcoma of the extremity. *N Engl J Med*. 1986;314(25):1600–1606. doi: 10.1056/NEJM198606193142502.
19. Rosen G, Murphy ML, Huvos AG, Gutierrez M, Marcove RC. Chemotherapy, en bloc resection, and prosthetic bone replacement in the treatment of osteogenic sarcoma. *Cancer*. 1976;37(1):1–11. doi: 10.1002/1097-0142(197601)37:1<1::aid-cn-cr2820370102>3.0.co;2-3.
20. Hogendoorn PCW, Bovée JV, Nielsen GP. Chondrosarcoma (grades I–III), including primary and secondary variants and periosteal chondrosarcoma. In: Fletcher CD, Bridge JA, Hogendoorn PC, et al. editors. World Health Organization classification of tumours of soft tissue and bone. 4th ed. Lyon: IARC Press; 2013. p. 264–268.
21. Heck RK Jr, Peabody TD, Simon MA. Staging of primary malignancies of bone. *CA Cancer J Clin*. 2006;56(6):366–375. doi: 10.3322/canjclin.56.6.366.
22. Ewing J. Diffuse endothelioma of bone. *Proc NY Pathol Soc*. 1921;21:17–24.
23. Riggi N, Suvà ML, Stamenkovic I. Ewing's Sarcoma. *N Engl J Med*. 2021;384(2):154–164. doi: 10.1056/NEJMra2028910.



24. Kilpatrick SE, Reith JD, Rubin B. Ewing Sarcoma and the History of Similar and Possibly Related Small Round Cell Tumors: From Whence Have We Come and Where are We Going? *Adv Anat Pathol*. 2018;25(5):314–326. doi: 10.1097/PAP.0000000000000203.
25. Семенова АИ. Саркома Юинга: характеристика заболевания, особенности диагностики, лечебная тактика. *Практическая онкология*. 2010;11(1):45–50. [Semenova AI. [Ewing's sarcoma: characteristics of the disease, diagnostic particulars, and management strategy]. *Practical Oncology*. 2010;11(1):45–50. Russian.]
26. Самбурова НВ, Пименов ИА, Жевак ТН, Литвицкий ПФ. Саркома Юинга: молекулярно-генетические механизмы патогенеза. *Вопросы современной педиатрии*. 2019;18(4):257–263. doi: 10.15690/vsp.v18i4.2042. [Samburova NV, Pimenov IA, Zhevak TN, Litvitsky PF. [Ewing's Sarcoma: Molecular Genetic Pathogenic Mechanisms]. *Current Pediatrics*. 2019;18(4):257–263. Russian. doi: 10.15690/vsp.v18i4.2042.]
27. Ross KA, Smyth NA, Murawski CD, Kennedy JG. The biology of Ewing sarcoma. *ISRN Oncol*. 2013;2013:759725. doi: 10.1155/2013/759725.
28. Bellan DG, Filho RJ, Garcia JG, de Toledo Petrilli M, Maia Viola DC, Schoedl MF, Petrilli AS. Ewing's sarcoma: epidemiology and prognosis for patients treated at the Pediatric Oncology Institute, IOP-GRAACC-Unifesp. *Rev Bras Ortop*. 2015;47(4):446–450. doi: 10.1016/S2255-4971(15)30126-9.
29. Травкина ЮВ, Жевак ТН, Литвицкий ПФ. Хордома: этиология, патогенез, диагностика, лечение. *Вопросы современной педиатрии*. 2018;17(4):266–271. doi: 10.15690/vsp.v17i4.1917. [Travkina JV, Zhevak TN, Litvitsky PF. [Chordoma: Etiology, Pathogenesis, Diagnosis, Treatment]. *Current Pediatrics*. 2018;17(4):266–271. Russian. doi: 10.15690/vsp.v17i4.1917.]
30. Whelan JS, Davis LE. Osteosarcoma, Chondrosarcoma, and Chordoma. *J Clin Oncol*. 2018;36(2):188–193. doi: 10.1200/JCO.2017.75.1743.
31. Сидоркин ДВ, Коновалов АН, Махмудов УБ, Усачев ДЮ, Шкарубо АН, Шиманский ВН. Топографические варианты краниальных хордом. *Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко*. 2009;(3):14–18. [Sidorkin DV, Konovalov AN, Makhmudov UB, Usachev DY, Shkarubo AN, Shimansky VN. [Topographic variants of cranial chordomas]. *Burdenko's Journal of Neurosurgery*. 2009;(3):14–18. Russian.]
32. Heffelfinger MJ, Dahlin DC, McCarty CS, Beabout JW. Chordomas and cartilaginous tumors at the skull base. *Cancer*. 1973;32(2):410–420. doi: 10.1002/1097-0142(197308)32:2<410::aid-cn-cr2820320219>3.0.co;2-s.
33. Flanagan AM, Yamaguchi T. Chordoma. In: Fletcher CDM, Bridge JA, Pancras CW, Mertens F, editors. *World Health Organization (WHO) classification of tumours of soft tissue and bone. Pathology and Genetics*. Lyon: IARC Press; 2013. p. 328e9.
34. Lauer SR, Edgar MA, Gardner JM, Sebastian A, Weiss SW. Soft tissue chordomas: a clinicopathologic analysis of 11 cases. *Am J Surg Pathol*. 2013;37(5):719–726. doi: 10.1097/PAS.0b013e31827813e7.
35. Kayani B, Sewell MD, Tan KA, Hanna SA, Williams R, Pollock R, Skinner J, Briggs TW. Prognostic Factors in the Operative Management of Sacral Chordomas. *World Neurosurg*. 2015;84(5):1354–1361. doi: 10.1016/j.wneu.2015.06.030.
36. Ariel IM, Verdu C. Chordoma: an analysis of twenty cases treated over a twenty-year span. *J Surg Oncol*. 1975;7(1):27–44. doi: 10.1002/jso.2930070106.
37. Rich TA, Schiller A, Suit HD, Mankin HJ. Clinical and pathologic review of 48 cases of chordoma. *Cancer*. 1985;56(1):182–187. doi: 10.1002/1097-0142(19850701)56:1<182::aid-cn-cr2820560131>3.0.co;2-j.
38. Yonemoto T, Tatezaki S, Takenouchi T, Ishii T, Satoh T, Moriya H. The surgical management of sacrococcygeal chordoma. *Cancer*. 1999;85(4):878–883.
39. Bergh P, Kindblom LG, Gunterberg B, Remotti F, Ryd W, Meis-Kindblom JM. Prognostic factors in chordoma of the sacrum and mobile spine: a study of 39 patients. *Cancer*. 2000;88(9):2122–2134. doi: 10.1002/(sici)1097-0142(20000501)88:9<2122::aid-cn-cr19>3.0.co;2-1.
40. Baratti D, Gronchi A, Pennacchioli E, Lozza L, Colecchia M, Fiore M, Santinami M. Chordoma: natural history and results in 28 patients treated at a single institution. *Ann Surg Oncol*. 2003;10(3):291–296. doi: 10.1245/aso.2003.06.002.
41. Bernardini G, Laschi M, Geminiani M, Santucci A. Proteomics of osteosarcoma. *Expert Rev Proteomics*. 2014;11(3):331–343. doi: 10.1586/14789450.2014.900445.
42. Ram Kumar RM, Boro A, Fuchs B. Involvement and Clinical Aspects of MicroRNA in Osteosarcoma. *Int J Mol Sci*. 2016;17(6):877. doi: 10.3390/ijms17060877.
43. Pujari-Palmer M, Pujari-Palmer S, Lu X, Lind T, Melhus H, Engstrand T, Karlsson-Ott M, Engqvist H. Pyrophosphate Stimulates Differentiation, Matrix Gene Expression and Alkaline Phosphatase Activity in Osteoblasts. *PLoS One*. 2016;11(10):e0163530. doi: 10.1371/journal.pone.0163530.
44. Kim SH, Shin KH, Moon SH, Jang J, Kim HS, Suh JS, Yang WI. Reassessment of alkaline phosphatase as serum tumor marker with high specificity in osteosarcoma. *Cancer Med*. 2017;6(6):1311–1322. doi: 10.1002/cam4.1022.
45. Chavin G, Sheinin Y, Crispin PL, Boorjian SA, Roth TJ, Rangel L, Blute ML, Sebo TJ, Tindall DJ, Kwon ED, Karnes RJ. Expression of immunosuppressive B7-H3 ligand by hormone-treated prostate cancer tumors and metastases. *Clin Cancer Res*. 2009;15(6):2174–2180. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2262.
46. Wang L, Zhang Q, Chen W, Shan B, Ding Y, Zhang G, Cao N, Liu L, Zhang Y. B7-H3 is overexpressed in patients suffering osteosarcoma and associated with tumor aggressiveness and metastasis. *PLoS One*. 2013;8(8):e70689. doi: 10.1371/journal.pone.0070689.
47. Maeda N, Yoshimura K, Yamamoto S, Kuramasu A, Inoue M, Suzuki N, Watanabe Y, Maeda Y, Kamei R, Tsunedomi R, Shindo Y, Inui M, Tamada K, Yoshino S, Hazama S, Oka M. Expression of B7-H3, a potential factor of tumor immune evasion in combination with the number of regulatory T cells, affects against recurrence-free survival in breast cancer patients. *Ann Surg Oncol*. 2014;21 Suppl 4(Suppl 4):S546–S554. doi: 10.1245/s10434-014-3564-2.
48. Kang FB, Wang L, Jia HC, Li D, Li HJ, Zhang YG, Sun DX. B7-H3 promotes aggression and invasion of hepatocellular carcinoma by targeting epithelial-to-mesenchymal transition via JAK2/STAT3/Slug signaling pathway. *Cancer Cell Int*. 2015;15:45. doi: 10.1186/s12935-015-0195-z.
49. Fernández L, Metais JY, Escudero A, Vela M, Valentín J, Vallcorba I, Leivas A, Torres J, Valeri A, Patiño-García A, Martínez J, Leung W, Pérez-Martinez A. Memory T Cells Expressing an NKG2D-CAR Efficiently Target Osteosarcoma Cells. *Clin Cancer Res*. 2017;23(19):5824–5835. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0075.
50. McEachron TA, Triche TJ, Sorenson L, Parham DM, Carpten JD. Profiling targetable immune checkpoints in osteosarcoma. *Oncoimmunology*. 2018;7(12):e1475873. doi: 10.1080/2162402X.2018.1475873.
51. Zang X, Loke P, Kim J, Murphy K, Waitz R, Allison JP. B7x: a widely expressed B7 family member that inhibits T cell activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(18):10388–10392. doi: 10.1073/pnas.1434299100.
52. Zhao R, Chinai JM, Buhl S, Scandiuzzi L, Ray A, Jeon H, Ohaegbulam KC, Ghosh K, Zhao A, Scharff MD, Zang X. HHLA2 is a member of the B7 family and inhibits human CD4 and CD8 T-cell function. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(24):9879–9884. doi: 10.1073/pnas.1303524110.



53. Janakiram M, Shah UA, Liu W, Zhao A, Schoenberg MP, Zang X. The third group of the B7-CD28 immune checkpoint family: HHLA2, TMIGD2, B7x, and B7-H3. *Immunol Rev*. 2017;276(1):26–39. doi: 10.1111/immr.12521.
54. Wang L, Kang FB, Shan BE. B7-H3-mediated tumor immunology: Friend or foe? *Int J Cancer*. 2014;134(12):2764–2771. doi: 10.1002/ijc.28474.
55. Loos M, Hedderich DM, Friess H, Kleeff J. B7-h3 and its role in antitumor immunity. *Clin Dev Immunol*. 2010;2010:683875. doi: 10.1155/2010/683875.
56. Chapoval AI, Ni J, Lau JS, Wilcox RA, Flies DB, Liu D, Dong H, Sica GL, Zhu G, Tamada K, Chen L. B7-H3: a costimulatory molecule for T cell activation and IFN-gamma production. *Nat Immunol*. 2001;2(3):269–274. doi: 10.1038/85339.
57. Suh WK, Gajewska BU, Okada H, Gronski MA, Bertram EM, Dawicki W, Duncan GS, Bukczynski J, Plyte S, Elia A, Wakeham A, Itie A, Chung S, Da Costa J, Arya S, Horan T, Campbell P, Gaida K, Ohashi PS, Watts TH, Yoshinaga SK, Bray MR, Jordana M, Mak TW. The B7 family member B7-H3 preferentially down-regulates T helper type 1-mediated immune responses. *Nat Immunol*. 2003;4(9):899–906. doi: 10.1038/ni967.
58. Greenwald RJ, Freeman GJ, Sharpe AH. The B7 family revisited. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:515–548. doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115611.
59. Calabrò L, Sigalotti L, Fonsatti E, Bertocci E, Di Giacomo AM, Danielli R, Cutaia O, Colizzi F, Covre A, Mutti L, Natali PG, Maio M. Expression and regulation of B7-H3 immunoregulatory receptor, in human mesothelial and mesothelioma cells: immunotherapeutic implications. *J Cell Physiol*. 2011;226(10):2595–2600. doi: 10.1002/jcp.22600.
60. Hofmeyer KA, Ray A, Zang X. The contrasting role of B7-H3. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(30):10277–10278. doi: 10.1073/pnas.0805458105.
61. Xu H, Cheung IY, Guo HF, Cheung NK. MicroRNA miR-29 modulates expression of immunoinhibitory molecule B7-H3: potential implications for immune based therapy of human solid tumors. *Cancer Res*. 2009;69(15):6275–6281. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4517.
62. Gao B, Chen H, Shi Z, Sun J, Yan R, Fu F, Zhang X. MiR-29a inhibited costimulatory molecule B7-H3 expression and the invasion of glioma growth. *Chin J Cancer Biother*. 2015;22(1):28–33. doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.1.005.
63. Linsley PS, Greene JL, Brady W, Bajorath J, Ledbetter JA, Peach R. Human B7-1 (CD80) and B7-2 (CD86) bind with similar avidities but distinct kinetics to CD28 and CTLA-4 receptors. *Immunity*. 1994;1(9):793–801. doi: 10.1016/s1074-7613(94)80021-9. Erratum in: *Immunity*. 1995;2(2):following 203.
64. Brandt CS, Baratin M, Yi EC, Kennedy J, Gao Z, Fox B, Haldeman B, Ostrand CD, Kaifu T, Chabannon C, Moretta A, West R, Xu W, Vivier E, Levin SD. The B7 family member B7-H6 is a tumor cell ligand for the activating natural killer cell receptor NKp30 in humans. *J Exp Med*. 2009;206(7):1495–1503. doi: 10.1084/jem.20090681.
65. Hashiguchi M, Kobori H, Ritprajak P, Kamimura Y, Kozono H, Azuma M. Triggering receptor expressed on myeloid cell-like transcript 2 (TLT-2) is a counter-receptor for B7-H3 and enhances T cell responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(30):10495–10500. doi: 10.1073/pnas.0802423105. Erratum in: *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(38):14744.
66. Hashiguchi M. Human B7-H3 binds to Triggering receptor expressed on myeloid cells-like transcript 2 (TLT-2) and enhances T cell responses. *Open J Immunol*. 2012;2(1):9–16. doi: 10.4236/oji.2012.21002.
67. Leitner J, Klauser C, Pickl WF, Stöckl J, Majdic O, Bardet AF, Kreil DP, Dong C, Yamazaki T, Zlabinger G, Pfistershammer K, Steinberger P. B7-H3 is a potent inhibitor of human T-cell activation: No evidence for B7-H3 and TREM2 interaction. *Eur J Immunol*. 2009;39(7):1754–1764. doi: 10.1002/eji.200839028.
68. Vigdorovich V, Ramagopal UA, Lázár-Molnár E, Sylvestre E, Lee JS, Hofmeyer KA, Zang X, Nathenson SG, Almo SC. Structure and T cell inhibition properties of B7 family member, B7-H3. *Structure*. 2013;21(5):707–717. doi: 10.1016/j.str.2013.03.003.
69. Lupu CM, Eisenbach C, Lupu AD, Kuefner MA, Hoyler B, Stremmel W, Encke J. Adenoviral B7-H3 therapy induces tumor specific immune responses and reduces secondary metastasis in a murine model of colon cancer. *Oncol Rep*. 2007;18(3):745–748.
70. Lupu CM, Eisenbach C, Kuefner MA, Schmidt J, Lupu AD, Stremmel W, Encke J. An orthotopic colon cancer model for studying the B7-H3 antitumor effect in vivo. *J Gastrointest Surg*. 2006;10(5):635–645. doi: 10.1007/BF03239969.
71. Chen JT, Chen CH, Ku KL, Hsiao M, Chiang CP, Hsu TL, Chen MH, Wong CH. Glycoprotein B7-H3 overexpression and aberrant glycosylation in oral cancer and immune response. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(42):13057–13062. doi: 10.1073/pnas.1516991112.
72. Chen YW, Tekle C, Fodstad O. The immunoregulatory protein human B7H3 is a tumor-associated antigen that regulates tumor cell migration and invasion. *Curr Cancer Drug Targets*. 2008;8(5):404–413. doi: 10.2174/156800908785133141.
73. Yin SJ, Wang WJ, Zhang JY. Expression of B7-H3 in cancer tissue during osteosarcoma progression in nude mice. *Genet Mol Res*. 2015;14(4):14253–14261. doi: 10.4238/2015.November.13.9.
74. Roth TJ, Sheinin Y, Lohse CM, Kuntz SM, Frigola X, Inman BA, Krambeck AE, McKenney ME, Karnes RJ, Blute ML, Cheville JC, Sebo TJ, Kwon ED. B7-H3 ligand expression by prostate cancer: a novel marker of prognosis and potential target for therapy. *Cancer Res*. 2007;67(16):7893–7900. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1068.
75. Zang X, Thompson RH, Al-Ahmadie HA, Serio AM, Reuter VE, Eastham JA, Scardino PT, Sharma P, Allison JP. B7-H3 and B7x are highly expressed in human prostate cancer and associated with disease spread and poor outcome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(49):19458–19463. doi: 10.1073/pnas.0709802104.
76. Xylinas E, Robinson BD, Kluth LA, Volkmer BG, Hautmann R, Küfer R, Zerbib M, Kwon E, Thompson RH, Boorjian SA, Shariat SF. Association of T-cell co-regulatory protein expression with clinical outcomes following radical cystectomy for urothelial carcinoma of the bladder. *Eur J Surg Oncol*. 2014;40(1):121–127. doi: 10.1016/j.ejso.2013.08.023.
77. Boorjian SA, Sheinin Y, Crispin PL, Farmer SA, Lohse CM, Kuntz SM, Leibovich BC, Kwon ED, Frank I. T-cell coregulatory molecule expression in urothelial cell carcinoma: clinicopathologic correlations and association with survival. *Clin Cancer Res*. 2008;14(15):4800–4808. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0731.
78. Liu C, Liu J, Wang J, Liu Y, Zhang F, Lin W, Gao A, Sun M, Wang Y, Sun Y. B7-H3 expression in ductal and lobular breast cancer and its association with IL-10. *Mol Med Rep*. 2013;7(1):134–138. doi: 10.3892/mmr.2012.1158.
79. Sun J, Guo YD, Li XN, Zhang YQ, Gu L, Wu PP, Bai GH, Xiao Y. B7-H3 expression in breast cancer and upregulation of VEGF through gene silence. *Onco Targets Ther*. 2014;7:1979–1986. doi: 10.2147/OTT.S63424.
80. Zang X, Sullivan PS, Soslow RA, Waitz R, Reuter VE, Wilton A, Thaler HT, Arul M, Slovin SF, Wei J, Spriggs DR, Dupont J, Allison JP. Tumor associated endothelial expression of B7-H3 predicts survival in ovarian carcinoma. *Mod Pathol*. 2010;23(8):1104–1112. doi: 10.1038/modpathol.2010.95.
81. Brunner A, Hinterholzer S, Riss P, Heinze G, Brustmann H. Immunoreexpression of B7-H3 in endometrial cancer: relation to tumor T-cell infiltration and prognosis. *Gynecol Oncol*. 2012;124(1):105–111. doi: 10.1016/j.ygy.2011.09.012.
82. Huang C, Zhou L, Chang X, Pang X, Zhang H, Zhang S. B7-H3, B7-H4, Foxp3 and IL-2 ex-



- pression in cervical cancer: Associations with patient outcome and clinical significance. *Oncol Rep.* 2016;35(4):2183–2190. doi: 10.3892/or.2016.4607.
83. Wu CP, Jiang JT, Tan M, Zhu YB, Ji M, Xu KF, Zhao JM, Zhang GB, Zhang XG. Relationship between co-stimulatory molecule B7-H3 expression and gastric carcinoma histology and prognosis. *World J Gastroenterol.* 2006;12(3):457–459. doi: 10.3748/wjg.v12.i3.457.
84. Loos M, Hedderich DM, Ottenhausen M, Giese NA, Laschinger M, Esposito I, Kleeff J, Friess H. Expression of the costimulatory molecule B7-H3 is associated with prolonged survival in human pancreatic cancer. *BMC Cancer.* 2009;9:463. doi: 10.1186/1471-2407-9-463.
85. Yamato I, Sho M, Nomi T, Akahori T, Shimada K, Hotta K, Kanehiro H, Konishi N, Yagita H, Nakajima Y. Clinical importance of B7-H3 expression in human pancreatic cancer. *Br J Cancer.* 2009;101(10):1709–1716. doi: 10.1038/sj.bjc.6605375.
86. Sun J, Chen LJ, Zhang GB, Jiang JT, Zhu M, Tan Y, Wang HT, Lu BF, Zhang XG. Clinical significance and regulation of the costimulatory molecule B7-H3 in human colorectal carcinoma. *Cancer Immunol Immunother.* 2010;59(8):1163–1171. doi: 10.1007/s00262-010-0841-1.
87. Al-Sukaini A, Hornicek FJ, Peacock ZS, Kaban LB, Ferrone S, Schwab JH. Immune Surveillance Plays a Role in Locally Aggressive Giant Cell Lesions of Bone. *Clin Orthop Relat Res.* 2017;475(12):3071–3081. doi: 10.1007/s11999-017-5451-1.
88. Crispin PL, Sheinin Y, Roth TJ, Lohse CM, Kuntz SM, Frigola X, Thompson RH, Boorjian SA, Dong H, Leibovich BC, Blute ML, Kwon ED. Tumor cell and tumor vasculature expression of B7-H3 predict survival in clear cell renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2008;14(16):5150–5157. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0536.
89. Qin X, Zhang H, Ye D, Dai B, Zhu Y, Shi G. B7-H3 is a new cancer-specific endothelial marker in clear cell renal cell carcinoma. *Oncotargets Ther.* 2013;6:1667–1673. doi: 10.2147/OTT.S53565.
90. Sun Y, Wang Y, Zhao J, Gu M, Giscombe R, Lefvert AK, Wang X. B7-H3 and B7-H4 expression in non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2006;53(2):143–151. doi: 10.1016/j.lungcan.2006.05.012.
91. Mao Y, Li W, Chen K, Xie Y, Liu Q, Yao M, Duan W, Zhou X, Liang R, Tao M. B7-H1 and B7-H3 are independent predictors of poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Oncotarget.* 2015;6(5):3452–3461. doi: 10.18632/oncotarget.3097.
92. Baral A, Ye HX, Jiang PC, Yao Y, Mao Y. B7-H3 and B7-H1 expression in cerebral spinal fluid and tumor tissue correlates with the malignancy grade of glioma patients. *Oncol Lett.* 2014;8(3):1195–1201. doi: 10.3892/ol.2014.2268.
93. Picarda E, Ohaegbulam KC, Zang X. Molecular Pathways: Targeting B7-H3 (CD276) for Human Cancer Immunotherapy. *Clin Cancer Res.* 2016;22(14):3425–3431. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2428.
94. Sun TW, Gao Q, Qiu SJ, Zhou J, Wang XY, Yi Y, Shi JY, Xu YF, Shi YH, Song K, Xiao YS, Fan J. B7-H3 is expressed in human hepatocellular carcinoma and is associated with tumor aggressiveness and postoperative recurrence. *Cancer Immunol Immunother.* 2012;61(11):2171–2182. doi: 10.1007/s00262-012-1278-5.
95. Li Y, Guo G, Song J, Cai Z, Yang J, Chen Z, Wang Y, Huang Y, Gao Q. B7-H3 Promotes the Migration and Invasion of Human Bladder Cancer Cells via the PI3K/Akt/STAT3 Signaling Pathway. *J Cancer.* 2017;8(5):816–824. doi: 10.7150/jca.17759.
96. Zhang T, Jiang B, Zou ST, Liu F, Hua D. Overexpression of B7-H3 augments anti-apoptosis of colorectal cancer cells by Jak2-STAT3. *World J Gastroenterol.* 2015;21(6):1804–1813. doi: 10.3748/wjg.v21.i6.1804.
97. Kreymborg K, Haak S, Murali R, Wei J, Waitz R, Gasteiger G, Savage PA, van den Brink MR, Allison JP. Ablation of B7-H3 but Not B7-H4 Results in Highly Increased Tumor Burden in a Murine Model of Spontaneous Prostate Cancer. *Cancer Immunol Res.* 2015;3(8):849–854. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0100.
98. Tekle C, Nygren MK, Chen YW, Dybsjord I, Nesland JM, Maelandsmo GM, Fodstad O. B7-H3 contributes to the metastatic capacity of melanoma cells by modulation of known metastasis-associated genes. *Int J Cancer.* 2012;130(10):2282–2290. doi: 10.1002/ijc.26238.
99. Ling V, Wu PW, Spaulding V, Kieleczawa J, Luxenberg D, Carreno BM, Collins M. Duplication of primate and rodent B7-H3 immunoglobulin V- and C-like domains: divergent history of functional redundancy and exon loss. *Genomics.* 2003;82(3):365–377. doi: 10.1016/s0888-7543(03)00126-5.
100. Gregorio A, Corrias MV, Castriconi R, Dondero A, Mosconi M, Gambini C, Moretta A, Moretta L, Bottino C. Small round blue cell tumours: diagnostic and prognostic usefulness of the expression of B7-H3 surface molecule. *Histopathology.* 2008;53(1):73–80. doi: 10.1111/j.1365-2559.2008.03070.x.
101. Lemke D, Pfenning PN, Sahm F, Klein AC, Kempf T, Warnken U, Schnölzer M, Tudoran R, Weller M, Platten M, Wick W. Costimulatory protein 4lgB7H3 drives the malignant phenotype of glioblastoma by mediating immune escape and invasiveness. *Clin Cancer Res.* 2012;18(1):105–117. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0880.
102. Zhang W, Wang J, Wang Y, Dong F, Zhu M, Wan W, Li H, Wu F, Yan X, Ke X. B7-H3 silencing by RNAi inhibits tumor progression and enhances chemosensitivity in U937 cells. *Oncotargets Ther.* 2015;8:1721–1733. doi: 10.2147/OTT.S85272.
103. Sun X, Vale M, Leung E, Kanwar JR, Gupta R, Krissansen GW. Mouse B7-H3 induces antitumor immunity. *Gene Ther.* 2003;10(20):1728–1734. doi: 10.1038/sj.gt.3302070.
104. Wu CP, Jiang JT, Tan M, Zhu YB, Ji M, Xu KF, Zhao JM, Zhang GB, Zhang XG. Relationship between co-stimulatory molecule B7-H3 expression and gastric carcinoma histology and prognosis. *World J Gastroenterol.* 2006;12(3):457–459. doi: 10.3748/wjg.v12.i3.457.
105. Wang L, Kang FB, Sun N, Wang J, Chen W, Li D, Shan BE. The tumor suppressor miR-124 inhibits cell proliferation and invasion by targeting B7-H3 in osteosarcoma. *Tumour Biol.* 2016;37(11):14939–14947. doi: 10.1007/s13277-016-5386-2.
106. Wang L, Kang FB, Zhang GC, Wang J, Xie MF, Zhang YZ. Clinical significance of serum soluble B7-H3 in patients with osteosarcoma. *Cancer Cell Int.* 2018;18:115. doi: 10.1186/s12935-018-0614-z.
107. Larsson SE, Lorentzon R, Boquist L. Giant-cell tumor of bone. A demographic, clinical, and histopathological study of all cases recorded in the Swedish Cancer Registry for the years 1958 through 1968. *J Bone Joint Surg Am.* 1975;57(2):167–173.
108. Tsukahara T, Emori M, Murata K, Mizushima E, Shibayama Y, Kubo T, Kanaseki T, Hirohashi Y, Yamashita T, Sato N, Torigoe T. The future of immunotherapy for sarcoma. *Expert Opin Biol Ther.* 2016;16(8):1049–1057. doi: 10.1080/14712598.2016.1188075.
109. Kabir TF, Chauhan A, Anthony L, Hildebrandt GC. Immune Checkpoint Inhibitors in Pediatric Solid Tumors: Status in 2018. *Ochsner J.* 2018;18(4):370–376. doi: 10.31486/toj.18.0055.
110. Huang HF, Zhu H, Yang XT, Guo XY, Li SS, Xie Q, Tian XB, Yang Z. [Progress in research on tumor immune PD-1/PD-L1 signaling pathway in malignant bone tumors]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 2019;41(6):410–414. Chinese. doi: 10.3760/cma.jissn.0253-3766.2019.06.003.
111. Zhang G, Hou J, Shi J, Yu G, Lu B, Zhang X. Soluble CD276 (B7-H3) is released from monocytes, dendritic cells and activated T cells and is detectable in normal human serum. *Immunology.* 2008;123(4):538–546. doi: 10.1111/j.1365-2567.2007.02723.x.
112. Xie C, Liu D, Chen Q, Yang C, Wang B, Wu H. Soluble B7-H3 promotes the invasion and metas-



- tasis of pancreatic carcinoma cells through the TLR4/NF- κ B pathway. *Sci Rep.* 2016;6:27528. doi: 10.1038/srep27528.
113. Chen L, Zhang G, Sheng S, Zhou Q, Pan Y, Guan S. Upregulation of soluble B7-H3 in NS-CLC-derived malignant pleural effusion: A potential diagnostic biomarker correlated with NSCLC staging. *Clin Chim Acta.* 2016;457:81–85. doi: 10.1016/j.cca.2016.04.009.
114. Benzon B, Zhao SG, Haffner MC, Takhar M, Erho N, Yousefi K, Hurley P, Bishop JL, Tosoian J, Ghabili K, Alshalalfa M, Glavaris S, Simons BW, Tran P, Davicioni E, Karnes RJ, Boudadi K, Antonarakis ES, Schaeffer EM, Drake CG, Feng F, Ross AE. Correlation of B7-H3 with androgen receptor, immune pathways and poor outcome in prostate cancer: an expression-based analysis. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2017;20(1):28–35. doi: 10.1038/pcan.2016.49.
115. Marin-Acevedo JA, Dholaria B, Soyano AE, Knutson KL, Chumsri S, Lou Y. Next generation of immune checkpoint therapy in cancer: new developments and challenges. *J Hematol Oncol.* 2018;11(1):39. doi: 10.1186/s13045-018-0582-8.
116. Ahmed M, Cheng M, Zhao Q, Goldgur Y, Cheal SM, Guo HF, Larson SM, Cheung NK. Humanized Affinity-matured Monoclonal Antibody 8H9 Has Potent Antitumor Activity and Binds to FG Loop of Tumor Antigen B7-H3. *J Biol Chem.* 2015;290(50):30018–30029. doi: 10.1074/jbc.M115.679852.
117. Kramer K, Kushner BH, Modak S, Pandit-Taskar N, Smith-Jones P, Zanzonico P, Humm JL, Xu H, Wolden SL, Souweidane MM, Larson SM, Cheung NK. Compartmental intrathecal radioimmunotherapy: results for treatment for metastatic CNS neuroblastoma. *J Neurooncol.* 2010;97(3):409–418. doi: 10.1007/s11060-009-0038-7.
118. Souweidane MM, Kramer K, Pandit-Taskar N, Zhou Z, Haque S, Zanzonico P, Carrasquillo JA, Lyashchenko SK, Thakur SB, Donzelli M, Turner RS, Lewis JS, Cheung NV, Larson SM, Dunkel IJ. Convection-enhanced delivery for diffuse intrinsic pontine glioma: a single-centre, dose-escalation, phase 1 trial. *Lancet Oncol.* 2018;19(8):1040–1050. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30322-X. Erratum in: *Lancet Oncol.* 2018;19(8):e382.
119. Liu H, Tekle C, Chen YW, Kristian A, Zhao Y, Zhou M, Liu Z, Ding Y, Wang B, Mælandsmo GM, Nesland JM, Fodstad O, Tan M. B7-H3 silencing increases paclitaxel sensitivity by abrogating Jak2/Stat3 phosphorylation. *Mol Cancer Ther.* 2011;10(6):960–971. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0072.

Expression of the immune checkpoint B7-H3 in tumor and its soluble form in serum of patients with bone neoplasms

N.E. Kushlinskii¹ • O.V. Kovaleva¹ • A.A. Alferov¹ • Yu.B. Kuzmin¹ • E.A. Sushentsov¹ • I.S. Stilidi¹

B7-H3, also called CD276, is a type I transmembrane glycoprotein that is encoded on human chromosome 15. It was discovered back in 2001. The original study described it as a positive co-stimulant, as it can stimulate T-cell response and IFN- γ production. However, recent researches have shown that B7-H3 is involved in T-cell inhibition. A B7-H3 receptor has not been yet identified, and this may explain the complex immunomodulatory activity of B7-H3, as it can have more than one binding partner with different functions. Expression of the B7-H3 protein has been found on activated immune cells such as T-cells, NK cells and antigen presenting cells. Interestingly, it is overexpressed in a wide range of tumor cells and is associated with disease progression and outcome. The soluble form of this protein is also of

particular interest. Increased sB7-H3 levels in the plasma of bone tumor patients might be their important diagnostic criterion.

Key words: B7-H3, immunity, bone tumors, immunotherapy

For citation: Kushlinskii NE, Kovaleva OV, Alferov AA, Kuzmin YuB, Sushentsov EA, Stilidi IS. Expression of the immune checkpoint B7-H3 in tumor and its soluble form in serum of patients with bone neoplasms. *Almanac of Clinical Medicine.* 2021;49(3):179–190. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-013.

Received 27 February 2021; revised 9 March 2021; accepted 22 March 2021; published online 31 March 2021

Nikolay E. Kushlinskii – MD, PhD, Professor, Member of Russian Academy of Sciences, Head of Laboratory of Clinical Biochemistry¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>

✉ 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 324 11 59. E-mail: biochimia@yandex.ru

Olga V. Kovaleva – PhD (in Biol.), Senior Research Fellow, Laboratory of Regulation of Cellular and Viral Oncogenes, Research Institute of Carcinogenesis¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6132-9924>

Aleksandr A. Alferov – Clinical Pathologist, Laboratory of Clinical Biochemistry¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3585-5693>

Yurii B. Kuzmin – Research Laboratory Assistant, Laboratory of Clinical Biochemistry¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9684-2509>

Evgeny A. Sushentsov – MD, PhD, Head of Department of Surgical Treatment Methods No. 14 (Oncorthopedics)¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3672-1742>

Ivan S. Stilidi – MD, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences, Director¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0493-1166>

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this article.

Authors' contributions

N.E. Kushlinskii, the paper concept and design, text editing; O.V. Kovaleva, literature search and analysis, data management, text writing; A.A. Alferov and Yu.B. Kuzmin, literature analysis, text writing; E.A. Sushentsov, literature analysis, text editing; I.S. Stilidi, text editing, approval of the final version of the manuscript. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

¹ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology; 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation



Оригинальная статья

Прогностическая роль аберрантной копииности генов *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, *c-Myc* у больных раком яичников

Вереникина Е.В.¹ • Петрусенко Н.А.¹ • Кечерюкова М.М.¹**Вереникина Екатерина**

Владимировна – канд. мед. наук, заведующая отделением онкогинекологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1084-5176>.
E-mail: ekaterina.veren@yandex.ru

Петрусенко Наталья Александровна

мл. науч. сотр. лаборатории молекулярной онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7919-6111>
✉ 344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63, Российская Федерация.
Тел.: +7 (863) 200 10 00, доб. 472.
E-mail: petrusenko-natulya@mail.ru

Кечерюкова Мадина Мажитовна

врач-онколог отделения онкогинекологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6131-8560>.
E-mail: adele09161@mail.ru

Актуальность. Рак яичников – ведущая причина смерти при гинекологических злокачественных новообразованиях. Более чем у 70% пациенток диагностируется прогрессирующее заболевание, распространяющееся за пределы малого таза. Пятилетняя выживаемость больных раком яичников остается низкой (около 47%) из-за частых рецидивов и лекарственной устойчивости. Выявление маркеров для ранней диагностики и прогнозирования рецидивов улучшит прогноз при этом заболевании.

Цель – оценить относительную копииность онкоассоциированных генетических локусов *c-Myc*, *CDK12*, *CDKN1B*, *PRPF19*, *ERBB2*, *DDB1*, *GAB2*, *COL6A3* в опухолевых клетках тканей яичников для поиска потенциальных прогностических онкомаркеров у больных раком яичников.

Материал и методы. В исследование вошли 50 женщин в возрасте от 27 до 70 лет с диагнозом рака яичников T1-3cN0-1M0-1, гр. 2 (стадии I–IV), проходивших плановое лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в 2015–2019 гг. Материалом служили образцы геномной ДНК из парафиновых блоков опухолевой и условно здоровой ткани. Методом RT-qPCR проводили оценку относительной копииности 8 генетических локусов: *c-Myc*, *CDK12*, *CDKN1B*, *PRPF19*, *ERBB2*, *DDB1*, *GAB2*, *COL6A3*. Относительную копииность (англ. relative copy quantitation, RCQ) генетического локуса рассчитывали по формуле $2^{-\Delta Ct}$. Дозу исследованного локуса считали равной диплоидному набору (2n) при отношении $RCQ_{опухоль/норма} \sim 1$. Если отношение $RCQ_{опухоль/норма}$ было $> 1,5$ или $< 0,5$, дозу локуса считали увеличенной ($\geq 3n$) или уменьшенной ($\leq 1n$) соответственно.

Результаты. Для всех генетических локусов наблюдали увеличение относительной копииности в опухолевых клетках яичников по сравнению с условно здоровой тканью. Выявлена статистически значимая ($p < 0,05$) аберрантная копииность четырех генов: *c-Myc* ($p = 0,001$), *DDB1* ($p = 0,002$), *PRPF19* ($p = 0,0001$), *CDKN1B* ($p = 0,001$). Установлены дифференциально разделительные уровни этих генов, которые позволили прогнозировать неблагоприятное течение заболевания у пациенток ($p < 0,05$). Наиболее тесная связь с риском неблагоприятных событий была характерна для повышения уровня копииности *PRPF19* (отношение шансов (ОШ) 7,3; $p = 0,0001$) и *c-Myc* (ОШ 6,8; $p = 0,001$).

Заключение. В нашем исследовании мы определили прогностическую ценность четырех онкогенных драйверов, а именно *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B* и *c-Myc*, увеличение копииности которых ассоциировалось с неблагоприятным прогнозом заболевания у больных раком яичников.

