

Съвременна Медицина

Modern
medicine

LXII 1/2018



Съюз на българските медицински специалисти

1/2018

LXII



СЪВРЕМЕННА МЕДИЦИНА

Орган на Съюза на българските медицински специалисти

РЕДАКЦИОННА КОЛЕГИЯ

Главен редактор:

Проф. Б. Богов

E-mail: bbogov@gmail.com

Зам.-гл. редактор:

Проф. Зл. Коларов

E-mail: zkolarov@abv.bg

Научен секретар:

Доц. Р. Кръстева

E-mail: krasteva_r@yahoo.com

Членове:

Доц. К. Ангелов

Доц. М. Георгиев

Проф. О. Георгиев

Проф. А. Гудев

Проф. В. Димитрова

Проф. В. Златков

Проф. З. Каменов

Проф. Д. Костадинов

Проф. Г. Куртева

Проф. Ц. Кътова

Проф. М. Маринов

Проф. Л. Матева

Проф. В. Миланова

Проф. П. Минчев

Акад. проф. В. Митев

Проф. Л. Митева

Проф. Е. Наумова

Проф. Г. Начев

Проф. А. Николов

Проф. Е. Паскалев

Проф. П. Переновска

Проф. И. Петкова

Чл.-кор. проф. Н. Петров

Проф. Т. Попов

Доц. К. Рамшев

Проф. Р. Рашков

Проф. И. Салтиров

Проф. Д. Свиначков

Проф. Л. Спасов

Проф. Р. Стоилов

Проф. А. Темелков

Чл.-кор. проф. Л. Трайков

Проф. В. Хаджидеков

Доц. Е. Хаджиев

СЪДЪРЖАНИЕ

Оригинални статии

- Д. Сербезов, Л. Балабански, Д. Николова, С. Хаджидекова, Р. Станева,
С. Карачанак-Янкова, М. Михайлова, В. Дамянова, Г. Антоу, Р. Въжарова, Д. Тончева
*Варианти в гени, свързани с онкогенеза и сърдечно-съдови заболявания,
при суперстолетници* 3
- Т. Веков
*Оценка на здравните технологии, предназначени за целева терапия
на метастазиран меланом с BRAF V600 мутация* 9

Клинични случаи

- М. Николова, И. Георгиева, Д. Василиу, Р. Кръстева, Б. Богов, А. Еленкова
Бъбречно засягане при синдрома на Sjögren 18
- В. Вутова, Л. Попов, Д. Златарева, С. Тачева, Р. Владимирова, В. Стоянова,
И. Ялъмова, Мл. Пенчев, Ж. Нацкова, Ст. Димитрова, Ст. Кръстев, В. Миланова
*Болест на Фар с водещи прояви на биполарно афективно разстройство –
диференциалнодиагностични аспекти (клиничен случай)* 23

Обзори

- Р. Чернева, Д. Костадинов
Ролята на microRNAs (miRNAs) в белодробната патология 28
- Ж. Чернева, М. Господинова, С. Денчев, Р. Чернева
Епигенетика на сърдечно-съдовите усложнения при диабет 36
- Ю. Мартева-Проевска, Ц. Велинов
Colistin – фармакокинетика, фармакодинамика, клинично приложение 46

- Е. Симеонов
История и образователни проблеми на клиничната генетика 57

На Вашето внимание

- Изисквания към авторите* 63

Адрес на редакцията:

СБМС, София, 1431, ПК-63, ул. "Св. Георги Софийски" № 1

Включено е в международния регистър на периодичните издания – ISSN 0562-7192
и в БД Българска медицинска литература при ЦМБ, МУ – София

EDITORIAL BOARD

Editor in chief:

Prof. B. Bogov

E-mail: bbogov@gmail.com

Deputy editor:

Prof. Zl. Kolarov

E-mail: zkolarov@abv.bg

Scientific secretary:

Assoc. prof. R. Krasteva

E-mail: krasteva_r@yahoo.com

Editorial staff:

Assoc. Prof. K. Angelov

Assoc. Prof. M. Georgiev

Prof. O. Georgiev

Prof. A. Gudev

Prof. V. Dimitrova

Prof. V. Zlatkov

Prof. Z. Kamenov

Prof. D. Kostadinov

Prof. D. Kurteva

Prof. Ts. Katova

Prof. M. Marinov

Prof. L. Mateva

Prof. V. Milanova

Prof. P. Minchev

Acad. Prof. V. Mitev

Prof. L. Miteva

Prof. E. Naumova

Prof. G. Nachev

Prof. A. Nikolov

Prof. E. Paskalev

Prof. P. Perenovska

Prof. I. Petkova

Corr. memb. prof. N. Petrov

Prof. T. Popov

Assoc. Prof. K. Ramshev

Prof. R. Rashkov

Prof. I. Saltirov

Prof. D. Svinarov

Prof. L. Spasov

Prof. R. Stoilov

Prof. A. Temelkov

Corr. memb. prof. L. Traykov

Prof. V. Hadjidekov

Assoc. Prof. E. Hadzhiev

Original articles

- D. Serbezov, L. Balabanski, D. Nikolova, S. Hadjidekova, R. Staneva, S. Karachanak-Yankova, M. Mihaylova, V. Damyanova, G. Antov, R. Vazharova, D. Toncheva
Variants in genes related to oncogenesis and cardiovascular diseases in supercentenarians 3

T. Vekov

- An assessment of health technologies intended for targeted therapy of metastatic melanoma with a BRAF V600 mutation* 9

Clinical cases

- M. Nikolova, I. Georgieva, D. Vasileiou, R. Krasteva, B. Bogov, A. Elenkova
Renal involvement in Sjögren's syndrome 18

V. Vutova, L. Popov, D. Zlatareva, S. Tacheva, R. Vladimirova, V. Stoyanova, I. Yalamova, M. Penchev, J. Natzkova, S. Dimitrova, St. Krastev, V. Milanova

- Fahr's disease with main symptoms of bipolar affective disorder – differential diagnostic aspects (a case report)* 23

Surveys

- R. Cherneva, D. Kostadinov
The role of microRNAs (miRNAs) in respiratory pathology 28

- Zh. Cherneva, M. Gospodinova, S. Denchev, R. Cherneva
Epigenetics of cardiovascular complications of diabetes mellitus 36

- Y. Marteva-Proevska, Tz. Velinov
Colistin – pharmacokinetics, pharmacodynamics, clinical use 46

E. Simeonov

- History and Educational Issues of Clinical Genetics* 57

To your attention

- Requirements to authors* 63

Editorial address:

UNION OF MEDICAL SPECIALISTS IN BULGARIA

1, Sv. G. Sofiysky, Sofia 1431 Bulgaria

СЪВРЕМЕННА МЕДИЦИНА 1/2018



Централна медицинска библиотека, МУ – София

Езикова редакция: И. Митева, В. Цъклева, В. Колев (англ.)

Страниране: Д. Александрова

Печат: j-point plus

ВАРИАНТИ В ГЕНИ, СВЪРЗАНИ С ОНКОГЕНЕЗА И СЪРДЕЧНО-СЪДОВИ ЗАБОЛЯВАНИЯ, ПРИ СУПЕРСТОЛЕТНИЦИ

Д. Сербезов¹, Л. Балабански², Д. Николова¹, С. Хаджидекова¹, Р. Станева¹,
С. Карачанак-Янкова¹, М. Михайлова¹, В. Дамянова¹, Г. Антоу³, Р. Въжарова², Д. Тончева¹

¹Катедра по медицинска генетика, Медицински факултет,
Медицински университет – София

²Геномна лаборатория, СБАЛАГАР “Малинов”

³Лаборатория “Геномна динамика и стабилност”,

Институт по физиология на растенията и генетика, Българска академия на науките

Резюме. Суперстолетниците, индивиди, успели да достигнат 110 или повече години, са изключително рядко явление и техният брой в световен мащаб се изчислява на не повече от няколкостотин индивиди. Предполага се, че в техният геном отсъстват патологични и/или се съдържат протективни генетични варианти. Установяването им би било от особено значение за разкриване ролята на гените в етиопатогенезата на асоциирани с напредналата възраст заболявания. Такива са онкологичните и сърдечно-съдовите заболявания и именно те са основна причина за смъртността в икономически развитите държави. Ние тествахме тази хипотеза, като анализирахме честота на патогенни, протективни и варианти с неясно клинично значение в гени, асоциирани с тези заболявания, в публично достъпна геномна база данни на 17 суперстолетници и 34 контроли (21-79 години). В подкрепа на публикуваните досега данни нашият анализ показва липсата на статистически значими разлики в честотите на патологични варианти в генома на суперстолетници и този на контролната група. Анализираните генотипи са в Харди-Вайнберг равновесие, което свидетелства за липса на естествен отбор спрямо тези генетични варианти. Ние дискутираме възможни обяснения за наблюдаваните честоти на изследваните варианти и подчертаваме необходимостта от изясняване ролята на вариантите с досега неясно клинично значение.

