

На правах рукописи

ГОРЯИНОВА АНАСТАСИЯ ВАСИЛЬЕВНА

РОЛЬ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В ТЕЧЕНИИ
МУКОВИСЦИДОЗА У ДЕТЕЙ:
КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ

14.01.08- Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва -2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Шумилов Петр Валентинович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Гнусаев Сергей Федорович

заведующий кафедрой педиатрии Педиатрического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Доктор медицинских наук

Симонова Ольга Игоревна

заведующая отделением пульмонологии федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «__» _____ 2019 года в _____ часов на заседании Диссертационного совета Д 208.072.18 при ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России (117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1) и на сайте www.rsmu.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

доктор медицинских наук, профессор

Дубровская Мария Игоревна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Муковисцидоз (МВ) входит в число наиболее частых наследственных заболеваний, в среднем в мире МВ встречается с частотой 1:2500–3000 новорожденных. В Европейском регистре 2016 года зарегистрировано 44.719 пациентов с МВ, средний возраст больных - 21 год, средний возраст наступления смерти- 31,4 год (Renti A., Zolin A., Naehrlich L., et al. European Cystic Fibrosis Society Patient Registry). По данным регистра США за 2017г. количество больных МВ достигает 29.887 человек, средний возраст - 21,7 лет, средний возраст постановки диагноза - 4 года, летальных исходов - 38 (Bruce C., Marshall, M.D., U.S. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry, 2017). В 2016 г. частота встречаемости МВ у новорожденных РФ составила 1:8788 (Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации под ред. С.А. Красовского, А.В. Черняка, А.Ю. Воронковой и др. 2016 год). В Российской Федерации официально зарегистрировано 2.996 больных МВ, средний возраст 12,2±9,5, число умерших пациентов- 53. Доля педиатрических пациентов составляет 75,7% (2267 детей).

Инструментом ранней диагностики МВ является неонатальный скрининг, который проводится в РФ с 2006 г. (Sherman V.D., Kondratieva. E.I., Kashirskaya N.Yu. et al. 2017). По неонатальному скринингу в 2016 г. МВ был установлен у 146 детей, что составило 73,0% от всех выявленных случаев за 2016 год. Молекулярно-генетическая диагностика позволяет рекомендовать пациентам таргетную фармакогенетическую терапию (Pettit R.S., Fellner C..2014). К сожалению, на сегодняшний момент ни один метод диагностики, даже определение генотипа, не позволяет прогнозировать у того или иного пациента формирование тяжелой бронхолегочной патологии и билиарного цирроза печени. Несмотря на многолетний поиск генов-модификаторов, существуют крайне противоречивые данные по их влиянию на формирование осложнений со стороны бронхолегочной и гепатобилиарной системы у больных с МВ (McKone E.F., Goss C.H., Aitken M.L.2006).

На протяжении многих лет изучается дисплазия соединительной ткани (ДСТ), представленная как моногенными тяжелыми наследственными формами (синдром Элерса-Данло, Марфана, синдром несовершенного остеогенеза, буллезный эпидермолиз), так и недифференцированными формами ДСТ (Burrows, N.P. 1999; Kivirikko K.I.1993; Zweers M.C., Dean W.B., T.H. van Kuppevelt et al. 2005; B. Rochweg, L. Brochard, M.W. Elliott et al. 2017). Увеличивается количество детей с ДСТ, формирующих в последствие хроническую тяжелую соматическую патологию (Нечаева, Г.И. 2016; Кильдиярова, Р.Р. 2013; Пашинская, Н.Б. 2013). Известно, что избыточный или абнормальный синтез коллагена, абнормальная функция белков межклеточного вещества соединительной ткани могут быть причиной формирования фиброза печеночной, почечной и легочной тканей.

Изучение эпидемиологии, выраженности недифференцированных форм ДСТ при муковисцидозе у детей, выявление возможных клинических и генетических полиморфизмов соединительной ткани, а также влияние клинико-генетических маркеров ДСТ на формирование легочных и гепатобилиарных осложнений представляется актуальным.

Степень разработанности темы

Согласно результатам научных исследований у пациентов с МВ выявляется повышенный уровень металлопротеиназ в образцах крови и мокроты и его корреляция с их тканевыми ингибиторами (Roderfeld M., Rath T., Schulz R. et al. 2009; Rath T., Zwaschka L., Hage L. et al. 2014; Devereux G., Steele S., Jagelman T. 2014). Но литературные данные на сегодняшний день носят в основном описательный характер, а исследования сосредоточены на небольшом числе металлопротеиназ и их ингибиторов, без изучения молекулярно-генетических механизмов влияния данных белков на формирование фиброза легочной и печеночной ткани.

Вершинина М.В., Нечаева Г.И., Гринберг Л.М., в 2011- 2013гг. показали ассоциацию ДСТ с тяжелой патологией бронхолегочной системы. У пациентов с ДСТ без МВ описаны проявления буллезного варианта бронхолегочного синдрома, апикальные субплевральные буллы, формирование спонтанного пневмоторакса, генетическим субстратом которых считается носительство мутантных аллелей генов матриксных металлопротеиназ. Данных об эпидемиологии ДСТ при муковисцидозе, тяжести диспластикозависимых синдромов при данном моногенном заболевании, влиянии системной мезенхимальной патологии на течение муковисцидоза на сегодняшний момент не существует.

Цель исследования: оптимизация тактики ведения детей с осложнёнными формами муковисцидоза и дисплазией соединительной ткани, на основании изучения их клинико-инструментальных и генетических особенностей.

Задачи исследования:

1. Изучить частоту и тяжесть легочных и гепатобилиарных осложнений у детей с муковисцидозом, наблюдающихся в специализированном отделении стационара.
2. Выявить особенности клинических проявлений тяжелых легочных и гепатобилиарных осложнений муковисцидоза у детей в зависимости от мутаций в гене *CFTR*.
3. Изучить частоту и степень выраженности фенотипических признаков дисплазии соединительной ткани у детей с осложненными формами муковисцидоза.
4. Провести молекулярно-генетическое обследование детей с муковисцидозом и оценить частоту полиморфизмов генов-модификаторов, участвующих в формировании соединительной ткани (*COL3A1, LAMC1, IL10, IL8, IL1B, VEGFA, ESRI, MMP2, MMP3, MMP9, TIMP2*), и их прогностическое значение.
5. Изучить диагностическое значение выявления полиморфизма 1171 insA гена *MMP3* у пациентов с муковисцидозом и дисплазией соединительной ткани.
6. На основании выявленных фенотипических и молекулярно-генетических предикторов бронхолегочных и гепатобилиарных осложнений разработать алгоритм ведения детей с муковисцидозом и дисплазией соединительной ткани.

Научная новизна

Впервые изучена распространенность и тяжесть клинических форм недифференцированной дисплазии соединительной ткани у детей с муковисцидозом.

Впервые доказана взаимосвязь клинических проявлений ДСТ с формированием осложнений МВ (бронхолегочной патологии, цирроза печени). Максимальная тяжесть ДСТ

отмечена у пациентов с МВ, имеющих изолированные осложнения со стороны бронхолегочной системы (бронхоэктазами, пневмофиброзом, ателектазами, кистозно-фиброзной трансформацией легкого) или сочетанное поражение дыхательной системы с циррозом печени ($p << 0,001$).

Для детей с МВ-ассоциированным циррозом печени класс А, В и С по Чайлд -Пью характерны выраженные формы ДСТ ($p << 0,001$), особенно при синдроме внутрипеченочной портальной гипертензии ($p = 0,002$).

Методами секвенирования, выявлены четыре ранее неописанные патогенные мутации в гене CFTR— p.Glu819Ter, p.Gln378Ter, (нонсенс мутации) p.Val1360Phefs и p.Lys1365Argfs (мутации сдвига рамки считывания). Обнаруженные мутации, согласно предсказательным программам, обуславливают образование укороченного белка CFTR и являются патогенными (класс мутаций I).

Впервые показана клиническая значимость аллеля 6А полиморфизма -1171 insA гена MMP3 у детей с муковисцидозом и ДСТ, особенно при осложненных формах бронхолегочных проявлений МВ. У детей с генотипом 6А/6А (гомозиготы) клиническая выраженность ДСТ была значительно выше (Me - 48 [37;61]), по сравнению с группой с отсутствием полиморфизма, генотипом 5А/5А (Me- 24 [18;43]) ($p << 0,001$).

Впервые показано, что использование модифицированной балльной шкалы в комплексе с клиническими признаками, позволяет с высокой степенью чувствительности и специфичности заподозрить наличие полиморфизма -1171 insA гена MMP3.

Теоретическая и практическая значимость

Доказано, что дисплазия соединительной ткани влияет на формирование осложнений муковисцидоза у детей.