Ключевые слова: рак яичников, вариация числа копий, *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, *c-Myc*

Для цитирования: Вереникина ЕВ, Петрусенко НА, Кечерюкова ММ. Прогностическая роль аберрантной копииности генов *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, *c-Myc* у больных раком яичников. Альманах клинической медицины. 2021;49(3):191–196. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-020.

Поступила 22.10.2020; доработана 12.04.2021; принята к публикации 14.04.2021; опубликована онлайн 23.04.2021

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России; 344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63, Российская Федерация

Рак яичников – ведущая причина смерти при гинекологических злокачественных новообразованиях. Из-за отсутствия репрезентативных симптомов и чувствительных методов диагностики более чем у 70% пациенток заболевание диагностируется на стадии распространения за пределы малого таза. По причине частых рецидивов

и лекарственной устойчивости пятилетняя выживаемость больных раком яичников остается низкой – около 47% [1]. Именно поэтому крайне важно понять механизм, лежащий в основе опухолевого генеза, и разработать новые стратегии ранней диагностики, мониторинга заболевания и оценки прогноза. Выявление маркеров для ранней диагностики и прогнозирования



рецидивов улучшит долгосрочный прогноз при раке яичников.

Вариацию числа копий (англ. copy number variation, CNV) в геноме все чаще связывают с генетической и фенотипической гетерогенностью раковых опухолей, что часто ассоциировано с транскрипционной активацией онкогенных драйверов или удалением опухолевых супрессоров [2, 3]. Индукция соматических CNV – обычное явление при раке и один из основных факторов развития опухоли и формирования лекарственной устойчивости [4]. Таким образом, выявление соматических CNV может играть важную роль в диагностике и прогнозировании течения рака, что должно положительно сказаться на результатах лечения. В базе данных TCGA (The Cancer Genome Atlas – Атлас ракового генома) отражены результаты внедрения геномных технологий высокого разрешения, которые показывают значительную геномную нестабильность с высокой частотой CNV, что характерно для рака яичников. Изменение копийности генов используют для молекулярной стратификации рака яичников, а также связывают с прогнозированием общей выживаемости и вероятностью рецидива [5, 6].

Целью нашего исследования было изучение в опухолевых клетках тканей яичников относительной копийности онкоассоциированных генетических локусов *c-Myc*, *CDK12*, *CDKN1B*, *PRPF19*, *ERBB2*, *DDB1*, *GAB2*, *COL6A3* как потенциально прогностических маркеров.

Материал и методы

Исследование включало 50 женщин в возрасте от 27 до 70 лет с первичным диагнозом рака яичников T1-3cN0-1M0-1, гр. 2 (стадии I–IV), прошедших плановое лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в 2015–2019 гг. (табл. 1). Все пациентки добровольно подписали информированное согласие на обработку персональных данных и передачу сведений, составляющих врачебную тайну, а также на передачу биологического материала. Работа выполнена в соответствии с этическими принципами проведения биомедицинских исследований, отраженными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

Для выделения ДНК из парафиновых блоков опухолевой и условно здоровой ткани (тканевые образцы, фиксированные в 10% забуференном формалине) получали 5–8 слайсов толщиной 3 мкм с помощью микротомы, депарафинизировали о-ксилолом и 95% этиловым спиртом, лизировали в 200 мкл лизирующего буфера (10 мМ

Таблица 1. Характеристика пациенток по стадиям рака яичников

Классификация TNM	Классификация FIGO	Количество, абс. (%)
T1-T1c3-N0-M0	I–IC	4 (8)
T2-T2b-N0-M0	II–IIB	14 (28)
T3-T3c-N1-M0	III–IIIC	27 (54)
T3-T3c-N0-1-M1	IV–IVB	5 (10)

Таблица 2. Последовательности прямого (F) и обратного (R) праймеров для определения относительной копийности генов и размеры получаемых ампликонов

Ген	Праймер	Последовательность	Размеры ампликонов, bp
<i>GAPDH</i>	F	GCTGAACGGGAAGCTCACT	90
	R	GCAGGTTTTTCTAGACGGCAG	
<i>B2M</i>	F	TGCTGTCTCCATGTTTGATGT	86
	R	TCTCTGCTCCCCACCTCTA	
<i>c-Myc</i>	F	GACCAGCTGGAGATGGTGAC	125
	R	AAGCCGCTCCACATACAGTC	
<i>CDK12</i>	F	GGGTAAGAGTGGGCACGATG	89
	R	CTGCTCCTCTGGTCTCCCAT	
<i>CDKN1B</i>	F	TGCCTCTAAAAGCGTTGGATGT	150
	R	TCCACGTCAGTTCCTCAGCC	
<i>PRPF19</i>	F	TCTCTAACGAAGTGCCGGAG	114
	R	GGTTGTTGATGGGGTCGGTA	
<i>ERBB2</i>	F	TGGTGGGTGGGGGTGATTAT	72
	R	GGTCTGACCTCCATACAAGTCC	
<i>DDB1</i>	F	CTCCTCTCCACCATCGTCTTCTT	121
	R	TCAGCTCATCCCAAGTCTCT	
<i>GAB2</i>	F	TCCAGGTTCTCCACCCTGT	189
	R	GGTTTGAGGTTGCGGTTGAC	
<i>COL6A3</i>	F	GGATGCAGATGAAGGAGCGTT	144
	R	GCCCTTTCTGGACTCACGG	

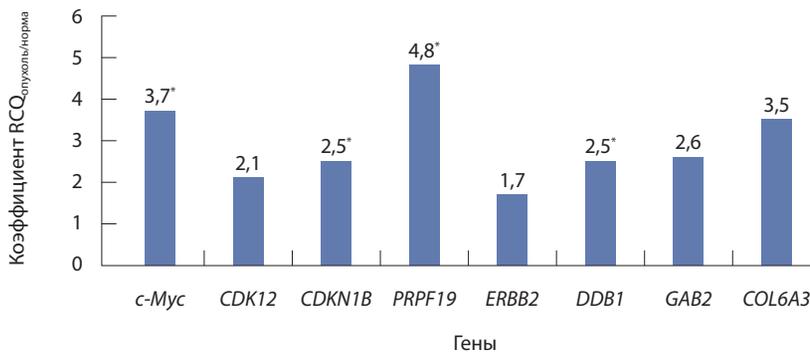
Трис-НСL, рН 7,5; 1 мМ ЭДТА; 2% SDS) с добавлением 20 мкл протеиназы К (10 мг/мл) при 58 °С в течение ночи, затем прогревали при 90 °С в течение 1 часа для устранения ДНК-белковых сшивков, далее экстрагировали тотальную ДНК набором «ДНК-сорб-В» (AmpliSens) согласно инструкции



Таблица 3. Результаты ROC-анализа в отношении определения в опухолевых образцах у больных раком яичников дифференциально разделительных уровней копийности генов, статистически значимых для оценки риска неблагоприятных событий

Ген	Пороговое значение $RCQ_{\text{опухоль/норма}}$ значение p	Диагностическая специфичность	Диагностическая чувствительность	95% ДИ
<i>c-Мус</i>	$\geq 3,7$; 0,001	77,9 (71,4–85,2)	81,2 (74,5–86,7)	0,125–0,861
<i>DDB1</i>	$\geq 2,5$; 0,002	67,9 (61,3–74,6)	70,4 (62,3–78,5)	0,215–0,793
<i>PRPF19</i>	$\geq 4,8$; 0,0001	81,3 (73,1–86,3)	84,7 (74,6–88,9)	0,105–0,918
<i>CDKN1B</i>	$\geq 2,5$; 0,001	70,5 (66,7–76,4)	72,1 (66,3–79,8)	0,265–0,853

ДИ – доверительный интервал (нижняя – верхняя границы)



Значения коэффициента относительной копийности генов ($RCQ_{\text{опухоль/норма}}$) у больных раком яичников; * статистически значимые различия ($p < 0,05$)

производителя. Опухолевые образцы тканей яичников гистологически верифицировали, содержание опухолевых клеток в исследуемом срезе было не менее 60%.

Оценку относительной копийности 8 генетических локусов – *c-Мус*, *CDK12*, *CDKN1B*, *PRPF19*, *ERBB2*, *DDB1*, *GAB2*, *COL6A3* – проводили методом RT-qPCR. Каждые 25 мкл ПЦР-смеси содержали 10 нг геномной ДНК, 0,2 мМ dNTP's, по 600 нМ прямого и обратного праймеров, 2,5 мМ $MgCl_2$, 1x-ПЦР-буфер, 0,05 ед/мкл ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* («Синтол», Россия). В качестве красителя использовали EvaGreen (Biotium, США). Амплификацию каждой из проб осуществляли в трех повторностях с применением термоциклера CFX96 (Bio-Rad, США) по следующей программе: 95 °C в течение 3 мин, 40 циклов при 95 °C в течение 10 с, 60 °C в течение 30 с (чтение оптического сигнала FAM для красителя EvaGreen) и 72 °C в течение 15 с. Анализ первичных данных RT-qPCR проводили с помощью программного обеспечения Bio-Rad CFX Manager (v2.1) [7].

В качестве референсных использовали генетические локусы *GAPDH*, *B2M* [8, 9]. Прямые и обратные праймеры для всех генетических локусов были разработаны с помощью базы NCBI GenBank, их последовательности приведены в табл. 2.

Относительную копийность (англ. relative copy quantitation, RCQ) генетического локуса рассчитывали по формуле $2^{-\Delta Ct}$. Дозу исследованного локуса считали равной диплоидному набору (2n) при отношении $RCQ_{\text{опухоль/норма}} \sim 1$. Если отношение $RCQ_{\text{опухоль/норма}}$ было $> 1,5$ или $< 0,5$, дозу локуса считали увеличенной ($\geq 3n$) или уменьшенной ($\leq 1n$) соответственно [10].

Статистический анализ результатов, включающий непараметрический критерий Манна – Уитни, ROC-анализ и отношение шансов (ОШ), выполняли с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, США) и Statistica v.10 (StatSoft Inc., США) [9]. При проведении ROC-анализа указывали 95% доверительный интервал (95% ДИ) с верхней и нижней границами. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В нашем исследовании наблюдали увеличение относительной копийности для всех генетических локусов в опухолевых клетках яичников по сравнению с условно здоровой тканью (рисунок). Статистически значимое изменение копийности ($p < 0,05$) выявлено для генов *c-Мус* ($p = 0,001$), *DDB1* ($p = 0,002$), *PRPF19* ($p = 0,0001$), *CDKN1B* ($p = 0,001$).

Установлены дифференциально разделительные уровни четырех генов – *c-Мус*, *DDB1*, *PRPF19* и *CDKN1B*, которые со статистической значимостью позволили прогнозировать неблагоприятное течение заболевания у пациенток (табл. 3). Наиболее тесная связь с риском неблагоприятных событий была характерна для повышения уровня копийности *PRPF19* (ОШ 7,3; $p = 0,0001$) и *c-Мус* (ОШ 6,8; $p = 0,001$). Соответствующие результаты однофакторного и многофакторного анализа приведены в табл. 4.

Исходя из полученных ОШ для многофакторного анализа, уравнение логистической регрессии приобрело следующий вид:

$$kp = 1,16 \times RCQ_{\text{опухоль/норма}}(c-Мус) + 0,47 \times RCQ_{\text{опухоль/норма}}(DDB1) + 1,31 \times RCQ_{\text{опухоль/норма}}(PRPF19) + 0,59 \times RCQ_{\text{опухоль/норма}}(CDKN1B),$$

где kp – прогностический коэффициент для определения риска рецидива в течение заболевания.

**Таблица 4.** Результаты однофакторного и многофакторного анализа поиска ассоциаций между копийностью генов *c-Мус*, *DDB1*, *PRPF19* и *CDKN1B* и риском рецидива у больных раком яичников

Ген	ОШ при однофакторном анализе (95% ДИ)	ОШ при многофакторном анализе (95% ДИ)
<i>c-Мус</i>	6,8 (3,531–27,637)	3,2 (1,243–4,751)
<i>DDB1</i>	4,2 (2,823–8,974)	1,6 (1,327–2,867)
<i>PRPF19</i>	7,3 (2,546–32,122)	3,7 (1,344–4,789)
<i>CDKN1B</i>	4,7 (1,834–7,556)	1,8 (1,335–2,898)

ДИ – доверительный интервал (нижняя – верхняя границы), ОШ – отношение шансов

Мы рассчитали с помощью ROC-анализа пороговое значение *кр*, которое составило 13,7. В случае если данный показатель у больной превысит 13,7, можно прогнозировать развитие неблагоприятных событий в течение заболевания (рецидив и летальный исход). При значении ниже порогового риск летального исхода и рецидивов невысокий. Чувствительность теста, в основу которого легла предложенная модель, составила 79,3%, специфичность – 82,8%.

Обсуждение

В итоге выявлена aberrантная копийность четырех генов: *c-Мус*, *DDB1*, *PRPF19* и *CDKN1B*. В нашем исследовании статистически значимое увеличение амплификации гена репарации повреждений ДНК *DDB1* было связано с плохим прогнозом, что согласуется с данными анализа CNV в работе L. Li и соавт., где увеличение числа копий коррелировало с усилением экспрессии генов при раке яичников [6]. *DDB1*, кодируемый геном *DDB1*, расположенным в хромосоме 11q12.2, считается важным регулятором эксцизионной репарации нуклеотидов и отвечает за устойчивость к препаратам платины [11]. Эти результаты показывают, что *DDB1* может быть использован в качестве предиктора химиорезистентности.

Помимо генов репарации повреждений ДНК, гены *PRPF19* и *CDKN1B*, кодирующие белки, участвующие в клеточной пролиферации и переходе G1/S, также ассоциировались с плохим прогнозом при раке яичников. В исследовании L. Li и соавт. усиление *PRPF19* не было статистически значимо связано с общей выживаемостью ($p=0,0856$), однако ген *CDKN1B* выступал независимым прогностическим фактором для общей выживаемости [6]. *PRPF19* (pre-mRNA-processing factor 19) представляет собой U-box-содержащую

убиквитинлигазу E3, участвует в восстановлении ДНК [12]. Повышенная экспрессия *PRPF19* обнаружена в тканях рака желудка и/или метастатических лимфатических узлах по сравнению с нормальными тканями [13]. Высокий уровень экспрессии *PRPF19* отмечали в большинстве тканей гепатоцеллюлярной карциномы и клеточных линий, где сверхэкспрессия *PRPF19* положительно коррелировала с сосудистой инвазией и прорывом капсулы опухоли [14]. Указанные выше исследования позволяют предположить, что увеличение транскрипционной активности *PRPF19* становится критическим событием во время прогрессирования злокачественных опухолей.

Белок p27 кодируется геном циклинзависимого ингибитора киназы 1B (*CDKN1B*). Некоторые полиморфизмы *CDKN1B* могут быть связаны со сниженным риском онкозаболеваний, особенно рака яичников [15]. Кроме того, экспрессия *CDKN1B* ассоциирована с выживаемостью [6, 16]. В нашем исследовании мы наблюдали статистически значимое повышение копийности генов *PRPF19* и *CDKN1B*, что сопровождалось плохим прогнозом при раке яичников.

Протоонкоген *c-Мус* – основной регулятор транскрипции helix-loop-helix/leucine zipper (bHLH-Zip). Он контролирует множество биологических процессов, включая рост и дифференцировку клеток, а также инициацию и прогрессирование опухоли [17]. *c-Мус* обсуждается как наиболее часто амплифицируемый онкоген, и дисрегуляция его экспрессии коррелирует с агрессивностью опухоли и плохим клиническим исходом при большинстве злокачественных новообразований. В нашей работе отмечено статистически значимое повышение копийности гена *c-Мус*, ассоциированное с плохим прогнозом заболевания.

Заключение

Рак яичников имеет худший прогноз из всех гинекологических злокачественных новообразований ввиду выявления на поздних стадиях и частого рецидивирования. В настоящем исследовании мы определили прогностическую ценность четырех онкогенных драйверов, а именно *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B* и *c-Мус*, увеличение копийности которых ассоциировалось с неблагоприятным прогнозом заболевания. Наибольший относительный риск прогрессирования и рецидива рака яичников отмечался при амплификации генов *PRPF19* (ОШ 7,3; $p=0,0001$) и *c-Мус* (ОШ 6,8; $p=0,001$). ©



Дополнительная информация

Финансирование

Работа выполнена в рамках Государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации «Исследование аберрантного регулирования транскрипционной активности паттерна генов при развитии малигнизации тканей различных нозологий».

Конфликт интересов

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

Участие авторов

Е.В. Вереникина – концепция и дизайн исследования, анализ клинико-экспериментальных результатов исследования, написание и редактирование текста; Н.А. Петрусенко – проведение

молекулярно-генетического исследования, анализ и интерпретация результатов исследования, написание текста; М.М. Кечерюкова – сбор и обработка образцов, анализ полученных данных, статистическая обработка данных. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Благодарности

Авторы выражают благодарность научному сотруднику лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России Д.Ю. Гвалдину за помощь в проведении статистической обработки данных.

Литература / References

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin*. 2019;69(1):7–34. doi: 10.3322/caac.21551.
2. Jackson M, Marks L, May GHW, Wilson JB. The genetic basis of disease. *Essays Biochem*. 2018;62(5):643–723. doi: 10.1042/EBC20170053. Erratum in: *Essays Biochem*. 2020;64(4):681.
3. Zeng M, Kwiatkowski NP, Zhang T, Nabet B, Xu M, Liang Y, Quan C, Wang J, Hao M, Palakurthi S, Zhou S, Zeng Q, Kirschmeier PT, Meghani K, Leggett AL, Qi J, Shapiro GI, Liu JF, Matulonis UA, Lin CY, Konstantinopoulos PA, Gray NS. Targeting MYC dependency in ovarian cancer through inhibition of CDK7 and CDK12/13. *Elife*. 2018;7:e39030. doi: 10.7554/eLife.39030.
4. Despierre E, Moisse M, Yesilyurt B, Sehouli J, Braicu I, Mahner S, Castillo-Tong DC, Zeilinger R, Lambrechts S, Leunen K, Amant F, Moerman P, Lambrechts D, Vergote I. Somatic copy number alterations predict response to platinum therapy in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2014;135(3):415–422. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.09.014.
5. Macintyre G, Goranova TE, De Silva D, Ennis D, Piskorz AM, Eldridge M, Sie D, Lewsley LA, Hanif A, Wilson C, Dowson S, Glasspool RM, Lockley M, Brockbank E, Montes A, Walther A, Sundar S, Edmondson R, Hall GD, Clamp A, Gourley C, Hall M, Fotopoulou C, Gabra H, Paul J, Supernat A, Millan D, Hoyle A, Bryson G, Nurse C, Mincarelli L, Sanchez LN, Ylstra B, Jimenez-Linan M, Moore L, Hofmann O, Markowitz F, McNeish IA, Brenton JD. Copy number signatures and mutational processes in ovarian carcinoma. *Nat Genet*. 2018;50(9):1262–1270. doi: 10.1038/s41588-018-0179-8.
6. Li L, Bai H, Yang J, Cao D, Shen K. Genome-wide DNA copy number analysis in clonally expanded human ovarian cancer cells with distinct invasive/migratory capacities. *Oncotarget*. 2017;8(9):15136–15148. doi: 10.18632/oncotarget.14767.
7. Петрусенко НА, Никитина ВП, Спиридонова ДА, Кечерюкова ММ. Изменение копийности генов в злокачественных опухолях шейки матки с эндофитной и экзофитной формами роста. Современные проблемы науки и образования. 2019;(3):173. [Petrusenko NA, Nikitina VP, Spiridonova DA, Kecheryukova MM. [The change in the copy number of genes in malignant cervical tumors with endophytic and exophytic forms of growth]. *Modern Problems of Science and Education*. 2019;(3):173. Russian.]
8. Колесников ЕН, Максимов АЮ, Кит ОИ, Кутилин ДС. Зависимость общей и безрецидивной выживаемости больных от молекулярно-генетического подтипа плоскоклеточного рака пищевода. Вопросы онкологии. 2019;65(5):691–700. [Kolesnikov EN, Maksimov AYU, Kit OI, Kutilin DS. [Dependence of overall and relapse-free patients survival from molecular genetic subtype of esophageal squamous cell cancer]. *Problems in Oncology*. 2019;65(5):691–700. Russian.]
9. Кит ОИ, Водолажский ДИ, Кутилин ДС, Гудуева ЕН. Изменение копийности генетических локусов при раке желудка. Молекулярная биология. 2015;49(4):658. doi: 10.7868/S0026898415040096. [Kit OI, Vodolazhskiy DI, Kutilin DS, Gudueva EN. [Changes in genetic loci copy number in stomach cancer]. *Molecular Biology*. 2015;49(4):658. Russian. doi: 10.7868/S0026898415040096.]
10. Водолажский ДИ, Тимошкина НН, Маслов АА, Колесников ЕН, Татимов МЗ. Копийность 17-ти генетических локусов у пациентов с диагнозом аденокарцинома желудка. Современные проблемы науки и образования. 2017;(3):12. [Vodolazhskiy DI, Timoshkina NN, Maslov AA, Kolesnikov EN, Tatimov MZ. [Copynumber variation of 17 gene in the gastric adenocarcinoma]. *Modern Problems of Science and Education*. 2017;(3):12. Russian.]
11. Galluzzi L, Vitale I, Michels J, Brenner C, Szabadkai G, Harel-Bellan A, Castedo M, Kroemer G. Systems biology of cisplatin resistance: past, present and future. *Cell Death Dis*. 2014;5(5):e1257. doi: 10.1038/cddis.2013.428.
12. Maréchal A, Li JM, Ji XY, Wu CS, Yazinski SA, Nguyen HD, Liu S, Jiménez AE, Jin J, Zou L. PRP19 transforms into a sensor of RPA-ssDNA after DNA damage and drives ATR activation via a ubiquitin-mediated circuitry. *Mol Cell*. 2014;53(2):235–246. doi: 10.1016/j.molcel.2013.11.002.
13. Zhou J, Wang W, Xie Y, Zhao Y, Chen X, Xu W, Wang Y, Guan Z. Proteomics-Based Identification and Analysis of Proteins Associated with *Helicobacter pylori* in Gastric Cancer. *PLoS One*. 2016;11(1):e0146521. doi: 10.1371/journal.pone.0146521.
14. Yin J, Wang L, Zhu JM, Yu Q, Xue RY, Fang Y, Zhang YA, Chen YJ, Liu TT, Dong L, Shen XZ. Prp19 facilitates invasion of hepatocellular carcinoma via p38 mitogen-activated protein kinase/twist1 pathway. *Oncotarget*. 2016;7(16):21939–21951. doi: 10.18632/oncotarget.7877.
15. Lu Y, Gao K, Zhang M, Zhou A, Zhou X, Guan Z, Shi X, Ge S. Genetic Association Between CDKN1B rs2066827 Polymorphism and Susceptibility to Cancer. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(46):e1217. doi: 10.1097/MD.0000000000001217.
16. Gyorffy B, Lánckzy A, Szállási Z. Implementing an online tool for genome-wide validation of survival-associated biomarkers in ovarian-cancer using microarray data from 1287 patients. *Endocr Relat Cancer*. 2012;19(2):197–208. doi: 10.1530/ERC-11-0329.
17. Li H, Liu J, Cao W, Xiao X, Liang L, Liu-Smith F, Wang W, Liu H, Zhou P, Ouyang R, Yuan Z, Liu J, Ye M, Zhang B. C-myc/miR-150/EPG5 axis mediated dysfunction of autophagy promotes development of non-small cell lung cancer. *Theranostics*. 2019;9(18):5134–5148. doi: 10.7150/thno.34887.



The prognostic role of aberrant copy number of *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, and *c-Myc* genes in ovarian cancer patients

E.V. Verenikina¹ • N.A. Petrusenko¹ • M.M. Kecheryukova¹

Rationale: Ovarian cancer is the leading death cause in gynecological malignancies. More than 70% of the patients are diagnosed with progressing disease extending to outside the true pelvis. The 5-year survival of ovarian cancer patients remains low (about 47%) due to frequent relapses and drug resistance. Identification of markers for early diagnosis and relapse prediction could improve the outcomes of the disease.

Aim: To assess relative copy number of cancer-associated genetic loci *c-Myc*, *CDK12*, *CDKN1B*, *PRPF19*, *ERBB2*, *DDB1*, *GAB2*, *COL6A3* in the tumor cells of ovarian cancer, in order to identify potential prognostic oncomarkers in ovarian cancer patients.

Materials and methods: The study included 50 women aged 27 to 70 years with ovarian cancer T1-3cN0-1M0-1, Gr. 2 (stages I–IV), who received their elective treatment in the National Medical Research Centre for Oncology in 2015 to 2019. The study was based on samples of genomic DNA from paraffinized blocks of tumor and “healthy” tissues. Relative copy numbers of 8 genetic loci (*c-Myc*, *CDK12*, *CDKN1B*, *PRPF19*, *ERBB2*, *DDB1*, *GAB2*, *COL6A3*) was assessed by RT-qPCR technique. Relative copy quantitation of a genetic locus was calculated as $2^{-\Delta Ct}$. The dose of the locus studied was considered equal to diploid set (2n) if $RCQ_{\text{tumor/healthy}}$ was about 1. If $RCQ_{\text{tumor/healthy}}$ was > 1.5 or < 0.5 , then the locus dose was considered increased ($\geq 3n$) or decreased ($\leq 1n$), respectively.

Results: For all genetic loci, an increase of relative copy quantitation in the ovarian tumor cells was observed compared to that in “healthy” tissues. There was a significant ($p < 0.05$) aberrant copy quantitation of 4 genes: *c-Myc* ($p = 0.001$), *DDB1* ($p = 0.002$), *PRPF19* ($p = 0.0001$), and *CDKN1B* ($p = 0.001$). We identified differential thresholds for these genes that made it possible to predict an unfavorable disease course in the patients ($p < 0.05$). The strongest association with the risk of adverse outcomes was found for increased copy number of *PRPF19* (odds ratio (OR) 7.3; $p = 0.0001$) and *c-Myc* (OR 6.8; $p = 0.001$).

Conclusion: In this study, we determined the prognostic value of 4 oncogenic drivers, namely, *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, and *c-Myc*, whose increased copy number was associated with an adverse disease prognosis in ovarian cancer patients.

Key words: ovarian cancer, copy number variation, *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, *c-Myc*

For citation: Verenikina EV, Petrusenko NA, Kecheryukova MM. The prognostic role of aberrant copy number of *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, and *c-Myc* genes in ovarian cancer patients. Almanac of Clinical Medicine. 2021;49(3):191–196. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-020.

Received 22 October 2020; revised 12 April 2021; accepted 14 April 2021; published online 23 April 2021

Ekaterina V. Verenikina – MD, PhD, Head of Department of Oncogynecology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1084-5176>. E-mail: ekat.veren@yandex.ru

Natalia A. Petrusenko – Junior Research Fellow, Laboratory of Molecular Oncology¹
✉ 63 14-ya liniya, Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation. Tel.: +7 (863) 200 10 00, ext. 472. E-mail: petrusenko-natulya@mail.ru

Madina M. Kecheryukova – Oncologist, Department of Oncogynecology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6131-8560>. E-mail: adele09161@mail.ru

Funding

The study was performed as a part of the State Project of the Ministry of Health of the Russian Federation “Study on aberrant regulation of the gene pattern transcriptional activity during tissue malignization of tissues from various disorders”.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this article.

Authors' contributions

E.V. Verenikina, the study concept and design, analysis of the clinical and experimental study results, text writing and editing; N.A. Petrusenko, molecular genetic testing, analysis and interpretation of the study results, text writing; M.M. Kecheryukova, sample collection and management, data analysis, statistical analysis. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work have been appropriately investigated and resolved.

Acknowledgements

The authors would like to acknowledge D.Yu. Gvaldin, Research Fellow, Laboratory of Molecular Oncology, National Medical Research Centre for Oncology, for his assistance in the statistical analysis.

¹National Medical Research Centre for Oncology; 63 14-ya liniya, Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation



Оригинальная статья

Значение цистатина С и различных методик подсчета скорости клубочковой фильтрации в оценке нарушений функции почек у детей с острыми кишечными инфекциями

Чугунова О.Л.¹ • Гребёнкина Е.Ю.^{2,3} • Усенко Д.В.³ • Володина И.И.⁴ • Галеева Е.В.² • Дрожжин Е.А.² • Корсунский А.А.^{2,5} • Легошина Н.Ю.² • Музыка А.Д.³ • Нарышкина М.И.² • Павлушкина Л.В.⁴ • Рыкова А.С.²

Актуальность. Острые кишечные инфекции (ОКИ) – четвертая ведущая причина смерти среди детей младше 5 лет во всем мире. К малоизученным аспектам патогенеза ОКИ у детей относится поражение почек. Уровень цистатина С в сыворотке крови – показатель, не зависящий от пола и возраста, при этом он высоко информативен уже на ранних стадиях нарушения функции почек.

Цель – оптимизировать диагностику нарушений функций почек у детей с ОКИ средней степени тяжести на основании сравнения различных методик подсчета скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и определения уровня цистатина С.

Материал и методы. Проведено наблюдательное поперечное исследование с участием 80 детей с ОКИ средней степени тяжести без развития гемолитико-уремического синдрома, находившихся на стационарном лечении. У всех наблюдаемых пациентов в остром периоде заболевания, помимо стандартного клинико-лабораторного обследования, для оценки функции почек определяли уровень креатинина с расчетом СКФ по формуле Шварца 1976 г. (немодифицированной) и 2009 г. (модифицированной), а также содержание цистатина С в сыворотке крови. СКФ также рассчитывали с использованием однофакторного уравнения на основе цистатина С.

Результаты. СКФ в остром периоде ОКИ, рассчитанная по немодифицированной и модифицированной формуле Шварца, составила у детей младше 3 лет ($n=40$) $115,47 \pm 3,33$ и $98,56 \pm 2,84$ мл/мин/1,73 м² ($p < 0,001$), в группе детей 3–7 лет ($n=40$) – $132,13 \pm 4,2$ и $108,85 \pm 3,84$ мл/мин/1,73 м² ($p < 0,001$) соответственно. Высокие (> 950 нг/мл) показатели цистатина С в сыворотке были выявлены у 18 (22%) больных. У остальных пациентов уровень цистатина С оставался в пределах физиологических показателей или ниже. Риск развития острого повреждения почек на основании оценки двух показателей – СКФ по модифицированной формуле Шварца и СКФ по формуле с использованием цистатина С – имели 4 (10%) детей в возрастной группе 1–3 лет и 1 (2,5%) ребенок в возрастной группе 3–7 лет; на основании одного показателя – расчета СКФ по формуле с использованием цистатина С – 8 (20%) и 9 (22,5%) детей соответственно, а на основании оценки только СКФ по модифицированной формуле Шварца – по 3 (7,5%) детей обеих возрастных групп.

Заключение. Нами получено подтверждение того, что показатели СКФ, рассчитанные по немодифицированной формуле Шварца (1976), являются более высокими по сравнению с таковыми, рассчитанными по модифицированной формуле Шварца (2009) и с учетом уровня

цистатина С. Следовательно, у детей раннего и дошкольного возраста использование немодифицированной формулы Шварца (1976) представляется некорректным. Уровень цистатина С в сыворотке крови может оказаться перспективным прогностическим маркером, позволяющим выделить группу риска развития острого повреждения почек у детей, находящихся в остром периоде заболевания ОКИ средней степени тяжести.

Ключевые слова: дети, острые кишечные инфекции, острое повреждение почек, цистатин С, скорость клубочковой фильтрации, креатинин

Для цитирования: Чугунова ОЛ, Гребёнкина ЕЮ, Усенко ДВ, Володина ИИ, Галеева ЕВ, Дрожжин ЕА, Корсунский АА, Легошина НЮ, Музыка АД, Нарышкина МИ, Павлушкина ЛВ, Рыкова АС. Значение цистатина С и различных методик подсчета скорости клубочковой фильтрации в оценке нарушений функции почек у детей с острыми кишечными инфекциями. Альманах клинической медицины. 2021;49(3):197–206. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-018.

Поступила 13.03.2021; доработана 30.03.2021; принята к публикации 08.04.2021; опубликована онлайн 16.04.2021

Острые кишечные инфекции (ОКИ) занимают второе место по частоте среди инфекционных болезней у детей после острых респираторных инфекций [1]. По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно в мире регистрируется более

2 млрд случаев ОКИ, $\frac{1}{3}$ из которых приходится на детскую популяцию [2]. Особую актуальность проблеме ОКИ придает сохраняющаяся высокая частота регистрации среднетяжелых и тяжелых форм, осложненное течение заболевания, в том числе за счет поражения других органов и систем



с развитием миокардита, кардиомиопатии, васкулита, энцефалита, реактивного гепатита, пневмонии и др. [3]. ОКИ – четвертая ведущая причина смерти среди детей младше 5 лет во всем мире [2]. Одна из малоизученных сторон патогенеза ОКИ у детей – поражение почек. Все вышеизложенное определяет необходимость поиска новых прогностически значимых маркеров критических состояний.

Не так давно на смену термина «острая почечная недостаточность» пришло понятие «острое повреждение почек» (ОПП, англ. acute kidney injury, AKI) [4]. Оно обозначает состояние, для которого характерны быстрое снижение функции почек, уменьшение элиминации продуктов метаболизма, нарушения водно-электролитного баланса и кислотно-щелочного состояния [5].

Влияние возбудителей ОКИ на развитие начальных стадий ОПП у детей практически не изучено. Имеющиеся в литературе сведения в первую очередь отражают проблему формирования нарушения функции почек тяжелой степени на фоне бактериальных кишечных инфекций и касаются главным образом типичного гемолитико-уремического синдрома, но не затрагивают ранние доклинические фазы ОПП [6]. В частности, это объясняется недооценкой врачами возможности развития ОПП у детей при ОКИ разной степени тяжести, а также необходимостью

комплексного анализа многих показателей, что в повседневной клинической практике осуществлять достаточно сложно.

В течение последних 10 лет для диагностики повреждения почек широко исследуются ранние маркеры ОПП в крови и моче, которые повышаются за 24–48 часов до появления азотемии, что, в свою очередь, способствует своевременному диагностированию ОПП [7]. Среди методов для установления нарушений функции почек на первые позиции вышло определение сывороточного цистатина С. Цистатин 3, чаще называемый цистатином С (англ. cystatin 3, CST3, cystatin C, gamma-trace) – белок, принадлежащий ко 2-й группе генетического семейства цистатинов. Цистатин С содержится в плазме крови человека, выводится из организма почками. Это белок, который с постоянной скоростью синтезируется всеми клетками, содержащими ядра; свободно фильтруется через клубочковую мембрану; полностью метаболизируется в почках; не секретируется проксимальными почечными канальцами [8–10]. По данным ряда исследований, цистатин С нельзя назвать непосредственным маркером почечного тубулярного повреждения при ОПП у детей; скорее это альтернатива креатинину, более точный тест для оценки скорости клубочковой фильтрации (СКФ) [11–13].

Чугунова Ольга Леонидовна – д-р мед. наук, профессор кафедры госпитальной педиатрии им. академика В.А. Таболина педиатрического факультета¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1547-0016>
✉ 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1, Российская Федерация. Тел.: +7 (499) 254 67 62.
E-mail: ol_chugunova@mail.ru

Гребёнкина Елизавета Юрьевна – врач-педиатр 2-го инфекционного приемного отделения²; лаборант-исследователь клинического отдела инфекционной патологии³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6567-1401>. Тел.: +7 (903) 552 67 63. E-mail: liza09@mail.ru

Усенко Денис Валериевич – д-р мед. наук, вед. науч. сотр. клинического отдела инфекционной патологии, заведующий Образовательным центром⁴; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5232-7337>. Тел.: +7 (495) 672 11 36. E-mail: dusenko@rambler.ru

Володина Ирина Игоревна – канд. мед. наук, врач-педиатр педиатрического дневного стационара Центра амбулаторной хирургии⁴; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4013-396X>. Тел.: +7 (903) 779 37 26.
E-mail: catira@rambler.ru

Галеева Елена Валентиновна – главный специалист по лабораторной службе, заведующая клинической лабораторией⁵; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1307-3463>. Тел.: +7 (964) 649 12 53.
E-mail: elengaleeva@yandex.ru

Дрожжин Евгений Андреевич – врач-педиатр 2-го инфекционного отделения²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4885-5505>. Тел.: +7 (499) 259 66 55.
E-mail: doctorlit@yandex.ru

Корсунский Анатолий Александрович – д-р мед. наук, профессор, главный врач²; заведующий кафедрой педиатрии и детских инфекционных болезней⁵; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9087-1656>. Тел.: +7 (499) 256 21 61. E-mail: doctorlit@yandex.ru

Легошина Наталия Юрьевна – врач-инфекционист, заведующая 2-м инфекционным отделением²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0006-0743>. Тел.: +7 (499) 259 66 55. E-mail: doctorlit@yandex.ru

Музыка Анна Драгиевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. клинического отдела инфекционной патологии, заведующая Образовательным центром³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2269-2533>. Тел.: +7 (916) 878 46 85. E-mail: nikolitch-anna@yandex.ru

Нарышкина Мария Игоревна – врач-педиатр 2-го инфекционного отделения²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7489-5861>. Тел.: +7 (499) 259 66 55.
E-mail: doctorlit@yandex.ru

Павлушкина Людмила Власовна – врач высшей категории, заведующая клинико-биохимической лабораторией⁴; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4738-879X>. Тел.: +7 (903) 792 54 59.
E-mail: lpavlywkina@yandex.ru

Рыкова Анна Сергеевна – врач-педиатр 2-го инфекционного отделения²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6522-4430>. Тел.: +7 (499) 259 66 55.
E-mail: doctorlit@yandex.ru

¹ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России; 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1, Российская Федерация

² ГБУЗ г. Москвы «Детская городская клиническая больница № 9 им. Г.Н. Сперанского ДЗМ»; 123317, г. Москва, Шмитовский проезд, 29, Российская Федерация

³ ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора»; 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, 3а, Российская Федерация

⁴ ГБУЗ г. Москвы «Детская городская клиническая больница имени Н.Ф. Филатова ДЗМ»; 103001, г. Москва, ул. Садовая-Кудринская, 15, Российская Федерация

⁵ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет); 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2, Российская Федерация



СКФ – объем плазмы крови, прошедший через почечный клубочек за единицу времени и очищенный от конкретного вещества [14]. Определение СКФ признано золотым стандартом диагностики острого и хронического почечного повреждения [15, 16]. Однако измерение СКФ часто проводится с ошибками [17], так как не все методы или формулы с достаточной точностью воспроизводят необходимые измерения и вычисления [18–20]. Первым, кто попытался вывести расчетную формулу для определения СКФ у детей, был George J. Schwartz (Дж. Шварц), доцент кафедры педиатрии Медицинского колледжа Альберта Эйнштейна (Бронкс, Нью-Йорк, США). В 1976 г. ученый измерял клиренс креатинина при помощи пробы Реберга с последующим математическим выведением формулы [21]. В результате была выявлена сильная корреляция между величиной СКФ и отношением показателя роста к креатинину плазмы. Таким образом был выведен постоянный коэффициент 0,55, отражающий взаимосвязь между экскрецией креатинина мочи и ростом. В дальнейших своих исследованиях G. Schwartz пересмотрел данные по разным возрастным группам и ввел дополнительные корректирующие коэффициенты [18]. В данной формуле, названной по имени ученого формулой Шварца, не учитываются показатели суточной мочи, сбор которой затруднен, особенно у детей раннего возраста и у пациентов с тяжелой почечной патологией. На основании результатов исследования с участием детей в возрасте от 1 года до 16 лет со средней степенью тяжести хронической болезни почек и определения концентрации креатинина на ферментативном масс-спектрометрически «прослеживаемом» методе G. Schwartz предложил так называемую прикроватную формулу с новым постоянным коэффициентом 0,413 [19].