Ключови думи: дълголетие, генетични варианти, онкологични заболявания, сърдечно-съдови заболявания

VARIANTS IN GENES RELATED TO ONCOGENESIS AND CARDIOVASCULAR DISEASES IN SUPERCENTENARIANS

D. Serbezov¹, L. Balabanski², D. Nikolova¹, S. Hadjidekova², R. Staneva²,
S. Karachanak-Yankova³, M. Mihaylova¹, V. Damyanova¹, G. Antov³, R. Vazharova², D. Toncheva²

¹Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Medical University – Sofia

²Genomic Laboratory, SBALAGAR “Malinov” Clinic – Sofia

³Laboratory of Genome Dynamics and Stability, Institute of Plant Physiology and Genetics,
Bulgarian Academy of Sciences – Sofia

Abstract. Supercentenarians, individuals aged 110 or more, are extremely rare occurrence, and their number worldwide is estimated at no more than a few hundred individuals. It can be assumed that their genome is free of pathogenic variants and/or contains protective variants. Discovery of such variants will be of great significance to elucidating the pathohetic mechanisms of the diseases of the elderly. Such diseases are oncological and cardiovascular diseases, which are main mortality cause in developed countries. We tested this hypothesis by analyzing the genomic frequency of pathogenic, protective and variants of unclear clinical significance in genes associated with these diseases in the publicly available genomic data from 17 supercentenarians and 34 controls (21-79 years). In concordance with previously published data, our analysis shows no statistically significant differences in the amount of pathogenic variants in the genome of supercentenarians compared

to the control group. The genotype frequencies of the variants examined are in Hardy-Weinberg equilibrium, indicating the absence of natural selection against these genetic variants. We discuss possible explanations of the observed variant frequencies, and we emphasize the need of further studies to clarify the role of variants of unknown clinical significance.

Key words: longevity, genetic variants, oncologic diseases, cardiovascular diseases

ВЪВЕДЕНИЕ

През последните два века човечеството претърпява безпрецедентни демографски промени в резултат от намалена или по-контролирана раждаемост, както и на подобрени медицински и санитарни практики. Тези промени са особено силно изразени в по-развитите части на света, в резултат на което там се наблюдава устойчива тенденция за увеличаване продължителността на живота и нарастване дела на възрастното население. Освен че е свързано с трайно намаляване на жизнените дейности, стареенето е и основен рисков фактор за някои от най-разпространените заболявания, т.нар. „болести на старостта“, като сърдечно-съдови, нервно-дегенеративни и някои често срещани форми на рак. Това създава сериозни предизвикателства за обществото, като натоварва здравеопазването и социално-осигурителните системи. България в частност е една от държавите, в които демографските тенденции през последните няколко десетилетия доведоха до нарастване на дела на възрастното население над пенсионна възраст и нуждата от успешна обществена адаптация на възрастното население е голяма. Следователно е крайно необходимо да се изследва процесът на стареене и да се добие яснота за неговата биология, с цел разработване на лечебни стратегии за забавянето му, както и за предотвратяване развитието на свързаните с него заболявания. Това ще допринесе до така необходимото удължаване на възрастта с нормално функциониране на индивидите в обществото.

Изследвания върху близнаци сочат, че генетичните фактори играят роля за продължителността на живота (между 20% и 30%)

(1). Значението на генетичните фактори е незначително през по-ранните периоди на живота, но нараства с възрастта и е с най-голямо значение при дълголетниците. Геномът на столетниците може да се счита за „златен генетичен стандарт“ за дълголетие. Така наречените суперстолетници са изключително рядко срещани индивиди, които са достигнали възраст 110 или повече години. Според „Група за геронтолични изследвания“ в САЩ (<http://grg.org/>) броят на суперстолетниците в световен мащаб е няколкостотин индивиди, докато потвърденият им брой към януари 2018 г. е само 39. Техният геном несъмнено има потенциала за достигане на дълголетие. Геномът на суперстолетниците би трябвало да не съдържа патогенни варианти с висока пенетрантност или пък да съдържа протективни варианти, които предпазват носителите им от развитието на заболявания. Цялостните геномни асоциативни проучвания (GWAS) са утвърден и ефективен метод за идентифициране на генетични локуси, свързани с често срещани заболявания и комплексни биологични процеси (2). С GWAS са анализирани стотици хиляди варианти в геноми на индивиди, разделени на случаи и контроли, за да се идентифицират варианти, свързани със социално значими болести. В противовес с очакваното, изследванията през последните няколко години показват, че геномите на столетниците съдържат също толкова патогенни варианти, колкото и тези на останалото население (3-5). Тези патологични варианти може в действителност да не са толкова „патогенни“ и трябва да бъдат рекласифицирани или пък геномите на столетниците съдържат неустановени до този момент протективни варианти.

Gjerman et al. (2014) публикуват резултати от геномни анализи на 17 суперстолетници и 34 контроли (4). С изключение на една патогенна мутация в гена DSC2, за която се знае, че предразполага към аритмогенна кардиомиопатия на дясната камера, при анализа на геномните данни авторите на това изследване не намират редки мутации, променящи структурата на кодиращия белтък. В това изследване е изрично посочено, че тези геномни данни могат да се използват от изследователи, имащи интерес да извършват анализи върху тях. Ние използвахме тези публично достъпни данни, за да анализираме генома на суперстолетници за наличие на варианти в гени, свързани със сърдечно-съдови и ракови заболявания. Тези болести са най-характерни за старческата възраст и са основна причина за смърт в развитите държави.

Нашата основна цел е да тестваме хипотезата, че геномът на суперстолетниците не съдържа патогенни варианти с висока пенетрантност, свързани с най-честите болести на напредналата възраст.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Проведохме анализ на геноми на суперстолетници за наличие на патогенни мутации в гени, асоциирани с най-често срещаните форми на рак, и в гени, свързани със сърдечно-съдови заболявания.

Гени, асоциирани с ракови заболявания (онкогени и тумор-супресорни гени)

Анализирахме варианти в 601 гена, участващи в карциногенезата. Списъкът на „раковите“ гени бе компилиран от гени, изброени в Регистъра на раковите соматични мутации на Института "Сангер" (<http://cancer.sanger.ac.uk/census>) (572 гена), като допълнително бяха включени 43 тумор-супресорни гена, участващи в сигналните пътища: TGF- β , Wnt/ β -Catenin и Ras, в контрола на клетъчния цикъл (контролният пункт G1/S и в механизми за възстановяване на ДНК повреди в G2/M), както и 94 гена от раковия панел Trusight Cancer на Illumina®.

Гени, асоциирани със сърдечно-съдови заболявания

Селектирахме гени, асоциирани със сърдечно-съдови заболявания, кодиращи протеини с известно отношение към кардиоваскуларни състояния. Част от тях са свързани с функционирането на ендотелните клетки на кръвоносните съдове, а други – с процеси като ангиогенеза, вазоконстрикция и вазодилатация, апоптоза, клетъчна адхезия, както и с коагулация и тромбоцитна активация. Към избраните гени са включени: 1) гени, свързани с атеросклеротични промени в съдовете (отговори на стресови фактори, апоптоза, коагулация, липиден транспорт и метаболизъм, клетъчен растеж, пролиферация, транскрипционна регулация), и 2) гени, асоциирани с липопротеиновата сигнализация, холестероловия метаболизъм и транспорт (LDL, HDL и асоциираните с тях протеини). Някои от гените, принадлежащи към отделните групи, се повтарят, тъй като кодират протеини, участващи в няколко клетъчни процеса. Например клетъчноадхезионните молекули са свързани както с биологията на ендотелните клетки, така и с атеросклеротичните промени в съдовете; а някои от гените, експресирани при възпалителния отговор на ендотелните клетки, се активират и при атеросклеротичните им изменения (напр. TNF – tumor necrosis factor).