Полиморфизм -1171 insA 5А/6А в гене MMP3 ассоциирован с выраженной степенью ДСТ у детей с муковисцидозом, что формирует коморбидный фон для развития более ранних и тяжелых осложнений МВ со стороны респираторного и гепатобилиарного тракта.

Выявление новых патогенных мутаций в гене CFTR (p.Glu819Ter, p.Gln378Ter, p.Val1360Phefs и p.Lys1365Argfs) вносит вклад в изучение клинического значения данных мутантных аллелей и в дальнейшую разработку таргетной терапии.

Балльная оценка степени ДСТ может использоваться для прогнозирования развития бронхолегочной патологии при МВ. Чувствительность при пороговом значении в 34 балла соответствовала 80,6 % (Se = 80,6%), специфичность 59,1% (Sp=59,1%) ($p << 0,001$), OR=6,005; CI=6,0-11,5). Между балльной оценкой и показателями спирометрии у детей с МВ выявлена умеренная обратная корреляционная связь.

Использование балльной оценки с пороговым значением в 26 баллов в комбинации с клиническими признаками (кистозно-фиброзная трансформация легкого, ателектазы, пневмоторакс, астенический тип конституции, гипермобильность суставов, сколиоз и др.), позволяет определить наличие полиморфизма -1171 insA MMP3 у детей с МВ с чувствительностью -91,8%, и специфичностью- 75,8%.

Разработан практический алгоритм ведения детей с муковисцидозом с ДСТ.

Методология и методы исследования

Объектом исследования являлись 186 детей страдающих смешанной формой МВ, проходивших плановое обследование и лечение в педиатрическом отделении «Российской детской клинической больницы» ФГБУ ВО РНИМУ им Н.И. Пирогова Минздрава России с 2015 по 2017г. Группу популяционного контроля составили образцы ДНК 315 здоровых человек из биобанка лаборатории в ФГБУ НМИЦАГиП имени академика В.И. Кулакова.

Все пациенты были обследованы в соответствии с утвержденными стандартами специализированной медицинской помощи при МВ. Всем детям проводилось: оценка фенотипических признаков ДСТ по балльным таблицам, молекулярно-генетическое исследование по поиску мутаций в гене CFTR (24 частых мутации). Для определения полиморфизмов в генах соединительной ткани использовали комплект реагентов «Дисплазия соединительной ткани». Для статистической обработки полученных результатов применяли пакет прикладных программ SPSS v.22. Пороговый уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Дисплазия соединительной ткани играет одну из решающих ролей в формировании осложнений муковисцидоза (бронхолегочной патологии, цирроза печени) у детей, усугубляя тяжесть клинического течения.

2. Балльная оценка степени ДСТ у детей с муковисцидозом и дисплазией соединительной ткани может использоваться для прогнозирования развития бронхолегочной патологии и муковисцидоз-ассоциированного цирроза печени и их тяжести. У детей с бронхолегочной патологией этот метод обладает высокой чувствительностью и специфичностью при пороговом значении в 34 балла.

3. Генетическое изучение ДСТ при муковисцидозе у детей требует дальнейшего исследования. Аллель *6A* полиморфизма *-1171 insA* гена *ММР3* у детей клинически значима для формирования фибротических осложнений легких и цирроза печени у пациентов с муковисцидозом.

Степень достоверности результатов

Достоверность результатов диссертационного исследования обеспечивается использованием достаточного количества наблюдений, современных методик исследования и методов статистической обработки результатов.

Внедрение результатов исследования в практическое здравоохранение

Результаты работы внедрены в клиническую практику отделения педиатрии РДКБ ФГБОУ ВО РНИМУ им Н.И. Пирогова Минздрава России.

Материалы диссертации используются в учебном процессе кафедры госпитальной педиатрии имени академика В.А. Таболина ФГБОУ ВО РНИМУ им Н.И. Пирогова МЗРФ при чтении лекций, проведении занятий со студентами, ординаторами, аспирантами.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 14.01.08-педиатрия. Результаты работы соответствуют области исследования специальности, а именно пунктам 1,5,6 паспорта научной специальности педиатрия (медицинские науки).

Апробация работы

Основные положения работы доложены на XXV Конгрессе детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей», Москва, 2018 г.; IX ежегодной Северо-Западной научно-практической конференции по муковисцидозу с международным участием «Практика лечения муковисцидоза: Вопросы микробиологии, пульмонологии, эндокринологии», Санкт-Петербург, 2018г.; 41stEuropean Cystic Fibrosis Conference, Сербия, г. Белград, 2018 г.; XVII Российском Конгрессе «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии» с международным участием, Москва, 2018 г.

Публикации результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых журналах, входящих в перечень, рекомендованный ВАК для публикации основных результатов диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

Впервые выявленные неописанные мутации в гене *CFTR* были зарегистрированы, как новые варианты *CFTR* в базе данных «Global Variome shared LOVD» Leiden University Medical Center в 2018.

Личный вклад автора

Автором лично проведена основная работа на всех этапах выполнения диссертации: анализ источников литературы, проведение клинического осмотра всех пациентов выборки и оценка по балльным таблицам с подсчетом суммарного балла; забор материала для проведения генетического исследования (мокрота, кровь); участие в статистической обработке результатов, анализе и интерпретации полученных данных и публикации результатов.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 213 страницах текста, иллюстрирована 59 рисунками, 41 таблицей и состоит из введения, обзора литературы, описания объема и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, выводов и практических рекомендаций, списка литературы. Библиографический указатель содержит 231 источник, из которых 67 отечественные и 164 зарубежные.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объем и методы исследования

Исследование проведено на базе отделения педиатрии ОСП РДКБ ФГБОУ ВО РНИМУ им Н.И. Пирогова Минздрава России. Молекулярно-генетическое исследование проводилось на базе лаборатории ДНК-диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России.

В исследование было включено 186 детей в возрасте от 1 года до 17 лет (Me в общей группе - составила 11 лет [8;15]), с диагнозом муковисцидоз, смешанная форма. Контрольную группу составили образцы ДНК 315 здоровых человек из Биобанка лаборатории в ФГБУ НМИЦАГиП им. акад. В.И. Кулакова

Дизайн исследования включал в себя три этапа: I этап - проспективное исследование 186 детей с МВ: разделение на группы в зависимости от степени тяжести МВ, поражений легочной и гепатобилиарной систем, оценка клинических проявлений ДСТ по модифицированным балльным таблицам. На II этапе была проведена молекулярно-генетическая диагностика (поиск мутаций в гене CFTR, полиморфизмов в генах соединительной ткани). III этап исследования включал в себя анализ результатов.

В зависимости от преобладающих клинических симптомов дети с МВ были разделены на IV группы (табл. 1).

Таблица 1 – Разделение детей в исследовании на группы

| Группы, количество детей | Степень тяжести течения муковисцидоза |
|--------------------------|--|
| I группа, n=72 | Тяжелая патология бронхолегочной системы (наличие множественных бронхоэктазов, кистозно-фиброзной трансформации легкого, интерстициального пневмофиброза, спонтанного пневмоторакса) |
| II группа, n= 21 | Преимущественное поражение гепатобилиарной системы - наличие фиброза/цирроза печени * |
| III группа, n=26 | Тяжелое течение с наличием выраженной патологии респираторного тракта и фиброза/цирроза печени |
| IV группа, n=67 | Среднетяжелое течение без поражения печени и без тяжелой бронхолегочной патологии |

*Тяжесть и степень компенсации МВ-ассоциированного цирроза печени проводилась по классификации Чайлд-Пью.

Оценка физического развития проводилась с использованием перцентильных таблиц, разработанных ВОЗ, 2000 г. Нутритивный статус оценивался по ИМТ по программам WHO Anthro (для детей до 5 лет) и WHO Anthroplus (для детей старше 5 лет). Для оценки показателей роста и веса детей младшего возраста использовался массо-ростовой индекс (МРИ) (фактическая масса / идеальная масса по росту и полу \times 100%). Принято констатировать недостаточность питания у этой группы пациентов, если процент соответствия массы по росту или МРИ < 90%.

Всем пациентам измерялась сатурация кислородом артериальной крови (SpO₂) при помощи пульсоксиметрии (пальчиковый пульсоксиметр Nonin Onyx 9500). Также, при необходимости, проводился контроль КЩС (кислотно-щелочного состояния крови) на анализаторе ABL800 (Flex). Оценка вентиляционной функции респираторного тракта проводилась детям старше 6 лет методом спирометрии на приборе «Spirolab III» (MIR).

Оценка степени выраженности ДСТ проводилась с определением суммарного балла по таблицам Кадуриной Т.И. (2008), модифицированных для пациентов с МВ. Сумма баллов при легкой степени выраженности ДСТ не превышала 20 баллов, при умеренной степени- 21-40, при выраженной-41 балл и более.