Учитывая погрешности, связанные с креатинином, на одном из этапов SKiD (англ. chronic kidney disease in children – хроническая болезнь почек у детей) G. Schwartz и соавт. (2009) разработали однофакторное уравнение расчета СКФ на основе цистатина С для облегчения оценки расчетной СКФ в клинических условиях. Эта формула имеет высокую точность и обеспечивает $P30 = 82,6\%$ и $P10 = 37,6\%$ истинной СКФ, измеренной по йогексолу [19, 22].

В настоящее время цистатин С признан мировым медицинским сообществом как самый точный эндогенный маркер СКФ [23], однако в Российской Федерации он еще не нашел широкого применения. По данным литературы, цистатин С по своим диагностическим

характеристикам значительно превосходит креатинин, практически не зависит ни от мышечной массы, ни от возраста ребенка [24]. Ранее у детей с ОКИ средней степени тяжести цистатин С в сыроворотке крови не изучался.

Цель работы – оптимизация исследования нарушений функций почек у детей с ОКИ средней степени тяжести на основании сравнения различных методик подсчета СКФ и определения уровня цистатина С.

Материал и методы

В 2020 г. проведено обсервационное поперечное исследование по изучению оценки функционального состояния почек у детей в возрасте от 1 года до 7 лет, госпитализированных в ГБУЗ «ДГКБ № 9 им. Г.Н. Сперанского ДЗМ» с ОКИ средней степени тяжести без развития гемолитико-уремического синдрома. У всех пациентов выполняли общепринятые лабораторные методы диагностики (клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ мочи, биохимический анализ крови); исследовали биомаркер структурного повреждения почек (цистатин С в крови); проводили методы этиологической расшифровки ОКИ (бактериологические, иммунохроматографические, серологические, молекулярно-генетические); оценивали СКФ по формуле Шварца (1976 и 2009 гг.); применяли инструментальные методы диагностики (ультразвуковое исследование почек, электрокардиографию, ультразвуковое исследование органов брюшной полости).

Критерии включения в исследование: 1) дети в возрасте от 1 года до 7 лет; 2) установленный диагноз ОКИ средней степени тяжести, определенной по совокупности клинико-лабораторных данных, госпитализация в первые 2–3 дня заболевания; 3) время пребывания в стационаре не менее 4 дней; 4) наличие подписанного информированного согласия родителей (законных представителей) на участие в исследовании.

В исследование не включались (критерии исключения): 1) дети в возрасте до 1 года; 2) пациенты с наличием аномалии развития органов мочевой системы, инфекции органов мочевой системы, гломерулонефрита в анамнезе; 3) в случае развития гемолитико-уремического синдрома; 4) пациенты с легкой и тяжелой степенью тяжести ОКИ; 5) при выявлении миокардита и другой сердечно-сосудистой патологии; 6) в случае установления сахарного диабета; 7) в отсутствие подписанного информированного согласия родителей (законных представителей) на участие в исследовании.



Всего в исследование включено 80 детей с ОКИ средней степени тяжести (девочек было 38 (47,5%), мальчиков – 42 (52,5%)), распределенных в зависимости от возраста в две группы: группу 1 составили 40 детей от 1 года до 3 лет, группу 2 – 40 детей от 3 до 7 лет.

Пациенты были обследованы с использованием стандартных лабораторных методов диагностики: клинического анализа крови, общего анализа мочи, биохимического анализа мочи, биохимического анализа крови. После сбора анамнеза и осмотра пациентов осуществлялся забор биологического материала. Пробирки с красным верхом центрифугировали в течение 5 минут со скоростью 3500 об/мин, после чего сыворотку собирали в несколько 1 и 2 мл эппендорфов. Как мочу, так и сыворотку хранили в холодильнике в течение дня после забора проб, центрифугировали и аликвотировали, хранили при температуре -20°C не более 1 недели, а затем переносили в глубокое хранилище при температуре -80°C до обработки. У всех детей исследовали креатинин крови, который определялся в мкмоль на литр сыворотки крови (мкмоль/л). Креатинин сыворотки крови оценивали в первые 2–3 дня заболевания с помощью автоматизированного анализатора в биохимической лаборатории ГБУЗ «ДГКБ № 9 им. Г.Н. Сперанского ДЗМ».

При анализе распространенности сниженной СКФ в нашем исследовании мы руководствовались рекомендациями KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) [25]. Критерием снижения функции почек считали уровень СКФ, стандартизированной на поверхность тела, ниже $90\text{ мл/мин/1,73 м}^2$ для детей в возрасте от 2 до 7 лет и ниже $80\text{ мл/мин/1,73 м}^2$ для детей младше 2 лет (от 1 года до 2 лет в нашем исследовании).

Для сравнения нами была рассчитана СКФ по формуле Шварца немодифицированной (1976) [26] и модифицированной (2009) [19]. В связи с тем что многие специалисты, как отечественные, так и зарубежные, до сих пор используют первую, немодифицированную формулу Шварца (1976), мы рассчитали СКФ по данной формуле:

$$\text{СКФ (мл/мин/1,73 м}^2) = \frac{\text{Рост (см)} \times 88,4}{\text{Креатинин крови (мкмоль/л)}} \times 0,55,$$

где 88,4 – коэффициент пересчета из мг/дл в мкмоль/л.

Норма по данным литературы для детей старше 1 года составляет: $\text{СКФ} = 80\text{--}120$ (мл/мин/1,73 м²) [25].

Учитывая возраст участников исследования, мы использовали модифицированное уравнение

Шварца (2009) для оценки СКФ у ребенка на основе сывороточного креатинина:

$$\text{СКФ (мл/мин/1,73 м}^2) = \frac{\text{Рост (см)} \times 0,413}{\text{Креатинин крови (мг/дл)}}.$$

В соответствии с целью настоящей работы был проведен анализ содержания цистатина С в сыворотке крови в первые дни заболевания. При оценке распространенности изменений цистатина С в данном исследовании мы руководствовались рекомендациями ADQI (Acute Dialysis Quality Initiative) [27].

Определение уровня цистатина С (нг/мл) в сыворотке крови в первые 2–3 дня заболевания проводили на базе клинического отдела инфекционной патологии ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора с помощью набора BioVendor Human Cystatin C ELISA (Чехия), предназначенного для количественного измерения цистатина С методом иммуноферментного анализа типа «сэндвич». Норма цистатина С (нг/мл), по данным литературы, для детей старше 1 года равна $510\text{--}950\text{ нг/мл}$ ($0,59\text{--}1,03\text{ мг/мл}$) [28].

Современная формула расчета СКФ с использованием однофакторного уравнения на основе цистатина С [29] выглядит следующим образом:

$$\text{СКФ (мл/мин/1,73 м}^2) = 70,69 \times \text{Цистатин С} - 0,931 \text{ (мг/л)},$$

Этическая экспертиза. Проведение исследования одобрено этическим комитетом ГБУЗ «ДГКБ № 9 им. Г.Н. Сперанского ДЗМ» (протокол № 23 от 21.01.2020) и этическим комитетом ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (протокол № 112 от 16.02.2021).

Статистическая обработка данных. Полученные данные были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics v.26 (IBM Corporation). Нормальность распределения оценивали при помощи критерия Шапиро – Уилка, а также показателей асимметрии и эксцесса. Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, представлены в виде среднего арифметического значения показателя по группе и стандартного отклонения ($M \pm SD$), рассчитывались 95% доверительные интервалы (ДИ). При сравнении средних величин в нормально распределенных совокупностях количественных



Таблица 1. Уровни скорости клубочковой фильтрации по немодифицированной (1976) и модифицированной (2009) формуле Шварца у пациентов с острой кишечной инфекцией средней степени тяжести в зависимости от возраста, $M \pm SD$ (95% ДИ)

СКФ, мл/мин/1,73 м ²	Группа 1 (1–3 года; n=40)	Группа 2 (3–7 лет; n=40)	Значение <i>p</i>
Формула Шварца, 1976 г.	115,47 ± 3,33* (108,73–122,21)	132,13 ± 4,2* (123,64–140,62)	0,003
Формула Шварца, 2009 г.	98,56 ± 2,84* (92,81–104,3)	108,85 ± 3,84* (101,07–116,62)	0,034

ДИ – доверительный интервал, СКФ – скорость клубочковой фильтрации

* Статистически значимая разница ($p < 0,001$) при сравнении уровней СКФ внутри группы в зависимости от формулы расчета

Таблица 2. Уровни цистатина С в сыворотке крови у детей с острой кишечной инфекцией средней степени тяжести в зависимости от пола

Уровень цистатина С	Мальчики (n=42), абс. (%)	Девочки (n=38), абс. (%)	Значение <i>p</i>
Ниже нормы (< 510 нг/мл)	16 (38)	20 (53)	0,192
Норма (510–950 нг/мл)	15 (36)	11 (29)	0,519
Выше нормы (> 950 нг/мл)	11 (26)	7 (18)	0,436

данных рассчитывался *t*-критерий Стьюдента. Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи значений медианы (*Me*) и нижнего и верхнего квартилей (*Q1–Q3*). Для сравнения независимых совокупностей в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных использовался *U*-критерий Манна – Уитни. Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение номинальных данных проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона, точного критерия Фишера. Различия показателей считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты

В нашем исследовании среди всех обследованных пациентов в возрасте от 1 года до 7 лет ($n = 80$) диагноз кишечной инфекции был верифицирован у 29 детей, что составило 36,25%, не верифицирован у 51 (63,75%) ребенка. Среди детей 1-й группы (в возрасте от 1 года до 3 лет; $n = 40$) этиология выявлена у 16 (40%): у 11 (27,5%) пациентов преобладала вирусная инфекция, у 3 (7,5%) регистрировались бактериальные процессы, у 2 (5%) установлена бактериально-вирусная причина. Во

2-й группе (возраст от 3 до 7 лет; $n = 40$) этиология уточнена у 13 (32,5%) детей: бактериальная инфекция выявлена у 7 (17,5%) пациентов, вирусная – у 6 (15%).

В обследуемой выборке в целом ($n = 80$) СКФ при расчете по немодифицированной формуле Шварца (1976) в среднем составила $123,80 \pm 2,82$ (95% ДИ 118,18–129,41), по модифицированной формуле Шварца (2009) – $103,7 \pm 2,44$ (95% ДИ 98,84–108,57) ($p < 0,001$). Как видно из данных табл. 1, сравнение показателей СКФ в двух возрастных подгруппах выявило статистически значимые различия (*t*-критерий Стьюдента) между уровнями СКФ в зависимости как от возраста ($p < 0,001$), так и от формулы расчета ($p < 0,05$).

Наиболее часто регистрировали значения цистатина С ниже нормы (менее 510 нг/мл) – у 36 (45%) пациентов, а также в пределах нормы (510–950 нг/мл) – у 26 (33%) человек. Уровень выше 950 нг/мл отмечен у 18 (22%) обследованных. Были проанализированы уровни цистатина С в зависимости от возраста (рис. 1). У детей от 1 года до 3 лет медиана цистатина С составила 634,46 нг/мл (*Q1–Q3*: 263,75–959,88 нг/мл), а старше 3 и до 7 лет – 554,57 нг/мл (*Q1–Q3*: 375,38–884,49 нг/мл), однако различия не были статистически значимыми ($p = 0,958$).

Анализ уровней цистатина С в зависимости от пола гендерных различий не выявил (табл. 2).

Мы сформировали группы риска по развитию ОПП у детей с кишечными инфекциями средней степени тяжести без развития гемолитико-уремического синдрома, находящихся на стационарном лечении, на основании уровня цистатина С, а также расчета СКФ по модифицированной формуле Шварца (2009) и по формуле

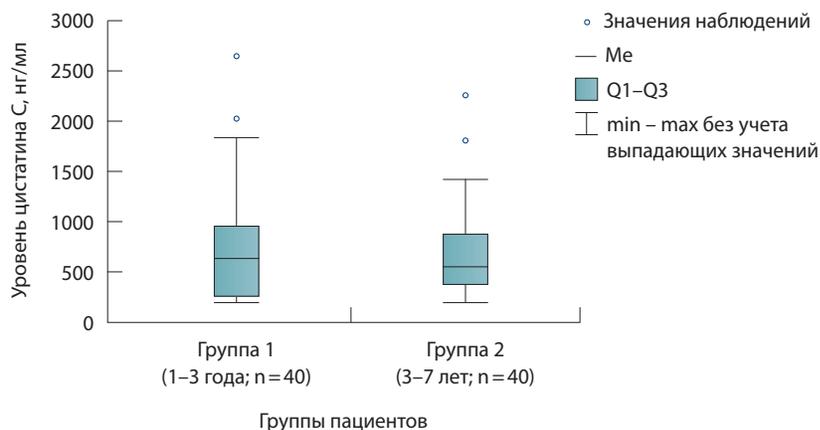


Рис. 1. Медианы уровней цистатина С в сыворотке крови у пациентов с острой кишечной инфекцией средней степени тяжести в зависимости от возраста; $p = 0,958$ (*U*-критерий Манна – Уитни)



Рис. 2. Формирование групп риска развития острого повреждения почек (ОПП) у детей с острой кишечной инфекцией средней степени тяжести на основании расчета скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по модифицированной формуле Шварца (2009) и по формуле СКФ с использованием цистатина С

с использованием цистатина С. В нашей группе стационарных пациентов с ОКИ средней степени тяжести без развития гемолитико-уремического синдрома риск развития ОПП на основании оценки уровня цистатина С в сыворотке крови составил 17,5% (14/80); по оценке СКФ, рассчитанной по модифицированной формуле Шварца, – 8,75% (7/80); а по формуле СКФ с использованием цистатина С – 21,25% (17/80). Соответственно, 62,5% (n = 25) в 1-й группе (дети 1–3 лет) и 67,5% (n = 27) во 2-й группе (дети 3–7 лет) не имели риска развития ОПП. В группу риска по развитию ОПП, сформированную на основании оценки СКФ по модифицированной формуле Шварца (2009) и оценки СКФ по формуле на основе цистатина С, вошли 4 пациента в 1-й группе и 1 – во 2-й. В группу риска развития ОПП по оценке СКФ только по формуле на основе цистатина С, но не относящихся к группе риска по оценке СКФ по модифицированной формуле Шварца (2009), вошли 8 детей в 1-й группе и 9 – во 2-й. Число пациентов, составивших группу риска развития ОПП только по оценке СКФ, рассчитанной по модифицированной формуле Шварца (2009), но не относящихся к группе риска по расчету СКФ по формуле на основе цистатина С, было по 3 ребенка в каждой группе (рис. 2).

Обсуждение

В Российской Федерации среди детей разных возрастных групп отмечается прогрессивный

рост частоты патологических состояний органов мочевой системы, сопровождающихся нарушением функции почек [8–10]. Доказано, что ОПП ассоциируется со значительными неблагоприятными краткосрочными последствиями [30]. В последние годы стали появляться работы, в которых оценены и долгосрочные последствия ОПП. В частности, в значительном проценте случаев у детей, перенесших ОПП, возникает хроническая почечная дисфункция [15]. Протеинурии, гипертония и хроническая болезнь почек более распространены среди выживших пациентов после формирования ОПП, чем в целом в популяции. При этом у детей, развивших в стационаре ОПП, важную прогностическую роль имеет фактор восстановления функции почек или его отсутствие [31].

В отличие от сывороточного креатинина цистатин С представляется идеальным педиатрическим маркером. Функция почек может оказаться сниженной более чем на 50% к тому моменту, когда уровень креатинина только превысит верхнюю границу нормы. В норме уровень цистатина С в сыворотке, плазме и моче постоянен. Но чем тяжелее почечная патология, тем хуже цистатин С фильтруется в почках и тем выше его содержание в крови. Именно поэтому цистатин С считается более чувствительным показателем снижения СКФ, чем креатинин, и служит эффективным маркером для раннего выявления почечной недостаточности, даже при нормальном уровне креатинина [24, 32]. Согласно результатам нашего исследования, уровень цистатина С не имел статистически значимых различий в зависимости от возраста, что согласуется с данными литературы [23, 33].

Важной задачей видится определение наиболее достоверных методов оценки и области применения той или иной формулы расчета СКФ, исключая ее неправильное приложение [26]. Существует ряд условных исторических этапов создания расчетных формул. Вместе с тем подчеркнем: все формулы изначально были разработаны для диагностики хронической болезни почек, и только впоследствии они были приняты научным сообществом для диагностики ОПП. На протяжении ряда лет предпринимались попытки предложить оригинальные формулы, однако расчет СКФ по любой из формул даже при высокой корреляции с истинной клубочковой фильтрацией не исключает одной общей проблемы: лабораторный способ определения креатинина не стандартизован по масс-спектрометрии, поэтому ошибка в измерениях может достигать 20% [19].



Многие специалисты как в России, так и за рубежом до сих пор в диагностике ОПП используют первую, немодифицированную формулу Шварца (1976), не зная или не принимая в расчет информацию о ее неточности и неактуальности [5, 21, 34–36]. Это может привести к ошибочной диагностике ОПП по критериям rRIFLE [34] или неадекватному дозированию препаратов у пациентов со сниженной СКФ [37]. Все вышеизложенное привело к необходимости уточнения формулы для расчета СКФ у детей.

Полученные в настоящем исследовании данные подтверждают теорию, согласно которой показатели СКФ, рассчитанные по немодифицированной формуле Шварца (1976), являются более высокими по сравнению со значениями СКФ, рассчитанными по модифицированной формуле Шварца (2009) и уровню цистатина С в сыворотке крови. Следовательно, немодифицированную формулу Шварца некорректно использовать у детей раннего и дошкольного возраста [22, 38]. Соответственно, всю последующую оценку СКФ мы проводили на основании полученных показателей расчета по модифицированной формуле Шварца (2009).

В данной работе установлено, что у детей в возрасте от 2 до 3 лет частота расчетной СКФ ≤ 90 мл/мин/1,73 м² была выше по сравнению с аналогичным показателем у детей старше 3 лет. Несмотря на то что результаты поперечного исследования недостаточны для подтверждения тенденций или установления диагнозов, эти данные вызывают беспокойство и могут указывать на то, что поражение почек среди детей младшего и дошкольного возраста с течением ОКИ средней степени тяжести без развития гемолитико-уремического синдрома более распространено, чем это принято считать. В ходе проведенного нами анализа определено, что уровень цистатина С служит более ранним и точным маркером острого повреждения почек у детей с ОКИ средней степени тяжести и не зависит от возраста и пола пациентов. Соответственно, формула на основе цистатина С более точно оценивает измененную СКФ, чем уравнения на основе креатинина, что согласуется с данными литературы [18, 22].

Следует отметить, что 18 (22,5%) детей в нашем исследовании имели концентрацию цистатина С, вдвое превышающую норму. Тем самым результаты нашего исследования подтверждают гипотезу, согласно которой среди детей раннего и дошкольного возраста, не имеющих патологии почек, на фоне ОКИ средней степени тяжести (установлены по совокупности клинико-лабораторных

данных) без развития гемолитико-уремического синдрома встречается субклиническое повреждение почек. И хотя полученные нами результаты не являются определяющими, они позволяют предположить, что дети в этом возрасте и при данной патологии испытывают травму канальцев, следовательно, не исключено, что предшествующее повреждение почек может произойти в раннем возрасте, а затем проявиться в виде развития хронической болезни почек в более старшем возрасте. Мы наблюдали тенденцию более чем двукратного увеличения возможности иметь расчетную СКФ ≤ 100 мл/мин/1,73 м² у детей с показателями цистатина С в верхнем квартиле. Предположительно, размер выборки оказался недостаточным, и нам не удалось выделить здесь истинную связь. К ограничениям нашего исследования надлежит также отнести его поперечный характер, не позволяющий наблюдать тенденции или связывать концентрации цистатина С с изменениями расчетной СКФ в динамике.

Если рассматривать наше исследование как этап работы по установлению возможной этиологической роли ОКИ средней степени тяжести, перенесенной в раннем возрасте, в последующем развитии хронической болезни почек, можно сделать вывод о том, что оценка цистатина С в сыворотке крови отражает один из способов выявления детей дошкольного возраста с повышенным риском развития поражения почек. Учитывая размер нашей выборки и широкие категории включения, считаем, что полученные результаты могут быть разумно распространены на более широкую популяцию детей с ОКИ.

Заключение

В нашей работе мы показали, что у детей в возрасте от 1 до 7 лет с течением ОКИ без развития гемолитико-уремического синдрома может отмечаться субклиническое повреждение почек. При остром повреждении почек, без развития хронической болезни почек, нарушение функции почек можно оценивать с использованием значения уровня цистатина С в сыворотке крови. Модифицированная формула Шварца (2009) позволяет подсчитать СКФ у детей с ОКИ средней степени тяжести более корректно, чем немодифицированная формула Шварца (1976). Для установления прогностической ценности биомаркеров повреждения почек как предиктора развития хронической болезни почек у таких детей и для оценки ранних факторов риска развития этого тяжелого заболевания необходимы проспективные исследования и катamnестические наблюдения. ©



Дополнительная информация

Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Конфликт интересов

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

Участие авторов

О.Л. Чугунова – концепция и дизайн исследования, анализ полученных данных, написание и редактирование текста, утверждение итогового варианта текста рукописи; Е.Ю. Гребёнкина – формирование групп пациентов, сбор и обработка материала, анализ и интерпретация результатов исследования, статистическая обработка данных, написание и редактирование текста; Д.В. Усенко – дизайн статьи, написание и редактирование текста; И.И. Володина – разработка дизайна

клинической части исследования, написание текста; Е.В. Галеева – анализ и интерпретация результатов исследования, написание текста; Е.А. Дрожжин – проведение комплексного обследования пациентов, написание текста; А.А. Корсунский – концепция и дизайн статьи, утверждение итогового варианта текста рукописи; Н.Ю. Легошина – дизайн экспериментальной части исследования, написание текста; А.Д. Музыка – статистическая обработка данных, написание текста; М.И. Нарышкина – анализ и интерпретация результатов, написание текста; Л.В. Павлушкина – анализ клинико-лабораторных результатов исследования, написание текста; А.С. Рыкова – набор клинического материала, анализ результатов, написание текста. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

1. Николаева СВ, Усенко ДВ, Горелов АВ. Сочетанные острые кишечные инфекции у детей: клинические особенности, подходы к терапии. *Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение.* 2019;3(5):26–29. [Nikolaeva SV, Usenko DV, Gorelov AV. [Combined acute enteric infections in children: clinical features and therapy approaches]. *Russian Medical Review.* 2019;3(5):26–29. Russian.]
2. Farthing M, Salam MA, Lindberg G, Dite P, Khalif I, Salazar-Lindo E, Ramakrishna BS, Goh KL, Thomson A, Khan AG, Krabshuis J, LeMair A; WGO. Acute diarrhea in adults and children: a global perspective. *J Clin Gastroenterol.* 2013;47(1):12–20. doi: 10.1097/MCG.0b013e31826df662.
3. Туйчиев ЛН, Ахмедова МД, Имамова ИА, Ибрагимова НУ, Игамбердиева СД. Факторы развития острого почечного повреждения при острых инфекционных диареех, протекающих с гемоколитом, у детей. *Журнал инфектологии.* 2020;12(5):123–129. doi: 10.22625/2072-6732-2020-12-5-123-129. [Tuychiev LN, Ahkmedova MD, Imamova IA, Ibragimova NU, Igamberdieva SD. [Predisposing factors contributing to the development of renal dysfunction in acute infectious diarrhea associated with hemocolitis (AIDH)]. *Journal Infectology.* 2020;12(5):123–129. Russian. doi: 10.22625/2072-6732-2020-12-5-123-129.]
4. Ricci Z, Ronco C. Kidney diseases beyond nephrology: intensive care. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23(3):820–826. doi: 10.1093/ndt/gfn044.
5. Sutherland SM, Byrnes JJ, Kothari M, Longhurst CA, Dutta S, Garcia P, Goldstein SL. AKI in hospitalized children: comparing the pRIFLE, AKIN, and KDIGO definitions. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2015;10(4):554–561. doi: 10.2215/CJN.01900214.
6. Эмирова ХМ, Толстова ЕМ, Коган МЮ, Орлова ОМ, Абасеева ТЮ, Панкратенко ТЕ, Шпикалова ИЮ. Гемолитико-уремический синдром, ассоциированный с шига-токсин-продуцирующей *Esherichia coli*. *Нефрология.* 2016;20(2):18–32. [Emirova K, Tolstova EM, Kogan OM, Orlova MYu, Abaseeva T, Pancratenko TE, Shpikalova IYu. [Hemolytic uremic syndrome associated with shiga-toxin-producing *Esherichia coli*]. *Nephrology (Saint-Petersburg).* 2016;20(2):18–32. Russian.]
7. Coca SG, Yalavarthy R, Concato J, Parikh CR. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review. *Kidney Int.* 2008;73(9):1008–1016. doi: 10.1038/sj.ki.5002729.
8. Brown WM, Dziegielewska KM. Friends and relations of the cystatin superfamily – new members and their evolution. *Protein Sci.* 1997;6(1):5–12. doi: 10.1002/pro.5560060102.
9. Hall A, Håkansson K, Mason RW, Grubb A, Abrahamson M. Structural basis for the biological specificity of cystatin C. Identification of leucine 9 in the N-terminal binding region as a selectivity-conferring residue in the inhibition of mammalian cysteine peptidases. *J Biol Chem.* 1995;270(10):5115–5121. doi: 10.1074/jbc.270.10.5115.
10. Rawlings ND, Barrett AJ. Evolution of proteases of the cystatin superfamily. *J Mol Evol.* 1990;30(1):60–71. doi: 10.1007/BF02102453.
11. Endre ZH, Pickering JW. Acute kidney injury clinical trial design: old problems, new strategies. *Pediatr Nephrol.* 2013;28(2):207–217. doi: 10.1007/s00467-012-2171-3.
12. Peco-Antić A, Ivanišević I, Vuličević I, Kotur-Stevuljević J, Ilić S, Ivanišević J, Miljković M, Kocev N. Biomarkers of acute kidney injury in pediatric cardiac surgery. *Clin Biochem.* 2013;46(13–14):1244–1251. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2013.07.008.
13. Пашкова ЮВ, Ситникова ВП. Практическое значение различных формул расчета скорости клубочковой фильтрации у детей с использованием эндогенных маркеров. *Фундаментальные исследования.* 2013;(2-1):140–144. [Pashkova YV, Sitnikova VP. [Practical importance of the various formulas for calculating of glomerular filtration rate in children with endogenous markers]. *Fundamental Research.* 2013;(2-1):140–144. Russian.]
14. Pottel H. Measuring and estimating glomerular filtration rate in children. *Pediatr Nephrol.* 2017;32(2):249–263. doi: 10.1007/s00467-016-3373-x.
15. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney Int Suppl.* 2012;2(1):1–138.
16. Palevsky PM, Liu KD, Brophy PD, Chawla LS, Parikh CR, Thakar CV, Tolwani AJ, Waikar SS, Weisbord SD. KDOQI US commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Am J Kidney Dis.* 2013;61(5):649–672. doi: 10.1053/j.ajkd.2013.02.349.
17. Bragadottir G, Redfors B, Ricksten SE. Assessing glomerular filtration rate (GFR) in critically ill patients with acute kidney injury – true GFR versus urinary creatinine clearance and estimating equations. *Crit Care.* 2013;17(3):R108. doi: 10.1186/cc12777.
18. Mian AN, Schwartz GJ. Measurement and Estimation of Glomerular Filtration Rate in Children. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2017;24(6):348–356. doi: 10.1053/j.ackd.2017.09.011.
19. Schwartz GJ, Muñoz A, Schneider MF, Mak RH, Kaskel F, Warady BA, Furth SL. New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20(3):629–637. doi: 10.1681/ASN.2008030287.
20. Аверьянов СН, Амчславский ВГ, Багаев ВГ, Тепаев РФ. Определение скорости клубочковой фильтрации у детей: история и современные подходы. *Педиатрическая фармакология.* 2018;15(3):218–223. doi: 10.15690/pf.v15i3.1901. [Averyanov SN, Amcheslavskiy VG, Bagaev VG, Tepaev RF.



- [Choosing the optimal method for measuring glomerular filtration rate in pediatric intensive unit]. *Pediatric Pharmacology*. 2018;15(3):218–223. Russian. doi: 10.15690/pf.v15i3.1901.]
21. Schwartz GJ, Feld LG, Langford DJ. A simple estimate of glomerular filtration rate in full-term infants during the first year of life. *J Pediatr*. 1984;104(6):849–854. doi: 10.1016/s0022-3476(84)80479-5.
 22. Байко СВ. Хроническая болезнь почек у детей: определение, классификация и диагностика. *Нефрология и диализ*. 2020;22(1):53–70. doi: 10.28996/2618-9801-2020-1-53-70. [Baiko SV. [Chronic kidney disease in children: definition, classification and diagnostics]. *Nephrology and Dialysis*. 2020;22(1):53–70. Russian. doi: 10.28996/2618-9801-2020-1-53-70.]
 23. Вельков ВВ. Цистатин С: точный индикатор скорости клубочковой фильтрации и ранний маркер преэклампсии. *Лаборатория*. 2010;(10):18–22. [Vel'kov VV. [Cystatin C: an accurate index of glomerular filtration rate and an early marker of preeclampsia]. *Laboratoriya [Laboratory]*. 2010;(10):18–22. Russian.]
 24. Мирошкина ИВ, Грицкевич АА, Байтман ТП, Пьяникин СС, Аревин АГ, Калинин ДВ, Демидова ВС, Теплов АА. Роль маркеров острого повреждения почки в оценке функции почки при ее ишемии. *Экспериментальная и клиническая урология*. 2018;(4):114–121. [Miroshkina IV, Gritskevich AA, Baytman TP, Pyanikin SS, Arevin AG, Kalinin DV, Demidova VS, Teplov AA. [The role of markers of acute kidney damage in assessing kidney function with its ischemia]. *Experimental and Clinical Urology*. 2018;(4):114–121. Russian.]
 25. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl*. 2013;3(1):S1–150.
 26. Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann CM Jr, Spitzer A. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics*. 1976;58(2):259–263.
 27. Kellum JA, Bellomo R, Ronco C. Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI): methodology. *Int J Artif Organs*. 2008;31(2):90–93. doi: 10.1177/039139880803100202.
 28. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P; Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. Acute renal failure – definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care*. 2004;8(4):R204–212. doi: 10.1186/cc2872.
 29. Schwartz GJ, Schneider MF, Maier PS, Moxey-Mims M, Dharnidharka VR, Warady BA, Furth SL, Muñoz A. Improved equations estimating GFR in children with chronic kidney disease using an immunonephelometric determination of cystatin C. *Kidney Int*. 2012;82(4):445–453. doi: 10.1038/ki.2012.169.

The role of cystatin C and various methods of glomerular filtration rate calculation in evaluation of renal dysfunction in children with acute infectious diarrhea

O.L. Chugunova¹ • E.Yu. Grebenkina^{2,3} • D.V. Usenko³ • I.I. Volodina⁴ • E.V. Galeeva² • E.A. Drozhzhin² • A.A. Korsunskiy^{2,5} • N.Yu. Legoshina² • A.D. Muzyka³ • M.I. Naryshkina² • L.V. Pavlushkina⁴ • A.S. Rykova²

Rationale: Acute infectious diarrhea (AID) is the fourth leading cause of death among children <5 years worldwide. Kidney damage is one of the poorly studied aspects of pediatric AID. The level of serum cystatin C is independent on gender and age, and it is highly informative even in the early stages of renal dysfunction.

Aim: To optimize diagnosis of renal dysfunction in children with moderate AID through comparison of different methods of glomerular filtration rate (GFR) calculation and determination of serum cystatin C level.

Materials and methods: Observational cross-sectional study enrolled 80 children in pediatric hospital with moderate AID not followed by hemolytic uremic syndrome. Serum creatinine and serum cystatin C levels were determined in all the patients in acute period with GFR calculating according to Schwartz equation in unmodified (1976) and modified (2009) versions. GFR was also calculated using a single-factor equation based on serum cystatin C level.

Results: GFR in acute period, calculated according to unmodified and to modified Schwartz equation was in patients <3 years

(n=40) 115.47 ± 3.33 ml/min/1.73 m² and 98.56 ± 2.84 ml/min/1.73 m² (p < 0.001), in patients 3–7 years 132.13 ± 4.2 ml/min/1.73 m² and 108.85 ± 3.84 ml/min/1.73 m² (p < 0.001), respectively. Increased serum cystatin C level (>950 ng/ml) occurred in 18 patients (22%). In other patients level of serum cystatin C remained within the reference range or lower. The risk of acute kidney injury development based on two indicators – GFR according to the modified Schwartz equation and GFR according to the equation used cystatin C level – occurred in 4 (10%) patients aged 1–3 years and in 1 (2.5%) child in the age group 3–7 years; risk, based on one indicator – the calculation of GFR according to the formula using cystatin C – in 8 (20%) and 9 (22.5%) children, respectively, and based on the assessment of only GFR according to the modified Schwartz equation – in 3 (7.5%) children of both age groups.

Conclusion: We have confirmed that the GFR values calculated with usage of unmodified Schwartz equation (1976) are higher than those calculated with usage of modified Schwartz equation (2009) and taking into account the level of cystatin C.

Thus, usage of unmodified Schwartz equation for GFR calculation in infants and preschool children seems incorrect. Level of serum cystatin C is promising marker permitted to select patients with risk of acute kidney injury development among children in acute period of moderate AID.

Key words: children, acute infectious diarrhea, acute kidney injury, cystatin C, glomerular filtration rate, creatinine

For citation: Chugunova OL, Grebenkina EYu, Usenko DV, Volodina II, Galeeva EV, Drozhzhin EA, Korsunskiy AA, Legoshina NYu, Muzyka AD, Naryshkina MI, Pavlushkina LV, Rykova AS. The role of cystatin C and various methods of glomerular filtration rate calculation in evaluation of renal dysfunction in children with acute infectious diarrhea. *Almanac of Clinical Medicine*. 2021;49(3):197–206. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-018.

Received 13 March 2021; revised 30 March 2021; accepted 8 April 2021; published online 16 April 2021



30. Joyce EL, Kane-Gill SL, Fuhrman DY, Kellum JA. Drug-associated acute kidney injury: who's at risk? *Pediatr Nephrol.* 2017;32(1):59–69. doi: 10.1007/s00467-016-3446-x.
31. Uber AM, Sutherland SM. Acute kidney injury in hospitalized children: consequences and outcomes. *Pediatr Nephrol.* 2020;35(2):213–220. doi: 10.1007/s00467-018-4128-7.
32. Михалева ЛЛ, Диденко СН, Золотавина МЛ. Комплексная оценка диагностической значимости цистатина С при патологии почек у детей. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2012;5(134):135–137. [Mikhaleva LL, Didenko SN, Zolotavina ML. [Integrated assessment of the diagnostic value of cystatin C in renal disease in children]. *Kuban Scientific Medical Bulletin.* 2012;5(134):135–137. Russian.]
33. Sharma AP, Kathiravelu A, Nadarajah R, Yasin A, Filler G. Body mass does not have a clinically relevant effect on cystatin C eGFR in children. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24(2):470–474. doi: 10.1093/ndt/gfn505.
34. Akcan-Arikan A, Zappitelli M, Loftis LL, Washburn KK, Jefferson LS, Goldstein SL. Modified RIFLE criteria in critically ill children with acute kidney injury. *Kidney Int.* 2007;71(10):1028–1035. doi: 10.1038/sj.ki.5002231.
35. Музуров АЛ, Абасеева ТЮ, Генералова ГА, Панкратенко ТЕ, Эмирова ХМ, Орлова ОМ, Кварацхелия МВ, Попа АВ. Результаты лечения детей с острым почечным повреждением. *Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии.* 2017;7(2):39–44. [Muzurov AL, Abaseeva TYu, Generalova GA, Pankratenko TE, Emirova KM, Orlova OM, Kvaratskheliya MV, Popa AV. [Results of treatment of children with acute kidney damage]. *Russian Journal of Pediatric Surgery, Anesthesia and Intensive Care.* 2017;7(2): 39–44. Russian.]
36. Музуров АЛ, Зверев ДВ, Абасеева ТЮ, Генералова ГА, Панкратенко ТЕ, Эмирова ХМ, Орлова ОМ, Кварацхелия МВ, Макулова АИ, Попа АВ. Эпидемиология острого почечно-го повреждения у детей. *Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии.* 2017;7(1):30–39. [Muzurov AL, Zverev DV, Abaseeva TYu, Generalova GA, Pankratenko TE, Emirova HM, Orlova OM, Kvaratskheliya MV, Makulova AI, Popa AV. [Epidemiology of an acute hepatic injury in children]. 2017;7(1):30–39. Russian.]
37. Чемоданова МА, Савенкова НД. Особенности повреждения почек при острых отравлениях у детей. *Нефрология.* 2012;16(1): 66–73. doi: 10.24884/1561-6274-2012-16-1-66-73. [Chemodanova MA, Savenkova ND. [Characteristics of kidneys injuries due to acute poisoning in children population]. *Nephrology (Saint-Petersburg).* 2012;16(1): 66–73. Russian. doi: 10.24884/1561-6274-2012-16-1-66-73.]
38. Schwartz GJ, Work DF. Measurement and estimation of GFR in children and adolescents. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4(11):1832–1843. doi: 10.2215/CJN.01640309.

Olga L. Chugunova – MD, PhD, Professor, Chair of Hospital Pediatrics named after V.A. Tabolin, Faculty of Pediatrics¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1547-0016>

✉ 1 Ostrovityanova ul., Moscow, 117997, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 254 67 62
E-mail: ol_chugunova@mail.ru

Elizaveta Yu. Grebenkina – Pediatrician, Department of Infectious Diseases No. 2²; Laboratory Researcher, Clinical Department of Infectious Pathology³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6567-1401>.
Tel.: +7 (903) 552 67 63. E-mail: liza09@mail.ru

Denis V. Usenko – MD, PhD, Leading Research Fellow, Clinical Department of Infectious Pathology; Head of Educational Center³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5232-7337>. Tel.: +7 (495) 672 11 36.
E-mail: dusenko@rambler.ru

Irina I. Volodina – MD, PhD, Pediatrician, Pediatric Day Hospital, Center of Outpatient Surgery⁴; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4013-396X>.
Tel.: +7 (903) 779 37 26. E-mail: catira@rambler.ru

Elena V. Galeeva – Chief Specialist in Laboratory Services, Head of Clinical Laboratory²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1307-3463>.
Tel.: +7 (964) 649 12 53. E-mail: elengaleeva@yandex.ru

Evgenii A. Drozhzhin – Pediatrician, Department of Infectious Diseases No. 2²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4885-5505>. Tel.: +7 (499) 259 66 55.
E-mail: doctorlit@yandex.ru

Anatoly A. Korsunskiy – MD, PhD, Professor, Chief Physician²; Head of Chair of Pediatrics and Pediatric Infectious⁵; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9087-1656>. Tel.: +7 (499) 256 21 61.
E-mail: doctorlit@yandex.ru

Nataliya Yu. Legoshina – Infectiologist, Head of Department of Infectious Diseases No. 2²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0006-0743>.
Tel.: +7 (499) 259 66 55. E-mail: doctorlit@yandex.ru

Anna D. Muzyka – MD, PhD, Senior Research Fellow, Clinical Department of Infectious Pathology; Head of Educational Center³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2269-2533>. Tel.: +7 (916) 878 46 85.
E-mail: nikolitch-anna@yandex.ru

Mariya I. Naryshkina – Pediatrician, Department of Infectious Diseases No. 2²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7489-5861>. Tel.: +7 (499) 259 66 55.
E-mail: doctorlit@yandex.ru

Lyudmila V. Pavlushkina – Head of Clinical and Biochemical Laboratory⁴; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4738-879X>. Tel.: +7 (903) 792 54 59.
E-mail: lpavlywkina@yandex.ru

Anna S. Rykova – Pediatrician, Department of Infectious Diseases No. 2²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6522-4430>. Tel.: +7 (499) 259 66 55.
E-mail: doctorlit@yandex.ru

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this article.