Варианти в селектираните гени от тези каталози, асоциирани със сърдечно-съдови заболявания (общо 216 гена), бяха проверени в обществено достъпния архив ClinVar (на National Center for Biotechnology Information (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>) и оценени за връзка с фенотипа.

В геномните данни на суперстолетниците бяха търсени регистрирани несинонимни варианти, определени като: „патологичен“, „конфликтна интерпретация за патогенност“, „неясно клинично значение“ или „протективен“.

РЕЗУЛТАТИ

В публичната база данни на геномите на суперстолетници се съдържат близо 110 000 варианта, за които е получено най-малко 40x

покрытие. При анализа на 601 гена, асоциирани с онкологични заболявания, са открити несинонимни варианти в 340 гена. От тях 94 варианта в 58 гена са определени в ClinVar като: „патологичен“ (3 варианта) и с „неизяснено клинично значение/конфликтна интерпретация за патогенност“ (91 варианта). От откритите варианти най-много са в гените *ATM* и *BRCA2* (по 5 варианта), *BRCA1* и *PMS2* (по 4 варианта).

При анализа на 216 гена, асоциирани със сърдечно-съдови заболявания, са открити несинонимни варианти в 151 гена. От тях 35 варианта в 21 гена са определени в ClinVar като: „патологичен“ (5 варианта), с „неизяснено клинично значение/конфликтна интерпретация за патогенност“ (29 варианта) и „протективен“ (1 вариант). От откритите варианти най-много са в *APOB* гена (8 варианта), следван от *APOE* и *COL18A1* гените (по 3 варианта).

Сборните честоти на несинонимните замествания, определени в ClinVar като „патологичен“ или „неизяснено клинично значение/конфликтна интерпретация за патогенност“, са по същество идентични между групата на суперстолетниците и контролната група.

За гените, асоциирани с онкологични заболявания: 7.6% от суперстолетниците носят поне един несинонимен вариант (2.8% в хомозиготно състояние) и 7.8% от контролите са с поне един несинонимен вариант (2.7% са в хомозиготно състояние) (OR = 0.85, 95% conf. int: 1.17-0.74).

За гените, асоциирани със сърдечно-съдови заболявания: 13.3% от суперстолетниците носят поне един несинонимен вариант (2.8% в хомозиготно състояние) и 11.2% от контролите са с поне един несинонимен вариант (1.8% в хомозиготно състояние) (OR = 1.2, 95% conf. int: 1.47-0.74). От откритите варианти 57% са с популационна честота под 1%.

ОБСЪЖДАНЕ

В настоящото проучване подложихме на тест хипотезата, че геномът на хората, успели да достигнат най-дълбоки старини, е лишен от патологични варианти, свързани

с някои от най-често срещаните заболявания, асоциирани с процесите на стареене, а именно сърдечно-съдовите и раковите заболявания. За целта бяха анализирани публично достъпните геномни данни от 17 суперстолетници и 34 контроли за наличие на мутации в гени, свързани с този тип заболявания. Подобно и на някои други неотдавнашни изследвания на хора, достигнали пределна възраст, нашият анализ сочи, че геномът на тези суперстолетници съдържа съпоставимо количество патологични мутации с генома на контролната група.

Генотипните честоти на несинонимните варианти са в равновесие по закона на Харди-Вайнберг (резултатите не са показани). Следователно в тези данни не се откриват следи от естествен отбор. Наличието на патологични варианти в генома на суперстолетниците и липсата на отбор на пръв поглед е парадоксално. Съществуват обаче редица причини, които биха обяснили този феномен. Вероятно съществуват протективни варианти в геномите на столетниците, които имат ключова роля за достигане на дълголетието. С нарастващото използване на цялостните геномни асоциативни проучвания (GWAS) през последните години се откриват стотици хиляди единични нуклеотидни полиморфизми (SNPs), които вероятно са ключът към разгадаването на комплексните медицински процеси. Такъв процес е стареенето и подобно на други, то се дължи на комбинирания ефект на множество генетични варианти, всеки от които има само слаб допринасящ ефект за появата и протичането на тези комплексни процеси. Откритите досега варианти обаче обясняват само една малка част от наследствеността на този процес. Това може да се дължи на наличието на редки варианти, които не могат да бъдат идентифицирани с този вид асоциативни проучвания. Наред с това са възможни различия в честотите на вариантите в различните популации. Всичко това би обяснило защо една значителна част от цялостните геномни асоциативни проучва-

ния дават противоречиви резултати. Въпреки това картотекирането на такива еднонуклеотидни варианти е ключова стъпка към разбирането на механизмите, които генерират тези комплексни процеси, и за разработването на ефективни стратегии, с които да им се противодейства. Дори в своето мнозинство вариантите, идентифицирани от GWAS, да не са пряко свързани с появата или протичането на патогенни процеси, те маркират региони в генома, съдържащи един или повече такива функционални варианти.

Малката популационна извадка несъмнено обяснява липсата на статистически значима разлика в честотите на откритите варианти между суперстолетниците и контролите в нашето изследване. Прави впечатление, че значителна част от откритите варианти засягат тумор-супресорните гени BRCA1 и BRCA2. Присъствието на мутации в тях обясняват 20-25% от наследствената форма на рак на гърдата (6), което ги прави основен фактор за появата на това заболяване. От изследваните гени, свързани със сърдечно-съдови заболявания, най-много варианти има в гените, свързани със синтез на липопротеини APOE и APOB. Генът APOE е един от малкото гени, нееднократно асоциирани с дълголетие (7).

Еднонуклеотидни полиморфизми с висока честота поотделно имат незначителен принос за предразположеност на индивида към заболяване (8). Те обаче също биха могли да бъдат патогенни или по различен, неизяснен досега механизъм да допринасят за процеса на стареене (8, 9). Вероятно много варианти с висока популационна честота имат малко, но реално влияние върху тези процеси, но за да бъдат засечени, са нужни изследвания, направени върху големи извадки от индиви-

ди. Мнозинството от новооткритите еднонуклеотидни полиморфизми при човека са редки (честота < 1%), (10), както е и в нашия случай. Редките варианти вероятно играят роля не само за моногенните заболявания, но и за генезата на комплексни биологични процеси, като стареенето (2, 5, 8, 11).

Повечето еднонуклеотидни полиморфизми при човека са специфични за дадената популация (10), като това касае най-вече редките варианти (11). Този факт ни дава ценна информация за демографските и еволюционните процеси, довели до тях, както вътре, така и между отделните популации. Това от своя страна позволява да се идентифицира функционално значимата геномна вариабилност, и в крайна сметка да се улесни оценката на индивидуалния риск за поява и развитие на тези комплексни процеси (12).

Изследването на суперстолетниците допринася за по-добро разбиране на връзката между генетични варианти и проявения фенотип. Установените патогенни варианти вероятно предразполагат към болести, но наличието им при суперстолетници доказва, че те са слабо пенетрантни. Вариантите са с неясно клинично значение или конфликтна интерпретация за патогенност. Не е препоръчително да бъдат използвани за вземане на решения, свързани с диагноза и терапия на пациенти. Наличието им в суперстолетници показва, че те нямат висока пенетрантност и тясна връзка с патология. Нужно е да се направят допълнителни изследвания на тези варианти, за да бъдат преквалифицирани като „патогенни“ или „доброкачествени“ (13).

Изследванията на дълголетници ще помогнат за по-добро разбиране ролята на генетичните варианти за клиничната практика.