Молекулярно-генетическое исследование проводилось при помощи комплектов реагентов «Генетика наследственных заболеваний. Муковисцидоз Скрин» и «Генетика наследственных заболеваний. Муковисцидоз-редкие мутации» (ДНК-Технология, Россия). Геномную ДНК пациентов выделяли из образцов цельной крови, архивированной в Биобанке НМИЦАГиП имени академика В. И. Кулакова, с помощью комплекта реагентов «ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА» (ДНК-Технология, Россия). Комплекты реагентов разработаны для определения 8 (*F508del, dele 2,3, 2143delT, 1677delTA, N1303K, 3849+10kbC>T, E92K, W1282X*) и 16 (*2184insA G542X, S1196X, R334W, 394delTT, 3944delGT, 3821delT, 2789+5G>A, 621+1G>T, 2183AA>G, L138ins, R117H, 604insA, 3667insTCAA, R553X, K598ins*) вариантов мутаций в гене *CFTR* соответственно). Для определения полиморфизмов в генах соединительной ткани использовали комплект реагентов «Дисплазия соединительной ткани» (*COL3A1, LAMC1, IL10, IL8, IL1B, VEGFA, ESRI, MMP2, MMP3, MMP9, TIMP2*). Поиск редких и новых вариантов *CFTR* проводили методом высокопроизводительного секвенирования на платформе Ion Torrent TM (Thermo Fisher Scientific, USA).

Методы статистической обработки

Статистическая обработка результатов выполнена с помощью пакета прикладных программ SPSS v.22. При анализе количественных признаков выполнялась проверка характера их распределения с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. В случае, если распределение признаков в исследуемых группах подчинялось нормальному закону, для их описания использовалось среднее арифметическое и стандартное отклонение ($M \pm SD$), а при последующем сравнении были применены параметрические методы (t-критерий Стьюдента для независимых групп). При отличии характера распределения количественного признака от нормального он характеризовался с помощью медианы, первого и третьего квартилей ($Me [Q1, Q3]$). При сравнении групп использовался непараметрический критерий Манна-Уитни. Пороговый уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05. Для изучения возможности использования балльной шкалы в диагностике полиморфизмов гена *MMP3* и легочных осложнений при МВ был проведен ROC-анализ, заключающийся в варьировании порогового значения балла с целью найти оптимальные показатели чувствительности (Se) и специфичности (Sp).

Результаты собственных исследований

Среди 186 детей с диагнозом «муковисцидоз» было 98 девочек (53%) и 88 мальчиков (47%). У 119 детей (63%) отмечалось тяжелое течение МВ, у 67 детей (36%) - среднетяжелое течение МВ. Наиболее частым проявлением МВ-ассоциированной бронхолегочной патологии являлись бронхоэктазы, которые были диагностированы у 113 детей (61%) и интерстициальный пневмофиброз - у 104 детей (56%).

Осложнения МВ со стороны респираторного тракта в виде ателектазов выявлялись у 32 детей (17%), кистозно-фиброзная трансформация легкого – у 40 детей (21%), возникновение спонтанного пневмоторакса – у 3 детей (1,6%). В группе с тяжелой патологией бронхолегочной системы, девочки встречались достоверно чаще ($p=0,003$).

При оценке вентиляционной функции легких у детей с тяжелым поражением бронхолегочной системы, выявлены статистически значимо более тяжелые поражения по сравнению с детьми без выраженной патологии легких (табл. 2), что сопоставимо с литературными данными о характерности данных изменений при МВ (Kulich M., Rosenfeld M., 2005).

Таблица 2 - Показатели вентиляционной функции легких у детей с МВ, % от должного, M±SD

| Показатель | Дети с тяжелой бронхолегочной патологией (n= 94) | Дети без тяжелой бронхолегочной патологии (n=60) | р- значение |
|------------------|--|--|-------------|
| ФЖЕЛ | 79±24 | 102 ±15 | <0,001 |
| ОФВ ₁ | 71±26 | 97 ±16 | <0,001 |
| ПСВ | 68±24 | 95 ±25 | <0,001 |

При оценке нутритивного статуса, медиана ИМТ в общей группе составила 16 [14;17] (кг/м²), что позволило констатировать в исследованной выборке нутритивную недостаточность разной степени тяжести. Массо-ростовой индекс рассчитывался у 31 ребенка от 1 года до 8 лет, медиана МРИ в общей выборке составила 100 [90;110], данный показатель демонстрирует отсутствие выраженных нарушений питания в данной возрастной категории, что вероятно связано с меньшей продолжительностью заболевания.

У 47 детей (25 %) диагностирован МВ-ассоциированный цирроз печени. Медиана возраста - 13 лет [10;16]. По классификации Чайлд –Пью (ЧП), было выявлено, что 36 детей (76,5%) из 47 имели класс А по ЧП (компенсированный цирроз), 7 детей (15%) - класс В по ЧП (субкомпенсированный цирроз), 4 ребенка (9 %) были отнесены к классу С по ЧП (декомпенсированный цирроз) и стояли в листе ожидания на трансплантацию печени от родственного HLA- совместимого донора.

Биохимические маркеры, статистически значимо различались у детей с циррозом печени и у пациентов без гепатобилиарной патологии (табл. 3).

Таблица 3 -Биохимические показатели у детей с МВ-ассоциированным циррозом и без поражения печени, Me [Q1, Q3]

| Показатели | Дети с циррозом печени (n=47) | Дети без цирроза печени (n=139) | р- значение |
|-----------------------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------|
| Альбумин (г/л) | 37 [34;40] | 40,1 [38;43] | <<0,001 |
| АЛТ (Ед/л) | 21 [16;34] | 17 [13;21,1] | << 0,001 |
| АСТ (Ед/л) | 31 [24;42] | 27 [21;33] | 0,004 |
| Билирубин общий (мкмоль/л) | 12.2 [7,8;18,2] | 8,5 [6;1,3] | <<0,001 |
| Билирубин прямой (мкмоль/л) | 3 [1,5;4,2] | 1,7 [1,2;2,5] | <<0,001 |
| Триглицериды (ммоль/л) | 0,59 [0,43;0,8] | 0,77 [0,56;1,09] | 0,002 |
| Г-ГТП (Ед/л) | 18 [13;30] | 12 [10;14] | <<0,001 |

Наши результаты подтверждают характерную для МВ-ассоциированного цирроза низкую лабораторную активность и согласуются с литературными данными (Debray D., Kelly D., Houwen R., 2011).

Частоты мутаций в гене *CFTR*, по результатам проведенного молекулярно-генетического исследования, в общей выборке сопоставимы с данными по российской популяции больных МВ, что свидетельствует о репрезентативности выборки. Наибольшую аллельную частоту составили мутации I-III классов *-F508del-* 48,6%, *CFTR – dele 2,3* -6,7%, *2143delT-* 2,9%, *2184insA-* 2,7% и *1677DelTA-*2,4%. «Мягкий» генотип, IV-VI класс мутаций (*E92K, R117H, 3849+10kbC>T, R334W, 2789+5G>A, K598ins*), встречался - в 5,6%. Методами секвенирования выявлены четыре ранее неописанные патогенные мутации *CFTR-* p.Glu819Ter, p.Gln378Ter, (нонсенс мутации) p.Val1360Phefs и p.Lys1365Argfs (мутации сдвига рамки считывания). Обнаруженные мутации согласно предсказательным программам *in silico* обуславливают образование укороченного белка *CFTR* и являются патогенными (класс мутаций I). Все новые варианты выявлены у пациентов в гетерозиготном состоянии, в сочетании с одной из частых мутации гена. Неописанные мутации *CFTR* зарегистрированы как новые варианты *CFTR* в базе данных «Global Variome shared LOVD»

При оценке ДСТ у детей с МВ, получены следующие результаты: выраженные формы дисплазии соединительной ткани (41 балл и выше) встречались у 84 детей (45%). Умеренные фенотипические проявления ДСТ (от 21 до 40 баллов)- наблюдались у 70 детей (38%). Легкая степень выраженности ДСТ (до 20 баллов) отмечалась у 32 детей (17%). Основные фенотипические маркеры ДСТ у детей с МВ представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Частота встречаемости клинических признаков ДСТ в общей выборке детей с МВ

| Анализируемый признак | Частота (n), % |
|---|----------------|
| Астенический тип конституции | 116 (62,4%) |
| Гиперэластичность кожи, легкая степень | 126 (67,7%) |
| Нарушение прикуса | 168 (90,3%) |
| Поражение эмали зубов | 132 (71%) |
| Выраженный кифоз грудного отдела позвоночника | 122 (65,6%) |
| Сколиоз I степени | 92 (49,5%) |
| Плоскостопие | 116 (62,4%) |
| Килевидная деформация грудной клетки | 49 (26,3%) |
| МАРС эктопические хорды ЛЖ | 176 (94,6%) |
| Пролапс митрального клапана I степени | 141 (76,2%) |

Поражение легких имело высокую встречаемость: бронхоэктазы - 113 (60,7%), буллезная/кистозная трансформация легких - 40 (21,5%). Это объясняется совместным отягочающим влиянием основного заболевания на анатомию бронхиального дерева, паренхиме легких и наличием у детей системной соединительнотканной патологии.