Authors' contributions

O.L. Chugunova, the study concept and design, analysis of the results, text writing and editing, approval of the final version of the manuscript; E.Yu. Grebenkina, patient groups, data collection, management and analysis, analysis and interpretation of the study results, statistical analysis, text writing and editing; D.V. Usenko, design of the study, text writing and editing; I.I. Volodina, design of clinical part of the study, text writing; E.V. Galeeva, analysis and interpretation of the study results, text writing; E.A. Drozhzhin, complete physical examination of the patients, text writing; A.A. Korsunskiy, the paper concept and design, approval of the final version of the manuscript; N.Yu. Legoshina, design of the experimental part of the study, text writing; A.D. Muzyka, statistical analysis, text writing; M.I. Naryshkina, analysis and interpretation of the results, text writing; L.V. Pavlushkina, analysis of the clinical and laboratory study results, text writing; A.S. Rykova, clinical data collection, analysis of the results, text writing. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work have been appropriately investigated and resolved.

¹ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University; 1 Ostrovityanova ul., Moscow, 117997, Russian Federation

² Speransky Moscow Children Hospital No. 9; 29 Shmitovskiy proezd, Moscow, 123317, Russian Federation

³ Central Research Institute of Epidemiology; 3a Novogireevskaya ul., Moscow, 111123, Russian Federation

⁴ N.F. Filatov Children's City Hospital of Moscow Healthcare Ministry; 15 Sadovaya-Kudrinskaya ul., Moscow, 103001, Russian Federation

⁵ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8/2 Trubetskaya ul., Moscow, 119991, Russian Federation



Оригинальная статья

Новая коронавирусная инфекция у детей в Московской области: клинико-эпидемиологические и терапевтические аспекты

Мескина Е.Р.¹ • Хадисова М.К.¹ • Сташко Т.В.² • Бицуева А.В.³

Мескина Елена Руслановна – д-р мед. наук, заведующая отделением детских инфекций отдела терапии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1960-6868>
✉ 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация.
Тел.: +7 (916) 121 61 72.
E-mail: meskinaelena@rambler.ru

Хадисова Марима Касумовна – канд. мед. наук, науч. сотр. отделения детских инфекций отдела терапии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8293-6643>.
Тел.: +7 (926) 264 93 30.
E-mail: murzabekova.marina.1979@mail.ru

Сташко Татьяна Владимировна – врач-инфекционист инфекционного отделения²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9654-9863>.
Тел.: +7 (985) 757 75 33.
E-mail: stashko.tatyana@mail.ru

Бицуева Аида Владимировна – заведующая детским инфекционным отделением³

Цель – определить клинико-эпидемиологические характеристики и оценить результаты лечения COVID-19 у детей, госпитализированных в инфекционный стационар Московской области.

Материал и методы. Проведен ретроспективный анализ 124 историй болезни детей в возрасте от 1 месяца до 17 лет с подтвержденной (63,7%) и высоковероятной (убедительно доказанная эпидемиологическая связь с источником инфекции) COVID-19. Дети были госпитализированы в период с 25.03.2020 по 11.08.2020. В исследование включено 43% пациентов с пневмониями и 30% – с острыми респираторными заболеваниями, вызванными SARS-CoV-2, госпитализированных в стационар в регионе к этому сроку. Пневмония подтверждена методом компьютерной томографии. Дети получали стандартное лечение согласно российским методическим рекомендациям.

Результаты. Дети инфицировались SARS-CoV-2 преимущественно в семейных очагах (75%; 95% доверительный интервал (ДИ) 66,4–82,3). В семьях заболевших пневмонией число пневмоний у родственников было выше, чем в семьях детей с острыми респираторными заболеваниями: $1,7 \pm 1,0$ против $1,1 \pm 0,5$ соответственно ($p < 0,001$). Средний возраст госпитализированных составил 8 лет (7,4–9,6) с равномерным возрастным распределением. Основными симптомами COVID-19 были лихорадка (75,8%; 95% ДИ 67,3–83,0), кашель (66,1%; 95% ДИ 57,1–74,4), слабость (38,7%; 95% ДИ 30,1–47,9) и гипоосмия (33,9%; 95% ДИ 25,6–42,9). Тяжелые формы регистрировали редко (2,4%; 95% ДИ 0,5–6,9). Частота обнаружения РНК SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией

в динамике болезни резко уменьшалась: на 3-й день она была равна 63,7%, на 7-й – 21,8% и на 14-й – 5,6% ($p < 0,001$). Частота пневмонии среди госпитализированных составила 56,4% без возрастных различий. Преобладала минимальная площадь поражения легких на компьютерных томограммах – 78,6%. Критерии тяжести пневмонии и продолжительность клинических проявлений у получавших цефалоспорины III поколения или его комбинацию с макролидами не различались. Длительность кашля у получавших ингаляции ипратропия бромид/фенотерола, в том числе в сочетании с будесонидом, была больше, чем у лечившихся без ингаляций. Признак «лихорадка > 5 дней» может предсказать пневмонию у ребенка с COVID-19 (отношение шансов 4,55 (2,1–9,9), чувствительность 61,4%, специфичность 74,1%).
Заключение. Полученные данные важны для разработки дальнейшей тактики лечения COVID-19 у детей.

Ключевые слова: дети, новая коронавирусная инфекция, COVID-19, SARS-CoV-2, пневмония, эпидемиология, факторы риска, антибактериальная терапия, ингаляции

Для цитирования: Мескина ЕР, Хадисова МК, Сташко ТВ, Бицуева АВ. Новая коронавирусная инфекция у детей в Московской области: клинико-эпидемиологические и терапевтические аспекты. Альманах клинической медицины. 2021;49(3):207–218. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-032.

Поступила 01.05.2021; доработана 10.06.2021; принята к публикации 15.06.2021; опубликована онлайн 06.07.2021

¹ ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация

² ГБУЗ МО «Домодедовская центральная городская больница»; 142000, Московская область, г. Домодедово, ул. Пирогова, 9, Российская Федерация

³ ГБУЗ МО «Красногорская городская больница № 2»; 143400, Московская область, г. Красногорск, ул. Карбышева, 4, Российская Федерация



Пандемия, вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2, продолжает развиваться и остается глобальной проблемой систем здравоохранения всего мира. Большая часть информации, собранной к настоящему моменту, была получена на основании исследований, проведенных у взрослых. За последнее время количество публикаций, посвященных COVID-19 в педиатрической популяции, значительно возросло. Это позволило представить научному сообществу и практическому здравоохранению метаанализы и системные обзоры. Однако они в большинстве своем анализировали китайские данные [1, 2] или были сосредоточены на тяжелом течении болезни [3, 4]. В работе N. Toba и соавт. [5] оценены сведения о 1816 пациентах (31 публикация) по 77 переменным. Более половины (58%) включенных в анализ исследований проводились в Китае, остальные – в Северной Америке, Европе и на Ближнем Востоке [5]. Результаты наблюдений из различных регионов России отражены в единичных публикациях [6–8].

Согласно данным литературы, COVID-19 у детей протекает легче, чем у взрослых, летальные исходы редки, но регистрируются во всех возрастных группах. Если у взрослых пожилой возраст, мужской пол, ожирение, сердечно-сосудистые заболевания, гипертония и хронические заболевания респираторного тракта ассоциированы с тяжелым течением заболевания, у детей четко определенных групп риска не выявлено. Характерные симптомы COVID-19 (лихорадка, кашель, гипоосмия и слабость) типичны и для педиатрической популяции, хотя анализ жалоб у детей раннего возраста затруднен по объективным причинам.

Тем не менее имеющиеся результаты являются краткосрочными. Педиатрические данные получены в разных условиях развития пандемии и мер реагирования систем здравоохранения, включая национальную тактику тестирования. В России на первом этапе развития пандемии SARS-CoV-2 рекомендован широкий скрининг контактных лиц и всех заболевших с симптомами острого респираторного заболевания (ОРЗ) [9], и полученная в таких условиях информация дает возможность более точно оценить характеристики новой коронавирусной инфекции.

Мы представляем ретроспективный клинический анализ течения COVID-19 и результативности отдельных методов ее лечения в репрезентативной выборке педиатрических пациентов, госпитализированных в ведущий профильный

стационар Московской области в период «первой волны» распространения инфекции SARS-CoV-2.

Цель исследования – определить клинико-эпидемиологические характеристики и оценить результаты лечения COVID-19 у детей, госпитализированных в профильный инфекционный стационар Московской области.

Материал и методы

Проведен ретроспективный анализ 124 историй болезни детей в возрасте от 1 месяца до 17 лет с COVID-19, получавших лечение в профильном круглосуточном стационаре Московской области с 25.03.2020 по 11.08.2020. К 11.08.2020 в отделение был госпитализирован 151 ребенок с подтвержденной или вероятной COVID-19, из них в исследование включены 124 (82,1%) истории болезни пациентов с подтвержденной методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ПЦР-ОТ) COVID-19 или высоковероятным (соответствие клинической картины стандартному определению случая в сочетании с достоверно установленным контактом с больным COVID-19) случаем заболевания. Диагностику COVID-19 и лечение пациентов проводили согласно Временным методическим рекомендациям Минздрава России по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции COVID-19 (версии 1–7), а также методическим рекомендациям Минздрава России «Особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) у детей» (версии 1 и 2), актуальным в тот период.

У всех пациентов оценивали данные анамнеза (в том числе эпидемиологического), клинико-лабораторные характеристики заболевания и проведенное лечение. Были учтены результаты клинического и лабораторного обследования пациентов за весь период болезни, включая амбулаторный этап лечения. Для этиологической диагностики COVID-19 использовали ПЦР-ОТ, рекомендованную для применения в Российской Федерации. Рентгенологическое исследование органов грудной клетки с применением компьютерной томографии (КТ) выполнено 107 пациентам.

Учитывая ретроспективный тип исследования и стандартное лечение пациентов согласно российским рекомендациям, этическую экспертизу не проводили. Статистический анализ данных выполнен с использованием пакетов программ Microsoft Excel 2011, STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., США). Количественные



переменные представлены для нормально распределенных совокупностей в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$), а для совокупностей, отличных от нормальных, – в виде медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (25%; 75%). Дискретные признаки даны в виде частоты событий (% случаев от общего числа наблюдений). Проверку нулевой гипотезы о равенстве средних проводили с помощью t-критерия Стьюдента (для двух независимых групп) и однофакторного дисперсионного анализа (для сравнения нескольких групп одновременно) с последующим расчетом достигнутых уровней значимости (критерий наименьшей значимой разности). Для сравнения качественных признаков использовали критерий χ^2 Пирсона или точный критерий Фишера при числе наблюдений в одной из ячеек 4-польной таблицы менее пяти. Динамику качественных признаков оценивали с помощью критерия Макнемара. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Качественное суждение о значимости статистических различий проводили с помощью 95% доверительного интервала (ДИ) для среднего, доли, разности средних. Для оценки величины эффекта терапии рассчитывали критерии риска: частоту события в группах лечения и контроля, отношение рисков события в сравниваемых группах, повышение относительного риска, повышение абсолютно-го риска, индекс повышения вреда, отношение шансов события к отсутствию шансов события в сравниваемых группах (ОШ) с расчетом доверительных интервалов. Значение $ОШ > 1$ свидетельствовало об увеличении риска.

Результаты

По данным ежедневного мониторинга распространения новой коронавирусной инфекции, к 11.08.2020 в Московской области было зарегистрировано 4953 педиатрических случая инфекции, вызванной SARS-CoV-2, из них 455 (9,2%) случая пневмонии и 1331 (26,9%) случай ОРЗ. В целом были госпитализированы 345 (7%) детей, в том числе 163 (47,2%) с пневмонией и 182 (52,8%) с ОРЗ. Следовательно, в настоящем исследовании проведен анализ 42,9% случаев пневмонии и 29,7% случаев ОРЗ, вызванных SARS-CoV-2, у педиатрических пациентов, госпитализированных в Московской области.

В стационар с COVID-19 были госпитализированы дети различного возраста без существенных гендерных различий (рис. 1, табл. 1). Средний возраст детей составил 8 лет.

Таблица 1. Клинико-эпидемиологическая характеристика госпитализированных детей с COVID-19 (n = 124)

Показатель	Значение	95% ДИ
Возраст (годы), Me [25; 75%]	8 [2; 14]	7,4–9,6
Пол, n (%)		
женский	64 (51,6)	42,5–60,7
мужской	60 (48,4)	39,3–57,5
Сопутствующие заболевания, n (%)	78 (62,9)	53,0–70,7
аллергические заболевания, в том числе:	19 (15,3)	9,5–22,9
бронхиальная астма	2 (1,6)	0,2–5,7
поллиноз	4 (3,2)	0,9–8,1
анемия 1-й и 2-й степени	20 (16,1)	10,1–23,8
ожирение 1-й степени	3 (2,4)	0,5–6,9
болезни органов пищеварения	8 (6,5)	2,8–12,3
умственная отсталость, последствия ишемического поражения центральной нервной системы	12 (9,7)	5,1–16,3
гипертония	1 (0,8)	
эпилепсия	1 (0,8)	
сахарный диабет 2-го типа	1 (0,8)	
Контакт в семейном очаге, n (%)	93 (75)	66,4–82,3
среднее количество контактных, $M \pm SD$	4,3 \pm 1,1	4,1–4,6
среднее количество заболевших в семейном очаге, $M \pm SD$, в том числе:	2,5 \pm 1,3	2,2–2,8
среднее количество ОРЗ	2,0 \pm 1,1	1,7–3,2
среднее количество пневмоний	1,7 \pm 1,0	1,5–1,9
среднее количество случаев подтвержденной COVID-19	1,7 \pm 1,0	1,5–2,0
Контакт в учреждениях, n (%)	15 (12,1)	6,9–19,2
среднее количество контактных	Нет данных	–
среднее количество заболевших в очаге, $M \pm SD$	1,7 \pm 1,2	0,9–2,5
среднее количество ОРЗ в очаге, $M \pm SD$	1,4 \pm 0,7	0,9–1,9
среднее количество пневмоний в очаге, $M \pm SD$	1,1 \pm 0,5	0,9–1,9
среднее количество случаев подтвержденной COVID-19, $M \pm SD$	1,5 \pm 0,9	0,9–2,2
Контакт не установлен, n (%)	16 (12,9)	7,6–20,1
Клинические нозоформы, n (%)		
ИВДП	42 (33,9)	25,6–42,9
острый бронхит	12 (9,7)	5,1–16,3
пневмония	70 (56,5)	47,3–65,3
Форма тяжести, n (%)		
легкая	11 (8,8)	4,51–15,3
средняя	110 (88,7)	81,8–93,7
тяжелая	3 (2,4)	0,5–6,9
День болезни на момент обращения, $M \pm SD$	3,9 \pm 2,8	3,4–4,4
День болезни на момент госпитализации, $M \pm SD$	6,4 \pm 3,4	4,7–8,0
ПЦР-ОТ РНК SARS-CoV-2 положительная, n (%)		
1-й мазок (3–4-е сутки болезни)	79 (63,7)	54,6–72,2
2-й мазок (7-е сутки болезни)	27 (21,8)	14,9–30,1
3-й мазок (13-е сутки болезни)	7 (5,6)	2,3–11,3
Койко-день, $M \pm SD$	10,8 \pm 4,1	10,1–11,6

ДИ – доверительный интервал, ИВДП – инфекция верхних дыхательных путей, ОРЗ – острое респираторное заболевание, ПЦР-ОТ – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией

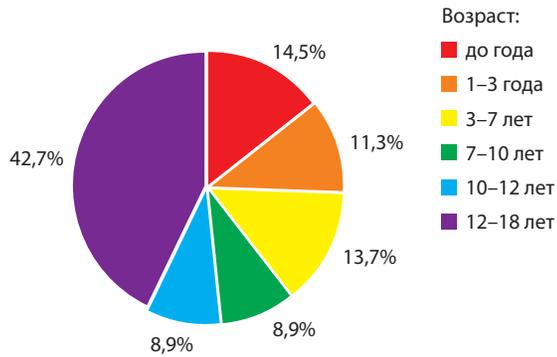


Рис. 1. Возрастное распределение госпитализированных детей с COVID-19 (n = 124)

Сопутствующие заболевания регистрировались у большинства пациентов (62,9%). Ведущими отягощающими анамнез факторами были аллергические заболевания, анемия и последствия органического поражения центральной нервной системы. Высокая частота последнего фактора была обусловлена госпитализацией детей из учреждений с круглосуточным пребыванием по эпидемиологическим (не клиническим) показаниям.

У подавляющего большинства пациентов (75%) заражение инфекцией SARS-CoV-2 произошло в семейном очаге. Гораздо реже дети инфицировались в организованных и неорганизованных коллективах (12,1%), и у небольшого числа пациентов контакт не был установлен (12,9%). Из табл. 1 видно, что вторичные случаи регистрировались значительно чаще в семейных очагах, чем в организованных и неорганизованных коллективах, при этом число заболевших в семье было меньше размера очага, а число подтвержденных случаев COVID-19 еще меньше. У включенных в анализ пациентов, имевших в большинстве своем четкие указания на контакт с больным COVID-19, РНК SARS-CoV-2 обнаруживалась в мазках из носа и ротоглотки только в 63,7% случаев. У половины пациентов при проведении КТ диагностирована пневмония, которая в подавляющем большинстве случаев протекала в средней форме. Тяжелые формы фиксировали редко (2,4%). Среди наблюдавшихся детей возрастной зависимости пневмонии не выявлено (грудной возраст – 65%, от 1 до 3 лет – 41,7%, от 3 до 7 лет – 41,2%, от 7 до 10 лет – 59,2%, 10 лет и старше – 68,6%; $p > 0,05$).

Пациенты обращались за медицинской помощью в среднем на 3–4-й день болезни и были госпитализированы в стационар к концу 1-й недели (см. табл. 1).

Таблица 2. Частота и продолжительность клинических симптомов у госпитализированных детей с COVID-19 (n = 124)

Показатель	Значение	95% ДИ
Лихорадка, n (%)	94 (75,8)	67,3–83,0
лихорадка на момент обращения, °C, M ± SD	38,2 ± 0,7	38,0–38,3
лихорадка на момент госпитализации, °C, M ± SD	37,4 ± 0,5	37,2–37,5
продолжительность, дни, M ± SD	5,5 ± 3,3	4,7–6,1
Кашель, n (%)	82 (66,1)	57,1–74,4
сухой	79 (63,7)	54,6–72,2
влажный	2 (1,6)	0,2–5,7
лающий	1 (0,8)	
продолжительность, дни, M ± SD	11,4 ± 5,2	10,2–12,5
Слабость, n (%)	48 (38,7)	30,1–47,9
продолжительность, дни, M ± SD	5,3 ± 2,6	4,5–6,0
Гипоосмия, n (%)	42 (33,9)	25,6–42,9
продолжительность, дни, M ± SD	12,8 ± 3,6	11,7–13,9
Заложенность носа без отделяемого, n (%)	24 (19,4)	12,8–27,4
Ринит с выделениями из носа, n (%)	20 (16,1)	10,1–23,8
продолжительность, дни, M ± SD	6,0 ± 2,8	4,7–7,2
Боль в горле, n (%)	19 (15,3)	9,5–22,9
продолжительность, дни, M ± SD	4,2 ± 1,4	3,5–4,9
Осиплость голоса, n (%)	1 (0,8)	
Дыхательная недостаточность, n (%)	7 (5,6)	2,3–11,3
продолжительность, дни, M ± SD	2,2 ± 1,2	0,94–3,4
Боли в животе, n (%)	1 (0,8)	
Диарея, n (%)	17 (13,7)	8,2–21,0
кратность дефекаций, раз в сутки, M ± SD	1,2 ± 0,5	1,1–1,3
средний балл оценки стула по Бристольской шкале, M ± SD	4,3 ± 0,9	4,1–4,4
продолжительность, дни, M ± SD	2,8 ± 1,0	2,2–3,3
Гиперемия зева, n (%)		
умеренно гиперемированный	83 (66,9)	57,9–75,1
гиперемированный	30 (24,2)	16,9–32,7
ярко гиперемированный	4 (3,2)	0,9–8,1
Дыхание при аускультации легких, n (%)		
жесткое	75 (60,5)	51,3–69,1
ослабленное	3 (2,4)	0,5–6,9
Хрипы в легких, n (%)	16 (12,9)	7,6–20,1
сухие	9 (7,3)	3,4–13,3
мелкопузырчатые	3 (2,4)	0,5–6,9
среднепузырчатые	2 (1,6)	0,2–5,7
крупнопузырчатые	1 (0,8)	
свистящие	1 (0,8)	
двусторонняя локализация хрипов	13 (10,5)	5,7–17,3
продолжительность хрипов в легких, дни, M ± SD	3,30 ± 1,3	2,2–3,3

ДИ – доверительный интервал

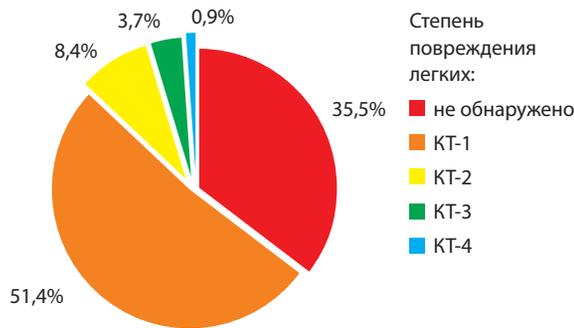


Рис. 2. Распределение площади поражения легких на компьютерной томограмме (КТ) в момент госпитализации (n = 107)

Среди ведущих симптомов COVID-19 подтверждены лихорадка, кашель, слабость и гипоосмия (табл. 2). Лихорадка и слабость купировались в основном в течение 1-й недели, а кашель и гипоосмия были не только частыми, но и наиболее продолжительными проявлениями заболевания. Симптомы поражения верхних дыхательных путей (боль в горле, ринит) и кишечного тракта (диарея) регистрировали заметно реже, их продолжительность была небольшой. Гиперемия зева без клинических характерных особенностей присутствовала у большинства детей (67%). Следует отметить своеобразный грубый сухой кашель почти постоянной тональности (66,1%), который продолжался обычно 3 дня, далее угасал и сохранялся к 7-му дню у 15% пациентов. Признаки дыхательной недостаточности 1-й степени при физической нагрузке были выявлены только у 5,6% пациентов. Хрипы над поверхностью легких (как правило, с двусторонней локализацией) выслушивались достаточно редко (в 22,9% случаев у детей с пневмонией), ослабленное дыхание – еще реже (у 3 (2,4%) пациентов). Средняя продолжительность физикальных изменений в легких была короткой.

Исследование мазков из носа и ротоглотки для обнаружения РНК SARS-CoV-2 проведено трехкратно. Частота положительных мазков к 7-му дню болезни резко снизилась (см. табл. 1, $p < 0,001$), и к 13-му дню РНК SARS-CoV-2 обнаруживалась у единичных пациентов ($p < 0,001$ в сравнении со вторым обследованием).

Существенная лейкопения, нейтропения, лимфопения, тромбоцитопения или изменения биохимических показателей также регистрировались нечасто и обнаруживались только у пациентов с пневмонией (табл. 3). Активность аланинаминотрансферазы или аспартатаминотрансферазы не превышала пределы 5 норм,

Таблица 3. Лабораторные показатели госпитализированных пациентов с COVID-19 (n = 124)

Показатель	Значение	95% ДИ
Анемия 1-й степени, n (%)	30 (24,2)	16,3–31,8
Среднее содержание гемоглобина (мг/л), M ± SD	120,4 ± 13,8	117,9–122,8
Среднее содержание лейкоцитов ($10^9/л$), M ± SD	6,3 ± 2,4	5,8–6,7
Лейкопения, n (%), в том числе: < 3,0 ($10^9/л$), n (%)	9 (7,3) 3 (2,4)	3,4–13,3 0,5–6,9
Лейкоцитоз, n (%)	3 (2,4)	0,5–6,9
Среднее содержание нейтрофилов ($10^9/л$), M ± SD	2,8 ± 1,7	2,4–3,1
Нейтропения, n (%), в том числе: < 1,0 ($10^9/л$), n (%)	20 (16,1) 6 (4,8)	10,1–23,8 1,8–10,2
Среднее содержание лимфоцитов ($10^9/л$), M ± SD	2,9 ± 1,5	2,7–3,2
Лимфопения, n (%), в том числе: < 1,0 ($10^9/л$), n (%)	13 (10,5) 2 (1,6)	5,7–17,3 0,2–5,7
Моноцитоз, n (%)	–	–
Тромбоцитопения, n (%)	9 (7,3)	3,4–13,3
Среднее содержание тромбоцитов ($10^9/л$), M ± SD	249,1 ± 82,8	234,5–263,6
АЛТ > 40 Ед/л, n (%)	9 (7,3)	3,4–13,3
Средний уровень АЛТ (Ед/л), M ± SD	22,6 ± 22,7	17,4–26,7
АСТ > 40 Ед/л, n (%)	30 (24,2)	16,3–31,8
Средний уровень АСТ (Ед/л), M ± SD	41,6 ± 27,4	35,9–47,2
С-реактивный белок > 5 мг/л, n (%)	22 (17,7)	11,5–25,9
Средний уровень С-реактивного белка (мг/л), M ± SD	13,8 ± 2,06	6,9–20,8
Протромбиновый индекс, M ± SD	94,6 ± 6,3	89,7–99,4
МНО (ед), M ± SD	0,93 ± 0,07	0,90–0,96
АЧТВ (с), M ± SD	31,8 ± 3,4	30,3–33,3
Фибриноген (г/л), M ± SD	2,99 ± 0,46	2,8–3,2

АЛТ – аланинаминотрансферазы, АСТ – аспартатаминотрансфераза, АЧТВ – активированное частичное протромбластиновое время, ДИ – доверительный интервал, МНО – международное нормализованное отношение

хотя избыточная активность второго фермента встречалась втрое чаще, чем первого. Маркер воспаления (С-реактивный белок) не превышал 150 мг/л, кратковременное нарушение функции почек (повышение уровня креатинина до 2 норм)

**Таблица 4.** Частота основных характеристик пневмонии и острых респираторных заболеваний, вызванных SARS-CoV-2, и частота использованных лекарственных препаратов

Показатель	Частота регистрации, n (%)		
	пневмония, n = 70	ОРЗ, n = 54	Значение p, χ^2
Лихорадка, в том числе:	61 (87,1)	33 (61,1)	0,0008
≤ 38 °С	32 (45,7)	20 (37)	0,008
> 38 °С	29 (41,4)	13 (24,1)	(df = 1)
Лихорадка > 5 дней	43 (61,4)	14 (25,9)	< 0,001
Кашель	57 (81,4)	25 (46,3)	< 0,001
Слабость	28 (40)	20 (37)	0,737
Гипоосмия	22 (31,4)	19 (35,2)	0,659
Диарея	9 (12,9)	7 (13)	0,986
ПЦР-ОТ РНК SARS-CoV-2 положительная			0,331
1-й мазок	33 (61,1)	46 (65,7)	(df = 2)
2-й мазок	7 (13)	20 (28,6)	
3-й мазок	3 (5,6)	4 (5,7)	
Противовирусная терапия, в том числе:	60 (85,7)	49 (90,7)	0,395
умифеновир	35 (50)	29 (53,7)	0,531
интерферон	22 (31,4)	18 (33,3)	(df = 3)
осельтамивир	1 (1,4)	2 (3,7)	
лопинавир + ритонавир	2 (2,9)	0	
Антибактериальная терапия, в том числе:	69 (98,6)	35 (64,8)	< 0,001
1 антибиотик	30 (42,9)	26 (48,1)	0,009
2 антибиотика	38 (54,3)	9 (16,7)	(df = 2)
3 антибиотика	1 (1,4)	0	
Монотерапия антибактериальная, в том числе:	30 (42,9)	25 (46,3)	0,702
цефалоспорины I	4 (5,7)	3 (5,6)	
цефалоспорины III	16 (22,9)	8 (14,8)	
макролиды	9 (12,9)	10 (18,5)	0,237
амоксциллин	1 (1,4)	4 (7,4)	(df = 3)
Комбинация двух антибиотиков, в том числе:	39 (55,7)	9 (16,7)	0,001
цефалоспорины III + азитромицин	15 (21,4)	5 (9,3)	0,604
цефалоспорины III + джозамицин	20 (28,6)	3 (5,6)	(df = 2)
цефалоспорины I + азитромицин	4 (5,7)	1 (1,8)	
Препараты для лечения кашля	12 (17,1)	7 (13)	0,522
Ингаляционная терапия, в том числе:	35 (50)	15 (27,8)	0,012
ипратропия бромид / фенотерол	19 (27,1)	12 (22,2)	0,085
ипратропия бромид / фенотерол + ингаляционный будесонид	14 (20)	2 (3,7)	(df = 3)
амброксол	2 (2,9)	0	
щелочные растворы	0	1 (1,8)	

df – degrees of freedom (число степеней свободы), ОРЗ – острые респираторные заболевания, ПЦР-ОТ – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией

выявлено у одного пациента. Показатели системы гемостаза у всех детей находились в пределах референсных значений.

КТ органов грудной клетки проведена 107 (86,3%) пациентам, в среднем на $7,7 \pm 0,6$ дня от начала болезни. Изменения на КТ легких



Таблица 5. Продолжительность основных симптомов у пациентов с пневмонией, получавших монотерапию цефалоспорином III поколения или комбинацию цефалоспорином III поколения и макролида

Показатель	Цефалоспорин III (n=15), M±SD	Цефалоспорин III + джозамицин (n=18), M±SD	Цефалоспорин III + азитромицин (n=16), M±SD	Значение p (ДА)
Продолжительность кашля	9,63±6,23	11,15±3,91	12,73±3,52	0,482
Продолжительность лихорадки	5,90±4,77	5,75±2,36	4,94±2,21	0,162
Средний койко-день	9,71±4,35	11,56±4,14	12,05±5,14	0,196

ДА – однофакторный дисперсионный анализ

в виде «матового стекла» обнаружены у 70 (65,5%) детей, тяжистые уплотнения (симптом «крыла летучей мыши») – у 4 (3,2%), очаги консолидации – у 5 (4%). Распределение площади поражения легких на компьютерных рентгенограммах в момент госпитализации представлено на рис. 2. Значительно преобладала минимальная степень повреждения легких (КТ-1) – 78,6% от всех случаев пневмонии. Повторная КТ органов грудной клетки выполнена через 14 дней у 56 (64,3%) детей. Из них у 15 (26,8%) пневмония разрешилась, положительная динамика отмечена у 40 (71,4%) и отсутствие динамики – у 1 (1,8%) пациента.

На амбулаторном этапе 55 (44,4%) детей получали антибактериальную терапию, 51 (41,1%) – противовирусные препараты и 17 (13,7%) – только жаропонижающие средства. В стационаре препараты с противовирусным действием были назначены 109 (87,9%) детям в среднем на 4,6±3,5 день от начала заболевания. У детей старшего возраста в большинстве случаев применяли умифеновир, раннего возраста – препараты рекомбинантного интерферона альфа-2b ректально. Антибиотики получали 104 (83,9%) ребенка начиная с 5,7±4,2 дня болезни. Общая длительность противовирусной терапии, включая амбулаторный этап, составила 10,2±3,9 (95% ДИ 9,4–10,9) и антибактериальной – 10,1±4,1 (95% ДИ 9,3–10,9) дня. Средний курс ингаляционной терапии (ипратропия бромид/фенотерол, комбинация ипратропия бромида/фенотерола и ингаляционных глюкокортикостероидов (ИГКС), амброксол, щелочной раствор) составил 9,4±3,9 дня (95% ДИ 8,3–10,6), а назначения препаратов для лечения кашля (амброксол, бромгексин) – 8,9±3,7 дня.

Все дети выписаны из стационара в удовлетворительном состоянии.

При стратификации пациентов на две группы (с признаками вирусного поражения легких на КТ или без таковых) было установлено, что у пациентов с пневмонией чаще регистрировались

лихорадка и кашель, при этом длительность лихорадки > 5 дней была основной отличающей характеристикой пневмонии у детей (табл. 4). Частота других симптомов (см. табл. 4) или их продолжительность (данные не представлены) не различались (p>0,05). Не выявлено различия частот обнаружения РНК SARS-CoV-2 в динамике наблюдения (см. табл. 4), сопутствующих заболеваний или лабораторных воспалительных маркеров (данные не представлены) у пациентов с пневмонией или без таковой. Возраст детей, больных пневмонией или ОРЗ, также статистически не различался: 10,5 (2–15) и 7,5 (2–13) (p>0,05). У заболевших пневмонией в очаге COVID-19 частота других случаев пневмонии была большей – 1,7±1,0 против 1,1±0,5 у детей, заболевших ОРЗ (p=0,0001).

Анализ показал: единственным прогностическим критерием, повышающим риск пневмонии, вызванной SARS-CoV-2, может быть длительность лихорадки > 5 дней: повышение абсолютного риска в данном случае составляет 0,355 (95% ДИ 0,19–0,52), отношение рисков – 2,37 (1,46–3,86), повышение относительного риска – 1,37 (0,46–2,86), индекс повышения вреда – 2,82 (1,93–5,22), ОШ – 4,55 (2,1–9,9). Чувствительность признака «лихорадка > 5 дней» для подтверждения вирусной пневмонии равнялась 61,4%, специфичность – 74,1%.

Закономерно, что дети с пневмонией чаще получали антибиотики. В половине случаев антибактериальная терапия (АБТ) была комбинированной (см. табл. 4). Отметим: более половины детей с ОРЗ получали АБТ.

Однако комбинированная АБТ (цефалоспорин+макролид), назначенная детям с КТ-признаками вирусной пневмонии, не имела клинических преимуществ (табл. 5), при этом не было установлено статистических различий клинических характеристик пневмонии, вызванной SARS-CoV-2, у получавших АБТ-монотерапию или комбинацию двух антибиотиков (табл. 6).

**Таблица 6.** Сравнительная характеристика детей с пневмонией, получавших монотерапию цефалоспорином III поколения или комбинацию цефалоспорины III поколения и макролида

Показатель	Цефалоспорин III (n = 15)	Цефалоспорин III + джозамицин (n = 18)	Цефалоспорин III + азитромицин (n = 16)	Значение p , χ^2
Возраст, годы, Me [25%; 75%]	7 [0–10]	14 [15,5–17]	5 [0–14]	< 0,001
РНК SARS-CoV-2 положительная, n (%)	13 (86,5)	8 (44,4)	12 (75)	0,006
День болезни на момент назначения АБТ, M ± SD	6,0 ± 4,8	4,4 ± 2,1	4,7 ± 2,7	0,237
Лихорадка, °C, M ± SD	37,2 ± 0,2	37,1 ± 0,3	37,3 ± 0,3	0,237
Слабость, n (%)	7 (46,7)	11 (61,1)	6 (37,5)	0,380
День болезни на момент проведения КТ легких, M ± SD	7,4 ± 5,4	6,3 ± 3,9	6,3 ± 4,3	0,321
КТ легких на момент начала лечения, n (%)				
КТ-1	10 (66,7)	14 (77,7)	10 (62,5)	0,758 (df = 4)
КТ-2	3 (20)	3 (16,7)	5 (31,3)	
КТ-3	2 (13,3)	1 (5,6)	1 (6,2)	
КТ легких на 14-й день лечения, n (%)				
КТ-0	9 (60)	5 (27,8)	7 (43,7)	0,176 (df = 2)
КТ-1	6 (40)	13 (72,2)	9 (56,3)	

АБТ – антибактериальная терапия, КТ – компьютерная томография

Для сравнения количественных признаков в трех группах одновременно использован однофакторный дисперсионный анализ, качественных – χ^2

Назначение комбинированной АБТ было обусловлено возрастом и, вероятно, сроками госпитализации.

Общая длительность кашля у детей, не получавших препараты для его лечения, составила $10,8 \pm 6,3$ дня, у получавших амброксол – $9,7 \pm 3,6$ и бромгексин – $8,3 \pm 3,1$ дня, то есть не различалась ($p = 0,540$). Однако кашель был более продолжительным у лечившихся ингаляциями: в группе пневмонии – $13,2 \pm 5,3$ против $7,6 \pm 5,0$ у не получавших ингаляции ($p < 0,001$), в группе ОРЗ – $12,9 \pm 6,3$ и $4,9 \pm 4,7$ дня соответственно ($p = 0,005$). При пневмонии кашель сохранялся более длительно, если дети получали ипратропия бромид/фенотерол ($11,9 \pm 3,6$ дня, $p = 0,043$) или ипратропия бромид/фенотерол + ИГКС ($15,4 \pm 5,9$ дня, $p < 0,001$) по сравнению с теми, кому ингаляции не были назначены.

Обсуждение

Настоящее исследование посвящено определению основных характеристик COVID-19 у детей, госпитализированных в стационар

в Московской области. Был проведен анализ 43% от всех случаев госпитализаций детей с пневмонией и 30% – с ОРЗ, вызванными SARS-CoV-2, в регионе, что позволяет считать выборку достаточно репрезентативной. В отличие от ранее опубликованных российских данных [6–8], мы включили в анализ не только детей с COVID-19, подтвержденной ПЦР-ОТ, но и детей с отрицательными результатами тестирования, поскольку известно, что диагностическая значимость ПЦР-ОТ составляет примерно 60% за счет ложноотрицательных результатов [10]. Имеются сведения о том, что у детей и подростков с умеренными симптомами этиологическое тестирование на COVID-19 чаще имеет отрицательный результат [11]. Действительно, в нашем исследовании частота положительных ответов ПЦР-ОТ составила 63,7%, хотя мы располагали достоверными сведениями о взаимосвязи вторичных случаев заболеваний детей с источником инфекции в очаге. Представляется, что такой подход отражает более объективные клинические результаты.



Другим достоинством работы мы считаем тот факт, что для диагностики пневмонии COVID-19 применялась КТ, поскольку она имеет 97% чувствительность, что играет ключевую роль для раннего подтверждения диагноза [12, 13]. Известно, что признаки поражения легких появляются у пациентов с длительностью симптомов более 3 дней и могут нарастать до 10–14-го дня [12, 13]. Такая возможность позволяет более точно дифференцировать COVID-19, протекающую с поражением легких или без такового.