Библиография

1. Herskind, A.M., et al. The heritability of human longevity: A population-based study of 2872 Danish twin pairs born 1870–1900. *Human Genetics*, 1996. 97(3): 319-323.
2. MacArthur, J., et al. The new NHGRI-EBI Catalog of published genome-wide association studies (GWAS Catalog). *Nucleic Acids Research*, 2017. 45(Database issue): D896-D901.
3. Beekman, M., et al. Genome-wide association study (GWAS)-identified disease risk alleles do not compromise human longevity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010. 107(42): 18046-18049.
4. Gierman, H.J., et al. Whole-Genome Sequencing of the World's Oldest People. *PLOS ONE*, 2014. 9(11): e112430.
5. Sebastiani, P., et al. Genetic Signatures of Exceptional Longevity in Humans. *PLOS ONE*, 2012. 7(1): e29848.
6. Easton, D.F. How many more breast cancer predisposition genes are there? *Breast Cancer Res*, 1999. 1(1): 14-7.
7. Garatachea, N., et al. ApoE gene and exceptional longevity: Insights from three independent cohorts. *Experimental Gerontology*, 2014. 53(Supplement C): 16-23.
8. Lohmueller, K.E., et al. Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease. *Nature genetics*, 2003. 33(2): 177-182.
9. Fritsche, L.G., et al. A large genome-wide association study of age-related macular degeneration highlights contributions of rare and common variants. *Nature genetics*, 2016. 48(2): 134-143.
10. Tennessen, J.A., et al. Evolution and functional impact of rare coding variation from deep sequencing of human exomes. *Science*, 2012. 337(6090): 64-9.
11. Marth, G.T., et al. The functional spectrum of low-frequency coding variation. *Genome Biology*, 2011. 12(9): R84-R84.
12. Bamshad, M.J., et al. Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. *Nat Rev Genet*, 2011. 12(11): 745-55.
13. Welsh, J.L., et al. Clinical Decision-Making in Patients with Variant of Uncertain Significance in BRCA1 or BRCA2 Genes. *Ann Surg Oncol*, 2017. 24(10): 3067-3072.

Адрес за кореспонденция:

Чл. кор., проф. д-р Драга Иванова Тончева, дбн
e-mail: dragatoncheva@gmail.com

Address for correspondence:

Corr. memb. prof. Draga Ivanova Toncheva, MD, PhD, DSc
e-mail: dragatoncheva@gmail.com

ОЦЕНКА НА ЗДРАВНИТЕ ТЕХНОЛОГИИ, ПРЕДНАЗНАЧЕНИ ЗА ЦЕЛЕВА ТЕРАПИЯ НА МЕТАСТАЗИРАЛ МЕЛАНОМ С BRAF V600 МУТАЦИЯ

Т. Веков

Факултет по фармация, МУ – Плевен

Резюме. Анализирани са публикувани данни от оценки на здравни технологии за лечение на пациенти с неоперабилен метастазирал меланом с BRAF V600 мутация, което обхваща периода януари 2008–декември 2017 г. Направено е косвено сравнение на терапевтичната и разходната ефективност на алтернативите за лечение, базирано на мрежов метаанализ. Резултатите от анализа разход/ефективност са представени като инкрементално съотношение на допълнителни разходи (Δ costs) и допълнителни здравни ползи (Δ QALY). Стига се до извода, че комбинираните терапии терапевтично превъзхождат монотерапиите, но са разходно неефективни поради високите разходи за годишна терапия (287 920–355 230 лв.). В групата на комбинираните терапии cobimetinib/vemurafenib доминира trametinib/dabrafenib с по-добра терапевтична ефикасност и по-ниски годишни разходи за лекарствена терапия.

Ключови думи: неоперабилен метастазирал меланом с BRAF V600 мутация, терапевтични алтернативи, фармакоикономически оценки, анализ разход/ефективност

AN ASSESSMENT OF HEALTH TECHNOLOGIES INTENDED FOR TARGETED THERAPY OF METASTATIC MELANOMA WITH A BRAF V600 MUTATION

T. Vekov

Faculty of Pharmacy, Medical University – Pleven

Abstract. There are analyzed published data from assessments of health technologies for treatment of patients with BRAF V600 mutation-positive unresectable metastatic melanoma, which encompass the period between January 2008–December 2017. An indirect comparison of therapeutic and cost-effectiveness of alternatives for treatment was made based on network meta-analysis. The results from cost-effectiveness analysis are presented as incremental cost-effectiveness ratio (Δ costs) and additional health benefits (Δ QALY). It is concluded that combined therapies dominate therapeutically monotherapies, but the former are cost-ineffective due to too high expenses of an annual therapy (BGN 287,920–355,230). In the group of combined therapies, cobimetinib/vemurafenib dominates trametinib/dabrafenib with better therapeutic efficacy and lower annual expenses for drug therapy.

Key words: BRAF V600 mutation-positive unresectable metastatic melanoma, therapeutic alternatives, pharmacoeconomic assessments, cost-effectiveness analysis

ВЪВЕДЕНИЕ

Меланомът е вид рак, който започва в пигментните клетки на кожата, наречени меланоцити. Поради бързото си развитие и склонност към ранно метастазирание е особено важно меланомът да бъде диагностициран максимално рано.

Съгласно данните на Българския национален раков регистър (1) новодиагностицираните случаи на злокачествен меланом на кожата през 2013 г. са 450. Разпределението на пациентите по стадии на развитие на заболяването е съответно I стадий (25,3%), II стадий (37,8%), III стадий (9,3%), IV стадий (6,9%) и неуточнен стадий (20,7%).

Регистрираните смъртни случаи през 2013 г. в България са 199, от които 117 са мъже и 82 са жени. Фактичестката смъртност е 2,7/100 000 население. Болестността от злокачествен меланом на кожата в България е 57,4/100 000 население, а релативната петгодишна преживяемост е 48,5%. Показателят за петгодишна преживяемост в България е значително по-нисък от средната петгодишна преживяемост в Европа – 82,7% (2).

Всички цитирани български епидемиологични данни за заболяемост, смъртност и преживяемост на пациентите със злокачествен меланом свидетелстват за високата социална значимост на заболяването.

Съвременната терапия на пациенти с метастазирал меланом с BRAF V600 мутация включва използването на инхибитори на RAF киназите (vemurafenib, dabrafenib), инхибитори на MEK киназите (trametinib, cobimetinib), PD-1 рецепторни блокери (nivolumab, pembrolizumab) и CTLA-4 имунни инхибитори (ipilimumab). Комплексната терапия включва и комбинация от RAF и MEK инхибитори.

ЦЕЛ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

Идентифициране и анализ на публикувани данни от оценки на здравни технологии, предназначени за лечение на пациенти с неоперабилен меланом BRAF V600. Модели-

ране на локални данни за разходи и здравни ползи в България. Косвено сравнение на терапевтичната и разходната ефективност на алтернативите за лечение, базирано на мрежов метаанализ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Проведено е литературно търсене на публикувани данни от оценки на здравни технологии за лечение на метастазирал неоперабилен меланом BRAF V600, което обхваща периода януари 2008–декември 2017. Идентифицираните съотносими данни са използвани за мрежов метаанализ с цел установяване на сравнителната разходна ефективност на алтернативните терапии за целевата група пациенти. В мрежовия метаанализ са включени и моделирани данни за здравни ползи и разходи на терапевтичните алтернативи. Използван е модел на Марков с три здравни състояния – без прогресиране на заболяването, прогресиране на заболяването и абсорбиращо състояние смърт.

Времевият хоризонт на модела е до живот. Разходите и ползите са дисконтирани с 5% годишно. Избраната перспектива на модела е здравна от гледна точка на третата страна платещ. Основните елементи на приложения модел са представени в табл. 1.

Таблица 1. Основни елементи на приложения модел

Елементи на анализа	Параметри
Сравнителни алтернативи	PEM, IPI, NIV, NIV/IPI, VEM/COB, DAB/TRA
Анализ на перспективата	Перспектива на плащещ НЗОК
Времеви хоризонт	До живот
Метод на анализа	CEA
Ползи за здравето	QALY
Метод за личностна оценка на ползите за здравето	EQ-5D
Включване на производствени въздействия	Не са приложими с избраната перспектива
Дисконтиране	5% годишно за разходите и ползите
Метод за оценка на несигурността	PSA

Използвани съкращения: VEM – vemurafenib, DAB – dabrafenib, COB – colimetinib, TRA – trametinib, PEM – pembrolizumab, IPI – ipilimumab, NIV – nivolumab, НЗОК – Национална здравноосигурителна каса, CEA – cost-effectiveness analysis, QALY – quality-adjusted life years, EQ-5D – Euro QoL-5 Dimension, PSA – probabilistic sensitivity analysis

РЕЗУЛТАТИ

Литературното търсене в базите данни MEDLINE, EMBASE, Cochrane library установи 26 проучвания, съдържащи елементи на оценка на здравни технологии от типа раз-

ход/ефективност (cost-effectiveness analysis, CEA) на лекарствени терапии за лечение на метастазирал/неоперабилен меланом BRAF V600. Основните параметри са представени в табл. 2.