При анализе выраженности клинических признаков ДСТ по группам, оказалось, что для детей с тяжелой патологией респираторного тракта и печени (группы I,II,III), характерен более высокий оценочный балл по модифицированной шкале, чем в IV группе (рис. 1).

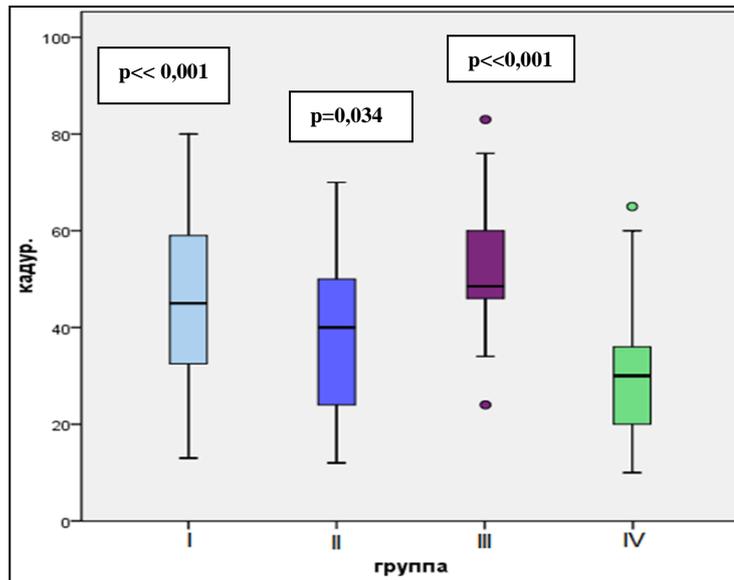


Рисунок 1- Распределение суммарного балла оценки ДСТ по группам детей с МВ

При сравнении детей, с наличием и отсутствием выраженной патологии респираторного тракта получены статистически значимые различия, свидетельствующие о важной роли ДСТ в формировании хронической бронхолегочной патологии при МВ (рис. 2).

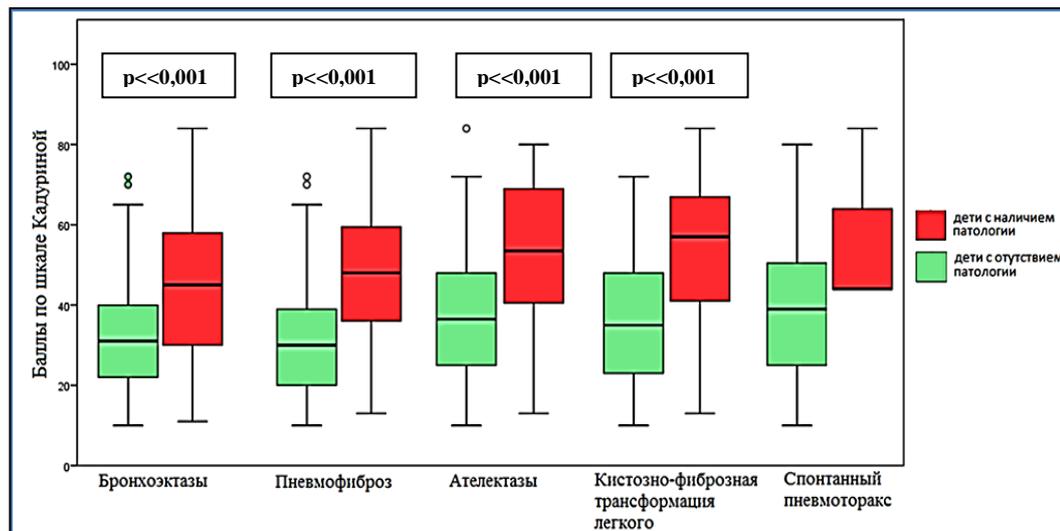


Рисунок 2- Степень выраженности ДСТ при тяжелой бронхолегочной патологии у детей с МВ

Выраженность ДСТ у детей с множественными варикозными и кистозными бронхоэктазами, интерстициальным пневмофиброзом, ателектазами, фиброзно-кистозной дисплазией легкого оказалась статистически значимо выше, чем у детей группы сравнения.

Нами была проведена оценка влияния выраженности ДСТ на формирование вентиляционных нарушений (снижение показателя ОФВ₁% от должного). Были получены статистически значимые различия (рис. 3).

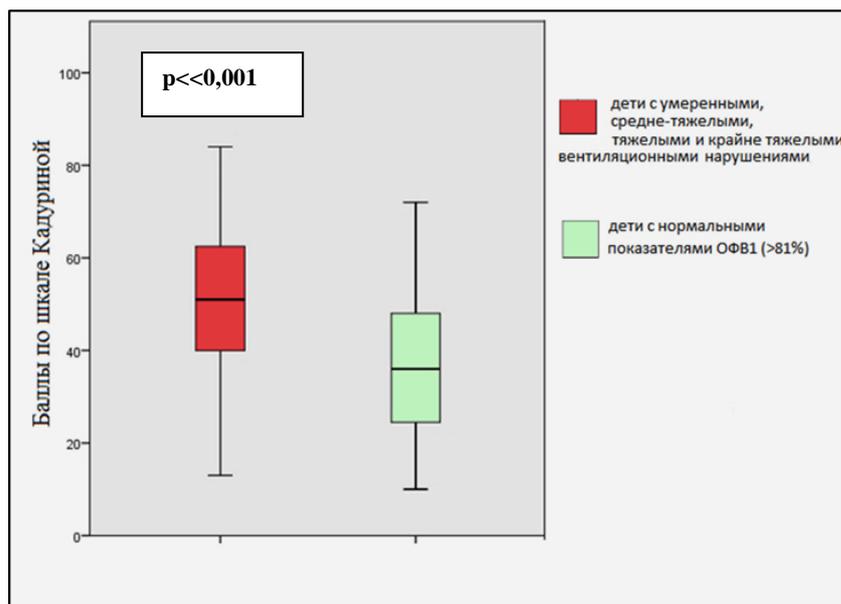


Рисунок 3- Выраженность ДСТ в зависимости от степени снижения параметра ОФВ₁

Дети с МВ и со значимым снижением ОФВ₁, имели статистически значимо более высокий показатель по модифицированной шкале ДСТ -51 [40;64] ($p < 0,001$), соответственно, более тяжелую степень дисплазии соединительной ткани, чем дети с нормальными показателями ОФВ₁ - 36 баллов [24;48]. При проведении корреляционного анализа между спирометрическими показателями (ФЖЕЛ, ОФВ₁, ПСВ) и балльной оценкой ДСТ, коэффициенты корреляции составили -0,420, -0,381, -0,449 соответственно, что указывает на умеренную обратную корреляционную связь.

Была изучена выраженность ДСТ у детей с МВ-ассоциированным циррозом печени (табл. 5).

Таблица 5- Выраженность ДСТ в баллах у детей с муковисцидоз-ассоциированным циррозом и без патологии печени, Ме [Q1, Q3], количество детей (n)

| Исследуемый признак | Наличие патологии | Отсутствие патологии | p-значение |
|---|-------------------|----------------------|------------|
| Цирроз печени | 48 [39;60], n=47 | 35[23;50], n=139 | p= 0,002 |
| Синдром внутривенечной портальной гипертензии | 48 [40;60], n=39 | 36[24;50], n=147 | p= 0,002 |
| Синдром гиперспленизма | 49 [33;60], n=17 | 38 [25;50], n=169 | p=0,057* |

Полученные результаты демонстрируют, что дети с МВ-ассоциированным циррозом печени и осложнениями имеют более выраженные формы ДСТ, чем дети без гепатобилиарной патологии. С целью оценки степени фиброза печени, была проведена непрямая эластометрия печени на аппарате Fibroscan. У 39 детей (83%) в исследовании имела место F4 степень фиброза по METAVIR; у 8 детей (17%) – F3 степень; F2 и F1- у двух детей. У остальных 177 детей в исследовании – диагностирована F0 степень фиброза. Обследованные дети сравнивались по выраженности ДСТ в баллах (рис.4).