Мы подтвердили международные данные о более легком течении COVID-19 у детей, чем у взрослых, редкую регистрацию у педиатрических пациентов тяжелых форм пневмонии, протекающей с дыхательной недостаточностью, и преобладание лихорадки и кашля в качестве ведущих симптомов инфекции. SARS-CoV-2 может спровоцировать тяжелое течение заболевания и смерть у ранее здоровых новорожденных и детей [14], но, вероятно, такие случаи встречаются не часто. В отличие от других авторов [2, 6, 7], мы не выявили, что пневмония и дыхательная недостаточность чаще регистрируются у детей первого года жизни или старше 12 лет. Не было установлено преимущественной госпитализации детей раннего возраста. В нашем исследовании частота поражения легких на КТ составила 56,4%, то есть была как минимум вдвое выше, чем в работах других российских авторов [7, 8]. Обнаруженные различия могут быть обусловлены взаимодействием различных факторов: динамикой развития пандемии на конкретной территории, различающимися подходами к диагностике и госпитализации, использованием рентгенографии для диагностики пневмонии или субъективной оценкой врачами рисков у детей раннего возраста.

По имеющимся сведениям, дети, у которых во время первичного инфицирования развивается тяжелая форма COVID-19, как правило, имеют отягощенный анамнез [15]. В нашем исследовании тяжелые формы были редкостью. Мы не получили доказательств повышенных рисков тяжелого течения COVID-19 у детей раннего возраста или взаимосвязи тяжелого течения COVID-19 с определенной коморбидностью. Возможно, одной из причин более легкого течения педиатрической COVID-19 служит низкая частота значимых отягощающих факторов (сердечно-сосудистых заболеваний, хронических заболеваний легких).

Ожирение, гипоксия, низкое содержание в крови лимфоцитов и высокое – С-реактивного

белка описаны как факторы риска тяжелого течения COVID-19 у детей [16]. Наша попытка обнаружить предикторы пневмонии в детском возрасте привела к определению единственного клинического признака – «лихорадки > 5 дней», который может предсказать пневмонию у ребенка с COVID-19 с умеренной прогностической ценностью: ОШ 4,55 (95% ДИ 2,1–9,9). Это может быть использовано для практической работы.

Не было также выявлено значительных изменений лабораторных маркеров тяжелого течения болезни, что отражает клиническое состояние пациентов [17], хотя лимфопения и повышенный уровень С-реактивного белка обнаруживались у пациентов с пневмонией. Рентгенологические находки были типичными [1, 18]. В 78,6% случаев пневмонии площадь «матового стекла» была минимальной (КТ-1). Отмечена быстрая обратная динамика рентгенологических параметров у детей, что служит дополнительным отличием детской пневмонии COVID-19 от пневмонии взрослых, у которых изменения на КТ сохраняются долго [18].

В нашей работе отмечен известный ранее высокий уровень очаговости педиатрической COVID-19, при этом наши результаты совпадают со сведениями одних авторов [6, 11] и превышают данные других [8]. В любом случае, в период «первой волны» пандемии дети заражались инфекцией SARS CoV-2, как правило, в семейных очагах при тесном и длительном контакте с источником инфекции. Представляется интересным, что в семьях детей, заболевших пневмонией, число случаев пневмонии у родственников превышало аналогичный показатель в семьях детей с ОРЗ.

В исследовании проведен ретроспективный анализ эффективности используемых лекарственных средств в лечении COVID-19 у детей. По-видимому, в основном назначение АБТ определялось субъективным выбором врачей в условиях новой инфекции, поскольку не обнаружено различия между клиническим состоянием пациентов, частотой критериев тяжести пневмонии и назначением того или иного антибиотика или их комбинации. Продолжительность клинических проявлений вирусного поражения легких у получавших цефалоспорины III поколения или его комбинацию с макролидами не различалась. Имеются доказательства недостаточной эффективности макролидов в лечении COVID-19 [19]. Вопрос о необходимости применения цефалоспоринов III поколения при COVID-19 остается



неопределенным. Крупный метаанализ назначения АБТ пациентам с COVID-19 на ранних этапах пандемии свидетельствовал о частом назначении макролидов и цефалоспоринов, притом что расчетная частота бактериальных коинфекций была низкой (8,6%) [20]. Недавнее исследование с применением системы мультиплексной ПЦР для быстрой диагностики респираторных инфекций показало, что у пациентов с положительным результатом на SARS-CoV-2 сопутствующие инфекции встречаются редко [21]. Именно поэтому отказ от антибактериальной терапии при неосложненной COVID-19 у детей может быть оправданным выбором. При бактериальной коинфекции в качестве препаратов первой линии следует использовать полусинтетические пенициллины, учитывая спектр бактерий, выделенных из верхних и нижних дыхательных путей при COVID-19 [21]. Важно, что одним из негативных последствий пандемии COVID-19 может быть вероятность возникновения антибиотикорезистентности из-за высокого уровня ненадлежащего применения противомикробных препаратов [22].

Продолжительность кашля у наблюдавшихся детей, получавших и не получавших амброксол или бромгексин, статистически не различалась. Они, вероятно, могут быть использованы для облегчения самочувствия пациентов при изнурительном кашле. Но ингаляции ипратропия бромидом/фенотерола, в том числе в сочетании с ИГКС, по данным нашего ретроспективного исследования, удлиняли длительность кашля при пневмонии. По некоторым сведениям, назначение ингаляционного будесонида в ранние сроки COVID-19 сокращало продолжительность лихорадки и уменьшало выраженность респираторных симптомов [23]. Однако, вероятно, в поздние сроки болезни (наблюдаемые нами пациенты были госпитализированы в среднем к концу 1-й недели болезни) их рутинное назначение неоптимально.

Исследование носит ретроспективный характер, оценка эффективности методов лечения проведена на небольшой выборке пациентов. Несмотря на эти ограничения, наши результаты могут очертить направления дальнейших научных работ, которые должны четко определить показания к назначению антибиотиков и необходимый объем терапевтических вмешательств при COVID-19 у детей в целом. Нетяжелые формы COVID-19 в детском возрасте, по-видимому, требуют лишь поддерживающего лечения.

Выводы

1. Дети инфицировались SARS-CoV-2 преимущественно в семейных очагах (75%; 95% ДИ 66,4–82,3%).
2. Основными симптомами COVID-19 у детей и подростков, госпитализированных в стационар, были лихорадка (75,8%; 95% ДИ 67,3–83,0), кашель (66,1%; 95% ДИ 57,1–74,4), слабость (38,7%; 95% ДИ 30,1–47,9) и гипоосмия (33,9; ДИ 25,6–42,9). Тяжелые формы регистрировались редко (2,4%; 0,5–6,9). Средний возраст госпитализированных составил 8 (7,4–9,6) лет с равномерным возрастным распределением.
3. Частота пневмонии была равна 56,4% с преобладанием минимальной площади поражения легких на КТ (78,6%) без статистических различий по возрасту.
4. Критерии тяжести пневмонии и продолжительность клинических проявлений у получавших цефалоспорин III поколения или его комбинацию с макролидами не различались. Длительность кашля у получавших ингаляции ипратропия бромидом/фенотерола, в том числе в сочетании с будесонидом, была больше, чем у лечившихся без ингаляций.
5. Признак «лихорадка > 5 дней» может предсказывать пневмонию у ребенка с COVID-19 с умеренной точностью: ОШ 4,55 (2,1–9,9), чувствительность 61,4%, специфичность 74,1%. ©

Дополнительная информация

Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Конфликт интересов

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

Участие авторов

Е.Р. Мескина – концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация полученных данных, редактирование текста;

М.К. Хадисова – формирование групп пациентов, набор клинического материала, создание базы данных, анализ результатов, статистическая обработка данных, написание текста; Т.В. Сташко – набор клинического материала, формирование групп пациентов, создание базы данных, статистический анализ результатов; А.В. Бицуева – формирование групп пациентов, набор клинического материала. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.



Литература / References

- Badal S, Thapa Bajgain K, Badal S, Thapa R, Bajgain BB, Santana MJ. Prevalence, clinical characteristics, and outcomes of pediatric COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Virol.* 2021;135:104715. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104715.
- Yasuhara J, Kuno T, Takagi H, Sumitomo N. Clinical characteristics of COVID-19 in children: A systematic review. *Pediatr Pulmonol.* 2020;55(10):2565–2575. doi: 10.1002/ppul.24991.
- García-Salido A, de Carlos Vicente JC, Belda Hofheinz S, Balcells Ramírez J, Slöcker Barrio M, Leóz Gordillo I, Hernández Yuste A, Guitart Pardellans C, Cuervas-Mons Tejedor M, Huidobro Labarga B, Vázquez Martínez JL, Gutiérrez Jimeno M, Oulego-Erróz I, Trastoy Quintela J, Medina Monzón C, Medina Ramos L, Holanda Peña MS, Gil-Antón J, Sorribes Ortí C, Flores González JC, Hernández Palomo RM, Sánchez Ganfornina I, Fernández Romero E, García-Besteiro M, López-Herce Cid J, González Cortés R; Spanish Pediatric Intensive Care Society working group on SARS-CoV-2 infection. Severe manifestations of SARS-CoV-2 in children and adolescents: from COVID-19 pneumonia to multisystem inflammatory syndrome: a multicentre study in pediatric intensive care units in Spain. *Crit Care.* 2020;24(1):666. doi: 10.1186/s13054-020-03332-4.
- Castagnoli R, Votto M, Licari A, Brambilla I, Bruno R, Perlini S, Rovida F, Baldanti F, Marseglia GL. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infection in Children and Adolescents: A Systematic Review. *JAMA Pediatr.* 2020;174(9):882–889. doi: 10.1001/jamapediatrics.2020.1467.
- Toba N, Gupta S, Ali AY, ElSaban M, Khamis AH, Ho SB, Popatia R. COVID-19 under 19: A meta-analysis. *Pediatr Pulmonol.* 2021;56(6):1332–1341. doi: 10.1002/ppul.25312.
- Горелов АВ, Николаева СВ, Акимкин ВГ. Новая коронавирусная инфекция COVID-19: особенности течения у детей в Российской Федерации. *Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского.* 2020;99(6):57–62. doi: 10.24110/0031-403X-2020-99-6-57-62. [Gorelov AV, Nikolaeva SV, Akimkin VG. New coronavirus infection COVID-19: features of the course in children in the Russian Federation]. *Pediatria. Journal named after G.N. Speransky.* 2020;99(6):57–62. Russian. doi: 10.24110/0031-403X-2020-99-6-57-62.]
- Краснова ЕИ, Карпович ГС, Комиссарова ТВ, Извекова ИЯ, Михайленко МА, Серова ЮС, Шестаков АЕ. Особенности течения COVID-19 у детей различных возрастных групп. *Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского.* 2020;99(6):141–147. doi: 10.24110/0031-403X-2020-99-6-141-147. [Krasnova EI, Karpovich GS, Komissarova TV, Izvekova II, Mihajlenko MA, Serova YuS, Shestakov AE. [Peculiarities of COVID-19 in children of different age groups]. *Pediatria. Journal named after G.N. Speransky.* 2020;99(6):141–147. doi: 10.24110/0031-403X-2020-99-6-141-147.]
- Иванова РА, Скрипченко НВ, Вишневецкая ТВ, Исанкина ЛН, Прудова ЛА, Пиратова ОП, Миненок ЮА, Кациева ЛЯ, Майзельс МЛ, Шахмаева МА, Старцева ЮВ, Гайдук МК. COVID-19 у детей в мегаполисе: клинико-эпидемиологические и терапевтические аспекты. *Практическая медицина.* 2020;18(6):119–127. doi: 10.32000/2072-1757-2020-6-119-127. [Ivanova RA, Skripchenko NV, Vishnevskaya TV, Isankina LN, Prudova LA, Piratova OP, Minenok YuA, Katsieva LY, Mayzels MA, Shakmaeva MA, Startseva YuV, Gaiduk MK. [COVID-19 in children in a megalopolis: clinical, epidemiological and therapeutic aspects]. *Practical Medicine.* 2020;18(6):119–127. doi: 10.32000/2072-1757-2020-6-119-127.]
- Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Методические рекомендации МР 3.1.0170-20 с изменениями № 1 «Эпидемиология и профилактика COVID-19» [Интернет]. 15.05.2020. Доступно на: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=14471. [Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing. Methodical recommendations MR 3.1.0170-20 with changes No. 1 "Epidemiology and prevention of COVID-19" [Internet]. Available from: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=14471.]
- Hernández-Huerta MT, Pérez-Campos Mayoral L, Sánchez Navarro LM, Mayoral-Andrade G, Pérez-Campos Mayoral E, Zenteno E, Pérez-Campos E. Should RT-PCR be considered a gold standard in the diagnosis of COVID-19? *J Med Virol.* 2021;93(1):137–138. doi: 10.1002/jmv.26228.
- Murillo-Zamora E, Aguilar-Sollano F, Delgado-Enciso I, Hernandez-Suarez CM. Predictors of laboratory-positive COVID-19 in children and teenagers. *Public Health.* 2020;189:153–157. doi: 10.1016/j.puhe.2020.10.012.
- Ai T, Yang Z, Hou H, Zhan C, Chen C, Lv W, Tao Q, Sun Z, Xia L. Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. *Radiology.* 2020;296(2):E32–E40. doi: 10.1148/radiol.2020200642.
- Fang Y, Zhang H, Xie J, Lin M, Ying L, Pang P, Ji W. Sensitivity of Chest CT for COVID-19: Comparison to RT-PCR. *Radiology.* 2020;296(2):E115–E117. doi: 10.1148/radiol.2020200432.
- Zimmermann P, Goetzing F, Ritz N. Additional Concerns Regarding Children With Coronavirus Disease 2019. *JAMA Pediatr.* 2020;174(12):1216. doi: 10.1001/jamapediatrics.2020.2916.
- Henderson LA, Canna SW, Friedman KG, Gorelik M, Lapidus SK, Bassiri H, Behrens EM, Ferris A, Kernan KF, Schultet GS, Seo P, Son MBF, Tremoulet AH, Yeung RSM, Mudano AS, Turner AS, Karp DR, Mehta JJ. American College of Rheumatology Clinical Guidance for Multisystem Inflammatory Syndrome in Children Associated With SARS-CoV-2 and Hyperinflammation in Pediatric COVID-19: Version 2. *Arthritis Rheumatol.* 2021;73(4):e13–e29. doi: 10.1002/art.41616.
- Fernandes DM, Oliveira CR, Guerguis S, Eisenberg R, Choi J, Kim M, Abdelhemid A, Agha R, Agarwal S, Aschner JL, Avner JR, Ballance C, Bock J, Bhavsar SM, Campbell M, Clouser KN, Gesner M, Goldman DL, Hammerschlag MR, Hymes S, Howard A, Jung HJ, Kohlhoff S, Kojagholianian T, Lewis R, Nachman S, Nagathan S, Paintsil E, Pall H, Sy S, Wadowski S, Zirinsky E, Cabana MD, Herold BC; Tri-State Pediatric COVID-19 Research Consortium. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Clinical Syndromes and Predictors of Disease Severity in Hospitalized Children and Youth. *J Pediatr.* 2021;230:23–31.e10. doi: 10.1016/j.jpeds.2020.11.016.
- Liu Y, Yang Y, Zhang C, Huang F, Wang F, Yuan J, Wang Z, Li J, Li J, Feng C, Zhang Z, Wang L, Peng L, Chen L, Qin Y, Zhao D, Tan S, Yin L, Xu J, Zhou C, Jiang C, Liu L. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. *Sci China Life Sci.* 2020;63(3):364–374. doi: 10.1007/s11427-020-1643-8.
- Hani C, Trieu NH, Saab I, Dangeard S, Ben-nani S, Chassagnon G, Revel MP. COVID-19 pneumonia: A review of typical CT findings and differential diagnosis. *Diagn Interv Imaging.* 2020;101(5):263–268. doi: 10.1016/j.diii.2020.03.014.
- Verdejo C, Vergara-Merino L, Meza N, Pérez-Bracchiglione J, Carvajal-Juliá N, Madrid E, Rada G, Rojas Reyes MX. Macrolides for the treatment of COVID-19: a living, systematic review. *Medwave.* 2020;20(11):e8074. Spanish, English. doi: 10.5867/medwave.2020.11.8073.
- Langford BJ, So M, Raybardhan S, Leung V, Soucy JR, Westwood D, Daneman N, MacFadden DR. Antibiotic prescribing in patients with COVID-19: rapid review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27(4):520–531. doi: 10.1016/j.cmi.2020.12.018.



21. Calcagno A, Ghisetti V, Burdino E, Trunfio M, Alice T, Boglione L, Bonora S, Di Perri G. Co-infection with other respiratory pathogens in COVID-19 patients. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27(2): 297–298. doi: 10.1016/j.cmi.2020.08.012.
22. Getahun H, Smith I, Trivedi K, Paulin S, Balkhy HH. Tackling antimicrobial resistance

in the COVID-19 pandemic. *Bull World Health Organ.* 2020;98(7):442–442A. doi: 10.2471/BLT.20.268573.

23. Ramakrishnan S, Nicolau DV Jr, Langford B, Mahdi M, Jeffers H, Mwasuku C, Krassowska K, Fox R, Binnian I, Glover V, Bright S, Butler C, Cane JL, Halner A, Matthews PC, Donnelly LE,

Simpson JL, Baker JR, Fadai NT, Peterson S, Bengtsson T, Barnes PJ, Russell REK, Bafadhel M. Inhaled budesonide in the treatment of early COVID-19 (STOIC): a phase 2, open-label, randomised controlled trial. *Lancet Respir Med.* 2021:S2213-2600(21)00160-0. doi: 10.1016/S2213-2600(21)00160-0.

New coronavirus infection in children in the Moscow region: clinical, epidemiological and treatment aspects

E.R. Meskina¹ • M.K. Khadisova¹ • T.V. Stashko² • A.V. Bitsueva³

Aim: To assess clinical and epidemiological characteristics, as well as treatment results in COVID-19 pediatric patients hospitalized to the Department of infectious disease in the Moscow region.

Materials and methods: We retrospectively analyzed medical records of 124 pediatric patients aged from 1 month to 17 years with confirmed (63.7%) and highly probable (proven epidemiological association with the infection source) COVID-19 infection. The children were hospitalized from March 25, 2020 to August 11, 2020. Among patients that were hospitalized during this time period, 43% had pneumonia and 30% had acute respiratory disorders. All cases of pneumonia were confirmed by computed tomography. The children were treated according to the standard Russian guidelines.

Results: The children had been infected with SARS-CoV-2 mostly from family members (75%; 95% confidence interval (CI) 66.4–82.3). In the families of the children with pneumonia, the number of pneumonia cases in their relatives was higher than in the families of the children with acute respiratory infections (1.7 ± 1.0 vs. 1.1 ± 0.5 respectively; $p < 0.001$). The mean age of the hospitalized children was 8 years (7.4–9.6), with an even age distribution. The main COVID-19 signs and symptoms were as follows: fever (75.8%; 95% CI 67.3–83.0), cough (66.1%; 95% CI 57.1–74.4), fatigues (38.7%; 95% CI 30.1–47.9), and hyposmia (33.9%; 95% CI 25.6–42.9). The severe disease course was rare (2.4%; 95% CI 0.5–6.9). The rates of positive reverse transcriptase polymerase chain reaction tests for SARS-CoV-2 were rapidly

decreased at repeated tests: at day 3, 63.7% of the tests were positive, at day 7, 21.8% and at day 14, 5.6% ($p < 0.001$). The prevalence of pneumonia was 56.4% without any age differences, with mostly minimal areas of lung abnormalities (78.6%). The severity of pneumonia and duration of clinical manifestations in the patients treated with a III generation cephalosporin or its combination with a macrolide were similar. Cough duration in those, who were treated with ipratropium bromide/fenoterol inhalations including their combination with budesonide, was higher than in those who did not use inhalation treatment. Pyrexia of > 5 days duration can be a predictor of pneumonia in a pediatric patient with COVID-19 (odds ratio 4.55 (2.1–9.9), sensitivity 61.4%, specificity 74.1%).

Conclusion: The results obtained are important to develop further treatment strategies for children with COVID-19.

Key words: children, new coronavirus infection, COVID-19, SARS-CoV-2, pneumonia, epidemiology, risk factors, antibacterial treatment, inhalations

For citation: Meskina ER, Khadisova MK, Stashko TV, Bitsueva AV. New coronavirus infection in children in the Moscow region: clinical, epidemiological and treatment aspects. *Almanac of Clinical Medicine.* 2021;49(3):207–218. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-032.

Received 1 May 2021; revised 10 June 2021; accepted 15 June 2021; published online 6 July 2021

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest.

Authors' contributions

E.R. Meskina, the study concept and design, data analysis and interpretation, text editing; M.K. Khadisova, recruitment of the patient groups, clinical data collection, database creation, analysis of the results; statistical analysis, text writing; T.V. Stashko, clinical data collection, recruitment of the patient groups, database creation, statistical analysis; A.V. Bitsueva, patient recruitment, clinical data collection. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Elena R. Meskina – MD, PhD, Head of Department of Children's Infectious Disease¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1960-6868>

✉ 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation. Tel.: +7 (916) 121 61 72.

E-mail: meskinaelena@rambler.ru

Marima K. Khadisova – MD, PhD, Research Fellow, Department of Children's Infectious Disease¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8293-6643>.

Tel.: +7 (926) 264 93 30.

E-mail: murzabekova.marina.1979@mail.ru

Tatiana V. Stashko – Infectious Diseases Physician²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9654-9863>.

Tel.: +7 (985) 757 75 33.

E-mail: stashko.tatyana@mail.ru

Aida V. Bitsueva – Head of Department of Children's Infectious Disease³

¹ Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation

² Domodedovo Central City Hospital; 9 Pirogova ul., Domodedovo, 142000, Russian Federation

³ Krasnogorsk City Hospital No. 2; 4 Karbysheva ul., Krasnogorsk, 143400, Russian Federation



Клиническое наблюдение

Клиническое наблюдение пациента с муковисцидозом с патогенным вариантом N1303K в генотипе с исследованием функции канала CFTR с помощью метода определения разницы кишечных потенциалов и форсколинового теста на кишечных органоидах

Кондратьева Е.И.¹ • Одинаева Н.Д.² • Шерман В.Д.¹ • Ефремова А.С.¹ • Мельяновская Ю.Л.¹ • Булатенко Н.В.¹ • Бухарова Т.Б.¹ • Гольдштейн Д.В.¹

Кондратьева Елена Ивановна – д-р мед. наук, профессор, руководитель научно-клинического отдела муковисцидоза, заведующая кафедрой генетики болезней дыхательной системы Института высшего и дополнительного профессионального образования, врач-педиатр отделения муковисцидоза¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6395-0407>
✉ 115522, г. Москва, ул. Москворечье, 1, Российская Федерация. E-mail: elenafpk@mail.ru

Одинаева Нисо Джумаевна – д-р мед. наук, профессор, главный врач²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5214-8072>. E-mail: info@mokdcd.org

Шерман Виктория Давидовна – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. научно-клинического отдела муковисцидоза, доцент кафедры генетики болезней дыхательной системы Института высшего и дополнительного профессионального образования¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2206-1528>. E-mail: tovika@yandex.ru

Ефремова Анна Сергеевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории генетики стволовых клеток¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5035-6396>. E-mail: anna.efremova.83@gmail.com

Мельяновская Юлия Леонидовна – науч. сотр. научно-клинического отдела муковисцидоза¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8814-5532>. E-mail: melcat@mail.ru

Булатенко Наталья Вадимовна – мл. науч. сотр. лаборатории генетики стволовых клеток¹. E-mail: bnv695@gmail.com

Бухарова Татьяна Борисовна – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории генетики стволовых клеток¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0481-256X>. E-mail: bukharova-rmt@yandex.ru

Гольдштейн Дмитрий Вадимович – д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией генетики стволовых клеток¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2438-1605>. E-mail: dvgoldrm7@gmail.com

Обоснование. Муковисцидоз – распространенное моногенное заболевание, обусловленное патогенными вариантами нуклеотидной последовательности гена *Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR)* (ABCC7). Ген *CFTR* содержит 27 экзонов и расположен в регионе 31.1 длинного плеча 7-й хромосомы (7q31.1). Использование метода секвенирования привело к накоплению новых сведений о разнообразии генетических вариантов при муковисцидозе. Эти сведения важны в свете подходов к разработке таргетной терапии заболевания, учитывающей генотип конкретного пациента. Для генетического варианта II класса N1303K таргетная терапия не разработана. Сопоставления функции хлорного канала при данной мутации с функцией при патогенных вариантах II класса, таких как F508del, не проводилось.

Материал и методы. Проанализирована история болезни пациента с муковисцидозом с генотипом CFTR F508del/N1303K, получены ректальные биоптаты. Проведено определение разницы кишечных потенциалов (ОРКП) и форсколиновый тест на кишечных органоидах, полученные результаты сопоставлены с клиническими данными.

Результаты. Данные ОРКП подтверждают, что генетический вариант N1303K является «тяжелым» и приводит к утрате рабочего белка CFTR, что соответствует клинической картине. Средняя плотность тока короткого замыкания (Δ ISC) в ответ на введение амилорида (стимуляция натриевых каналов) составила $-39 \pm 1,22 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, форсколина (стимуляция хлорных каналов) – $3,83 \pm 1,43 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, карбахола – $6 \pm 2,47 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, гистамина – $8,5 \pm 3,02 \mu\text{A}/\text{cm}^2$.

Результаты форсколинового теста свидетельствуют о том, что потенциатор VX-770 и корректор VX-809 оказывают слабое влияние на стимуляцию форсколином органоидов при генетическом варианте N1303K: отмечено незначительное набухание органоидов – примерно на 20% по сравнению с исходным размером.

Заключение. Использование метода ОРКП и форсколинового теста на кишечных органоидах позволяет количественно оценить работу белка CFTR и *in vitro* определить эффективность таргетной терапии у пациентов с муковисцидозом. CFTR-модуляторы неэффективны при наличии мутации N1303K в компаунд-гетерозиготном состоянии с F508del, несмотря на то что оба патогенных варианта относятся ко II классу.

Ключевые слова: муковисцидоз, генетические варианты CFTR, определение разности кишечных потенциалов, кишечные органоиды, форсколиновый тест, таргетная терапия

Для цитирования: Кондратьева ЕИ, Одинаева НД, Шерман ВД, Ефремова АС, Мельяновская ЮЛ, Булатенко НВ, Бухарова ТБ, Гольдштейн ДВ. Клиническое наблюдение пациента с муковисцидозом с патогенным вариантом N1303K в генотипе с исследованием функции канала CFTR с помощью метода определения разницы кишечных потенциалов и форсколинового теста на кишечных органоидах. Альманах клинической медицины. 2021;49(3):219–225. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-019.

Поступила 25.03.2021; доработана 11.04.2021; принята к публикации 12.04.2021; опубликована онлайн 23.04.2021

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»; 115522, г. Москва, ул. Москворечье, 1, Российская Федерация

² ГБУЗ МО «Детский клинический многопрофильный центр Московской области»; 115093, г. Москва, ул. Большая Серпуховская, 62, Российская Федерация

Муковисцидоз – распространенное моногенное заболевание, обусловленное патогенными вариантами нуклеотидной последовательности (ранее называемыми мутациями) гена *Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR)* (ABCC7). Ген *CFTR* содержит 27 экзонов и расположен в регионе 31.1 длинного плеча 7-й хромосомы (7q31.1) [1]. В настоящее время описано более 2000 вариантов гена *CFTR*, при этом на веб-сайте международного проекта CFTR2 (Clinical and Functional Translation of CFTR, <https://cftr2.org>) представлено 360 клинически значимых генетических вариантов *CFTR*. В зависимости от влияния на функцию белка *CFTR* их подразделяют на 7 основных классов: патогенные варианты I и VII классов препятствуют синтезу белка *CFTR*, мутации II класса вызывают нарушение фолдинга белка и снижение его количества, при остальных классах мутаций происходит формирование нефункционального *CFTR*, нарушается его транспорт к апикальной мембране клетки или снижается проводимость анионов хлора [2, 3].

Использование метода секвенирования привело к накоплению новых сведений о разнообразии генетических вариантов гена при муковисцидозе. Эти сведения важны в свете подходов к разработке таргетной терапии муковисцидоза, учитывающей генотип конкретного пациента. Препараты, действие которых направлено на восстановление функции белка *CFTR*, называются *CFTR*-модуляторами [4]. В связи с многообразием генетических вариантов *CFTR* и их последствий разработка этиотропной и патогенетической терапии, направленной на восстановление функции гена, изначально была сложной задачей и шла по нескольким направлениям.

В настоящее время в клинической практике применяют *CFTR*-модуляторы двух видов: потенциаторы *CFTR* (восстанавливают функцию ионного канала) и корректоры *CFTR* (улучшают фолдинг). Разрабатываются новые группы препаратов с иными механизмами действия: усилители – препараты со свойствами модуляторов и потенциаторов (увеличивают количество белка *CFTR*), стабилизаторы (улучшают стабильность *CFTR* и снижают деградацию).

Мишенью потенциаторов выступают молекулы мутантного белка *CFTR*, располагающиеся на апикальной мембране. Действие потенциаторов направлено на восстановление (активацию) функции ионного канала, образованного мутантным белком *CFTR* (мутации III–IV классов). Первым таким средством стал

ивакафтор (препарат Калидеко (Kalydeco), VX-770), разработанный биотехнологической компанией Vertex Pharmaceuticals (США) и одобренный Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA) в 2012 г. В настоящее время список генетических вариантов в гене *CFTR*, которые отвечают на введение ивакафтора, расширен до 97 мутаций [5], и препарат применяется у детей, достигших 4-месячного возраста.

Корректоры – лекарственные средства, позволяющие мутантному белку *CFTR* пройти через систему внутриклеточного контроля качества и занять правильное расположение на апикальной мембране (мутации II класса). Однако действия одного корректора (VX-809) при генетических вариантах II класса оказалось недостаточно.

Первым модулятором для пациентов, гомозиготных по F508del в гене *CFTR*, стал комбинированный препарат ивакафтора (200 мг) и лумакафтора (125 мг) в лекарственной форме таблеток (препарат Оркамби (Orkambi), VX-809 + VX-770), также разработанный Vertex Pharmaceuticals и одобренный FDA в июне 2015 г. В Российской Федерации препарат Оркамби зарегистрирован в декабре 2020 г. Лекарственное средство предназначено для лечения пациентов старше 2 лет. Препарат оказывает двойное действие: лумакафтор улучшает конформационную стабильность F508del-CFTR, в результате чего улучшаются процессинг и миграция зрелого белка к поверхности клеток, в то время как ивакафтор служит активатором *CFTR*, облегчая транспорт ионов хлора за счет улучшения проводимости белка *CFTR* на клеточной поверхности [4, 6].

Для генетического варианта II класса N1303K таргетная терапия не разработана. Сопоставления функции хлорного канала при данной мутации с функцией при мутациях II класса, таких как F508del, не проводилось.

Целями нашей работы стали описание клинической картины муковисцидоза при варианте N1303K в генотипе и исследование функции канала *CFTR* с помощью метода определения разницы кишечных потенциалов (ОРКП) и форсколинового теста на кишечных органоидах с оценкой эффективности таргетных препаратов.

Материал и методы

Обследован пациент: девочка 2011 г.р. с диагнозом «муковисцидоз, преимущественно легочная форма, генотип c.1521_1523del p.Phe508del (F508del)/c.3909C>G p.(Asn1303Lys) (N1303K)». Диагноз устанавливали согласно клиническим



рекомендациям [7]. Пациентка наблюдается в ГБУЗ МО «Детский клинический многопрофильный центр Московской области».

Метод определения разницы кишечных потенциалов. Исследование по методу ОРКП проводили в научно-клиническом отделе муковисцидоза ФГБНУ «МГНЦ» (заведующая – проф. Е.И. Кондратьева) согласно европейским стандартным операционным процедурам V2.7_26.10.11 [8] по следующему алгоритму. На первом этапе выполняли калибровку каждой рециркуляционной камеры в отдельности на приборе VCC MC 8B421 (Physiologic Instruments, США). Учитывались физические факторы, такие как наличие воздуха в контактных наконечниках с агаром и сопротивление жидкости, а также факторы окружающей среды: отсутствие вибраций вблизи оборудования, случайные контакты с электродами, отсутствие посторонних работающих приборов в кабинете. На втором этапе, после калибровки прибора, в камеру помещали ректальный биопсийный материал. Забор биоптатов проводился с использованием оборудования Olympus Disposable EndoTherapy EndoJaw Biopsy forceps (модель #FB-23OU) согласно инструкции. Размер биоптата составлял 3–5 мм. Биопсийный материал помещали в специальный слайдер, который далее располагали в камере. Камеры заполняли раствором буфера Meyer. Буфер готовили непосредственно перед исследованием, в него входило 105 мМ NaCl, 4,7 мМ KCl, 1,3 мМ CaCl₂ × 6H₂O, 20,2 мМ NaHCO₃, 0,4 мМ NaH₂PO₄ × H₂O, 0,3 мМ Na₂HPO₄, 1,0 мМ MgCl₂ × 6H₂O, 10 мМ HEPES, 10 мМ D-глюкозы, а также 0,01 мМ индометацина. Регистрация показаний начиналась с записи базального тока короткого замыкания (µА/см²) (стадия пре-амилорид). На третьем этапе добавляли стимуляторы в следующем порядке: амилорид (натриевый канал), форсколин/IBMX (хлорный канал), генистеин (хлорный канал), карбахол (кальциевый канал), DIDS (4,4'-диизотиоциано-2,2'-стильбен-дисульфоновая кислота) (анионный транспорт), и в завершение – гистамин (кальциевый канал). Исследование заканчивали после записи базального тока короткого замыкания. Референсные значения метода ОРКП определены нами ранее при исследовании здоровых добровольцев (контроль, n = 10) и пациентов с муковисцидозом, гомозиготных по F508del (группа сравнения – F508del/F508del, n = 3) [9].

Форсколиновый тест на кишечных органоидах. Исследование остаточной функциональной активности канала CFTR и влияния CFTR-модуляторов проводили при помощи

форсколинового теста на культуре кишечных органоидов, полученной из ректальных биоптатов пациента, в лаборатории генетики стволовых клеток ФГБНУ «МГНЦ» (заведующий – проф. Д.В. Гольдштейн). Набухание органоидов при обработке форсколином отражает функциональное состояние белка CFTR. При получении культур органоидов и выполнении форсколинового теста за основу были взяты протоколы, разработанные под руководством J.M. Beekman [10–13]. Метод получения кишечных органоидов из ректальных биоптатов в ФГБНУ «МГНЦ» был подробно описан ранее в работе [14]. Забор биологического материала пациентки выполняли после добровольного подписания ее законными представителями информированного согласия.

Из ректальных биоптатов изолировали отдельные крипты, для чего проводили инкубацию с раствором 10 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (Thermo Fisher Scientific, США). Крипты погружали в Матригель (Corning, США) и высевали в 24-луночные планшеты. После полимеризации Матригеля добавляли ростовую среду (состав среды указан в работах [12, 14]). Пересев органоидов осуществляли раз в 7 дней путем механического разрушения крупных почкующихся структур на мелкие фрагменты. Для проведения форсколинового теста органоиды высевали в 96-луночные планшеты. Через 24 часа органоиды окрашивали Calcein AM (Biotium) и выполняли стимуляцию форсколином в концентрациях 0,8 и 5 мкМ. Обработка продолжалась в течение 60 минут. На определенных временных точках (0, 20, 40 и 60 минут) проводили съемку «фиксированных» полей с использованием флуоресцентного микроскопа Observer D1 (Zeiss, Германия). VX-809 (3 мкМ; Selleckchem, США) добавляли на этапе посева органоидов, а VX-770 (3 мкМ; Selleckchem, США) – одновременно с форсколином. Количественный анализ набухания органоидов выполняли при помощи программы ImageJ. При ответах ниже, чем 60–70%, терапия таргетными препаратами не может быть рекомендована пациентам, поскольку их применение не приведет к видимому терапевтическому эффекту.

Клиническое наблюдение

Пациент – девочка 2011 г.р. Диагноз: муковисцидоз, смешанная форма (E 84.8), тяжелое течение. Хронический гнойный обструктивный бронхит. Дыхательная недостаточность 0–1-й степени. Двусторонние цилиндрические бронхоэктазы (S8 справа, средней доли, S5–6 слева). Хроническая панкреатическая недостаточность тяжелой степени. Белково-энергетическая

Показатели плотности тока короткого замыкания (Δ ISC) при введении стимуляторов у пациентки, несущей в генотипе вариант N1303K

Δ ISC, μ A/ cm^2	Амилорид	Форсколин	Генистеин	Карбахол	DIDS	Гистамин
Биоптат № 1	-40	5	0	10	0	13
Биоптат № 2	-37	1,5	0	4,5	0	8
Биоптат № 3	-40	5	0	3,5	0	4,5
Средние значения больной*	$-39 \pm 1,22$	$3,83 \pm 1,43$	0	$6 \pm 2,47$	0	$8,5 \pm 3,02$
Референсные значения больных с F508del/F508del [9]*	$-18,39 \pm 5,62$	$3,06 \pm 0,89$	$1,83 \pm 0,35$	–	$1,83 \pm 0,35$	$21,5 \pm 5,46$
Референсные значения здоровых пациентов [9]*	$-8,98 \pm 3,42$	$25,78 \pm 4,41$	$2 \pm 0,29$	$117,44 \pm 4,32$	$1,8 \pm 0,26$	$101,68 \pm 10,99$

*Данные представлены в виде среднего арифметического значения и его ошибки ($M \pm m$)

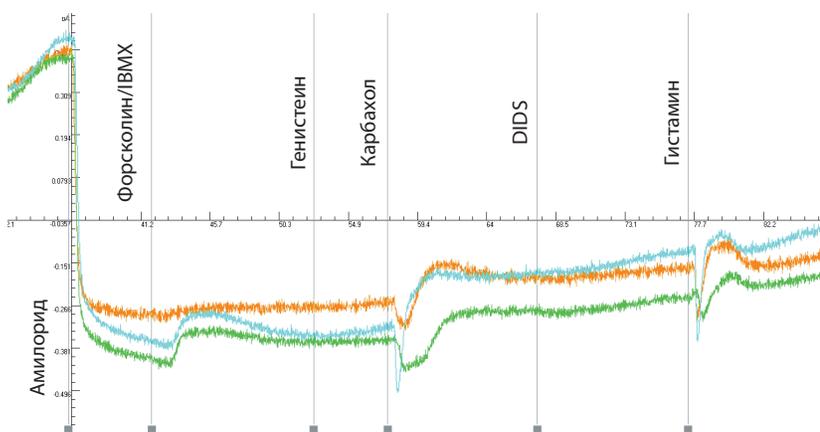


Рис. 1. Метод определения разницы кишечных потенциалов. Пациентка с генотипом N1303K/F508del. При введении амилорида происходило снижение тока короткого замыкания (Δ ISC) и отсутствие ответа на форсколин/IBMX, в ответ на добавление карбахола и гистамина наблюдалось изменение Δ ISC в отрицательную сторону

недостаточность. Гипоплазия желчного пузыря. Дискинезия желчевыводящих путей. Хронический пансинусит. Микробиологический диагноз: хроническая синегнойная инфекция. Генотип: F508del/N1303K.