Таблица 2. Основни параметри на икономически оценки на терапии за лечение на метастазирал меланом с BRAF V600 мутация

Автор, година	Страна	Целева популация	Основни параметри	Алтернативни терапии	Δ QALY	Δ costs	ICER
K Matter-Walstra et al., 2015 (3)	Швейцария	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: до живот Дисконтиране: 3,0% Моделирание: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	TRA/DAB vs. VEM	+ 0,52	+ CHF 199 647	CHF 385 603/QALY
NCPE, 2017 (4)	Ирландия	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 30 години Дисконтиране: 3,5% Моделирание: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	COB/VEM vs. VEM	+ 0,51	+ € 168 266	£ 326 868/QALY
				COB/VEM vs. DAB	+ 0,59	+ € 189 936	£ 324 192/QALY
				COB/VEM vs. TRA/DAB	+ 0,15	+ € 15 806	£ 108 284/QALY
pCODR, 2016 (5)	Канада	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 10 години Дисконтиране: 3,0% Моделирание: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	COB/VEM vs. VEM	+ 0,495	+ \$ 157 117	\$ 317 268/QALY
E. Pike et al., 2015 (6)	Норвегия	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 10 години Дисконтиране: 4,0% Моделирание: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	NIV vs. DAC	+ 0,82	+ NOK 902 000	NOK 1,1 mio/QALY
				COB/VEM vs. NIV	+ 0,07	+ NOK 1 386 000	NOK 19,8 mio/QALY
				DAB vs. DAC	+ 0,36	+ NOK 792 000	NOK 2,2 mio/QALY
				COB/VEM vs. DAB	+ 0,53	+ NOK 1 537 000	NOK 2,9 mio/QALY
				DAB vs. VEM vs. TRA	~ Δ QALY	~ Δ costs	–
				NIV/IPI vs. NIV vs. PEM	~ Δ QALY	~ Δ costs	–
NICE, 2016 (7)	Верикобритания	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 30 години Дисконтиране: 3,5% Моделирание: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	COB/VEM vs. VEM	+ 0,545	+ £ 81 900	£150 514/QALY
				COB/VEM vs. DAB	+ 0,618	+ £ 129 656	£ 209 942/QALY
P. Curl et al., 2014 (8)	САЩ	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: до живот Дисконтиране: 3,0% Моделирание: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	VEM vs. DAC	+0,42	+ \$ 148 440	\$ 353 993/QALY
				VEM/IPI vs. VEM	+0,62	+ \$ 97 864	\$ 158 139/QALY
T. Delea et al., 2015 (9)	Канада	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 10 години Дисконтиране: 3,0% Моделирание: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	DAB vs. DAC	+ 0,2055	+ \$ 74 624	\$ 363 136/QALY

Продължение на табл. 2

C. Rubio-Terrés et al., 2015 (10)	Испания	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 1 година Дисконтиране: няма Моделиране: няма Анализ на чувствителността: PSA	VEM vs. IPI	n.r.	n.r.	VEM – € 111 928/COR IPI – € 447 462/COR
V. Shih et al., 2015 (11)	САЩ	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: до живот Дисконтиране: 3,0% Моделиране: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	DAB vs. DAC	+ 0,1565	+ \$ 23 325	\$ 149 042/QALY
				DAB vs. VEM	+ 0,048	- \$ 11 391	DAB доминира
NCPE, 2014 (12)	Ирландия	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 30 години Дисконтиране: 3,5% Моделиране: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	DAB vs. DAC	+ 1,345	+ € 113 613	€ 84 473/QALY
NCPE, 2012 (13)	Ирландия	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 30 години Дисконтиране: 4,0% Моделиране: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	VEM vs. DAC	n.r.	n.r.	€ 131 883/QALY
J. Amdahl et al., 2014 (14)	Канада	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 10 години Дисконтиране: 3,0% Моделиране: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	TRA vs. DAC	+ 0,4160	+ \$ 61 226	\$ 147 177/QALY
				TRA vs. VEM	+ 0,1241	- \$ 26 553	TRA доминира
NCPE, 2017 (15)	Ирландия	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 30 години Дисконтиране: 3,5% Моделиране: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	TRA/DAB vs. VEM	+ 1,018	+ € 97 757	€ 96 000/QALY
				TRA/DAB vs. DAB	+ 0,784	+ € 122 548	€ 156 304/QALY
				TRA/DAB vs. PEM	+ 0,455	+ € 73 773	€ 162 153/QALY
NICE, 2016 (16)	Велико-британия	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 30 години Дисконтиране: 3,5% Моделиране: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	TRA/DAB vs. DAB	+ 0,878	–	–
				TRA/DAB vs. VEM	+ 0,925	–	–
M. Bohensky et al., 2008 (17)	Австралия	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 10 години Дисконтиране: 5,0% Моделиране: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	NIV vs. IPI	+ 1,30	+ \$ 56 420	\$ 43 402/QALY

Продължение на табл. 2

V. Barzey et al., 2013 (18)	САЩ	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: до живот Дисконтиране: 3,0% Моделиране: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	IPI vs. BSC	+ 1,14	+ \$ 146 716	\$ 128 656/QALY
S. Aceitino et al., 2014 (19)	Испания	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: до живот Дисконтиране: 3,0% Моделиране: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	IPI vs. DAC	+ 1,68	+ € 69 598	€ 41 459/QALY
D. Lee et al., 2014 (20)	Шотландия	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 30 години Дисконтиране: 3,5% Моделиране: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	IPI vs. DAC	+ 0,33	+ £ 10 502	£ 31 481/QALY
				IPI vs. VEM	+ 0,26	+ £ 33 306	£ 126 482/QALY
M. Bohensky et al., 2015 (21)	Австралия	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 10 години Дисконтиране: 5,0% Моделиране: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	NIV/IPI vs. IPI	+ 1,99	+ \$ 89 325	\$ 44 867/QALY
NCPE, 2016 (23)	Ирландия	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 30 години Дисконтиране: 3,5% Моделиране: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	DAB/TRA vs. IPI	+ 0,68	+ € 79 900	€ 118 002/QALY
				NIV/IPI vs. IPI	+ 2,12	+ € 101 354	€ 47 748/QALY
				NIV vs. IPI	+ 1,20	+ € 109 146	€ 90 930/QALY
				PEM vs. IPI	+ 1,19	+ € 245 105	€ 205 900/QALY
L. Tianyi et al., 2015 (22)	САЩ	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: до живот Дисконтиране: 3,0% Моделиране: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	PEM vs. IPI	+ 0,21	+ \$ 115 576	\$ 550 360/QALY
NICE, 2012 (24)	Великобритания	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 30 години Дисконтиране: 3,5% Моделиране: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	IPI vs. BSC	+ 1,37	+ £ 83 351	£ 60 737/QALY
E. Marriott et al., 2015 (25)	Великобритания	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 30 години Дисконтиране: 3,0% Моделиране: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	PEM vs. BSC	+ 1,188	+ £ 50 995	£ 42 923 /QALY