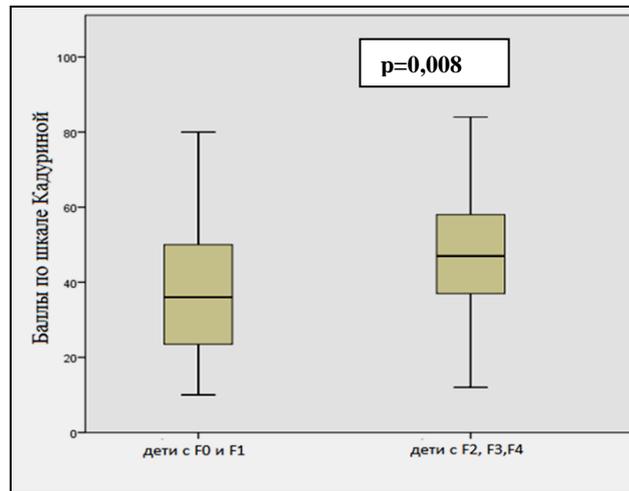


Рисунок 4- Выраженность ДСТ в зависимости от степени фиброза по классификации METAVIR

Пациенты с F2, F3, F4 по классификации METAVIR имели достоверно ($p=0,008$) более высокий суммарный балл -48 [35;60] по сравнению с детьми с F0, F1- 36[23;50].

С целью изучения возможности применения балльной оценки ДСТ для выявления детей с выраженной МВ- ассоциированной бронхолегочной патологией было выполнено построение математической модели с последующей оценкой ее точностных характеристик. Для этого была построена ROC-кривая, отображающая реципрокные изменения чувствительности и специфичности по мере вариации порогового балла (рис.5). Площадь под кривой составила 0,774 (0,706-0,842). Данное значение, согласно экспертной шкале, позволило оценить предложенную модель как умеренную. В качестве порогового значения («cut-off») принят уровень выраженности ДСТ в баллах, соответствующий максимальной чувствительности и специфичности. Наиболее оптимальной точкой отсечения явилось пороговое значение в 34 балла (рис.6).

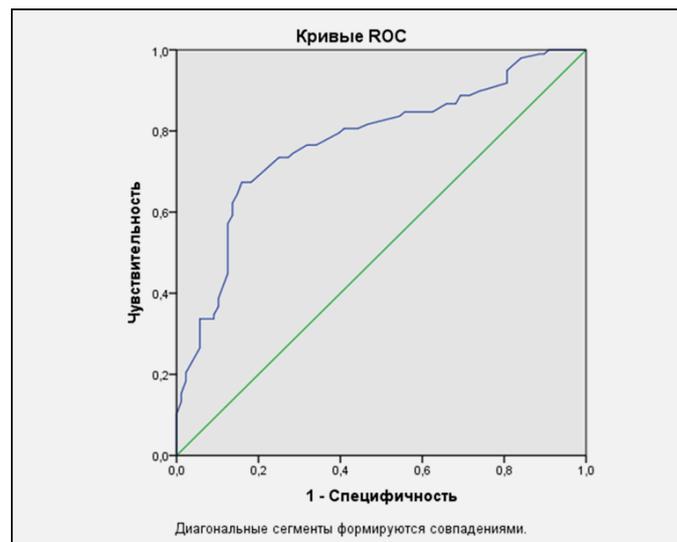


Рисунок 5- Характеристическая кривая, описывающая возможность развития тяжелой бронхолегочной патологии, по уровню балльной оценки выраженности ДСТ

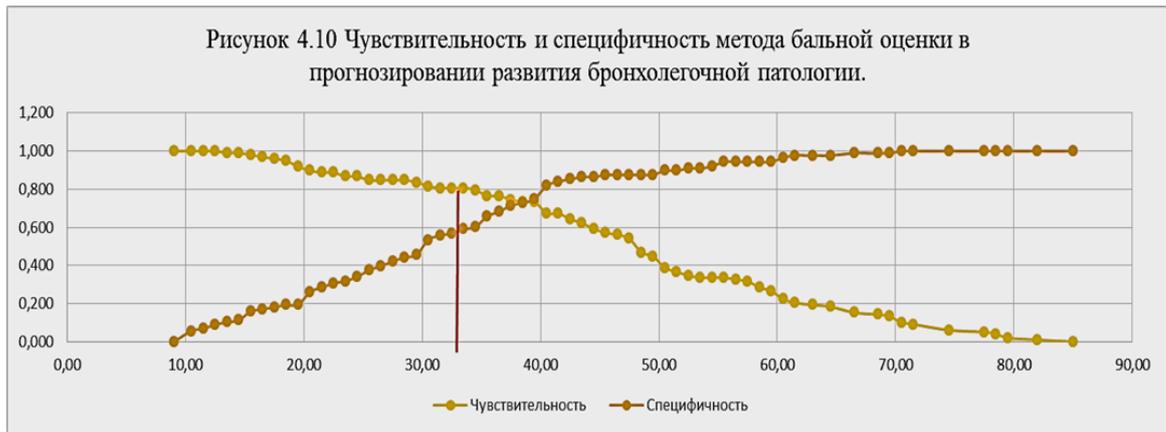


Рисунок 6 - Чувствительность и специфичность метода балльной оценки в прогнозировании развития бронхолегочной патологии

Чувствительность при пороговом значении в 34 балла соответствовала 80,6% ($Se = 80,6\%$), специфичность - 59,1% ($Sp=59,1\%$) ($p < 0,001$, $OR=6,005$; $CI=6,0-11,5$). Оценивая чувствительность метода, показано, что при использовании на практике балльной оценки, дети с тяжелой бронхолегочной патологией были выявлены в 80,6 % случаев (115 человек) при пороге выше ≥ 34 баллов. Специфичность в 59% ($Sp=0,591$) свидетельствует о том, что данное пороговое значение определило детей без легочной патологии в 59,1% случаев. Прогностическая ценность положительного (PPV) и отрицательного результата (NPV) составила для данного порога: $PPV = 68,7$ (то есть при получении заключения модели о том, что пациент должен быть отнесен в группу высокого риска, наличие тяжелой бронхолегочной патологии подтвердится в 68,7% случаев для всей гипотетической выборки детей с ДСТ и муковисцидозом), $NPV = 73,2$.

С целью изучения генетических основ формирования ДСТ у детей с МВ нами была использована диагностическая скрининговая панель, включающая полиморфизмы генов соединительной ткани (COL3A1, LAMC1, IL10, IL8, IL1B, VEGFA, ESR1, MMP2, MMP3, MMP9, TIMP2). Из всей исследованной панели у детей с МВ был выявлен только полиморфизм гена металлопротеиназы 3 типа (*MMP3 -1171insA*, rs3025058). Это является прогностически важным фактом, так как другие отечественные исследования, проведенные на пациентах с недифференцированными формами ДСТ, доказали роль данного полиморфизма в качестве модификатора диспластических изменений (Шаповалова Д.А., Тюрин А.В., 2017; Тюрин А.В., Хусаинова Р.И. и др. 2014).

Частота встречаемости полиморфного варианта (*MMP3 -1171 insA*) генотипа в общей выборке составила 46,8% (87 человек) в гетерозиготном состоянии (генотип *5A/6A*); у 19,9% (37 человек) - в гомозиготном состоянии (генотип *6A/6A*), и у 33,3% (62 человека) - полиморфный вариант аллели отсутствовал (генотип *5A/5A*). Общая аллельная частота *6A* в выборке составила - 43,3%. Частота встречаемости полиморфизма *MMP3-1171 insA* в выборке детей с МВ практически совпадает с популяционным контролем (рис. 7).

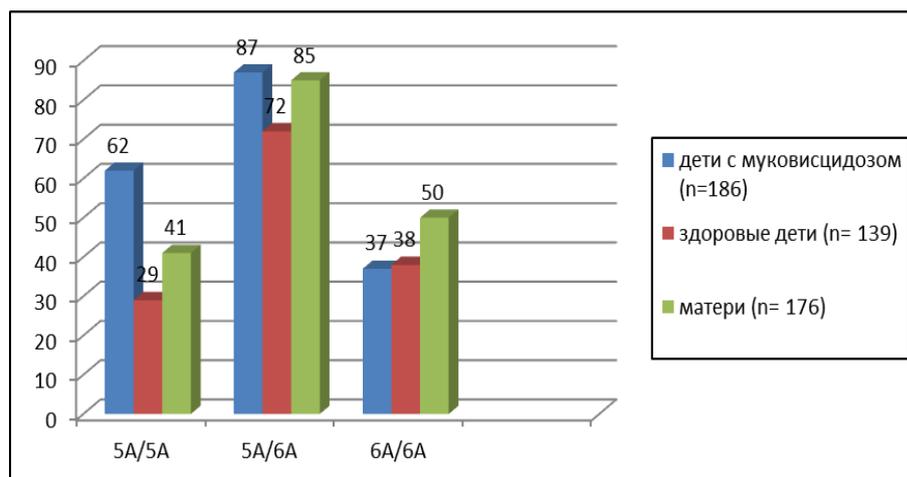


Рисунок 7 - Частота генотипов *MMP3 -1171 insA* у детей с муковисцидозом и в группе контроля

При анализе выраженности признаков ДСТ в зависимости от генотипа *MMP3-1171 insA*, было обнаружено, что у детей с генотипом *6A/6A*, выраженность соединительнотканной дисплазии была достоверно выше, чем у детей с отсутствием полиморфизма, генотипом *5A/5A* ($p << 0,001$). Также и при гетерозиготном носительстве полиморфизма *MMP3-1171 insA* (генотип *5A/6A*) средние значения суммарного балла достоверно превышали средний балл у детей с отсутствием полиморфизма ($p << 0,001$) (табл.6). Полученные результаты свидетельствуют об ассоциации локуса *6A MMP3-1171 insA* с развитием тяжелых диспластических изменений у детей с муковисцидозом.