Диагноз муковисцидоза установлен в возрасте 3 месяцев на основании следующих факторов:

- положительного неонатального скрининга на муковисцидоз;
- положительного результата потовой пробы на аппарате «Нанодакт» (89 ммоль/л при норме до 50 ммоль/л);
- характерной клинической картины (обструктивный бронхит, ателектаз верхней доли левого легкого, стеаторея, синдром электролитных нарушений).

Течение заболевания с рождения тяжелое. На первом году жизни перенесла псевдосиндром Барттера, сопровождавшийся развитием метаболического алкалоза (лечение в условиях стационара), ателектаз верхней доли правого легкого. В течение 5 лет сохранялась

потребность в дополнительном назначении электролитов.

Кишечный синдром не удавалось полностью скорректировать, несмотря на высокие дозы заместительной ферментной терапии (расчет дозы исходя из 3000 Ед липазы на 1 г жира в пище), коррекцию гиперацидных состояний. Периодически развивается его декомпенсация в виде выраженной стеатореи.

С трехлетнего возраста отмечается хронический рост синегнойной палочки, с 2016 г. – мукоидный морфотип. Обострения наблюдаются несколько раз в год на фоне острых респираторных инфекций, протекают с увеличением объема мокроты, снижением аппетита, повышением утомляемости.

Проводится терапия: дополнительное высококалорийное питание ежедневно в виде высококалорийных смесей и коктейлей; ферментотерапия – панкреатин 10 тыс. (48 капс./сут); муколитическая терапия (дорназа-альфа, NaCl 7% с гиалуроновой кислотой, ацетилцистеин); бронхолитическая терапия; ингаляции противосинегнойных антибиотиков – тобрамицин и колистиметат натрия, плановые курсы внутривенной антибактериальной терапии, азитромицин в субингибирующих дозировках с противовоспалительной целью; терапия полипозного пансинусита; витаминотерапия; холеретическая терапия; кинезитерапия.

В связи с тем что N1303K, так же как и F508del, относится ко II классу мутаций гена CFTR, были проведены функциональные тесты для определения активности канала CFTR у ребенка с муковисцидозом.

Пациентке было выполнено исследование методом ОРКП (таблица, рис. 1), получены следующие результаты: средняя плотность тока короткого замыкания (Δ ISC) в ответ на введение амилорида (стимуляция натриевых каналов) составила $-39 \pm 1,22 \mu\text{A}/\text{cm}^2$. Среднее изменение Δ ISC в ответ на введение форсколина (стимуляция хлорных каналов) равнялось $3,83 \pm 1,43 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, что свидетельствует об отсутствии функции хлорного

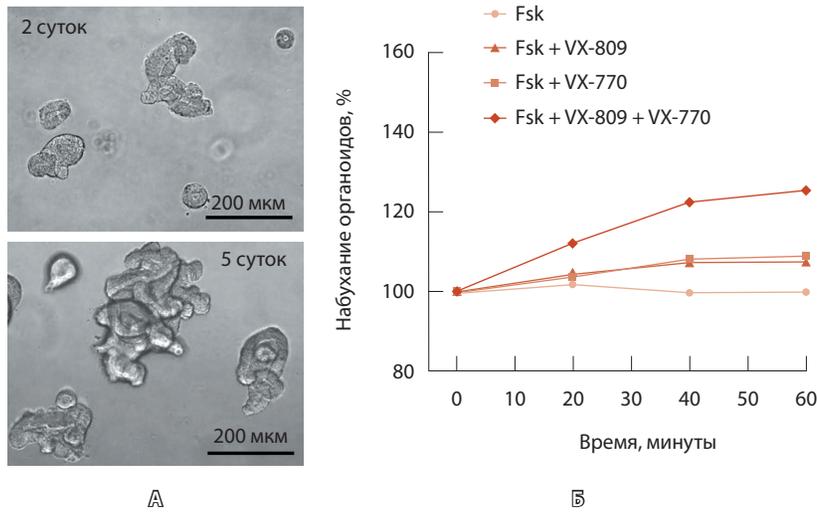


Рис. 2. Оценка функциональной активности канала CFTR при генотипе N1303K/F508del на кишечных органоидах: **А** – морфологические особенности N1303K/F508del культуры органоидов на разных сроках культивирования, **Б** – количественный анализ остаточной активности канала CFTR (ответ на форсколин, Fsk) и действия таргетных препаратов (потенциатора VX-770 и корректора VX-809); 100% – площадь органоидов до стимуляции форсколином

канала. В ответ на введение карбахола Δ ISC изменилась в отрицательную сторону и в среднем составила $6 \pm 2,47 \mu\text{A}/\text{cm}^2$. В ответ на введение гистамина Δ ISC также изменилась в отрицательную сторону, что отражает вход ионов калия в клетки. При этом плотность тока в среднем была равна $8,5 \pm 3,02 \mu\text{A}/\text{cm}^2$.

Для культуры N1303K/F508del органоидов были характерны морфологические признаки утраты функционального канала CFTR – редуцированный люмен, толстые стенки и несферическая форма (рис. 2А). N1303K/F508del органоиды не отвечали на стимуляцию форсколином в высокой концентрации (5 мкМ). Таргетные препараты практически не оказали влияния на активность CFTR. Незначительное набухание органоидов – примерно на 20% по сравнению с исходным размером – отмечалось только при совместной аппликации VX-809 и VX-770 (рис. 2Б).

Обсуждение

Генетический вариант N1303K, с.3909C>G, р.(Asn1303Lys) представляет собой замену цитозина на гуанин в положении 3909 в 24-м экзоне. Вариант находится на 9-м месте в Регистре больных муковисцидозом Российской Федерации, его аллельная частота составляет 1,55% [15]. Он относится ко II классу. В Европейском регистре больных муковисцидозом данный вариант занимает 3-е место, аллельная частота составляет 2,12% [16]. Вариант описан в международных базах данных.

С помощью методов ОРКП и кишечных органоидов было показано, что вариант гена CFTR N1303K является патогенным, «тяжелым» и приводит к утрате рабочего белка CFTR в большей степени, чем у пациентов с генотипом F508del/F508del (II класс мутаций). Изменение Δ ISC на амилорид у пациентки с вариантом N1303K было более выраженным, чем в группах F508del/F508del и контрольной. Это означает, что в данном случае натриевый канал работает активнее, чем в других группах (скорее всего, это носит компенсаторный характер). Ответ (изменение Δ ISC) на добавление форсколина был ниже, чем у больных с F508del/F508del и здоровых пациентов, соответственно, функция хлорного канала оказалась снижена больше, чем у пациентов, гомозиготных по генотипу F508del/F508del. Ответ на гистамин также был ниже, чем в группах контроля и сравнения. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что функция кальциевых каналов у пациентки с вариантом N1303K в генотипе снижена.

Таким образом, потенциатор VX-770 и корректор VX-809 оказывают слабое действие на набухание органоидов при стимуляции форсколином. J.F. Dekkers и соавт. [11, 17] впервые показали, что органоиды с генотипом N1303K/F508del практически не отвечают набуханием на стимуляцию форсколином и CFTR-модуляторы неэффективны при наличии мутации N1303K. Анализы клинико-лабораторных данных пациентки с генетическим вариантом N1303K и результатов метода ОРКП совпали и свидетельствовали о «тяжелом» генетическом варианте. При сравнении с группой пациентов, гомозиготных по F508del (вариант, который также относится ко II классу), было показано, что в случае с вариантом N1303K дисфункция канала CFTR более выражена и ответа на применение CFTR-модуляторов не наблюдалось.

Заключение

CFTR-модуляторы неэффективны при наличии мутации N1303K в компаунд-гетерозиготном состоянии с F508del, несмотря на то что оба патогенных варианта относятся ко II классу. Данный клинический пример показывает необходимость использования метода ОРКП и форсколинового теста на кишечных органоидах, получаемых из ректальных биоптатов, для определения функции канала CFTR и альтернативных каналов, а также для оценки *in vitro* целесообразности назначения таргетной терапии пациентам с муковисцидозом, чьи генотипы относятся к редким, не описаны в базах данных и не обозначены в инструкциях к таргетным препаратам. ©



Дополнительная информация

Согласие пациента

Законные представители пациентки добровольно подписали информированное согласие на публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме в журнале «Альманах клинической медицины».

Финансирование

Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.

Конфликт интересов

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

Участие авторов

Авторы заявили о том, что внесли равный существенный вклад в концепцию или дизайн исследования, получение, анализ данных и их интерпретацию;

написание статьи и/или существенную переработку ее научного и интеллектуального содержания. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

1. Кондратьева ЕИ, Каширская НЮ, Капранов НИ, ред. Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия. М.: ООО «Компания БОРГЕС»; 2018. [Kon-drat'eva EI, Kashirskaya NYu, Kapranov NI, editors. [Cystic fibrosis: definition, diagnostic criteria, therapy]. Moscow: Kompaniya BORGES; 2018. Russian.]
2. Marson FAL, Bertuzzo CS, Ribeiro JD. Classification of CFTR mutation classes. *Lancet Respir Med.* 2016;4(8):e37–e38. doi: 10.1016/S2213-2600(16)30188-6.
3. De Boeck K. Cystic fibrosis in the year 2020: A disease with a new face. *Acta Paediatr.* 2020;109(5):893–899. doi: 10.1111/apa.15155.
4. Cain C. Cystic fibrosis two-step. *SciBX.* 2012;5(8). doi: 101038/scibx2012192.
5. Ivacaftor. Highlights of prescribing information [Internet]. Available from: https://pi.vrtx.com/files/uspi_ivacaftor.pdf.
6. Van Goor F, Hadida S, Grootenhuys PD, Burton B, Stack JH, Straley KS, Decker CJ, Miller M, McCartney J, Olson ER, Wine JJ, Frizzell RA, Ashlock M, Negulescu PA. Correction of the F508del-CFTR protein processing defect in vitro by the investigational drug VX-809. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(46):18843–18848. doi: 10.1073/pnas.1105787108.
7. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Клинические рекомендации «Кистозный фиброз (муковисцидоз)» [Интернет]. 2020. Доступно на: <https://bazanpa.ru/minzdrav-rossii-klinicheskije-rekomendatsii-ot01012020-h4876450/>. [Ministry of Health of the Russian Federation. [Cystic fibrosis: Clinical guidelines] [Internet]. 2020. Russian. Available from: <https://bazanpa.ru/minzdrav-rossii-klinicheskije-rekomendatsii-ot01012020-h4876450/>]
8. Derichs N, Sanz J, Von Kanel T, Stolpe C, Zapf A, Tümmler B, Gallati S, Ballmann M. Intestinal current measurement for diagnostic classification of patients with questionable cystic fibrosis: validation and reference data. *Thorax.* 2010;65(7):594–599. doi: 10.1136/thx.2009.125088.
9. Мельяновская ЮЛ, Кондратьева ЕИ, Куцев СИ. Определение референтных значений для метода определения разности кишечных потенциалов в Российской Федерации. *Медицинский вестник Северного Кавказа.* 2020;15(2):162–166. doi: 10.14300/mnnc.2020.15039. [Melyanovskaya YuL, Kondratyeva EI, Kutsev SI. [Determination of reference values for the method of intestinal current measurement in the Russian Federation]. *Medical News of the North Caucasus.* 2020;15(2):162–166. Russian. doi: 10.14300/mnnc.2020.15039.]
10. Dekkers JF, van der Ent CK, Beekman JM. Novel opportunities for CFTR-targeting drug development using organoids. *Rare Dis.* 2013;1:e27112. doi: 10.4161/rdis.27112.
11. Dekkers JF, Berkers G, Kruijselbrink E, Vonk A, de Jonge HR, Janssens HM, Bronsveld I, van de Graaf EA, Nieuwenhuis EE, Houwen RH, Vleggaar FP, Escher JC, de Rijke YB, Majoer CJ, Heijerman HG, de Winter-de Groot KM, Clevers H, van der Ent CK, Beekman JM. Characterizing responses to CFTR-modulating drugs using rectal organoids derived from subjects with cystic fibrosis. *Sci Transl Med.* 2016;8(344):344ra84. doi: 10.1126/scitranslmed.aad8278.
12. Boj SF, Vonk AM, Statia M, Su J, Vries RR, Beekman JM, Clevers H. Forskolin-induced Swelling in Intestinal Organoids: An In Vitro Assay for Assessing Drug Response in Cystic Fibrosis Patients. *J Vis Exp.* 2017;(120):55159. doi: 10.3791/55159.
13. Vonk AM, van Mourik P, Ramalho AS, Silva IAL, Statia M, Kruijselbrink E, Suen SWF, Dekkers JF, Vleggaar FP, Houwen RHJ, Mullenders J, Boj SF, Vries R, Amaral MD, de Boeck K, van der Ent CK, Beekman JM. Protocol for Application, Standardization and Validation of the Forskolin-Induced Swelling Assay in Cystic Fibrosis Human Colon Organoids. *STAR Protoc.* 2020;1(1):100019. doi: 10.1016/j.xpro.2020.100019.
14. Кондратьева ЕИ, Мельяновская ЮЛ, Ефремова АС, Булатенко НВ, Бухарова ТБ, Гольдштейн ДВ, Зодьбинова АЭ, Никонова ВС, Жекайте ЕК, Каширская НЮ, Мелконян ГГ, Одинаева НД, Куцев СИ. Опыт применения методов оценки функциональности анионного канала CFTR у пациентов с установленным и предполагаемым диагнозом муковисцидоза. *Сибирское медицинское обозрение.* 2019;2(116):60–69. doi: 10.20333/2500136-2019-2-60-69. [Kon-dratyeva EI, Melyanovskaya YL, Efremova AS, Bulatenko NV, Bukharova TB, Goldstein DV, Zodbinova AE, Nikonova VS, Zhekaite EK, Kashirskaya NY, Melkonyan GG, Oдинаeva NJ, Kutsev SI. [Experience of evaluating functionality of anionic CFTR channel methods application in patients with cystic fibrosis diagnosed and supposed]. *Siberian Medical Review.* 2019;2(116):60–69. Russian. doi: 10.20333/2500136-2019-2-60-69.]
15. Амелина ЕЛ, Каширская НЮ, Кондратьева ЕИ, Красовский СА, Старинаова МА, Воронкова АЮ, ред. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2018 год. М.: Медпрактика-М; 2020. 68 с. [Amelina EL, Kashirskaya NYu, Kondrat'eva EI, Krasovskiy SA, Starinova MA, Voronkova AYU. [The registry of patients with cystic fibrosis in the Russian Federation, 2018]. Moscow: Medpraktika-M; 2020. 68 p.]
16. Zolin A, Orenti A, van Rens J, Fox A, Krasnyk M, Cosgriff R, Hatzigiagorou E, Jung A, MeiZahav M, Storms V. ECFS Patient Registry Annual Data Report 2018 [Internet]. 2020. Available from: https://www.ecfs.eu/sites/default/files/general-content-files/working-groups/ecfs-patient-registry/ECFSR_Report_2018_v1.4.pdf.
17. Dekkers JF, Gogorza Gondra RA, Kruijselbrink E, Vonk AM, Janssens HM, de Winter-de Groot KM, van der Ent CK, Beekman JM. Optimal correction of distinct CFTR folding mutants in rectal cystic fibrosis organoids. *Eur Respir J.* 2016;48(2):451–458. doi: 10.1183/13993003.01192-2015.



A clinical case of cystic fibrosis patient with pathogenic N1303K genotype variant with assessment of the CFTR channel function by intestinal current measurement and forskolin-induced swelling in rectal organoids

E.I. Kondratyeva¹ • N.D. Odinaeva² • V.D. Sherman¹ •
A.S. Efremova¹ • Yu.L. Melyanovskaya¹ • N.V. Bulatenko¹ •
T.B. Bukharova¹ • D.V. Goldshtein¹

Rationale: Cystic fibrosis is a common monogenic disease related to pathogenic nucleotide sequence variants in the *Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR)* (ABCC7) gene. The *CFTR* gene consists of 27 exons and is located in the 31.1 region on the long arm of chromosome 7 (7q31.1). The use of the sequencing method has led to the accumulation of new information about the diversity of genetic variants in cystic fibrosis. This information is important considering approaches to the development of targeted therapy for the disease, based on an individual genotype. No targeted therapy has been developed for the N1303K class II genetic variant. The function of the chloride channel in this mutation has not been compared with that in class II mutations like F508del.

Materials and methods: We have analyzed medical files of a patient with cystic fibrosis and F508del/N1303K *CFTR* genotypes, including the results of rectal biopsy samples. The assessments included measurement of the intestinal potential difference and forskolin-induced swelling assay (FIS) in rectal organoids, with the results being analyzed in relation to the clinical data.

Results: The results of intestinal current measurements (ICM) confirm that the N1303K genetic variant is “severe” and leads to the loss of the working *CFTR* protein, which is consistent with the clinical manifestations. The mean short circuit current density (Δ ISC) in response to amiloride (sodium channel stimulation) was $-39 \pm 1.22 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, to forskolin (chloride channel stimulation) $3.83 \pm 1.43 \mu\text{A}/\text{cm}^2$,

to carbachol $6 \pm 2.47 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, and to histamine $8.5 \pm 3.02 \mu\text{A}/\text{cm}^2$.

FIS results indicate that the VX-770 potentiator and the VX-809 corrector have a weak effect on the stimulation of organoids by forskolin in the genetic variant N1303K: organoid swelling was non-significant (about 20% from their baseline size).

Conclusion: The use of the ICM method and FIS assay in human intestinal organoids makes it possible to quantify the work of the *CFTR* protein and determine the *in vitro* effectiveness of targeted therapy in patients with cystic fibrosis. *CFTR* modulators are ineffective in patients with N1303K mutation in the compound-heterozygous condition with F508del, despite both pathogenic variants belong to class II.

Key words: cystic fibrosis, *CFTR* genetic variants, intestinal current measurement, intestinal organoids, forskolin-induced swelling assay, targeted therapy

For citation: Kondratyeva EI, Odinaeva ND, Sherman VD, Efremova AS, Melyanovskaya YuL, Bulatenko NV, Bukharova TB, Goldshtein DV. A clinical case of cystic fibrosis patient with pathogenic N1303K genotype variant with assessment of the *CFTR* channel function by intestinal current measurement and forskolin-induced swelling in rectal organoids. *Almanac of Clinical Medicine*. 2021;49(3):219–225. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-019.

Received 25 March 2021; revised 11 April 2021; accepted 12 April 2021; published online 23 April 2021

Elena I. Kondratyeva – MD, PhD, Professor, Head of Scientific and Clinical Department of Cystic Fibrosis, Chief of Chair of Respiratory System Diseases Genetics, Institute of Higher and Additional Professional Education; Pediatrician, Department of Cystic Fibrosis¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6395-0407>

✉ 1 Moskvorech'e ul., Moscow, 115522, Russian Federation. E-mail: elenafpk@mail.ru

Niso D. Odinaeva – MD, PhD, Professor, Chief Physician²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5214-8072>. E-mail: info@mokdcd.ru

Victoria D. Sherman – MD, PhD, Leading Research Fellow, Scientific and Clinical Department of Cystic Fibrosis; Associate Professor, Chair of Respiratory System Diseases Genetics, Institute of Higher and Additional Professional Education¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2206-1528>. E-mail: tovika@yandex.ru

Anna S. Efremova – PhD (in Biol.), Senior Research Fellow, Laboratory of Stem Cell Genetics¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5035-6396>. E-mail: anna.efremova.83@gmail.com

Yuliya L. Melyanovskaya – Research Fellow, Scientific and Clinical Department of Cystic Fibrosis¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8814-5532>. E-mail: melcat@mail.ru

Nataliya V. Bulatenko – Junior Research Fellow, Laboratory of Stem Cell Genetics¹. E-mail: bnv695@gmail.com

Tatiana B. Bukharova – PhD (in Biol.), Leading Research Fellow, Laboratory of Stem Cell Genetics¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0481-256X>. E-mail: bukharova-rmt@yandex.ru

Dmitry V. Goldshtein – Doctor of Biol. Sci., Professor, Head of Laboratory of Stem Cell Genetics¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2438-1605>. E-mail: dvgoldrm7@gmail.com

Informed consent statement

The patient's legal representatives have voluntarily signed their informed consent to the publication of the patient's personal medical information in an anonymized form in the *Almanac of Clinical Medicine* journal.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

Authors' contributions

The authors have equally contributed to the study concept and design, collection of the results, data analysis and interpretation, text writing and/or significant processing of its research and intellectual contents. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work have been appropriately investigated and resolved.

¹ Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorech'e ul., Moscow, 115522, Russian Federation

² Children's Clinical Multidisciplinary Center of the Moscow Region; 62 Bol'shaya Serpukhovskaya ul., Moscow, 115093, Russian Federation



Клиническое наблюдение

Пароксизмальная кинезиогенная дискинезия: длительный путь от симптома к диагнозу (клиническое наблюдение)

Ким Н.Л.¹ • Ямин М.А.¹

Пароксизмальная кинезиогенная дискинезия относится к группе первичных дискинезий, которая также включает пароксизмальную некинезиогенную дискинезию и пароксизмальную дискинезию, индуцированную физическими нагрузками. Ввиду редкости заболеваний этой группы, а также наличия большого спектра состояний, протекающих с преходящими двигательными нарушениями, установление диагноза довольно часто вызывает затруднения. В этом помогает тщательный анализ клинической картины и использование данных объективной регистрации пароксизмальных событий (электроэнцефалография с видеомониторингом). Наиболее частая причина пароксизмальной кинезиогенной дискинезии – мутации в гене *PRRT2*, а пароксизмальной некинезиогенной дискинезии – мутации в гене *MRT1*.

В статье приводится описание клинического наблюдения пациента 13 лет с внезапно возникавшими при движении короткими дистоническими, хореическими и баллическими атаками гиперкинезов. Пациент длительное время без эффекта лечился с диагнозом эпилепсии, тиков, дистонии. В ходе диагностического поиска у пациента методом секвенирования нового поколения панели генов была выявлена мутация в интроне гена *PRRT2*. Несмотря на то что вышеуказанная мутация ранее не была описана, с учетом вида гиперкинезов, их связи с движением, а также на основании данных инструментальных методов исследований был установлен диагноз пароксизмальной кинезиогенной дискинезии. Проведено успешное лечение карбамазепином с достижением полного контроля над гиперкинезами.

Основой диагностики пароксизмальных дискинезий по-прежнему остается анализ

клинической картины и вида провоцирующего фактора. Молекулярно-генетическая диагностика с учетом наиболее частых причинных мутаций данных состояний может минимизировать как временные, так и финансовые затраты.

Ключевые слова: пароксизмальная кинезиогенная дискинезия, ген *PRRT2*, клиническая картина, эпилепсия

Для цитирования: Ким Н.Л., Ямин М.А. Пароксизмальная кинезиогенная дискинезия: длительный путь от симптома к диагнозу (клиническое наблюдение). Альманах клинической медицины. 2021;49(3):226–230. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-014.

Поступила 13.03.2021; доработана 18.03.2021; принята к публикации 25.03.2021; опубликована онлайн 31.03.2021

Большое количество заболеваний и состояний – эпилепсия, пароксизмальные дискинезии, пароксизмальная миоплегия, конверсионные расстройства и др. – характеризуются внезапным появлением и столь же внезапным исчезновением симптомов. Это актуализирует проблему дифференциальной диагностики между ними, поскольку довольно часто происходит гипердиагностика одних и гиподиагностика других нозологических форм. Так, по данным исследования С.О. Айвазяна, в 23% случаев наблюдается гипердиагностика эпилепсии, при том что в 40,4% случаев эпилептические приступы имитируют гиперкинетические расстройства [1].

В этой статье мы приводим собственный клинический пример пароксизмальной кинезиогенной дискинезии (ПКД), рассматриваем классификацию пароксизмальных дискинезий, опирающуюся на клинические и генетические характеристики, а также предлагаем алгоритм генетического обследования пациента с первичными дискинезиями.

Клиническое наблюдение

Пациент О. 13 лет, мальчик, обратился в Областной эпилептологический центр на базе ГАУ РО «Областной консультативно-диагностический центр» (г. Ростов-на-Дону) в декабре 2017 г. с жалобами на внезапные атаки непроизвольных движений в конечностях, чаще в руках, в виде их резкого разгибания, а также в виде беспорядочных хаотичных движений длительностью до 10 секунд, провоцируемые ходьбой (переходом через дорогу), частота атак составляла от 1–2 раз в месяц до нескольких раз в день.

Из анамнеза жизни известно, что перинатальный и семейный анамнезы не отягощены, рос и развивался соответственно возрасту.

Считает себя больным с 8 лет, когда появились гиперкинезы в верхних конечностях (резкое выпрямление конечностей, напряжение с атетоидными движениями в дистальных отделах), с 10 лет присоединились дистонические гиперкинезы в ногах, приводящие к падению пациента. Лечился с диагнозом эпилепсии, тиков, дистонии.



Инструментальные исследования

Магнитно-резонансная томография головного мозга от 2015 г. (9 лет) показала наличие мелких кист в структуре сосудистых сплетений боковых желудочков, незначительное расширение субарахноидальных конвексальных пространств.

По данным трехчасовой электроэнцефалографии (ЭЭГ) с видеомониторингом от 2016 г. (10 лет) типичной эпилептиформной активности не выявлено, за время исследования зарегистрирован гиперкинез в руке в виде ее резкого выпрямления и напряжения с атетоидными движениями в кисти, возникший при повороте пациента в постели, не сопровождавшийся эпилептической активностью на ЭЭГ.

Лабораторные анализы

Медь крови, медь мочи, церулоплазмин, антистрептолизин О от 2016 г. – норма.

Фармакологический анамнез

Аминофенилмасляная кислота, этилметилгидроксипиридина сукцинат, тиаприд, бипериден, амантадин – без эффекта. Имелся частичный положительный эффект от приема вальпроевой кислоты в виде уменьшения частоты приступов до 1 раза в 1,5–2 месяца.

Неврологический статус

Очаговой неврологической симптоматики не отмечено, сознание ясное, за период осмотра отмечен один эпизод баллического гиперкинеза в левой руке, возникший при ходьбе.

В связи с разнообразным характером гиперкинезов (дистонические, баллические, хореические) с нехарактерной для эпилептических приступов кинематикой, отсутствием эпилептиформной активности в эпохе записи ЭЭГ (как приступной, так и межприступной), их связью с движением был выставлен предварительный диагноз ПКД. Пациенту рекомендовано выполнение секвенирования ДНК (панель «Нейродегенеративные заболевания»), по результатам которого выявлена гетерозиготная мутация во втором интроне гена *PRRT2* (chr16:29825256T>G), приводящая к нарушению канонического сайта сплайсинга (с. 879+2T>G, NM_001256442.1). Данная мутация не была описана ранее и не зарегистрирована в контрольных выборках «1000 геномов», ESP6500 и ExAC.

Тем не менее с учетом соответствия клинической картины заболевания был установлен диагноз ПКД. Пациенту назначен прием карбамазепина в суточной дозировке 400 мг в связи с его высокой эффективностью при лечении данного заболевания. Вальпроевая кислота была постепенно отменена. На фоне терапии достигнут полный контроль над атаками гиперкинезов с катамнезом 26 месяцев.

Ким Надежда

Леонидовна – врач невролог-эпилептолог Областного эпилептологического центра¹

✉ 346884, г. Батайск, ул. Воровского, 23–79, Российская Федерация. Тел.: +7 (951) 498 40 49. E-mail: nadezhdakim183@gmail.com

Ямин Максим

Анатольевич – канд. мед. наук, руководитель Областного эпилептологического центра¹

Обсуждение

Пароксизмальные дискинезии – группа заболеваний расстройства движения, как правило, дебютирующих в детском возрасте. Характерными клиническими проявлениями этих заболеваний считаются внезапно возникающие гиперкинезы дистонического, хореического характера, атетоз, баллизм либо их комбинация. Продолжительность таких атак может варьировать от нескольких секунд до нескольких часов.

Различают 3 вида пароксизмальных дискинезий: пароксизмальная кинезиогенная дискинезия, пароксизмальная некинезиогенная дискинезия (ПНКД), пароксизмальная дискинезия, индуцированная физическими нагрузками [2].

Пароксизмальная кинезиогенная дискинезия

ПКД включает внезапно возникающие атаки насильственных движений, в том числе дистонию, хорею, атетоз или баллизм, провоцируемые движением. Как правило, наблюдается идиопатическая форма ПКД с аутосомно-доминантной историей наследования в семье, но описаны и спорадические случаи. Чаще встречается у мальчиков в соотношении 3–4:1 [3].

К клиническим критериям ПКД относятся:

- кинезиогенные триггеры атак;
- короткая продолжительность атак (около 1 минуты);
- сохранность сознания и отсутствие боли во время атаки;
- исключение других органических заболеваний и нормальный неврологический статус;
- эффективность фенитоина или карбамазепина;
- дебют от 1 года до 20 лет в случае несемейной формы заболевания [4].

Пароксизмальная некинезиогенная дискинезия

ПНКД характеризуется унилатеральными или билатеральными произвольными движениями, которые возникают спонтанно и не провоцируются внезапной двигательной активностью или физическими упражнениями. Провоцирующими факторами обычно выступают эмоции, утомление, прием алкоголя и кофеина. Атаки также могут быть спонтанными. Атаки включают дистоническую позу с хореическими и баллистическими движениями, могут сопровождаться предшествующей аурой, редко появляются чаще чем 1 раз в день. Продолжительность атак варьирует от нескольких минут до нескольких часов. ПНКД обычно дебютирует в раннем подростковом возрасте, но возможна и поздняя манифестация в возрасте 50 лет.

¹ ГАУ РО «Областной консультативно-диагностический центр»; 344000, г. Ростов-на-Дону, ул. Пушкинская, 127, Российская Федерация

ПНКД более устойчива к лечению антиконвульсантами, возможен эффект от приема клоназепама или диазепама. В связи с тем что атаки провоцируются эмоциональными факторами, приемом алкоголя и кофеина, рекомендуется избегать этих триггеров [5].

Пароксизмальная дискинезия, индуцированная физическими нагрузками

Эта форма пароксизмальной дискинезии встречается реже других. J.W. Lance в 1977 г. описал членов одной семьи с продолжительными дистоническими атаками, которые провоцировались длительной ходьбой или бегом (20–45 минут), иногда контактом с холодом [6]. Обычно в атаку вовлекаются нижние конечности билатерально, что может приводить к падению. Частота проявлений – от 1 раза в день до 1 раза в месяц, длительность 5–30 минут. Дебютирует в возрасте от 1 года до 30 лет, но наиболее часто в детстве. Лечение антиконвульсантами и клоназепамом малоэффективно.

До недавнего времени классификации пароксизмальных дискинезий основывались либо на длительности атак, либо на виде провоцирующего фактора – например, наиболее известная классификация, предложенная M. Demirkiran и J. Jankovic в 1995 г. [7]. В 2014 г. R. Erro и соавт. проанализировали 500 случаев генетически подтвержденных пароксизмальных дискинезий и сопоставили клиническую картину атак с выявленными мутациями в генах *PRRT2* (proline-rich transmembrane protein 2), *MR1* (myofibrillogenesis regulator 1), *SLC2A1* (glucose transporter 1) и *KCNMA1* [8]. Большинство пациентов с мутацией в гене *PRRT2* имели клиническую картину ПНКД, однако у небольшой части отмечались атаки, провоцируемые приемом алкоголя или кофе, продолжительностью более 1 минуты [9]. Мутации в гене *MR1* чаще соответствовали характеристикам ПНКД, так же как и один семейный случай мутации в гене *KCNMA1* [10, 11]. Мутации в гене *SLC2A1* приводили как к проявлениям, характерным для пароксизмальной дискинезии, индуцированной физическими нагрузками, так и к атакам, вызываемым другими некинезиогенными триггерами [12]. Результатом работы авторов стала новая классификация, учитывающая клиническую картину атак и генетические характеристики.

В предлагаемой классификации используются две различные оси: ось I отражает клинические характеристики, ось II – генетические. Комбинация этих двух составляющих позволяет

отразить достаточную информацию о пациенте с первичной пароксизмальной дискинезией.

Классификация первичных дискинезий с учетом клинических и генетических характеристик [8]

Ось I. Клинические характеристики

А) Критерии включения (п. 1 плюс любой из пунктов 2а, 2б или 2в):

1. Пароксизмальные атаки дистонии, хорей, баллизма (или их комбинация) с внезапным началом и вариабельной длительностью (от нескольких секунд до нескольких часов).

2. Пароксизмальные дискинезии в зависимости от вида провоцирующего фактора:

а) ПНКД: атаки, провоцируемые внезапным движением, ускорением либо намерением к движению;

б) ПНКД: атаки, провоцируемые приемом кофе, алкоголя, а также другими некинезиогенными факторами;

в) пароксизмальные дискинезии, индуцированные физической нагрузкой: атаки, провоцируемые длительными физическими упражнениями.

Б) Критерии исключения (любой из перечисленных):

1. Симптомы, свидетельствующие о других неврологических заболеваниях.

2. Психогенная симптоматика.

Ось II. Генетические характеристики

1. Генетически подтвержденные: выявлены мутации в известных генах (например, *PRRT2*, *MR1*, *KCNMA1*, *SLC2A1*).

2. Генетически неподтвержденные: мутация в известных генах не выявлена или генетическое исследование не проводилось.

Авторы классификации предполагают возможность пополнения оси II новыми генетическими данными.

Распространенность мутаций в гене *PRRT2* у пациентов с клиническим диагнозом ПНКД по различным данным колеблется от 27,3 до 65%, тогда как у пациентов с ПНКД в 70% случаев встречается мутация в гене *MR1* [8]. С учетом этих данных предлагаем алгоритм генетического исследования, который может быть полезен для клинициста (рисунок).

Возвращаясь к описанному клиническому случаю, отметим, что в 2016 г. была выявлена ранее неописанная патогенная мутация в интроне *PRRT2* (с.880-35G>A) у 18-месячной девочки с инфантильными судорогами и у ее матери с классической пароксизмальной



Эпизодические атаки дистонии, хореи или их сочетание



Алгоритм для генетического анализа пароксизмальных дискинезий с учетом наиболее частых мутаций

кинезиогенной дискинезией [13]. Кроме того, есть данные, что одинаковая мутация в гене *PRRT2* может давать различные фенотипы: изолированную пароксизмальную кинезиогенную дискинезию или доброкачественные семейные инфантильные приступы (синдром Ватанабе – Виджевано), либо их сочетание у одного

Дополнительная информация

Согласие пациента

Законные представители пациента добровольно подписали информированное согласие на публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме в журнале «Альманах клинической медицины».

Финансирование

Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.

пациента, что вносит дополнительные трудности в диагностику ПКД [14]. В нашем случае дополнительные генетические исследования, требующиеся для подтверждения патогенности выявленной у пациента мутации, не проводились. В этой связи с учетом приведенной классификации считаем случай генетически не подтвержденным, но удовлетворяющим клиническим критериям пароксизмальной кинезиогенной дискинезии.

Заключение

В рассмотренном клиническом случае пациента О. с пароксизмальной кинезиогенной дискинезией от дебюта заболевания до момента установления диагноза прошло 4 года. Этот период мог быть значимо меньше при тщательном анализе жалоб, анамнеза заболевания и данных видео-ЭЭГ-мониторинга, что позволило бы минимизировать прием малоэффективных лекарственных препаратов. При использовании классификации первичных дискинезий с оценкой клинических характеристик возможна ранняя постановка диагноза еще до генетического дообследования, которое, в свою очередь, можно оптимизировать с учетом наиболее частых мутаций, выявленных при ПКД и ПНКД. ©

Конфликт интересов

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

Участие авторов

Оба автора внесли равный вклад в подготовку данной статьи. Оба автора прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

1. Айвазян СО. Неэпилептические пароксизмальные состояния, имитирующие эпилепсию у детей. Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2016;8(4):23–33. doi: 10.17749/2077-8333.2016.8.4.023-033. [Aivazyan SO. [Non epileptic paroxysmal events imitating epilepsy in children]. *Epilepsy and Paroxysmal Conditions*. 2016;8(4):23–33. Russian. doi: 10.17749/2077-8333.2016.8.4.023-033.]
2. Unterberger I, Trinka E. Diagnosis and treatment of paroxysmal dyskinesias revisited. *Ther Adv Neurol Disord*. 2008;1(2):4–11. doi: 10.1177/1756285608095119.
3. Jankovic J, Demirkiran M. Classification of paroxysmal dyskinesias and ataxias. *Adv Neurol*. 2002;89:387–400.
4. Bruno MK, Hallett M, Gwinn-Hardy K, Sorensen B, Considine E, Tucker S, Lynch DR, Mathews KD, Swoboda KJ, Harris J, Soong BW, Ashizawa T, Jankovic J, Renner D, Fu YH, Ptacek LJ. Clinical evaluation of idiopathic paroxysmal kinesigenic dyskinesia: new diagnostic criteria. *Neurology*. 2004;63(12):2280–2287. doi: 10.1212/01.wnl.0000147298.05983.50.
5. Erro R. Familial Paroxysmal Nonkinesigenic Dyskinesia [Internet]. 2005 Jun 24 [Updated 2019 Apr 4]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews*®. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1221/>.
6. Lance JW. Familial paroxysmal dystonic choreoathetosis and its differentiation from related syndromes. *Ann Neurol*. 1977;2(4):285–293. doi: 10.1002/ana.410020405.
7. Demirkiran M, Jankovic J. Paroxysmal dyskinesias: clinical features and classification. *Ann Neurol*. 1995;38(4):571–579. doi: 10.1002/ana.410380405.
8. Erro R, Sheerin UM, Bhatia KP. Paroxysmal dyskinesias revisited: a review of 500 genetically



- proven cases and a new classification. *Mov Disord.* 2014;29(9):1108–1116. doi: 10.1002/mds.25933.
9. Chen WJ, Lin Y, Xiong ZQ, Wei W, Ni W, Tan GH, Guo SL, He J, Chen YF, Zhang QJ, Li HF, Lin Y, Murong SX, Xu J, Wang N, Wu ZY. Exome sequencing identifies truncating mutations in *PRRT2* that cause paroxysmal kinesigenic dyskinesia. *Nat Genet.* 2011;43(12):1252–1255. doi: 10.1038/ng.1008.
10. Rainier S, Thomas D, Tokarz D, Ming L, Bui M, Plein E, Zhao X, Lemons R, Albin R, Delaney C, Alvarado D, Fink JK. Myofibrillogenesis regulator 1 gene mutations cause paroxysmal dystonic choreoathetosis. *Arch Neurol.* 2004;61(7):1025–1029. doi: 10.1001/archneur.61.7.1025.
11. Du W, Bautista JF, Yang H, Diez-Sampedro A, You SA, Wang L, Kotagal P, Lüders HO, Shi J, Cui J, Richerson GB, Wang QK. Calcium-sensitive potassium channelopathy in human epilepsy and paroxysmal movement disorder. *Nat Genet.* 2005;37(7):733–738. doi: 10.1038/ng1585.
12. Suls A, Dedeken P, Goffin K, Van Esch H, Dupont P, Cassiman D, Kempfle J, Wuttke TV, Weber Y, Lerche H, Afawi Z, Vandenberghe W, Korczyn AD, Berkovic SF, Ekstein D, Kivity S, Ryvlin P, Claes LR, Deprez L, Maljevic S, Vargas A, Van Dyck T, Goossens D, Del-Favero J, Van Laere K, De Jonghe P, Van Paesschen W. Paroxysmal exercise-induced dyskinesia and epilepsy is due to mutations in *SLC2A1*, encoding the glucose transporter *GLUT1*. *Brain.* 2008;131(Pt 7):1831–1844. doi: 10.1093/brain/awn113.
13. Weber A, Kreth J, Müller U. Intronic *PRRT2* mutation generates novel splice acceptor site and causes paroxysmal kinesigenic dyskinesia with infantile convulsions (PKD/IC) in a three-generation family. *BMC Med Genet.* 2016;17:16. doi: 10.1186/s12881-016-0281-7.
14. Ono S, Yoshiura K, Kinoshita A, Kikuchi T, Nakane Y, Kato N, Sadamatsu M, Konishi T, Nagamitsu S, Matsuura M, Yasuda A, Komine M, Kanai K, Inoue T, Osamura T, Saito K, Hirose S, Koide H, Tomita H, Ozawa H, Niikawa N, Kurotaki N. Mutations in *PRRT2* responsible for paroxysmal kinesigenic dyskinesias also cause benign familial infantile convulsions. *J Hum Genet.* 2012;57(5):338–341. doi: 10.1038/jhg.2012.23. Erratum in: *J Hum Genet.* 2012;57(6):399.