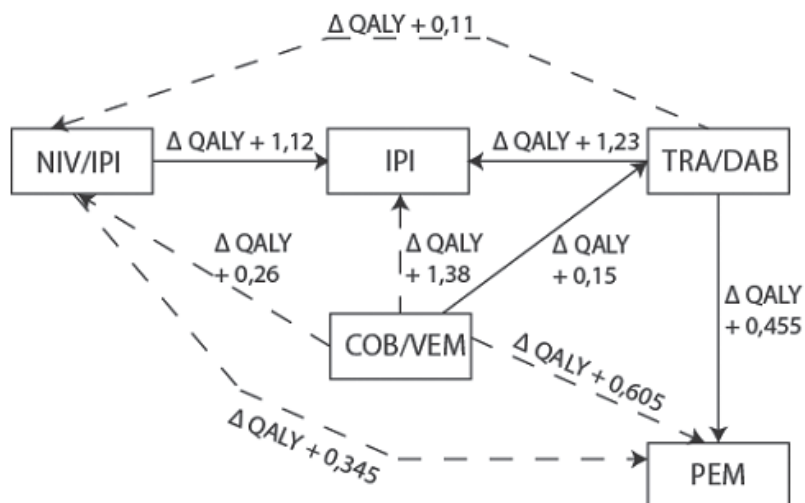
Продължение на табл. 2

J. Wang et al., 2016 (26)	САЩ	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 20 години Дисконтиране: 3,0% Моделирание: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	PEM vs. IPI	+ 0,96	+ \$ 68 862	\$ 71 941/QALY
T. Lu et al., 2016 (27)	САЩ	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 20 години Дисконтиране: 3,0% Моделирание: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	PEM vs. IPI	+ 0,21	+ \$ 115 576	\$ 539 441/QALY
NCPE, 2015 (28)	Ирландия	MM, BRAF V600	Перспектива: здравна, платец Разходи: преки, здравни Времеви хоризонт: 30 години Дисконтиране: 3,5% Моделирание: модел на Марков Анализ на чувствителността: PSA	PEM vs. IPI	+ 0,42	- € 3093	PEM доминира

Използвани съкращения: MM – метастазирал меланом, PSA – probabilistic sensitivity analysis, VEM – vemurafenib, TRA – trametinib, DAB – dabrafenib, COB – cobimetinib, DAC – dacarbazine, NIV – nivolumab, CHF – swiss franc, NOK – norwegian krone, IPI – ipilimumab, PEM – pembrolizumab, COR – cost per overall response, BSC – best supportive care, QALY – quality adjusted life years, ICER – incremental cost-effectiveness ratio, NCPE – National Centre for Pharmacoeconomics, NICE – National Institute for Health and Clinical Excellence

Структурата на анализа включва моделиране на здравните ползи и разходи на сравнителните терапевтични алтернативи vemurafenib (VEM), dabrafenib (DAB), trametinib (TRA), cobimetinib (COB), nivolumab (NIV), pembrolizumab (PEM), ipilimumab (IPI). Входящите данни в модела са резултатите за ефикасност и безопасност, получени от рандомизираните клинични изпитвания NO 25026, NP 22657, MO 25743, CA 209066, CA 209037, KEYNOTE-006, KEYNOTE-001, KEYNOTE-002, BREAK-2, BREAK-MB, BREAK-3, MEK 114267, MEK 113583, GO 28141, NO 25395. Времевият хоризонт, използван в модела, е доживотен. Здравните ползи и разходи са дисконтирани с 5% годишно. Моделираните резултати за разходна ефективност са включени в мрежов метаанализ. Структурата на мрежовия метаанализ е представена на фиг. 1.

Моделираните данни за здравни ползи от приложението на алтернативните целеви терапии за лечение на авансирал/метастазирал меланом BRAF V600 в България са изразени в QALY и са представени в табл. 3. Комбинираните терапии, включващи RAF инхибитори и MEK инхибитори (COB/VEM, TRA/DAB), както и PD-1 рецепторни блокери и



Фиг. 1. Структура на мрежовия метаанализ

CTLA-4 имунни инхибитори (NIV/IPI) терапевтично превъзхождат монотерапиите. Разходите за годишни лекарствени терапии на метастазирал меланом BRAF V600 в България са представени в табл. 4.

Таблица 3. Сравнителна терапевтична ефикасност на алтернативни терапии за лечение на ММ, BRAF V 600

Терапевтични алтернативи	Δ QALY
TRA/DAB vs. NIV/IPI	+0,11
NIV/IPI vs. IPI	+1,12
TRA/DAB vs. IPI	+1,23
COB/VEM vs. NIV/IPI	+0,26
NIV/IPI vs. PEM	+0,345
COB/VEM vs. IPI	+1,38
COB/VEM vs. PEM	+0,605
TRA/DAB vs. PEM	+0,455
COB/VEM vs. TRA/DAB	+0,15

Други болнични или извънболнични здравни разходи не са включени в настоящата оценка на здравните технологии, защото те са идентични при различните лекарствени алтернативи, поради което са пренебрегнати за нуждите на икономическия анализ. Разходите за сравняваните лекарствени терапии са изчислени на база регистрирани дозови режими и пределни цени в България към януари 2018 г.

ОБСЪЖДАНЕ

Пълната икономическа оценка от типа CEA изисква сравнителен анализ както на разходите, така и на терапевтичните ползи за пациентите.

Резултатите от анализа разход/ефективност са представени като инкрементално съотношение на допълнителни разходи (Δ costs) и допълнителни здравни ползи (Δ QALY) на алтернативите за лечение на метастазирал/неоперабилен меланом BRAF V600. Данните са представени на табл. 5.

Таблица 4. Разходи за годишна лекарствена терапия с алтернативни лекарствени продукти за лечение на ММ, BRAF V 600

Лекарствена терапия	Дозировка и начин на приложение	Стойност на разхода за годишна терапия, лв.
TRA/DAB	TRA – 2 mg дневно, DAB – 2 x 150 mg дневно	355 230
NIV/IPI	NIV – 1 mg/kg на всеки 3 седмици IPI – 3 mg/kg на всеки 3 седмици	287 920
COB/VEM	COB – 60 mg дневно 3 седмици и 1 седмица почивка VEN – 960 mg 2 пъти дневно	345 380
IPI	3 mg/kg на всеки 3 седмици	139 868
PEM	2 mg/kg на всеки 3 седмици	200 791

Таблица 5. Δ QALY, Δ costs, ICER на алтернативните лекарствени терапии за лечение на ММ, BRAF V 600

Терапевтични алтернативи	Δ QALY	Δ costs, лв.	ICER лв./QALY
TRA/DAB vs. NIV/IPI	+ 0,11	+ 67 310	611 900 лв./QALY
NIV/IPI vs. IPI	+ 1,12	+ 148 052	132 180 лв./QALY
TRA/DAB vs. IPI	+ 1,23	+ 215 362	175 090 лв./QALY
COB/VEM vs. NIV/IPI	+ 0,26	+ 57 460	221 000 лв./QALY
NIV/IPI vs. PEM	+ 0,345	+ 87 129	252 540 лв./QALY
COB/VEM vs. IPI	+ 1,38	+ 205 512	148 920 лв./QALY
COB/VEM vs. PEM	+ 0,605	+ 144 589	238 990 лв./QALY
TRA/DAB vs. PEM	+ 0,455	+ 154 439	339 420 лв./QALY
COB/VEM vs. TRA/DAB	+ 0,15	- 9850	COB/VEM доминира

Комбинираните терапии терапевтично превъзхождат монотерапиите, но са разходно неефективни поради твърде високите разходи за годишна терапия. Стойността на ICER на комбинираните терапии в сравнение с монотерапиите значително надвишава общоприетия праг за разходна ефективност в размер на трикратно увеличения брутен вътрешен продукт на човек от населението за една спечелена година живот с добро качество (ICER $\leq$ 40 000/QALY).

В групата на комбинираните терапии, включващи RAF инхибитори и MEK инхибитори, COB/VEM доминира TRA/DAB с по-добра терапевтична ефикасност и по-ниски годишни разходи за лекарствена терапия.

При провеждане на еднопосочен анализ на чувствителността с вариране на параметрите за разходи и ползи в доверителен интервал $\pm$ 20% около средната стойност на всеки параметър, резултатите за ICER на алтернативни-

те терапии не се изменят със статистически значими стойности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комбинираните терапии, включващи RAF инхибитори и MEK инхибитори (COB/VEM, TRA/DAB), както и PD-1 рецепторни блокери и CTLA-4 имунни инхибитори (NIV/IPI), терапевтично превъзхождат монотерапиите, но са разходно неефективни поради твърде високите разходи за годишна терапия (287 920–355 230 лв.). Стойността на ICER на комбинираните терапии в сравнение с монотерапиите значително надвишава общоприетия праг за разходна ефективност в размер на трикратно увеличения брутен вътрешен продукт на човек от населението за една спечелена година живот с добро качество (ICER $\leq$ 40 000 лв./QALY).