Таблица 6- Выраженность ДСТ в зависимости от генотипа *MMP3-1171 insA (5A/6A)*, Ме [Q1, Q3]

| Варианты генотипов гена <i>MMP3</i> | распределение баллов | p значение |
|---|----------------------|-------------------------|
| <i>5A/5A</i> (отсутствие полиморфизма) | 24 [18; 43] | p << 0,001 |
| <i>5A/6A</i> (наличие одного полиморфного аллеля) | 41 [31; 52] | |
| генотип <i>6A/6A</i> (два полиморфных аллеля) | 48 [37; 61] | |

С целью изучения возможности применения балльной оценки ДСТ в выявлении полиморфизма *MMP3 -1171 insA* было выполнено построение двух математических моделей с последующей оценкой их точностных характеристик. Первая математическая модель основывалась только на данных суммарного балла по модифицированной шкале. Была построена ROC-кривая, площадь под кривой составила 0,744 (ДИ 0,660-0,828), что позволило охарактеризовать качество модели как умеренное (рис.9).

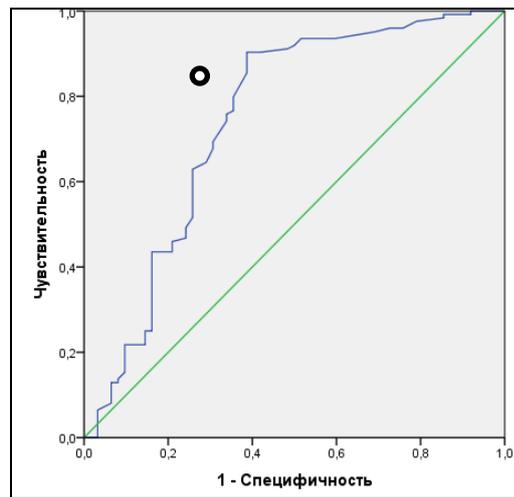


Рисунок 9- ROC-кривая при построении модели только по данным суммарного балла

Наиболее оптимальной точкой отсечения являлось пороговое значение в 26 баллов, применение которого позволило верно выявить 112 из 124 детей с полиморфным вариантом гена в гомо- или гетерозиготном состоянии ($Se= 90,3\%$) и 38 из 62 детей без полиморфизма ($Sp= 61,3\%$) (рис.12). Таким образом, чувствительность и специфичность модели при использовании порога в 26 баллов составили 90,3% и 61,3% соответственно (рис. 10).

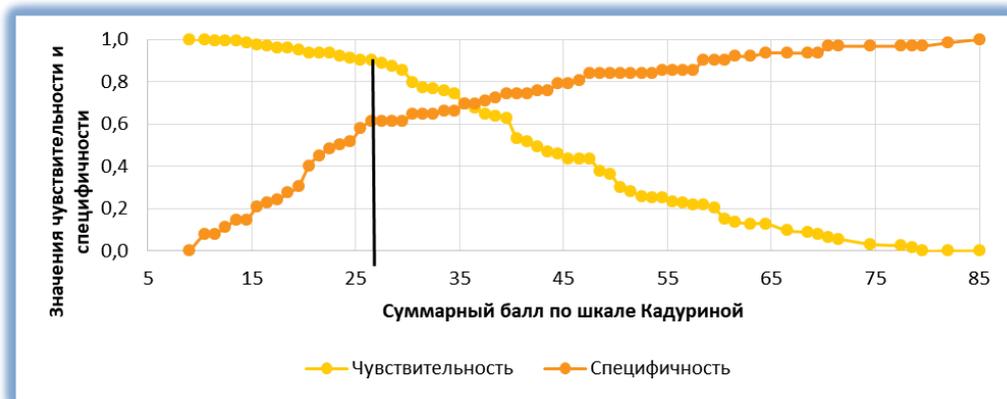


Рисунок 10- Изменение чувствительности и специфичности при вариации порогового уровня вероятности, определяемой по модели по данным суммарного балла

Клиническая интерпретация данной модели заключается в следующем. Выделение в «группу высокого риска» детей с суммарным количеством баллов более 26 позволит обнаружить 90,3% случаев с полиморфизмом *MMP3* среди всей гипотетической группы детей с ДСТ, муковисцидозом и полиморфным вариантом гена *MMP3* (чувствительность модели). При этом из всех детей с количеством баллов более 26 наличие полиморфизма подтвердится только в 82,3%, что соответствует значению прогностической ценности положительного результата (PPV). При количестве баллов менее 26 математическая модель будет относить пациента в «группу низкого риска». Применение модели позволит выявить 61,3% детей среди всех детей с ДСТ и муковисцидозом, но без полиморфизма *MMP3* (специфичность модели). Прогностическая ценность отрицательного результата при этом будет составлять 76%, то есть из всех детей, у которых, согласно математической модели, полиморфизм *MMP3* отсутствует,

это будет соответствовать только 76% случаев, в остальных 24% случаев будет присутствовать полиморфный вариант гена. Так как целесообразность применения в клинической практике подобной математической модели с высокой частотой ошибочно диагностированных случаев представляется сомнительной, было принято решение построить вторую математическую модель, включающую не только суммарный балл, но и некоторые клинические признаки. Для построения подобной комплексной модели был применен метод бинарной регрессии с обратной пошаговой процедурой. На первом шаге в математическую модель было включено 58 клинических признаков, в том числе суммарный балл по модифицированной шкале. Последовательное исключение из модели наименее значимых признаков с оценкой чувствительности и специфичности на каждом шаге позволило выявить комбинацию признаков, определяющую наличие полиморфизма с чувствительностью равной 91,8% и специфичностью равной 75,8% (табл.8) Список признаков, вошедших в математическую модель и соответствующие им коэффициенты представлены в табл.7.

Таблица 7 - Список клинических признаков, вошедших в математическую модель на основе бинарной регрессии. Для каждого признака приведен коэффициент и значимость признака

| Клинические признаки, вошедшие в состав математической модели | коэффициенты | p-значение |
|---|--------------|------------|
| Баллы по модифицированной шкале | 0,88 | 0,00 |
| Кистозно-фиброзная деформация легкого | -1,345 | 0,32 |
| Ателектазы | -2,929 | 0,00 |
| Пневмоторакс | -24,519 | 0,999 |
| Астенический тип конституции | -1,419 | 0,006 |
| Петехии | 1,262 | 0,031 |
| Грыжи | 2,455 | 0,085 |
| Гипермобильность суставов | 0,583 | 0,228 |
| Сколиоз | 1,301 | 0,008 |
| Боли в позвоночнике | -2,925 | 0,00 |
| Регургитация на аортальном клапане | -2,150 | 0,043 |
| Гипоплазия желчного пузыря | -1,125 | 0,098 |
| Астенический синдром | 1,444 | 0,030 |

Соответственно таблице формула для вычисления вероятности обнаружения полиморфизма гена *MMP3* по данной модели имеет следующий вид:

$$p = \frac{1}{1+e^{-y}}$$
 ; где y определяется по формуле: $y = 0,88 * \text{суммарный балл} - 1,345 * \text{кистозно-фиброзная дисплазия} - 2,929 * \text{ателектазы} - 24,519 * \text{пневмоторакс} - 1,419 * \text{астенический тип конституции} - 1,262 * \text{петехии} - 2,455 * \text{грыжи} - 0,583 * \text{гипермобильность суставов} - 1,301 * \text{сколиоз} - 2,925 * \text{боли в позвоночнике} - 2,150 * \text{регургитация на аортальном клапане} - 1,125 * \text{гипоплазия желчного пузыря} - 1,444 * \text{астенический синдром}$

При этом для обозначения наличия какого-либо клинического признака в формулу подставляется значение единицы, при отсутствии признака у пациента в формулу подставляется нулевое значение. При получении вероятности $p < 0.5$ результат применения математической модели следует трактовать как отнесение пациента в группу «низкого риска», при $p \geq 0.5$ пациент должен быть отнесен в группу «высокого риска».