The case of paroxysmal kinesigenic dyskinesia: a long way from a symptom to the diagnosis

N.L. Kim¹ • M.A. Yamin¹

Paroxysmal kinesigenic dyskinesia belongs to the group of primary dyskinesias, which also includes paroxysmal non-kinesigenic dyskinesia and exercise-induced paroxysmal dyskinesia. Due to the rarity of this disease group, as well as to the existence of a wide spectrum of disorders associated with transient movement abnormalities, the diagnosis is often difficult. A thorough analysis of clinical presentation, objective registration of paroxysmal events (video-electroencephalography monitoring) is helpful in the diagnosis. The most common causes of paroxysmal kinesigenic dyskinesia are mutations in the *PRRT2* gene, while paroxysmal non-kinesigenic dyskinesia is caused by the *MR1* gene mutations.

The paper describes a clinical case of a 13 year old patient with acute, movement-associated, short-term dystonic, choreic and ballistic hyperkinesia attacks. The patient had been treated with the diagnosis of epilepsy, tics, and dystonia for a long time without any effect. During diagnostic work-up, a mutation in the *PRRT2* gene intron was identified by a new generation sequencing of gene panel. Despite of this mutation has not been previously described, taking into account the type of

hyperkinesia attacks, association of their onset to movements, as well as the data of instrumental assessments, the diagnosis of paroxysmal kinesigenic dyskinesia was made. Treatment with carbamazepine was successful with complete control over hyperkinesia.

The diagnosis of paroxysmal dyskinesias remains based on the analysis of clinical picture and the trigger type. Molecular genetic diagnostics, with consideration of the most frequent causal mutations related to these conditions, can minimize both time and financial costs.

Key words: paroxysmal kinesigenic dyskinesia, *PRRT2*, clinical picture, epilepsy

For citation: Kim NL, Yamin MA. The case of paroxysmal kinesigenic dyskinesia: a long way from a symptom to the diagnosis. *Almanac of Clinical Medicine.* 2021;49(3):226–230. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-014.

Received 13 March 2021; revised 18 March 2021; accepted 25 March 2021; published online 31 March 2021

Informed consent statement

The patient's legal representatives have voluntarily signed their informed consent to the publication of personal medical information in an anonymized form in the *Almanac of Clinical Medicine* journal.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

Authors' contributions

Both authors have contributed equally to the preparation of the manuscript. Both authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work have been appropriately investigated and resolved.

Nadezhda L. Kim – MD, Neurologist, Epileptologist, Region Epileptology Center¹

✉ 23–79 Vorovskogo ul., Bataysk, 346884, Russian Federation. Tel.: +7 (951) 498 40 49.

E-mail: nadezhdakiml83@gmail.com

Maxim A. Yamin – MD, PhD, Head of Region Epileptology Center¹

¹Regional Advisory and Diagnostic Centre; 127 Pushkinskaya ul., Rostov-on-Don, 344000, Russian Federation



Клиническое наблюдение

Тяжелая черепно-мозговая травма плода при автомобильной аварии: обзор литературы и клиническое наблюдение

Востриков Н.А.¹ • Пономарева И.В.² • Черемисинов О.В.³ • Шерман М.А.⁴

Востриков Николай Андреевич – аспирант кафедры неврологии, нейрохирургии и нейрореабилитации по специальности «Нервные болезни», врач-нейрохирург¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3141-3663>

✉ 610050, г. Киров, ул. Московская, 203–59, Российская Федерация. Тел.: +7 (901) 419 56 03. E-mail: vostrikov_na@outlook.com

Пономарева Ирина Викторовна – канд. мед. наук, заведующая неврологическим отделением № 2 поликлиники № 2, врач невролог-эпилептолог²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2630-4091>. E-mail: irina_victorovna@mail.ru

Черемисинов Олег Витальевич – д-р мед. наук, врач-рентгенолог рентгенологического отделения³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2630-4091>. E-mail: ocheremisnov@gmail.com

Шерман Михаил Айзикович – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой неврологии, нейрохирургии и нейрореабилитации⁴; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5740-1022>. E-mail: sherman@list.ru

Автомобильные аварии – основная причина травм беременных. Даже при нетяжелой аварии высок риск повреждения и неблагоприятного исхода для плода, особенно в случае отслойки плаценты. При этом основными травмирующими агентами могут стать такие средства индивидуальной защиты, как ремень и подушка безопасности. Среди частых вариантов внутриутробного повреждения при тупой травме живота в результате автомобильной аварии можно выделить черепно-мозговую травму в виде переломов костей черепа и различных внутримозговых кровоизлияний. Несмотря на распространенную точку зрения относительно высокой летальности в этой популяции, нередки случаи благополучного исхода травмы плода без формирования клинически значимого неврологического дефицита. В статье анализируются основные варианты исхода внутриутробного повреждения головного мозга и факторы, их определяющие. В качестве иллюстрации описан случай автомобильной черепно-мозговой травмы плода на 38-й неделе развития с переломом костей черепа, ушибом мозга и субарахноидальным, эпидуральным и субдуральным, паренхиматозным и внутрижелудочковым кровоизлияниями вследствие компримирующего воздействия ремня безопасности; при этом мать практически не пострадала. По окончании лечения пациент выписан из стационара в удовлетворительном состоянии без клинически значимой неврологической симптоматики. Динамическое наблюдение ребенка в течение 8 месяцев позволило выявить признаки замедления созревания головного мозга в виде появления доброкачественных эпилептиформных

паттернов детства и паттернов магнитно-резонансной томографии.

По всей видимости, ведущими факторами, обеспечивающими благоприятный исход внутриутробной тяжелой черепно-мозговой травмы в отсутствие фатального повреждения матери и плода, служат правильная акушерская тактика, поздний срок беременности и отсутствие массивного паренхиматозно-вентрикулярного кровоизлияния. Помимо непосредственного клинического выздоровления после тяжелого внутриутробного травматического повреждения головного мозга важно динамическое наблюдение ребенка ввиду повышенного риска развития отдаленных церебральных структурных и функциональных нарушений, прежде всего пароксизмальных, поведенческих и когнитивных.

Ключевые слова: автомобильная авария, травма в период беременности, черепно-мозговая травма плода, доброкачественные эпилептиформные паттерны детства, нарушение процессов созревания мозга, доброкачественная возрастзависимая эпилепсия

Для цитирования: Востриков НА, Пономарева ИВ, Черемисинов ОВ, Шерман МА. Тяжелая черепно-мозговая травма плода при автомобильной аварии: обзор литературы и клиническое наблюдение. Альманах клинической медицины. 2021;49(3):231–238. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-015.

Поступила 14.03.2021; доработана 19.03.2021; принята к публикации 30.03.2021; опубликована онлайн 06.04.2021

¹ КОГБУЗ «Центр травматологии, ортопедии и нейрохирургии»; 610048, г. Киров, ул. Московская, 163А, Российская Федерация

² ГБУЗ «Областная клиническая больница № 3»; 454021, г. Челябинск, проспект Победы, 287, Российская Федерация

³ КОГБУЗ «Кировская областная клиническая больница»; 610027, г. Киров, ул. Воровского, 42, Российская Федерация

⁴ ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России; 610998, г. Киров, ул. К. Маркса, 112, Российская Федерация

Автомобильные аварии служат причиной 48–55% травм женщин в период беременности [1, 2] и подавляющего большинства серьезных травм и гибели матери и плода (до 70%) [3, 4], а также 82% случаев внутриутробной смерти при травме (2,3 на

100 тыс. живорождений) [5]. При этом тяжелая травма сопряжена с 40–50% риском потери плода [2, 6]. Показано, что частота внутриутробной и неонатальной смерти, связанной с автомобильными авариями во время беременности, составляет не менее 3,7 на 100 тыс. беременностей, что

в значительной степени ассоциировано с отслойкой плаценты или разрывом матки [7, 8].

Неблагоприятный исход для плода более вероятен в случае прямого фетоплацентарного повреждения, перелома таза, шока или смерти беременной, и его риск возрастает с увеличением тяжести материнской травмы [5, 8, 9].

Отслойка плаценты наблюдается в 5–50% случаев травмы беременных во время аварии [3, 5] (при тупой травме живота составляет почти 50% [4, 5]) и наиболее часто становится причиной потери плода [10] – даже чаще, чем смерти матери [11].

При этом вероятность неблагоприятного исхода высока даже при нетяжелой аварии, когда полученные беременной травмы незначительны или отсутствуют [12–15]. В таких случаях определяющим гибель плода фактором в результате отслойки плаценты или непосредственного повреждения может стать неправильное расположение ремня безопасности, оказывающего компримирующее воздействие на живот матери и повышающего внутрибрюшное давление [11, 15–18].

Учитывая нередкую неочевидность возможных повреждений [19, 20], после автомобильной аварии необходимо обследование и динамическое наблюдение беременной в условиях акушерского приемного покоя / отделения не менее 4 часов [21] с целью верификации развившейся патологии травматического генеза и обеспечения своевременного акушерского вмешательства при преждевременных родах, снижении жизнеспособности плода, в частности, при отслойке плаценты, разрыве плодного пузыря, травме; риск преждевременных родов, по данным проведенного в Калифорнии популяционного исследования, увеличивается в 2,7 раза [1]. В результате экстренного кесарева сечения выживаемость матери и плода может составлять 75 и 45% соответственно, достигая 75% у жизнеспособных младенцев [22]. При ухудшении состояния плода родоразрешение показано, даже если отслойка плаценты клинически неочевидна [23].

Черепно-мозговые травмы (ЧМТ) – самый частый вариант внутриутробного повреждения при тупой травме живота в результате автомобильных аварий, большинство из них происходит в III триместре, когда голова плода становится уязвима вследствие своего расположения над лонном [4]. Основными проявлениями травматического воздействия на плод могут быть переломы костей черепа, субарахноидальное, субдуральное и мозжечковое кровоизлияния, отек мозга с нарушением кровотока, гипоксические и ишемические

изменения и, как следствие, гидроцефалия, судороги, церебральный паралич, диффузное церебральное повреждение и перивентрикулярная лейкомаляция [24–28].

Визуализация повреждений плода может быть затруднена. Описаны случаи обнаружения внутриматочных переломов черепа при рутинном рентгенологическом исследовании [29–31]. Широко используются ультразвуковое исследование головного мозга и магнитно-резонансная томография (МРТ), но оптимальным методом диагностики в силу высокой скорости выполнения и информативности признана компьютерная томография [32]. Одновременно метод компьютерной томографии считается в достаточной степени безопасным, поскольку, согласно данным Американской коллегии радиологов (American College of Radiology, ACR), при диагностических радиологических исследованиях не достигается значимой дозы облучения, которая могла бы угрожать благополучию развивающегося эмбриона или плода, особенно во II и III триместрах беременности [33, 34].

Тяжелые внутриутробные ЧМТ, в том числе переломы свода черепа с внутримозговыми кровоизлияниями, согласно данным многих авторов, могут сопровождаться 90–100% летальностью [11, 35–37]. Вместе с тем регулярно публикуются работы, свидетельствующие о неоднозначности подобной точки зрения и описывающие случаи благополучного родоразрешения [15] и даже нейрохирургического вмешательства [38] и выписки пациента из стационара как с клинически значимыми неврологическими нарушениями (до 55% случаев) [39], так и без заметного неврологического дефицита при последующем кратковременном наблюдении [40, 41].

Тем не менее связанные с ЧМТ структурные и функциональные нарушения зачастую обуславливают формирование значимой неврологической патологии даже у клинически здоровых младенцев [28], в частности, у 27% детей встречается эпилепсия [39].

Помимо типичной эпилептиформной активности по данным электроэнцефалографического исследования (ЭЭГ) при эпилепсии после ЧМТ могут регистрироваться графоэлементы, соответствующие критериям доброкачественных эпилептиформных паттернов детства (ДЭПД) [42]. ДЭПД не всегда клинически сопровождаются типичными тонико-клоническими приступами [43, 44], хотя в 8–12% случаев и предшествуют развитию эпилепсии [45], которая, как правило, является возрастзависимой [43, 46]. ДЭПД, равно



как и возрастзависимая эпилепсия, имеют особенность в виде исчезновения в пубертатном периоде [44].

В связи с тем что ДЭПД у детей, особенно при структурных изменениях перивентрикулярно-белого вещества головного мозга, свидетельствуют о «врожденном нарушении процессов созревания мозга» [47], их обнаружение на ЭЭГ может расцениваться как специфический маркер незрелости мозга, проявляющейся прежде всего когнитивными [48] и поведенческими [49] нарушениями.

В качестве иллюстрации варианта тяжелой внутриутробной ЧМТ с клинически благоприятным исходом для плода и необходимости направленного динамического наблюдения таких новорожденных предлагаем рассмотреть клиническое наблюдение.

Клиническое наблюдение

Женщина 27 лет, имевшая 38-недельную беременность, пострадала в результате автомобильной аварии. Во время столкновения со встречным автомобилем потерпевшая находилась на правом переднем пассажирском месте и была пристегнута трехточечным ремнем безопасности. При столкновении на скорости до 40 км/ч удар пришелся по касательной в правую переднюю часть транспортного средства пострадавшей; женщина получила ушибленную рану левой теменной области и повреждение кожи внизу живота (ссадины, экхимозы), соответствующие расположению ремня безопасности. Состояние пациентки было удовлетворительным, жалобы отсутствовали. После осмотра нейрохирургом в приемном отделении Центра травматологии, ортопедии и нейрохирургии и исключения ЧМТ она, в связи с отхождением околоплодных вод еще при столкновении автомобилей, была направлена в Кировский областной клинический перинатальный центр.

По истечении 2 часов после аварии выполнено экстренное кесарево сечение по поводу преждевременной отслойки плаценты. Новорожденный мальчик (оценка по шкале Апгар – 7/7 баллов) имел вес 2920 г, рост 52 см. При осмотре отмечалась выраженная деформация костей черепа, отек теменных областей, большой родничок по уровню теменных костей – 1,0×1,0 см. Неврологический статус: в сознании, кричит неохотно, на осмотр реагирует вялыми движениями конечностей, гримасами, мышечный тонус снижен, гипорефлексия. При проведении нейросонографии выявлены признаки субдурального кровоизлияния в теменной области с обеих сторон, больше слева, и отека головного мозга. Рентгеновская краниография выявила перелом обеих теменных костей.

В связи с диагнозом открытой черепно-мозговой травмы пациент для дальнейшего лечения переведен в Центр травматологии, ортопедии и нейрохирургии, где при проведении мультиспиральной компьютерной томографии черепа обнаружены ушиб головного мозга со сдавлением острой эпидуральной гематомой левой лобно-теменной области, субарахноидально-паренхиматозно-вентрикулярное кровоизлияние, отек головного мозга, множественные переломы костей свода черепа и лицевого скелета, ушиб, гематома мягких тканей головы (рис. 1).

Состояние ребенка оставалось тяжелым, но без нарушения витальных функций. С учетом отсутствия компрессионно-дислокационного синдрома выбрана тактика консервативной терапии в условиях реанимации.

В процессе наблюдения (2-й день жизни) зафиксированы тонико-клонические судороги в виде тонического напряжения туловища с последующими ритмичными клоническими сокращениями мышц конечностей, купированные пролонгированным внутривенным введением противоэпилептических препаратов (тиопентал натрия, мидазолам) и фенобарбитала *per os*.

Мультиспиральная компьютерная томография черепа в динамике на 14-й день жизни отразила уменьшение очагов контузии головного мозга, внутричерепных кровоизлияний и явлений отека головного мозга; отмечена выраженная положительная динамика (рис. 2).

Выполненная на 24-е сутки жизни пролонгированная ЭЭГ с включением периода сна с видеофиксацией показала выраженное (эпизодами грубое) нарушение биоэлектрической активности головного мозга в виде региональных всплеск дельта-волн в лобной области и признаков нейрофизиологической незрелости. После получения результата ЭЭГ и отмены противоэпилептических препаратов на 28-й день жизни пациент для дальнейшего лечения переведен в детскую областную больницу.

Повторная видео-ЭЭГ на 31-е сутки зарегистрировала умеренно выраженные диффузные изменения биоэлектрической активности без эпилептиформной активности и признаков регионального замедления.

В возрасте 35 дней выполнена МРТ головного мозга, подтвердившая значительный регресс геморрагических очагов в головном мозге и формирование зоны кистозно-глиозных изменений в полюсно-базальных отделах левой лобной доли после ушиба мозга.

На 36-е сутки пациент выписан на амбулаторное лечение в удовлетворительном состоянии, без неврологического дефицита.

В возрасте 2, 3 и 6 месяцев проводились контрольные осмотры нейрохирургом. Каких-либо жалоб, неврологического дефицита, отставания в физическом и психическом развитии не отмечено; форма черепа

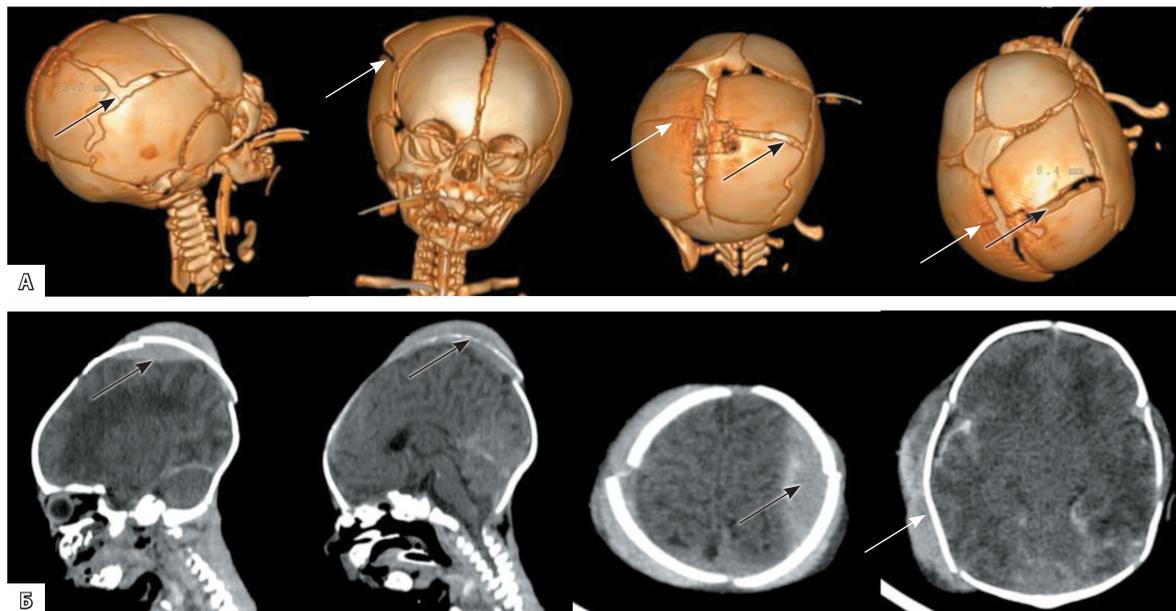


Рис. 1. Пациент Ш., 1-й день жизни. Мультиспиральная компьютерная томография головы: **А** – 3D-реконструкция костей черепа, стрелки указывают на переломы теменных костей черепа; **Б** – компьютерно-томографические изображения головного мозга в сагиттальных и аксиальных срезах, стрелки указывают на эпидуральную и подкожную гематому

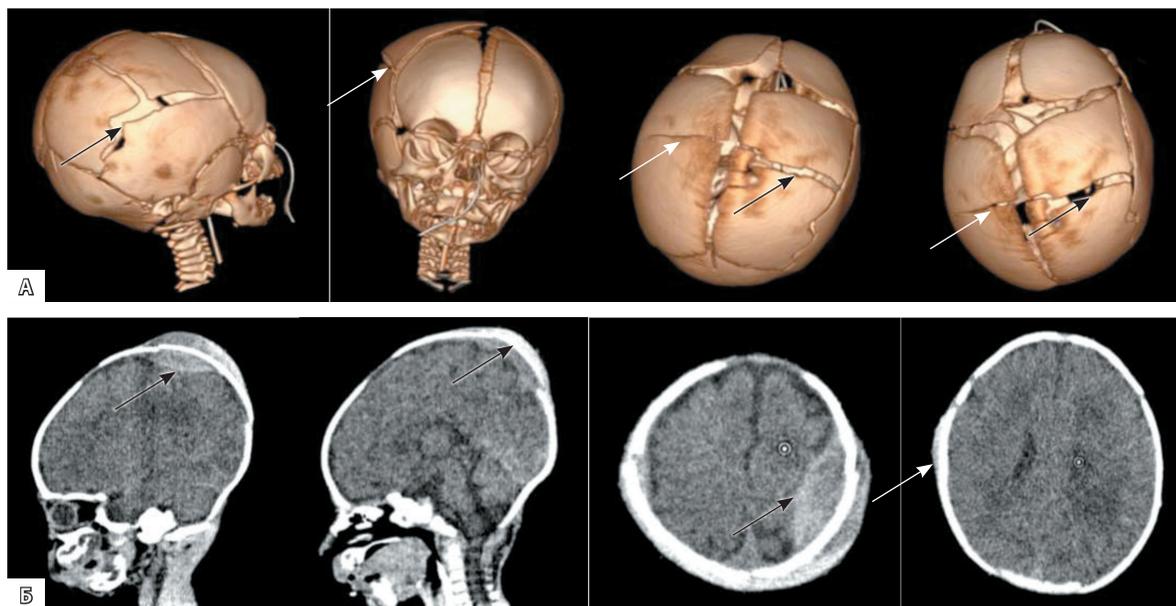


Рис. 2. Пациент Ш., 14-й день жизни. Мультиспиральная компьютерная томография головы: **А** – 3D-реконструкция костей черепа, стрелки указывают на переломы теменных костей черепа (положительная динамика, уменьшение диастаза); **Б** – компьютерно-томографические изображения головного мозга в сагиттальных и аксиальных срезах, стрелки указывают на эпидуральную и подкожную гематому (положительная динамика, уменьшение объема гематом)

постепенно сгладилась, и он приобрел естественные очертания. Выполненная в возрасте 6 месяцев в состоянии бодрствования с открытыми глазами рутинная ЭЭГ зарегистрировала появление графоэлементов, по

морфологии напоминающих ДЭПД, в правой лобно-височной области (рис. 3). Контрольная МРТ головного мозга в возрасте 8 месяцев верифицировала замедленную миелинизацию в виде недостаточного повышения



интенсивности МР-сигнала на T1-взвешенных изображениях и чрезмерного повышения – на T2-взвешенных изображениях от белого вещества головного мозга в лобных и теменно-затылочных областях (рис. 4).

Обсуждение и заключение

Большинство пострадавших в автомобильных авариях беременных получают легкие травмы или вообще избегают какого-либо повреждения [50], при этом исход аварии может оказаться неблагоприятным для плода и сопровождаться тяжелой внутриутробной ЧМТ [51], зачастую с летальным исходом [15, 37]. Нередко сопутствующие ЧМТ повреждения, прежде всего отслойка плаценты, существенно ухудшают прогноз, поэтому своевременная диагностика угрожающего плоду состояния и правильная тактика ведения беременной, прежде всего экстренное родоразрешение (кесарево сечение) в приемлемые сроки беременности, могут стать факторами, позволяющими избежать смерти плода и обеспечить адекватную терапию в неонатальный период [22].

Представленный нами клинический случай отличается рядом особенностей острейшего периода травмы, которые могут рассматриваться в качестве кандидатов на роль предикторов благоприятного исхода внутриматочной ЧМТ без нейрохирургического вмешательства. Прежде всего следует отметить экстренное кесарево сечение, выполненное в кратчайшие сроки на фоне непродолжительного безводного периода, отсутствия родовой деятельности и подозрения на отслойку плаценты и позволившее избежать длительного внутриутробного наблюдения за жизнедеятельностью плода, во время которого его состояние могло ухудшиться до критического [20, 52]. Следующим важным моментом стала форма ЧМТ, так как, несмотря на в целом неблагоприятные исходы при внутримозговых кровоизлияниях (смертность достигает 43%) [41], показано, что субдуральные гематомы имеют менее тяжелое течение и лучшие исходы (до 2/3 выживших младенцев остаются неврологически сохранными), нежели тяжелые внутрижелудочковые кровоизлияния [40]. И наконец, родоразрешение пришлось на поздний срок беременности, когда органы и системы организма, в том числе головной мозг, в достаточной степени сформированы. Таким образом, поздний срок беременности, правильная акушерская тактика и эпидуральная гематома могут оказаться факторами, определяющими благоприятный исход тяжелой внутриутробной ЧМТ.

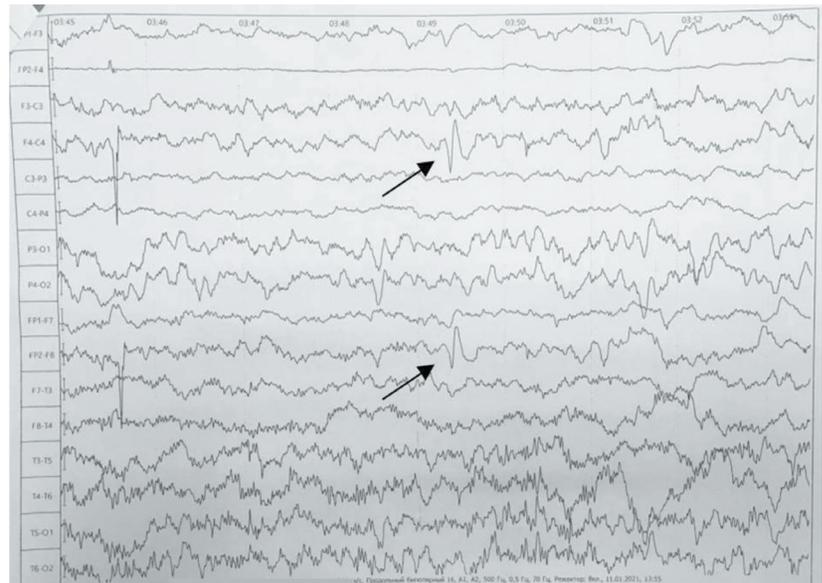


Рис. 3. Пациент Ш., 6 месяцев. Электроэнцефалография: доброкачественные эпилептиформные паттерны детства (отмечены стрелками)

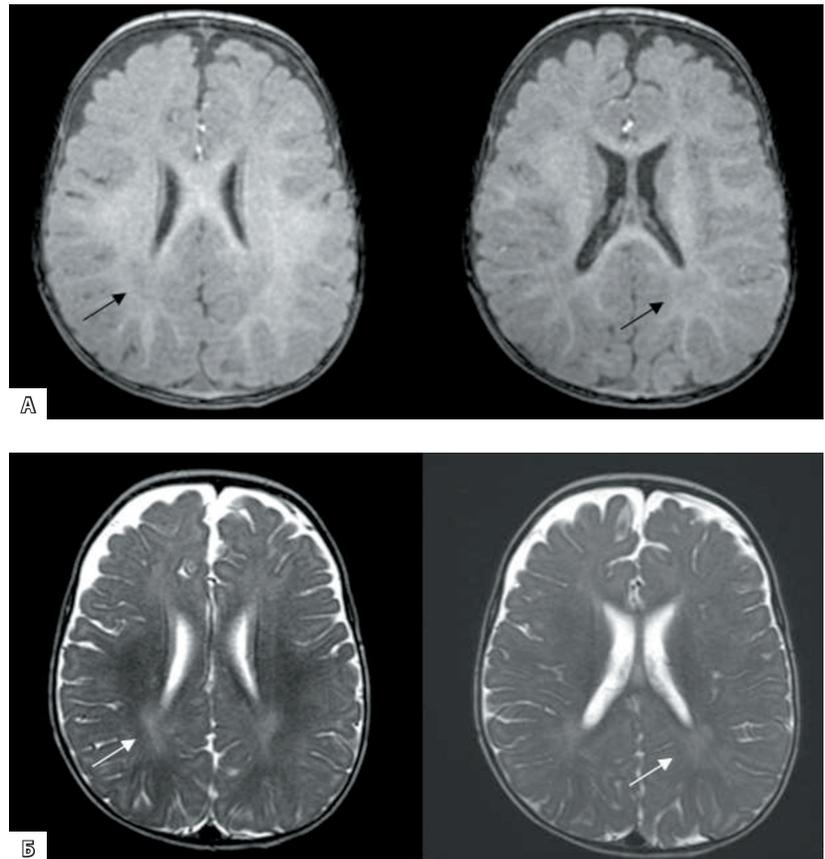


Рис. 4. Пациент Ш., 6 месяцев. Магнитно-резонансная томография головного мозга в аксиальной плоскости: **А** – T1-взвешенные изображения, **Б** – T2-взвешенные изображения; стрелки указывают на участки замедленной миелинизации

Помимо непосредственного исхода представляют интерес отсроченные результаты травматического повреждения головного мозга плода. В нашем случае динамическое наблюдение в течение 6 месяцев свидетельствует о развитии ребенка в соответствии с возрастом, отсутствии жалоб, в том числе неврологических, и видимой неврологической патологии, встречающихся почти у половины выживших после ЧМТ младенцев [40]. При этом работы, рассматривающие исходы посттравматических нарушений в отсутствие видимой неврологической патологии, в основном посвящены клинической оценке состояния младенцев [39]. На выполненной с интервалом в 6 месяцев ЭЭГ отмечено появление патологической активности, по морфологии напоминающей ДЭПД, свидетельствующей о незрелости мозга и прежде всего его белого вещества [47]. Подтверждением задержки созревания мозга

стало обнаружение при проведении МРТ перивентрикулярных очагов гиперинтенсивности, отражающих нарушение миелинизации проводящих путей [53]. Выявление субклинических структурных и функциональных церебральных нарушений предполагает необходимость дальнейшего динамического наблюдения и обследования ребенка ввиду повышенного риска формирования поведенческих, когнитивных и пароксизмальных нарушений [39, 48, 49].

В заключение подчеркнем: случаи внутриутробной ЧМТ при автомобильной аварии следует рассматривать не только с позиции эффективности оказания медицинской помощи в острый период и сиюминутного исхода травмы, но и в контексте долгосрочной перспективы обеспечения здоровья ребенка ввиду повышенного риска развития отдаленных структурных и функциональных церебральных нарушений. ☺

Дополнительная информация

Согласие пациента

Законный представитель пациента добровольно подписал информированное согласие на публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме в журнале «Альманах клинической медицины».

Финансирование

Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.

Конфликт интересов

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

Участие авторов

Н.А. Востриков – курация пациента в стационаре, концепция и дизайн статьи, поиск и анализ литературы, написание текста; И.В. Пономарева и О.В. Черемисинов – обследование и курация пациента, написание текста; М.А. Шерман – концепция и дизайн статьи, редактирование текста. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

1. El-Kady D, Gilbert WM, Anderson J, Daniels- en B, Towner D, Smith LH. Trauma during pregnancy: an analysis of maternal and fetal outcomes in a large population. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;190(6):1661–1668. doi: 10.1016/j.ajog.2004.02.051.
2. Mattox KL, Goetzl L. Trauma in pregnancy. *Crit Care Med.* 2005;33(10 Suppl):S385–S389. doi: 10.1097/01.ccm.0000182808.99433.55.
3. Pearlman MD, Tintinalli JE, Lorenz RP. A prospective controlled study of outcome after trauma during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;162(6):1502–1507; discussion 1507–1510. doi: 10.1016/0002-9378(90)90913-r.
4. Pearlman MD. Motor vehicle crashes, pregnancy loss and preterm labor. *Int J Gynaecol Obstet.* 1997;57(2):127–132. doi: 10.1016/s0020-7292(96)02829-9.
5. Weiss HB, Songer TJ, Fabio A. Fetal deaths related to maternal injury. *JAMA.* 2001;286(15): 1863–1868. doi: 10.1001/jama.286.15.1863.
6. Hyde LK, Cook LJ, Olson LM, Weiss HB, Dean JM. Effect of motor vehicle crashes on adverse fetal outcomes. *Obstet Gynecol.* 2003;102(2):279–286. doi: 10.1016/s0029-7844(03)00518-0.
7. Kvarnstrand L, Milsom I, Lekander T, Druid H, Jacobsson B. Maternal fatalities, fetal and neonatal deaths related to motor vehicle crashes during pregnancy: a national population-based study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2008;87(9):946–952. doi: 10.1080/00016340802302184.
8. Amezcua-Prieto C, Ross J, Rogozińska E, Mighiu P, Martínez-Ruiz V, Brohi K, Bueno-Cavanillas A, Khan KS, Thangaratinam S. Maternal trauma due to motor vehicle crashes and pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 2020;10(10):e035562. doi: 10.1136/bmjopen-2019-035562.
9. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Spong CY, Dashe JS, Hoffman BL, Casey BM, Sheffield JS, editors. *Williams Obstetrics.* 24th ed. New York: McGraw Hill; 2014.
10. Shah KH, Simons RK, Holbrook T, Fortlage D, Winchell RJ, Hoyt DB. Trauma in pregnancy: maternal and fetal outcomes. *J Trauma.* 1998;45(1):83–86. doi: 10.1097/00005373-199807000-00018.
11. Stafford PA, Biddinger PW, Zumwalt RE. Lethal intrauterine fetal trauma. *Am J Obstet Gynecol.* 1988;159(2):485–489. doi: 10.1016/s0002-9378(88)80115-7.
12. Rothenberger D, Quattlebaum FW, Perry JF Jr, Zabel J, Fischer RP. Blunt maternal trauma: a review of 103 cases. *J Trauma.* 1978;18(3):173–179.
13. Farmer DL, Adzick NS, Crombleholme WR, Crombleholme TM, Longaker MT, Harrison MR. Fetal trauma: relation to maternal injury. *J Pediatr Surg.* 1990;25(7):711–714. doi: 10.1016/s0022-3468(05)80002-8.
14. Goodwin TM, Breen MT. Pregnancy outcome and fetomaternal hemorrhage after non-catastrophic trauma. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;162(3):665–671. doi: 10.1016/0002-9378(90)90979-h.