В групата на комбинираните терапии COB/VEM доминира TRA/DAB с по-добра терапевтична ефикасност и по-ниски годишни разходи за лекарствена терапия.

Библиография

1. Национална болница по онкология, Български национален раков регистър, 2015, vol. XXIV.
2. WHO. International Agency for Research on Cancer. <http://eco.iarc.fr/eucan>
3. Matter-Walstra K, Braun R, Kolb C et al. A cost-effectiveness analysis of trametinib plus dabrafenib as first-line therapy for metastatic BRAF V600-mutated melanoma in the Swiss setting. *Br J Dermatol*. 2015 Dec;173 (6): 1462-1470.
4. National Centre for Pharmacoeconomics. Cost-effectiveness of cobimetinib (Cotellic®) for the treatment of unresectable or advanced metastatic melanoma with a BRAF V600 mutation, only in combination with vemurafenib. January 2017.
5. Pan-canadian oncology drug review. Initial recommendation for cobimetinib (Cotellic) for metastatic melanoma. pERC meeting, April 2006.
6. Pike E, Torkilseng EB, Saeterdal I et al. (Eds). A Health Technology Assessment of the New Drugs for Inoperable or Metastatic Malignant Melanoma Patients. Oslo, Norway: Knowledge Centre for the Health Services at The Norwegian Institute of Public Health (NIPH); 2015 Nov. Report from Norwegian Knowledge Centre for the Health Services (NOKC) No. 22-2015.
7. National Institute for Health and Care Excellence. Cobimetinib in combination with vemurafenib for treating unresectable or metastatic BRAF V600 mutation-positive melanoma. Final appraisal determination. August 2016.
8. Curl P, Vujic I, van't Veer LJ et al. Cost-effectiveness of treatment strategies for BRAF-mutated metastatic melanoma. *PLoS One*. 2014 Sep 8; 9 (9): e107255.
9. Delea TE, Amdahl J, Wang A et al. Cost-effectiveness of dabrafenib as a first-line treatment in patients with BRAF V600 mutation-positive unresectable or metastatic melanoma in Canada. *Pharmacoeconomics*. 2015 Apr;33(4):367-80.
10. Rubio-Terrés C, Orofino J, Armas J et al. Cost-Effectiveness of Vemurafenib as a First-Line Treatment in Patients with Braf V600 Mutation-Positive Unresectable or Metastatic Melanoma in Spain. *Value Health*, 2015, 18 (7): A453.
11. Shih V, ten Ham RM, Bui ChT et al. Targeted therapies compared to dacarbazine for treatment of BRAF V600 E metastatic melanoma: a cost-effectiveness analysis. *J Skin Cancer*, 2015, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/505302>.
12. National Centre for Pharmacoeconomics. Cost Effectiveness of Dabrafenib (Tafinlar®) for patients with BRAF V600 mutation positive unresectable or metastatic melanoma. NCPE, June 2014.
13. National Centre for Pharmacoeconomics. Economic evaluation of Vemurafenib (Zelboraf) for the treatment of adult patients with BRAF V600 mutation – positive unresectable or metastatic melanoma in the Irish healthcare setting. NCPE, September 2012.
14. Amdahl J, A. Wang, M. Thabane et al. Cost-effectiveness of trametinib as first-line (1I) treatment for BRAF V600 positive advanced or metastatic melanoma – a Canadian societal perspective. ISPOR 19th Annual International Meeting Research Abstracts, 31 May 2014–04 June 2014, *Value Health*, May 2014, 17 (3): A83.

15. National Centre for Pharmacoeconomics. Cost-effectiveness of trametinib (Mekinist®) for the treatment of unresectable or metastatic melanoma with a BRAF V600 mutation, only in combination with dabrafenib. NCPE, March 2017.
16. National Institute for Health and Care Excellence. Trametinib in combination with dabrafenib for treating unresectable or metastatic melanoma. Technology appraisal guidance (TA396) Published date: 22 June 2016.
17. Bohensky M, K Pasupathi, A Gorelik et al. A cost-effectiveness analysis of nivolumab compared to ipilimumab for the treatment of BRAF-advanced melanoma in Australia. The University of Melbourne, 2008.
18. Barzey V, Atkins MB, Garrison LP et al. Ipilimumab in 2nd line treatment of patients with advanced melanoma: a cost-effectiveness analysis. J Med Econ, 2013; 16 (2): 202-212.
19. Aceituno S, Canal C, Paz S et al. Cost-Effectiveness of Ipilimumab for Previously Untreated Patients with Advanced Metastatic Melanoma in Spain. Value Health. 2014 Nov; 17 (7): A631.
20. Lee D, Porter J, Hatswell AJ et al. Cost-effectiveness analysis of Ipilimumab in previously untreated patients with unresectable malignant melanoma in Scotland. Value Health. 2014 Nov; 17 (7): A549-550.
21. Bohensky M, Kim H, Gorelik A et al. Cost-effectiveness of nivolumab in combination with ipilimumab in patients with unresectable advanced melanoma in Australia. 2015, Dec. 1, Ann Oncol, 26 (Suppl 9): 103-106. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv528.01>.
22. Tianyi Lu, JW Hay. Cost-effectiveness of Pembrolizumab and Ipilimumab in advanced melanoma. USC Schaeffer Center for health policy and Economics, 2015.
23. National Centre for Pharmacoeconomics. Cost-effectiveness of nivolumab with ipilimumab (Opdivo® with Yervoy®) for the treatment of advanced (unresectable or metastatic) melanoma. NCPE, November 2016.
24. National Institute for Health and Care Excellence. Ipilimumab for previously treated advanced (unresectable or metastatic) melanoma. NICE, November 2012.
25. Marriott E, Praet C, Aguiar-Ibáñez R et al. Cost-effectiveness of pembrolizumab for unresectable metastatic melanoma after progression with ipilimumab in England. Value Health. 2015 Nov; 18 (7): A453.
26. Wang J, Pellissier J, Xu R et al. Cost-effectiveness of pembrolizumab (Keytruda®) versus ipilimumab in patients with advanced melanoma in the United States. ISPOR 21st Annual International Meeting. May 21-26, Washington, USA, 2016, PCN114 (D24).
27. Lu, T et JW Hay. Cost-effectiveness of pembrolizumab and ipilimumab in advanced melanoma. May 2016, Value Health, 19 (3): A149.
28. National Centre for Pharmacoeconomics. NCPE report on the cost effectiveness of pembrolizumab (Keytruda®) for the treatment of unresectable or advanced metastatic melanoma in adults refractory to ipilimumab. NCPE, February 2016.

Адрес за кореспонденция:*Проф. Тони Веков**e-mail: t.vekov.mu.pleven@abv.bg***Address for correspondence:***Prof. Tony Vekov**e-mail: t.vekov.mu.pleven@abv.bg*

БЪБРЕЧНО ЗАСЯГАНЕ ПРИ СИНДРОМА НА SJÖGREN

М. Николова¹, И. Георгиева¹, Д. Василиу¹, Р. Кръстева¹, Б. Богов¹, А. Еленкова²

¹Клиника по нефрология, УМБАЛ „Александровска”,

²УСБАЛЕ „Акад. И. Пенчев”, Медицински университет – София

Резюме. Синдромът на Sjögren е автоимунно заболяване, което засяга екзокринните жлези и се характеризира с развитие на сика синдром. Патохистологично се представя с появата на лимфо-плазмоцитна инфилтрация в различни жлезни структури, вкл. слъзни и слюнчени жлези, черен дроб, панкреас и др. Бъбреците се засягат при по-малко от 10% от пациентите, под формата на тубуло-интерстициален нефрит с развитие на дистална тубулна ацидоза, нефрогенен инсипиден диабет, проксимална тубулна ацидоза до придобит синдром на Fanconi, нефрокалциноза и нефролитиаза, по-рядко – гломерулни увреждания по типа на мембранопролиферативен, огнищен и сегментен склерозиращ или мембранозен гломерулонефрит. Авторите представят два случая на бъбречно засягане при синдрома на Sjögren.