Таблица 8 – Чувствительность и специфичность метода бинарной регрессии

| | Низкая вероятность наличия полиморфизма $p < 0.5$ | Высокая вероятность наличия полиморфизма $p \geq 0.5$ | Итого |
|--|---|---|-------|
| Дети без полиморфизма <i>MMP3 -1171 insA</i> | 47 (75,8%) | 15 (23,2%) | 62 |
| Дети с полиморфизмом <i>MMP3 -1171 insA</i> | 10 (8,2%) | 112 (91,8%) | 122 |
| Итого | 57 | 127 | 184 |

При этом прогностическая ценность отрицательного результата составила 82,5%, что на 20% больше, чем при использовании модели только на основе суммарного балла. Анализ ROC-кривой для второй модели также позволил охарактеризовать ее как более точное математическое описание по сравнению с первой моделью: площадь под ROC-кривой составила 0,897 [0.847; 0.947]. Вид кривой представлен на рис.11.

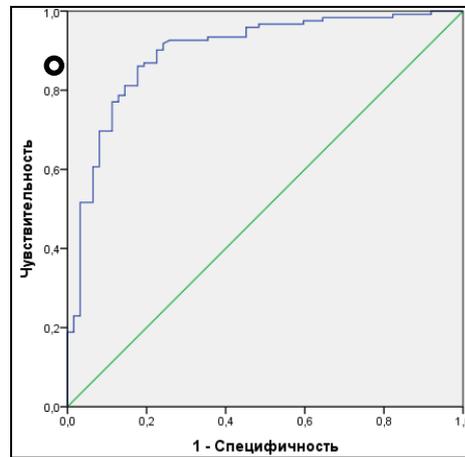


Рисунок 11- ROC-кривая для модели на основе анализа комплекса клинических признаков с помощью бинарной регрессии

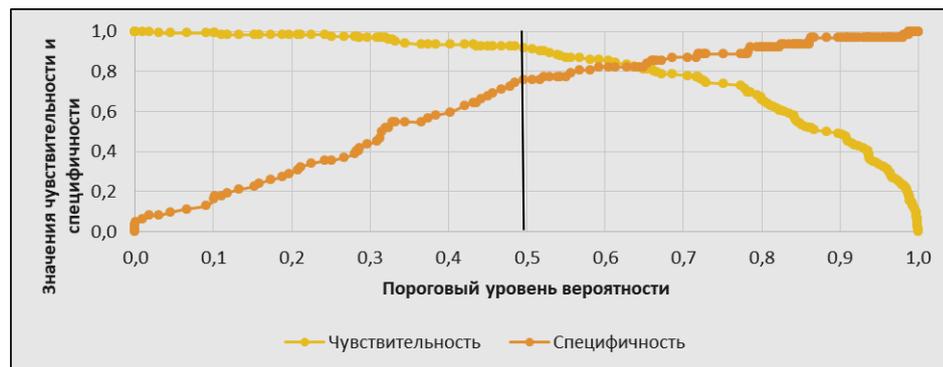


Рисунок 12- Изменение чувствительности и специфичности при вариации порогового уровня вероятности, определяемой по модели на основе бинарной регрессии

Применение данной математической модели позволило бы для каждого пациента с ДСТ и МВ индивидуально оценить вероятность наличия полиморфизма *MMP3 -1171 insA* на основе нескольких клинических признаков и, при необходимости, назначить дополнительные

исследования (генетический подтверждающий анализ). Это, в дальнейшем, даст возможность применить индивидуальную схему наблюдения за данным пациентом и медикаментозную коррекцию ДСТ.

Таким образом, при использовании скрининговой шкалы оценки степени выраженности ДСТ (модифицированная шкала), присвоении пациенту определенного суммарного балла, изменяется тактика ведения ребенка с выраженными формами ДСТ и МВ, учитывая доказанное отягощающее действие ДСТ на формирование тяжелой патологии респираторного и гепатобилиарного тракта при муковисцидозе. Нами был разработан алгоритм ведения детей с муковисцидозом и дисплазией соединительной ткани (рис. 13).