15. Klinich KD, Schneider LW, Moore JL, Pearlman MD. Investigations of crashes involving pregnant occupants. *Annu Proc Assoc Adv Automot Med.* 2000;44:37–55.
16. Ali J, Yeo A, Gana TJ, McLellan BA. Predictors of fetal mortality in pregnant trauma patients. *J Trauma.* 1997;42(5):782–785. doi: 10.1097/00005373-199705000-00005.
17. Motozawa Y, Hitosugi M, Abe T, Tokudome S. Effects of seat belts worn by pregnant drivers during low-impact collisions. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;203(1):62.e1–e8. doi: 10.1016/j.ajog.2010.02.047.
18. Yamada S, Nishijima K, Takahashi J, Takahashi N, Tamamura C, Yoshida Y. Intrauterine fetal death caused by seatbelt injury. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2017;56(4):558–560. doi: 10.1016/j.tjog.2016.08.009.
19. Lavin JP Jr, Miodovnik M. Delayed abruption after maternal trauma as a result of an automobile accident. *J Reprod Med.* 1981;26(12):621–624.
20. Dahmus MA, Sibai BM. Blunt abdominal trauma: are there any predictive factors for abruption placenta or maternal-fetal distress? *Am J Obstet Gynecol.* 1993;169(4):1054–1059. doi: 10.1016/0002-9378(93)90053-l.
21. Jain V, Chari R, Maslovitz S, Farine D; Maternal Fetal Medicine Committee, Bujold E, Gagnon R, Basso M, Bos H, Brown R, Cooper S, Gouin K, McLeod NL, Menticoglou S, Mundle W, Pylpyjuk C, Roggensack A, Sanderson F. Guidelines for the Management of a Pregnant Trauma Patient. *J Obstet Gynaecol Can.* 2015;37(6):553–574. English, French. doi: 10.1016/s1701-2163(15)30232-2.
22. Morris JA Jr, Rosenbower TJ, Jurkovich GJ, Hoyt DB, Harviel JD, Knudson MM, Miller RS, Burch JM, Meredith JW, Ross SE, Jenkins JM, Bass JG. Infant survival after cesarean section for trauma. *Ann Surg.* 1996;223(5):481–488; discussion 488–491. doi: 10.1097/00000658-199605000-00004.
23. Brown HL. Trauma in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2009;114(1):147–160. doi: 10.1097/AOG.0b013e3181ab6014.
24. Fries MH, Hankins GD. Motor vehicle accident associated with minimal maternal trauma but subsequent fetal demise. *Ann Emerg Med.* 1989;18(3):301–304. doi: 10.1016/s0196-0644(89)80418-4.
25. Baethmann M, Kahn T, Lenard HG, Voit T. Fetal CNS damage after exposure to maternal trauma during pregnancy. *Acta Paediatr.* 1996;85(11):1331–1338. doi: 10.1111/j.1651-2227.1996.tb13920.x.
26. Strigini FA, Cioni G, Canapicchi R, Nardini V, Capriello P, Carmignani A. Fetal intracranial hemorrhage: is minor maternal trauma a possible pathogenetic factor? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001;18(4):335–342. doi: 10.1046/j.0960-7692.2001.00486.x.
27. Piastra M, Pietrini D, Massimi L, Caldarelli M, De Luca D, Del Lungo LM, De Carolis MP, Di Rocco C, Conti G, Zecca E. Severe subdural hemorrhage due to minimal prenatal trauma. *J Neurosurg Pediatr.* 2009;4(6):543–546. doi: 10.3171/2009.7.PEDS08223.
28. Safdari M, Safdari Z, Pishjoo M. Intrauterine Fetal Traumatic Brain Injury Following Motor Vehicle Accident; A Case Report and Review of the Literature. *Bull Emerg Trauma.* 2018;6(4):372–375. doi: 10.29252/beat-060417.
29. Breyssem L, Cossey V, Mussen E, Demaerel P, Van de Voorde W, Smet M. Fetal trauma: brain imaging in four neonates. *Eur Radiol.* 2004;14(9):1609–1614. doi: 10.1007/s00330-004-2357-6.
30. Segui-Gomez M, Levy J, Graham JD. Airbag safety and the distance of the driver from the steering wheel. *N Engl J Med.* 1998;339(2):132–133. doi: 10.1056/NEJM199807093390219.
31. Christensen EE, Dietz GW. A radiographically documented intra-uterine femoral fracture. *Br J Radiol.* 1978;51(610):830–831. doi: 10.1259/0007-1285-51-610-830.
32. Zeina AR, Kessel B, Mahamid A, Gazmawi J, Shrim A, Nachtigal A, Alfici R. Computed tomographic diagnosis of traumatic fetal subdural hematoma. *Emerg Radiol.* 2013;20(2):169–172. doi: 10.1007/s10140-012-1067-7.
33. Hall EJ. Scientific view of low-level radiation risks. *Radiographics.* 1991;11(3):509–518. doi: 10.1148/radiographics.11.3.1852943.
34. McCollough CH, Schueler BA, Atwell TD, Braun NN, Regner DM, Brown DL, LeRoy AJ. Radiation exposure and pregnancy: when should we be concerned? *Radiographics.* 2007;27(4):909–917; discussion 917–918. doi: 10.1148/rg.274065149.
35. Vergani P, Strobelt N, Locatelli A, Paterlini G, Tagliabue P, Parravicini E, Ghidini A. Clinical significance of fetal intracranial hemorrhage. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;175(3 Pt 1):536–543. doi: 10.1053/ob.1996.v175.a73598.
36. Klinich KD, Flannagan CA, Rupp JD, Sochor M, Schneider LW, Pearlman MD. Fetal outcome in motor-vehicle crashes: effects of crash characteristics and maternal restraint. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198(4):450.e1–e9. doi: 10.1016/j.ajog.2008.02.009.
37. Sadro CT, Zins AM, Debiec K, Robinson J. Case report: lethal fetal head injury and placental abruption in a pregnant trauma patient. *Emerg Radiol.* 2012;19(2):175–180. doi: 10.1007/s10140-011-1017-9.
38. Recker MJ, Cappuzzo JM, Li V. Management of Intracranial Hemorrhage and Skull Fracture After Blunt Intrauterine Trauma. *World Neurosurg.* 2020;138:352–354. doi: 10.1016/j.wneu.2020.03.089.
39. Leroy-Malherbe V, Bonnier C, Papiernik E, Groos E, Landrieu P. The association between developmental handicaps and traumatic brain injury during pregnancy: an issue that deserves more systematic evaluation. *Brain Inj.* 2006;20(13–14):1355–1365. doi: 10.1080/02699050601102202.
40. Ghi T, Simonazzi G, Perolo A, Savelli L, Sandri F, Bernardi B, Santini D, Bovicelli L, Pilu G. Outcome of antenatally diagnosed intracranial hemorrhage: case series and review of the literature. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;22(2):121–130. doi: 10.1002/uog.191.
41. Joseph JR, Smith BW, Garton HJ. Blunt prenatal trauma resulting in fetal epidural or subdural hematoma: case report and systematic review of the literature. *J Neurosurg Pediatr.* 2017;19(1):32–37. doi: 10.3171/2016.7.PEDS16282.
42. Doose H, Neubauer BA, Petersen B. The concept of hereditary impairment of brain maturation. *Epileptic Disord.* 2000;2 Suppl 1:S45–S49.
43. Wohrlab G, Schmitt B, Boltshauser E. Benign focal epileptiform discharges in children after severe head trauma: prognostic value and clinical course. *Epilepsia.* 1997;38(3):275–278. doi: 10.1111/j.1528-1157.1997.tb01117.x.
44. Мухин КЮ. Доброкачественные эпилептиформные паттерны детства и ассоциированные с ними состояния. *Русский журнал детской неврологии.* 2018;13(3):7–24. doi: 10.17650/2073-8803-2018-13-3-7-24. [Mukhin KYu. [Benign epileptiform discharges of childhood and associated conditions]. *Russian Journal of Child Neurology.* 2018;13(3):7–24. Russian. doi: 10.17650/2073-8803-2018-13-3-7-24.]
45. Doose H, Baier WK. Benign partial epilepsy and related conditions: multifactorial pathogenesis with hereditary impairment of brain maturation. *Eur J Pediatr.* 1989;149(3):152–158. doi: 10.1007/BF01958268.
46. Stephani U, Doose H. Benign idiopathic partial epilepsy and brain lesion. *Epilepsia.* 1999;40(3):373–376. doi: 10.1111/j.1528-1157.1999.tb00721.x.
47. Мухин КЮ, Кузьмич ГВ, Балканская СВ, Батышева ТТ, Куренков АЛ, Горина ТП. Особенности эпилептиформной активности ЭЭГ у детей с перивентрикулярной лейкомаляцией и церебральным параличом при отсутствии эпилепсии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2012;112(7–2):71–6. [Mukhin Klu, Kuz'mich GV, Balkanskaia SV, Batusheva TT, Kurenkov AL, Gorina TP. [Features of epileptiform activity on EEG in children with periventricular leukomalacia and cerebral palsy without epilepsy]. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry.* 2012;112(7–2):71–6. Russian.]
48. Kim SE, Lee JH, Chung HK, Lim SM, Lee HW. Alterations in white matter microstructures and cognitive dysfunctions in benign childhood epilepsy with centrotemporal spikes. *Eur J Neurol.* 2014;21(5):708–717. doi: 10.1111/ene.12301.
49. Doose H, Neubauer B, Carlsson G. Children with benign focal sharp waves in the EEG –



developmental disorders and epilepsy. *Neuropediatrics*. 1996;27(5):227–241. doi: 10.1055/s-2007-973771.

50. Owattanapanich N, Lewis MR, Benjamin ER, Wong MD, Demetriades D. Motor vehicle crashes in pregnancy: maternal and fetal outcomes. *J Trauma Acute Care Surg*. 2021 Jan

25. Epub ahead of print. doi: 10.1097/TA.0000000000003093.

51. Härtl R, Ko K. In utero skull fracture: case report. *J Trauma*. 1996;41(3):549–552. doi: 10.1097/00005373-199609000-00031.

52. Yamasato K, Kurata N, Towner D. Delayed Appearance of a Traumatic Fetal

Intracranial Hemorrhage. *Case Rep Obstet Gynecol*. 2018;2018:1465034. doi: 10.1155/2018/1465034.

53. Eeg-Olofsson O, Lundberg S, Raininko R. MRI in rolandic epilepsy. *Epileptic Disord*. 2000;2 Suppl 1:S51–S53.

Severe brain trauma to the fetus in a car accident: Literature review and a clinical case

N.A. Vostrikov¹ • I.V. Ponomareva² • O.V. Cheremisinov³ • M.A. Sherman⁴

Car accidents are the main cause of trauma during pregnancy. Even a non-severe accident is associated with a high risk of injury and unfavorable outcome for the fetus, especially in the event of placental abruption. Major agents leading to a trauma could also include safety belt and safety airbags. Blunt abdominal trauma during a car accident is associated with such type of intrauterine injury as fetal skull fractures and various intracranial hemorrhages. Despite a common viewpoint on relatively high death rates in this population, it is not infrequent that fetal trauma has a favorable outcome without any clinically significant neurological deficiency.

The paper presents an analysis of the main outcomes of intrauterine brain injury and associated factors. As an illustration, we describe a case of a car accident related brain injury to a fetus at 38 week of gestation, with skull fracture, brain contusion, and subarachnoidal, epidural and subdural, parenchymal and intraventricular hemorrhages induced by the safety belt, with the mother being virtually uninjured. After treatment, the patient was discharged from the hospital in a satisfactory state, without clinically significant neurological symptoms and signs. A 8-months follow-up of the infant showed some delay in brain maturation manifesting as benign epileptiform

discharges of childhood and magnetic resonance imaging patterns.

It is highly likely, that the leading factors ensuring a favorable outcome of an intrauterine severe brain trauma (without fatal trauma to the mother and fetus) are as follows: correct obstetric strategy, late gestational age and absence of a massive parenchymal and/or intraventricular bleeding. After the short-term clinical recovery from a severe intrauterine brain trauma and in addition to it, proper follow-up of the child is essential because of a high risk of long-term cerebral and functional abnormalities, mostly paroxysmal, behavioral and cognitive.

Key words: car accident, trauma during pregnancy, fetal brain trauma, benign epileptiform discharges of childhood, abnormal brain maturation, benign age-dependent epilepsy

For citation: Vostrikov NA, Ponomareva IV, Cheremisinov OV, Sherman MA. Severe brain trauma to the fetus in a car accident: Literature review and a clinical case. *Almanac of Clinical Medicine*. 2021;49(3):231–238. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-015.

Received 14 March 2021; revised 19 March 2021; accepted 30 March 2021; published online 6 April 2021

Nikolay A. Vostrikov – Postgraduate Student, Chair of Neurology, Neurosurgery and Neurorehabilitation; Neurosurgeon¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3141-3663>

✉ 203–59 Moskovskaya ul., Kirov, 610050, Russian Federation. Tel.: +7 (901) 419 56 03. E-mail: vostrikov_na@outlook.com

Irina V. Ponomareva – MD, PhD, Head of Department of Neurology No. 2, Polyclinic No. 2; Neurologist, Epileptologist²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6499-3054>. E-mail: irina_victorovna@mail.ru

Oleg V. Cheremisinov – MD, PhD, Radiologist, Department of Radiology³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2630-4091>. E-mail: ocheremisinov@gmail.com

Mikhail A. Sherman – MD, PhD, Associate Professor, Head of Chair of Neurology, Neurosurgery and Neurorehabilitation⁴; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5740-1022>. E-mail: sherman@list.ru

Informed consent statement

The patient's legal representative has voluntarily signed his informed consent to the publication of the patient's personal medical information in an anonymized form in the *Almanac of Clinical Medicine* journal.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

Authors' contributions

N.A. Vostrikov, in-patient management, the paper concept and design, literature search and analysis, text writing; I.V. Ponomareva and O.V. Cheremisinov, management of the patient, text writing; M.A. Sherman, the paper concept and design, text editing. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work have been appropriately investigated and resolved.

¹The Center of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery; 163A Moskovskaya ul., Kirov, 610048, Russian Federation

²Regional Clinical Hospital No. 3; 287 Pobedy prospekt, Chelyabinsk, 454021, Russian Federation

³Kirov Regional Clinical Hospital; 42 Vorovskogo ul., Kirov, 610027, Russian Federation

⁴Kirov State Medical University; 112 K. Marksa ul., Kirov, 610998, Russian Federation



Лекция

Демиелинизирующие заболевания центральной нервной системы у детей: лекция для практикующих педиатров

Котов А.С.¹ • Пантелеева М.В.¹ • Мухина Е.В.¹

Котов Алексей Сергеевич – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры неврологии факультета усовершенствования врачей, заведующий отделением неврологии по разделу «Наука»¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2988-5706>
✉ 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2–10, Российская Федерация.
Тел.: +7 (926) 284 81 15.
E-mail: alex-013@yandex.ru

Пантелеева Маргарита Владимировна – д-р мед. наук, ст. науч. сотр. отделения неврологии¹

Мухина Евгения Вадимовна – мл. науч. сотр. отделения неврологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8145-7023>

¹ ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация

Демиелинизирующие заболевания относятся к числу аутоиммунных патологий, основным патоморфологическим проявлением которых служит разрушение миелина в центральной нервной системе (ЦНС). В последнее время отмечается непрерывный рост демиелинизирующих заболеваний ЦНС, в том числе в детской популяции. Несмотря на активное развитие методов диагностики и верификации форм демиелинизирующих заболеваний, по-прежнему остается актуальной проблема дифференциальной диагностики демиелинизирующих заболеваний и других состояний, связанных с изменением структуры белого вещества головного мозга, выявляемым с помощью магнитно-резонансной томографии. Нами было обследовано 123 пациента с подозрением на демиелинизирующие заболевания ЦНС, диагноз подтвержден у 102 из них. Самой частой формой демиелинизирующих заболеваний ЦНС был рассеянный склероз – у 79 из 102 пациентов, намного реже встречались анти-MOG-ассоциированные расстройства – у 5,

заболевания из спектра оптиконевромиелита – у 3, острый рассеянный энцефаломиелит – у 2. В лекции охарактеризованы основные клинические, лабораторные и нейровизуализационные особенности каждой из этих нозологий, освещены основные трудности в лечении педиатрических пациентов с демиелинизирующими заболеваниями ЦНС.

Ключевые слова: демиелинизация, дети, рассеянный склероз, оптиконевромиелит, анти-MOG

Для цитирования: Котов АС, Пантелеева МВ, Мухина ЕВ. Демиелинизирующие заболевания центральной нервной системы у детей: лекция для практикующих педиатров. Альманах клинической медицины. 2021;49(3):239–244. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-034.

Поступила 26.02.2021; доработана 17.06.2021; принята к публикации 21.06.2021; опубликована онлайн 06.07.2021

Демиелинизирующие заболевания относятся к числу аутоиммунных патологий, основным патоморфологическим проявлением которых служит разрушение миелина в центральной нервной системе (ЦНС), и представляют собой одну из наиболее

социально и экономически значимых проблем современной неврологии в связи с актуальностью вопроса их своевременной диагностики и последующей тактики ведения пациентов.

В последнее время отмечается непрерывный рост демиелинизирующих заболеваний

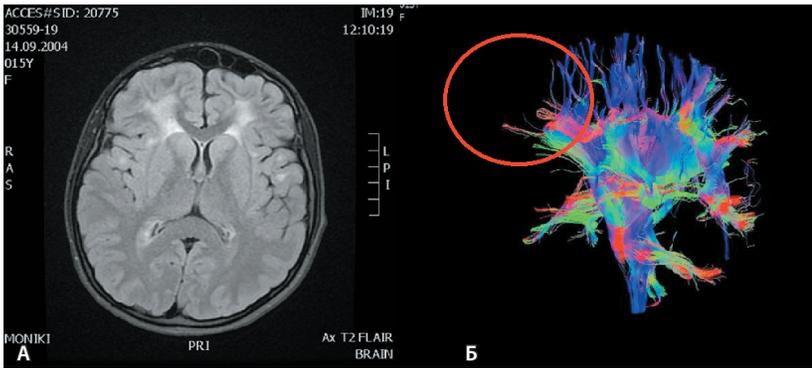


Рис. 1. Поражение белого вещества головного мозга у пациентки с генетически подтвержденной болезнью Александра: **А** – в режиме FLAIR визуализируется характерное двустороннее симметричное непрогрессирующее поражение белого вещества передних отделов гемисфер мозга, **Б** – на трактографии отображено обеднение количества волокон в лобных отделах (обведено красным)

ЦНС, в том числе в детской популяции. С одной стороны, это связано с улучшением диагностики: более широкой доступностью магнитно-резонансной томографии (МРТ), наличием

специализированных кабинетов и центров рассеянного склероза (РС). Вместе с тем в российских реалиях эти кабинеты и центры созданы для диагностики и лечения РС у взрослых (заболевание включено в список «высокозатратных нозологий»), тогда как специалистов по педиатрическому РС можно пересчитать по пальцам. С другой стороны, наблюдается фактический рост частоты демиелинизирующих заболеваний ЦНС, обусловленный этиопатогенетическими особенностями данного континуума нозологий. При этом в значительной степени этиология и патогенез демиелинизирующих заболеваний ЦНС, за исключением редких семейных форм, остаются непонятными современной науке, что не позволяет добиться явного прорыва в их лечении по сравнению с «классическими» детскими инфекциями (корь, дифтерия, коклюш и др.), заболеваемость и смертность от которых после введения всеобщей вакцинации снизились в тысячи раз.

Спектр специфических лабораторных исследований, которые помогают

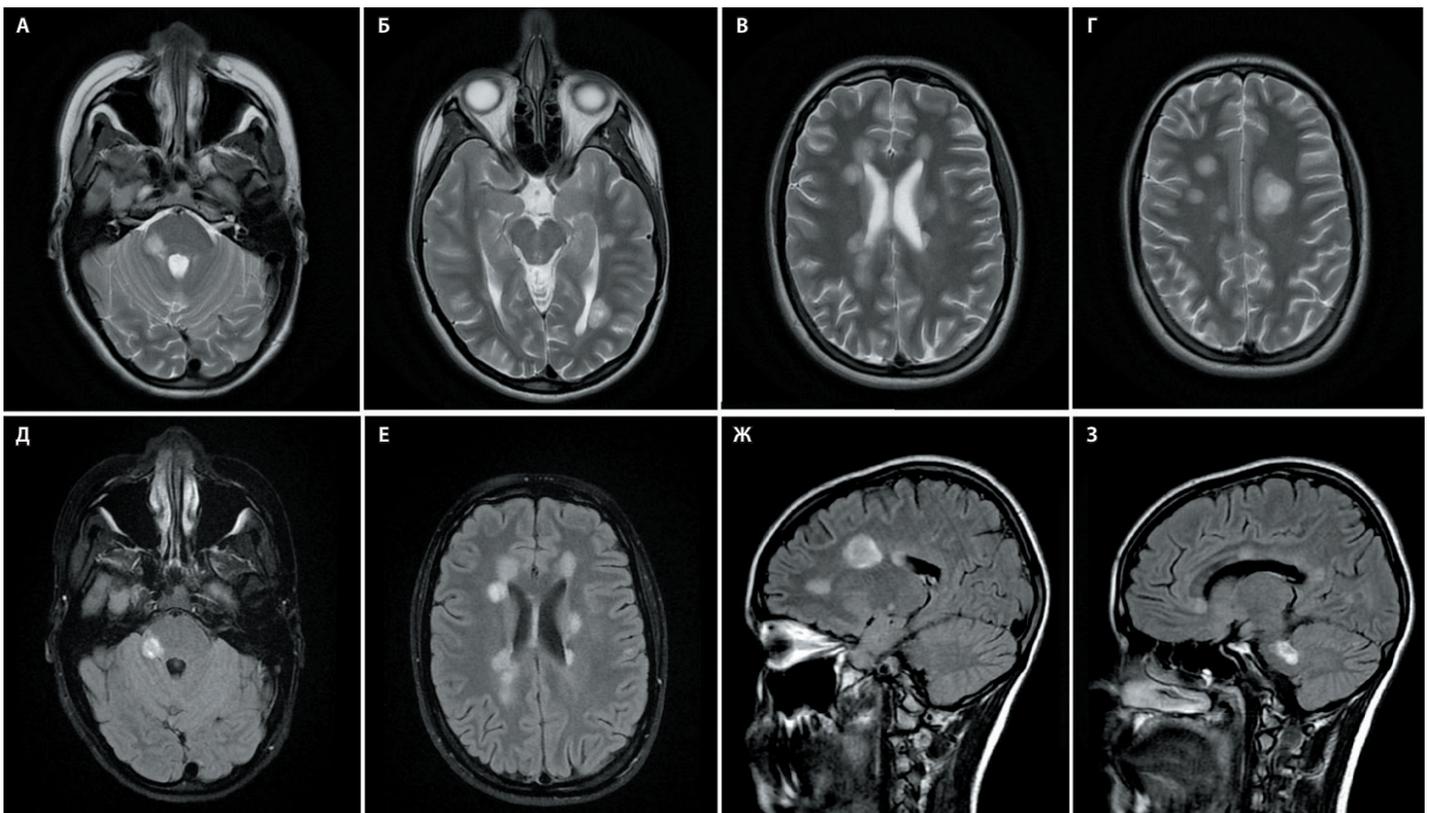


Рис. 2. Магнитно-резонансная томограмма подростка с агрессивным течением рассеянного склероза. Аксиальная и сагиттальная плоскости, режимы T2 (А–Г) и T2-FLAIR (Д–З). Множественные очаги демиелинизации с супра- и инфратенториальной локализацией очагов: в левой теменной доле перивентрикулярно заднему ругу бокового желудочка (Б), в обоих лобно-теменных долях перивентрикулярно боковым желудочкам (В, Е), в субкортикальном белом веществе (Г), максимальными размерами до 23 × 22 мм (Ж), в своде и колене мозолистого тела (З), в основании правой средней мозжечковой ножки мозжечка (А, Д)

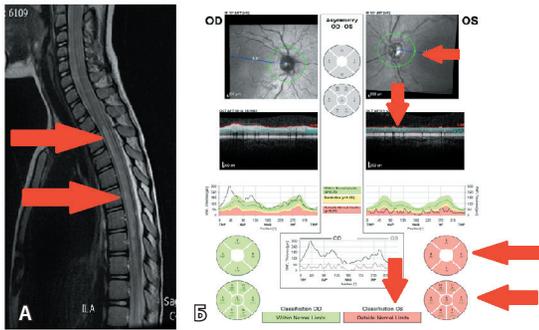


Рис. 3. Миелит и оптический неврит у ребенка 6 лет с оптиконевромиелитом: **А** – протяженный очаг миелита в грудном отделе позвоночника (указан стрелками), **Б** – атрофия левого зрительного нерва в результате оптического неврита по данным оптической когерентной томографии (указана стрелками)

в дифференциальной диагностике различных типов демиелинизирующих заболеваний ЦНС, в последние годы значительно расширился. Для подтверждения диагноза РС доступен анализ на определение типа синтеза олигоклональных антител [1], для подтверждения диагноза растройства спектра оптиконевромиелита – аутоантител к белку водопроводящих каналов клеточных мембран олигодендроцитов, мишенью для которых выступает белок аквапорин-4 [2], для оптикомиелита, ассоциированного с анти-MOG-антителами, – антител к гликопротеину миелина олигодендроцитов [3, 4].

Несмотря на активное развитие методов диагностики и верификации форм демиелинизирующих заболеваний, по-прежнему остается актуальной проблема их дифференциальной диагностики с другими заболеваниями, связанными с изменением структуры белого вещества головного мозга, выявляемым на МРТ. Так, на «неврологические койки» педиатрического отделения ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского за 2016–2020 гг. поступило 123 пациента детского возраста с подозрением на демиелинизирующие заболевания ЦНС. Помимо стандартного обследования (анализы крови и мочи, электрокардиограмм и др.) всем пациентам проводили МРТ головного мозга (при необходимости – шейного и/или грудного отдела позвоночника) на высокопольном магнитно-резонансном томографе 1,5 Тл с определением наличия магнитно-резонансных критериев диагностики РС Макдональда [5], специфические лабораторные тесты (определение типа синтеза олигоклональных антител,

антитела к аквапорину-4, антитела к MOG), оценку по расширенной шкале инвалидизации EDSS (Expanded Disability Status Scale) [6].

В результате диагноз демиелинизирующих заболеваний ЦНС не был подтвержден у 21 пациента. В 14 случаях это были пациенты со случайно выявленными на МРТ очагами в белом веществе, которые трактовали как постгипоксические изменения головного мозга. Поводом для проведения у них МРТ послужили неспецифические жалобы (головная боль, утомляемость и др.). Отсутствие органического неврологического дефицита, прогрессирования симптомов (как клинических, так и нейровизуализационных), а также наличие первого (не патологического) типа синтеза олигоклональных антител позволили с высокой степенью уверенности отклонить диагноз демиелинизирующих заболеваний ЦНС у данной когорты пациентов. У остальных 7 больных из этой группы были констатированы последствия вирусного энцефалита (4 человека), новообразования (1 человек) и редкие генетические заболевания с поражением белого вещества – атрофия Лебера и болезнь Александра (2 человека) (рис. 1).

Среди 102 пациентов с подтвержденным диагнозом демиелинизирующих заболеваний ЦНС основную долю составили больные РС (79 человек). Трое обследованных с ретробульбарным

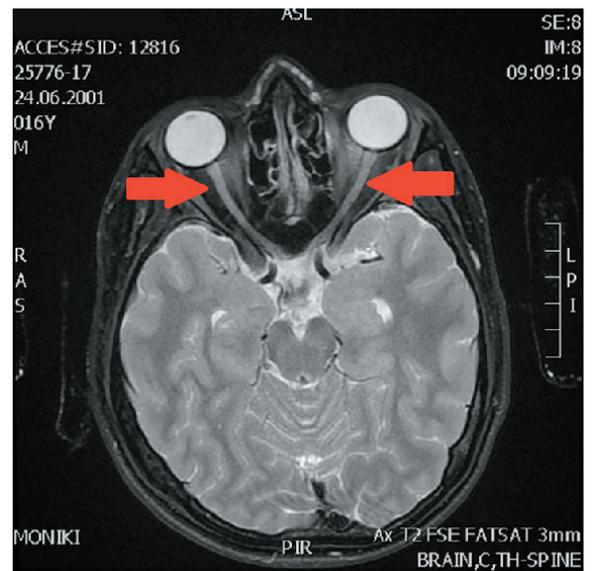


Рис. 4. Двусторонний оптический неврит у подростка 17 лет с синдромом анти-MOG. Режим T2 с подавлением сигнала от жира. Гиперинтенсивный сигнал на большом протяжении от проксимальных отделов обоих зрительных нервов (указано стрелками)

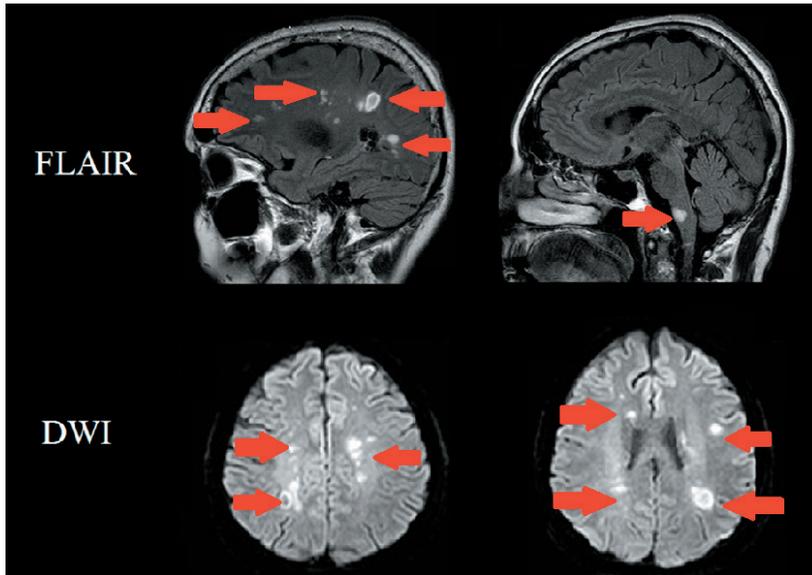


Рис. 5. Многоочаговое поражение головного мозга у подростка с острым рассеянным энцефаломиелитом. Крупные склонные к слиянию очаги в белом веществе больших полушарий, стволе мозга в режимах FLAIR и DWI (указаны стрелками), на месте «старых» очагов тут же образуются «новые», что нехарактерно для рассеянного склероза

невритом, трое с клинически изолированным синдромом и семеро с радиологически изолированным синдромом формально не соответствовали диагнозу рассеянного склероза, но имели крайне высокий риск эволюции своего состояния в достоверный РС.

Отметим: первоначально под наблюдением с диагнозом ретроульбарного неврита находились 9 детей, однако с течением времени (в среднем через 2,5–3 года от первых симптомов) заболевание развернулось в подтвержденный РС у 5 пациентов, и еще у 1 пациента – в оптикомиелит, ассоциированный с анти-MOG-антителами.

Интересным представляется случай ребенка из данной группы с первоначальным диагнозом радиологически изолированного синдрома, который находился под наблюдением более 4 лет. Клинических симптомов и распространения очагов во времени и пространстве, по данным МРТ, при наличии 2-го типа синтеза олигоклональных антител не наблюдалось. Развернутая клиническая и МРТ-картина проявилась спустя 4 года наблюдения, что позволило подтвердить диагноз РС и назначить специфическую терапию.

Типичными признаками РС у обследованных нами пациентов были эпизоды обострений с появлением новой неврологической

симптоматики в различных системах (зрительной, двигательной, соматосенсорной и др.), что выражалось в нарастании балла инвалидизации по шкале EDSS на 1 и более, появлении новых очагов в белом веществе по данным МРТ, появлении «активных» (накапливающих контраст) очагов, второго (патологического, характерного для РС) типа синтеза олигоклональных антител (рис. 2).

Наличие антител к аквапорину-4 в крови у пациентов, перенесших единичные или повторные атаки оптического неврита и/или поперечного миелита, позволило установить диагноз расстройств из спектра оптиконевромиелита у 3 обследованных (рис. 3).

Нетипичное для РС клиническое течение и нехарактерные находки на МРТ, отсутствие второго типа синтеза олигоклональных антител и отрицательный результат теста на антитела к аквапорину-4 определяли показания к проведению анализа крови на антитела к гликопротеину миелина олигодендроцитов, что позволило подтвердить диагноз оптикомиелита, ассоциированного с анти-MOG-антителами, у 5 человек (рис. 4).

Возникновение симптоматики после перенесенной респираторной вирусной инфекции, грубые общемозговые нарушения (угнетение сознания, психические нарушения, эпилептические приступы), выраженный неврологический дефицит и характерная магнитно-резонансная картина (одновременное появление множества больших по размеру, склонных к слиянию очагов) позволили установить диагноз острого рассеянного энцефаломиелита у 2 обследованных (рис. 5).

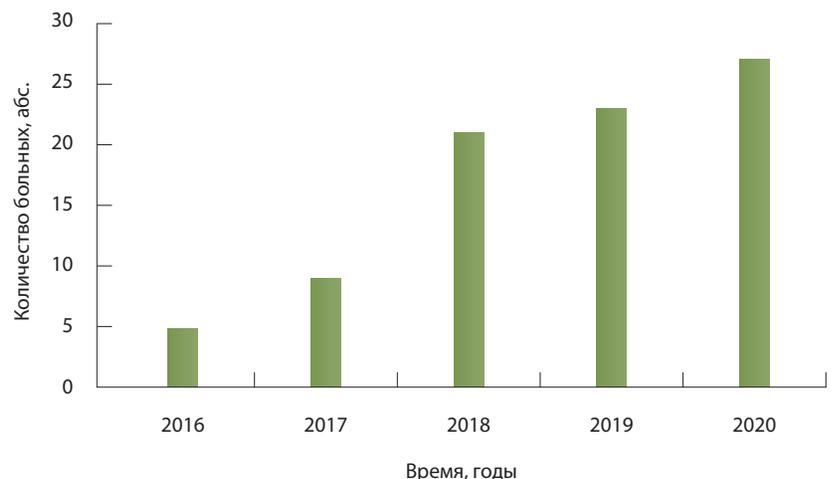


Рис. 6. Динамика выявления новых педиатрических пациентов с демиелинизирующими заболеваниями



Актуальность проблемы демиелинизирующих заболеваний ЦНС у детей подчеркивает и динамика выявления новых пациентов: в 2016 г. было выявлено 5 больных с данным спектром нозологий, в 2017 – 8, в 2018 – 21, в 2019 – 23, в 2020 – 27 (рис. 6).

Таким образом, благодаря увеличению доступности МРТ растет как число выявленных случаев демиелинизирующих заболеваний ЦНС у детей, так и количество ложноположительных результатов, за которыми скрываются последствия перинатального поражения ЦНС или синдромальная генетическая патология. Сходные данные представлены Международной педиатрической исследовательской группой рассеянного склероза (International Pediatric Multiple Sclerosis Study Group, IPMSSG): в список состояний, которые могут имитировать острые воспалительные демиелинизирующие события, были включены другие воспалительные нарушения белого вещества, первичные опухоли в ЦНС и наследственные нейрометаболические заболевания [7, 8]. Резидуально-органические заболевания ЦНС или последствия перинатального поражения ЦНС, согласно последним зарубежным данным, изначально не должны ассоциироваться с дебютом демиелинизирующих заболеваний ЦНС, так как для них характерны следующие признаки, нетипичные для демиелинизирующих заболеваний: задержка развития в анамнезе, прогрессирующая или резидуальная энцефалопатия, моноочаговое

поражение головного мозга по данным нейровизуализации [9].

Своевременное и правильное установление диагноза – лишь первый шаг на пути к помощи таким пациентам. Выбор препаратов для лечения РС у детей в России остается крайне ограниченным (большинство препаратов не одобрены у лиц младше 18 лет и очень дороги, что делает их применение офф-лейбл практически нереальным). Различные клинические исследования новейших препаратов не позволяют обеспечить всех реально нуждающихся пациентов из-за строгости критериев включения в эти исследования и их небольшого количества. Число препаратов для лечения заболеваний из спектра оптиконевромиелита еще более ограничено, в России все они без исключения назначаются офф-лейбл. Следует также еще раз подчеркнуть важность правильной диагностики: интерфероны, используемые для лечения РС, могут вызывать ухудшение у пациентов с оптиконевромиелитом [10]. Консенсусных клинических рекомендаций по лечению синдрома анти-MOG вообще не существует не только в России, но и на Западе [11].

Тем не менее последние научные открытия позволили сделать существенный шаг вперед в диагностике и лечении демиелинизирующих заболеваний ЦНС, в том числе у пациентов детского возраста. Очевидно, дальнейший принципиальный прогресс будет достигнут после фундаментальных открытий в области иммунологии и генетики. ©

Дополнительная информация

Финансирование

Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.

Конфликт интересов

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

Участие авторов

А.С. Котов – концепция и дизайн исследования, анализ результатов, написание текста, редактирование рукописи; М.В. Пантелеева – сбор и обработка материала, написание текста. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

- Puccioni-Sohler M. Cerebrospinal fluid oligoclonal IgG bands in multiple sclerosis: what does it mean? *Arq Neuropsiquiatr.* 2012;70(8):569–570. doi: 10.1590/s0004-282x2012000800001.
- Kira JI. Unexpected exacerbations following initiation of disease-modifying drugs in neuromyelitis optica spectrum disorder: Which factor is responsible, anti-aquaporin 4 antibodies, B cells, Th1 cells, Th2 cells, Th17 cells, or others? *Mult Scler.* 2017;23(9):1300–1302. doi: 10.1177/1352458517703803.
- Ramanathan S, Dale RC, Brilot F. Anti-MOG antibody: The history, clinical phenotype, and pathogenicity of a serum biomarker for demyelination. *Autoimmun Rev.* 2016;15(4):307–324. doi: 10.1016/j.autrev.2015.12.004.
- Mariotto S, Ferrari S, Monaco S, Benedetti MD, Schanda K, Alberti D, Farinazzo A, Capra R, Mancinelli C, De Rossi N, Bombardi R, Zuliani L, Zoccarato M, Tanel R, Bonora A, Turatti M, Calabrese M, Polo A, Pavone A, Grazian L, Sechi G, Sechi E, Urso D, Delogu R, Janes F, Deotto L, Cadaldini M, Bianchi MR, Cantalupo G, Reindl M, Gajofatto A. Clinical spectrum and IgG subclass analysis of anti-myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated syndromes: a multicenter study. *J Neurol.* 2017;264(12):2420–2430. doi: 10.1007/s00415-017-8635-4.



5. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, Fujihara K, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Lublin FD, Montalban X, O'Connor P, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ, Waubant E, Weinschenker B, Wolinsky JS. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol*. 2011;69(2):292–302. doi: 10.1002/ana.22366.
6. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983;33(11):1444–1452. doi: 10.1212/wnl.33.11.1444.
7. Wassmer E, Chitnis T, Pohl D, Amato MP, Banwell B, Ghezzi A, Hintzen RQ, Krupp LB, Makhani N, Rostásy K, Tardieu M, Tenenbaum S, Waldman A, Waubant E, Kornberg AJ, International Pediatric MS Study Group Global Members Symposium report. *Neurology*. 2016;87(9 Suppl 2):S110–S116. doi: 10.1212/WNL.0000000000002880.
8. Wang CX, Greenberg BM. Pediatric Multiple Sclerosis: From Recognition to Practical Clinical Management. *Neurol Clin*. 2018;36(1):135–149. doi: 10.1016/j.ncl.2017.08.005.
9. Tenenbaum S, Chamoles N, Fejerman N. Acute disseminated encephalomyelitis: a long-term follow-up study of 84 pediatric patients. *Neurology*. 2002;59(8):1224–1231. doi: 10.1212/wnl.59.8.1224.
10. Токарева ЮВ, Котов АС, Пантелеева МВ, Бунак МС. Расстройства из спектра оптиконевромиелита у пациентов детского возраста. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2018;10(1):60–64. doi: 10.14412/2074-2711-2018-1-60-64. [Tokareva YuV, Kotov AS, Panteleeva MV, Bunak MS. [Neuromyelitis optica spectrum disorders in pediatric patients]. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2018;10(1):60–64. Russian. doi: 10.14412/2074-2711-2018-1-60-64.]
11. Бойко АН, Быкова ОВ, Сиверцева СА. Рассеянный склероз у детей и подростков. М.: Медицинское информационное агентство; 2016. 408 с. [Boyko AN, Bykova OV, Sivertseva SA. [Multiple sclerosis in children and adolescents]. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2016. 408 p. Russian.]

Demyelinating diseases of the central nervous system in children: lecture for practicing pediatricians

A.S. Kotov¹ • M.V. Panteleeva¹ • E.V. Mukhina¹

Demyelinating diseases (DD) are autoimmune disorders that morphologically manifest mainly with myelin destruction in the central nervous system (CNS). Recently, there has been a continuous increase in DD of the CNS, including those in the pediatric population. Despite the active development of strategies for the diagnosis of DD and verification of its forms, the differential diagnosis of DD and other diseases associated with abnormalities in the brain white matter structure on magnetic resonance imaging continues to be problematic. We examined 123 patients with suspected DD CNS. The diagnosis was confirmed in 102 of them. The most common form of DD CNS was multiple sclerosis found in 79 of 102 subjects. Much less frequent were anti-MOG-associated disorders (5 patients), neuromyelitis optica spectrum

disorders (3 patients), and acute disseminated encephalomyelitis (2 patients). The main clinical, laboratory and neuroimaging characteristics of each of these disorders and the main difficulties in the treatment of pediatric patients with DD CNS are described.

Key words: demyelination, children, multiple sclerosis, neuromyelitis optica, anti-MOG

For citation: Kotov AS, Panteleeva MV, Mukhina EV. Demyelinating diseases of the central nervous system in children: lecture for practicing pediatricians. *Almanac of Clinical Medicine*. 2021;49(3):239–244. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-034.

Received 26 February 2021; 17 June 2021; accepted 21 June 2021; published online 6 July 2021

Alexey S. Kotov – MD, PhD, Associate Professor, Professor of Chair of Neurology, Postgraduate Training Faculty; Head of Department of Neurology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2988-5706>
✉ 61/2–10 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation. Tel.: +7 (926) 284 81 15. E-mail: alex-013@yandex.ru

Margarita V. Panteleeva – MD, PhD, Senior Research Fellow, Department of Neurology¹

Evgeniya V. Mukhina – Junior Research Fellow, Department of Neurology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8145-7023>

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

Authors' contributions

A.S. Kotov, the study concept and design, analysis of the results, text writing and editing; M.V. Panteleeva, data collection and management, text writing; E.V. Mukhina, data collection and management, text writing. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work have been appropriately investigated and resolved.

¹ Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation