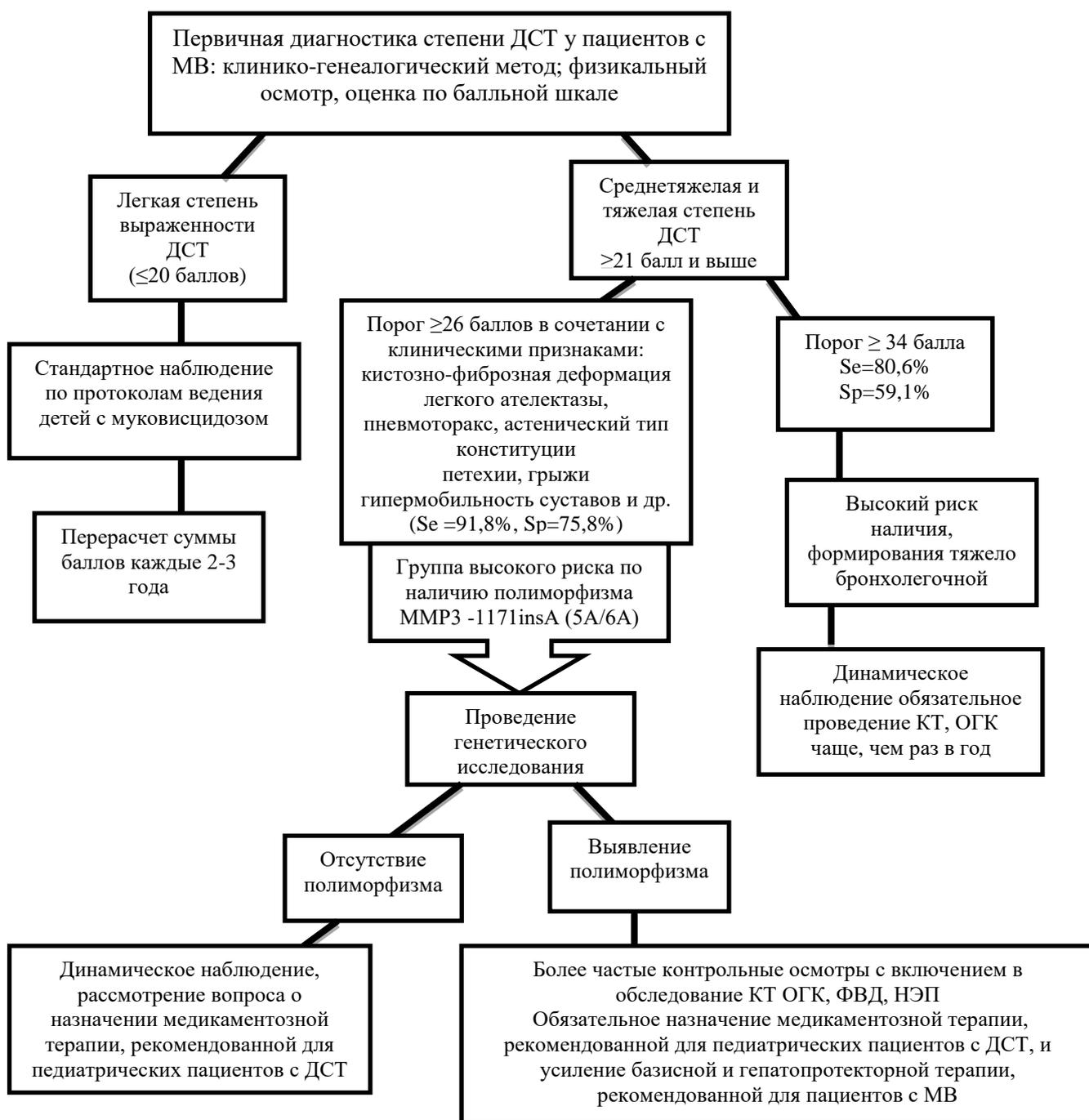


Рисунок 13- Алгоритм ведения детей с муковисцидозом и ДСТ

Выводы

1. У детей с тяжелым течением муковисцидоза частота патологии респираторного тракта составляет 61%. Бронхоэктазы формируются у 60,7%, интерстициальный пневмофиброз – у 56%, кистозно-фиброзная трансформация легкого - у 21,5%, ателектазы - у 17%, спонтанный пневмоторакс – у 1,6% детей с МВ. Частота встречаемости муковисцидоз-ассоциированного цирроза составляет 25%. По классификации METAVIR F4 степень фиброза диагностирована в 83% случаев, по классификации Чайлд-Пью преобладали компенсированные формы цирроза-класс А (76%). Класс С (декомпенсированная форма цирроза) диагностирован в 9 % случаев.
2. При анализе мутаций в гене CFTR в исследуемой группе наибольшую частоту (72%) составили «тяжелые» генотипы - мутации I-III классов. У детей с циррозом печени чаще всего определялась *F508del*, «мягкие» мутации не выявлялись. Синдром дистальной интестинальной обструкции чаще встречался при гетерозиготном носительстве мутации *2184 insA* ($p=0,046$). Выявлены четыре ранее неописанные патогенные мутации в гене CFTR: *p.Glu819Ter*, *p.Gln378Ter*, (нонсенс мутации) *p.Val1360Phefs* и *p.Lys1365Argfs* (мутации сдвига рамки считывания).
3. Среди детей с муковисцидозом частота ДСТ составляет 64%. При изолированном и сочетанном поражении легких у больных с муковисцидозом отмечаются признаки выраженной ДСТ - 45 [31;59] и 49 [47; 62] баллов соответственно ($p<0,001$); при МВ-ассоциированном циррозе печени – 40 [23;52] ($p=0,034$). Дети с муковисцидозом, имеющие значимые снижения показателя ОФВ₁ (среднетяжелые, тяжелые и крайне-тяжелые) имеют более выраженную степень дисплазии соединительной ткани Ме [Q1;Q3] - 51 [40;64] ($p<<0,001$), чем пациенты с минимальными вентиляционными нарушениями и нормальными показателями ОФВ₁ - 36 [24;48].
4. Оценка выраженности ДСТ по модифицированной шкале у детей с муковисцидозом высокоинформативна. По данным ROC-анализа пороговое значение ≥ 34 баллов позволяет выявлять высокий риск наличия и/или развития тяжелой бронхолегочной патологии при муковисцидозе с точностью 80,6% ($p<0,001$). Пороговое значение ≥ 26 баллов в сочетании с определенными клиническими признаками (кистозно-фиброзная трансформация легкого, ателектазы, пневмоторакс, астенический тип конституции, гипермобильность суставов, сколиоз и др.) позволяет в 90,3% случаев (Se) определить детей с носительством полиморфизма -1171 *insA* MMP3.
5. При исследовании наиболее частых полиморфизмов генов соединительной ткани у детей с муковисцидозом выявлен только полиморфизм -1171 *insA* гена MMP3. Показано, что полиморфный локус *6A* является предиктором формирования тяжелой дисплазии соединительной ткани. У детей с гомозиготным генотипом *6A/6A*, выраженность ДСТ была значимо выше, чем у гетерозиготных носителей аллеля *6A* (генотип- *5A/6A*) ($p<<0,001$).

Практические рекомендации

1. При обследовании детей с муковисцидозом старше 1 года необходима оценка клинической выраженности дисплазии соединительной ткани с помощью балльных таблиц, с целью выявления группы риска по развитию тяжелых бронхолегочных осложнений и МВ-ассоциированного цирроза печени.
2. Дети с муковисцидозом, с пороговым значением суммарного балла ≥ 34 (среднетяжелая и тяжелая степень выраженности ДСТ), относятся к группе высокого риска развития бронхолегочных осложнений.
3. Детей с муковисцидозом, имеющих фенотипические признаки ДСТ (астенический тип конституции, сколиоз, кожные петехии, регургитация на аортальном клапане, астенический синдром и др.) и суммарный балл ≥ 26 , целесообразно направить на молекулярно-генетическое обследование для определения полиморфизма -1171insA гена MMP3. При положительном результате дети должны быть отнесены в группу высокого риска развития бронхолегочных осложнений и МВ-ассоциированного цирроза печени.
4. Детям из группы высокого риска по формированию тяжелых осложнений муковисцидоза показано регулярное более частое наблюдение, направленное на раннее выявление бронхолегочной патологии (оценка функции внешнего дыхания по ОФВ₁, компьютерная томография органов грудной клетки) и поражения печени (непрямая эластометрия печени, УЗИ органов брюшной полости, ультразвуковая доплерография портального тракта, биохимический анализ крови, коагулограмма), усиление базисной и гепатопротекторной терапии, рекомендованной для пациентов с муковисцидозом.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Горяинова, А.В.** Роль дисплазии соединительной ткани в течении муковисцидоз-ассоциированного цирроза печени у детей. Клинико-генетические аспекты / А.В. Горяинова, П.В. Шумилов, Е.Е. Баранова, Г.Ю. Зобкова, С.Ю. Семькин, А.Е. Донников // Вестник восстановительной медицины.- 2018. - т. 85.-№ 3. - С.34-42.
2. **Горяинова, А.В.** Роль дисплазии соединительной ткани в течении муковисцидоза у детей. Клинико-генетические аспекты / А.В. Горяинова, П.В. Шумилов, Н.Ю. Каширская, С.Ю. Семькин // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2018. - т. 63.- № 5. - С.20-28.
3. **Горяинова, А.В.** Клинико- генетические особенности синдрома дисплазии соединительной ткани при муковисцидозе у детей / А.В. Горяинова, П.В. Шумилов, С.Ю. Семькин, Г.Ю. Зобкова, А.Е. Донников // Российский педиатрический журнал. – 2018. - т. 21.- № 4. - С.203-207.
4. **Горяинова, А.В.** Особенности ведения педиатрических пациентов с муковисцидоз-ассоциированным циррозом печени / А.В. Горяинова, Н.Ю. Каширская С.Ю. Семькин, Г.В. Бердников // Вопросы детской диетологии.- 2018. -т. 16. -№ 2. - С. 5-12.
5. Никифорова, А. И. Определение мутаций гена CFTR у детей с муковисцидозом / А.И. Никифорова, Д.Д. Абрамов, Г.Ю. Зобкова, А.В. Горяинова, С. Ю. Семькин, А.Е. Шубина, А.Е. Донников, Д.Ю. Трофимов // Вестник РГМУ. - 2018. - № 3.- С. 35-41.
6. Горяинова, А.В. Роль дисплазии соединительной ткани в течении муковисцидоза у детей. Клинико-генетические маркеры/ А.В. Горяинова, П.В. Шумилов, С.Ю. Семькин // Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии с международным участием: сборник материалов конгресса.- М., 2018.- С. 132.

7. Горяинова, А.В. Клинико-генетические маркеры недифференцированной дисплазии соединительной ткани у детей с муковисцидозом / А.В. Горяинова, Н.Ю. Каширская, С.Ю. Семькин, А.Е. Донников, Д.Д. Абрамов, Г.Ю. Зобкова // Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей: сборник материалов конгресса. - М.: Медпрактика-М, 2018. - С. 245.
8. Goryainova, A.V. The influence of polymorphism of metalloproteinase genes on the formation of CF-liver cirrhosis and CF pneumofibrosis /A.V. Goryainova, N. Kashirskaya, S. Belmer, S. Semykin // Journal of Cystic Fibrosis. Abstracts of the 41st European Cystic Fibrosis Conference Belgrade, Serbia. - 2018. - Vol 17. - Suppl. 3. – P. 39.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

| | | |
|--|--|---|
| CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) | муковисцидозный трансмембранный регулятор проводимости | АЛТ - аланинаминотрансфераза |
| COL3A1 | - коллаген 3 типа | АСТ – аспаратаминотрансфераза |
| EGF (epidermal growth factor) | – эпидермальный фактор роста | ДСТ - дисплазия соединительной ткани |
| ENOS (nitric oxide synthase) | - эндотелиальная синтаза оксида азота | ИМТ - индекс массы тела |
| ER α (Estrogen receptor α) | – эстрогеновый рецептор альфа | НЭП - непрямая эластометрия печени |
| ER β (Estrogen receptor β) | – эстрогеновый рецептор бета | МАРС - малые аномалии развития сердца |
| FAF (fibroblast-activating factor) | – фактор активирующий фибробласты | МРИ - массо-ростовой индекс |
| МВ | - муковисцидоз | ОФВ ₁ - объем форсированного выдоха за 1ую секунду |
| IL (interleikin) | – интерлейкин | ПМК - пролапс митрального клапана |
| IL1 β | - интерлейкин 1 бета | ПСВ - пиковая скорость выдоха |
| LAMC1 (Laminin) | - гамма-1 цепь ламинина | РФ - Российская Федерация |
| MMP (matrix metalloproteinase) | – матриксная металлопротеиназа | ФЖЕЛ-форсированная жизненная емкость легких |
| OR (odds ratio) | – отношение шансов | ЧП - Чайлд-Пью |
| VEGF (vascular endothelial growth factor) | – сосудистый эндотелиальный фактор роста | |
| WHO (World Health Organization) | – Всемирная Организация Здравоохранения | |