Ключови думи: синдром на Sjögren, бъбречно засягане, нефрокалциноза

RENAL INVOLVEMENT IN SJÖGREN'S SYNDROME

M. Nikolova¹, I. Georgieva¹, D. Vasileiou¹, R. Krasteva¹, B. Bogov¹, A. Elenkova²

¹Clinic of Nephrology, University Hospital Alexandrovska,

²University Hospital of Endocrinology "Acad. I. Penchev", Medical University – Sofia

Abstract. Sjögren's syndrome is an autoimmune disease affecting exocrine glands, characterized by the development of sicca syndrome. The histopathological investigation reveals lympho-plasmocytic infiltration of glandular structures, including lacrimal and salivary glands, liver, pancreas, etc. Renal involvement is present in less than 10% of the cases and manifests with tubulo-interstitial lesions with the development of distal tubular acidosis, nephrogenic diabetes insipidus, proximal tubular acidosis to acquired Fanconi syndrome, nephrocalcinosis and nephrolithiasis; less frequently – with glomerular lesions – membranoproliferative, focal and segmental sclerosing and membranous nephritis. We describe two cases of renal involvement in Sjögren's syndrome.

Key words: Sjögren syndrome, renal involvement, nephrocalcinosis

ВЪВЕДЕНИЕ

Синдромът на Sjögren е описан от Henrik Sjögren през 1933 г. (1). Представлява хронично възпалително заболяване на екзокринните жлези, протичащо с намалена жлезна секреция и сухота по лигавиците (сика синдром) в резултат от автоимунна агресия с развитие на лимфо-плазмоцитна възпалителна инфилтрация и постепенно унищожаване на glandуларния паренхим, поради което някои автори го наричат „автоимунен епителит” (1, 2, 3). Най-често засяга слъзните и слюнче-

ните жлези и над 90% от пациентите имат сухота в очите и в устната кухина, но може да засегне и черния дроб, панкреаса, тиреоидеята, белите дробове и екстрагландуларни структури, като бъбреци, стави, периферни нерви, мускули и др. Болестта може да еволюира в лимфопролиферативно заболяване (неходжкинов лимфом).

Синдромът на Sjögren може да бъде първично заболяване или да се развие на фона на друга автоимунна болест (например системен лупус, ревматоиден артрит и др.), хе-

патит С и др. (вторичен синдром на Sjögren). Първичният синдром на Sjögren е рядко заболяване (0.01-0.23% от населението), което се развива по-често при жени на средна възраст. Съотношението жени : мъже е 9 : 1 (1, 2, 3). Обикновено се доказва по повод сика синдром или паренхимно органно засягане – нефролитиаза или нефрокалциноза, нефрогенен инсипиден диабет, неясна бъбречна недостатъчност, чернодробна цироза, хроничен панкреатит, артрит, конституционални симптоми (фебрилитет, отслабване на телло, общо неразположение, обикновено в съчетание със сиаладенит) и др.

Бъбречното засягане при синдрома на Sjögren е описано през 60-те години на XX в. (1). Наблюдават се три основни типа бъбречни промени (1, 2, 3, 4):

- тубуло-интерстициални – автоимунен епителит със засягане предимно на дисталния или предимно на проксималния тубул и развитие съответно на дистална дубулна ацидоза с нефрокалциноза и нефролитиаза или на проксимална тубулна ацидоза до придобит синдром на Fanconi;
- гломерулни – мембранопрлиферативен (най-често в съчетание с позитивен ревматоиден фактор и криоглобулинемия), мембранозен или огнищно-сегментен склерозиращ гломерулонефрит;
- съчетание на тубуло-интерстициални и гломерулни увреждания.

Клинично бъбречното засягане може да протича безсимптомно и да се докаже по повод неясна бъбречна недостатъчност, еритроцитурия или протеинурия или да се развие нефролитиаза със или без нефрокалциноза, хипокалиемия с мускулна слабост и периодични парализи, нарушения в алкално-киселинното състояние, остеопороза, вторичен хиперпаратиреоидизъм и др. (1, 2, 3, 4). Понякога може да предхожда появата на класическите мукокутанни прояви на болестта (4). Представяме два случая на синдром на Sjögren с бъбречно засягане.

КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ 1

Седемдесет и една годишна жена беше хоспитализирана през месец ноември 2015 г. в Клиниката по нефрология по повод рецидивиращи уроинфекции (до 8-10 пъти годишно). Пациентката съобщи за синдром на Sjögren с ксеростомия и ксерофталмия и положителни ANA и anti-Ro/SSA антитела и артралгии с давност около 4 г. преди хоспитализацията и за хронична диария от 7-8 месеца преди хоспитализацията с редукция на телесното тегло около 8 kg. Хепатитните вирусни маркери са негативни. Пациентката съобщи за преживяна холецистектомия поради холелитиаза (без анамнеза за епизоди на холецистит), с анамнеза за артериална хипертония с около 10-годишна давност с добър контрол на фона на антихипертензивна терапия с ACE инхибитор, с анамнеза за остеопороза (Т-скор минус 2.7). Проведените клиниколабораторни изследвания демонстрираха нормална пълна кръвна картина, чернодробни ензими, серумен креатинин 91 $\mu\text{mol/l}$ с креатининов клирънс 56 ml/min (MDRD), урея 7.9 mmol/l , серумен калий 3.4 mmol/l , натрий 136 mmol/l , калций 2.45 mmol/l , фосфати 1.29 mmol/l , алкално-киселинно състояние: pH 7.33, БЕ (-6.9), стандартен бикарбонат 17.3 mmol/l , паратхормон 63 pg/ml (норма до 65), амилаза 102 E/ml . Уринните изследвания показаха левкоцитурия и бактериурия, нормални нива на екскреция на калция. Протеинурия 0.04 g/24 ч . Положителни ANA 1:160 и anti-Ro/SSA антитела и негативни anti-La/SSB.

Абдоминалната ехография представи черния дроб с нормален образ, не се изобразява жлъчен мехур (след холецистектомия), хиперехогенен панкреас, двата бъбрека са с размер 90 и 93 mm , неравномерно широк паренхим 15-21 mm , двустранно повишена медуларна ехогенност както при медуларна нефрокалциноза (фиг. 1), слезка 89 mm , пикочен мехур с дебелина на стената до 6 mm . Проведената урофлоуметрия показва свръхактивен пикочен мехур.

По време на престоя в Клиниката се проведе антибактериално лечение на вметната уро-

инфекция, започна се терапия с панкреасни ензими (Kreon 25 000 E) във връзка с данни за хроничен панкреатит и Tolterodin с постепенно увеличаване на дозата до 2 x 2 mg дневно във връзка с данни за свръхактивен пикочен мехур. След 6 месеца се отчете редукция на диарията с покачване на телесното тегло с 10 kg. През следващите 18 месеца беше наблюдаван само един епизод на остра уроинфекция и стабилна бъбречна функция.



Фиг. 1. Ехографски образ на десния бъбрек на пациентка 1. Добре личи медуларна нефрокалциноза – хиперехогенни пирамиди

КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ 2

Четиридесет и пет годишна жена беше приета в Клиниката по нефрология в началото на месец май 2018 г. за активно лечение на остра уроинфекция. През 2007 г. пациентката е оперирана по повод базедова болест, с постоперативен хипотиреоидизъм, на заместително лечение. През 2009 г. е проведена конизация на маточната шийка по повод HPV-16-позитивна дисплазия. През 2013 г. е доказан нефрогенен инсипиден диабет, оттогава на лечение с Минирин. Същата година е доказана и начална бъбречна недостатъчност – серумен креатинин 111-139 $\mu\text{mol/l}$ с нормокалиемия и нормално алкално-киселинно състояние, хипокалциемия (1.99 mmol/l при норма 2.12-2.62) при дефицит на витамин D и вторичен хиперпаратиреоидизъм (ПТХ 3.3 при норма до 3.09 pmol/l). През 2017 г. е доказан синдром на Sjögren с ксе-

рофталмия, ксеростомия и положителни anti-Ro/SSA и anti-La/SSB антитела. Пациентката съобщава за рецидивирани уроинфекции от над 10 г.

Клиниколабораторните изследвания при постъпването демонстрираха лека анемия (Hb 114 g/l), ускорена СУЕ 35 mm/1-ви час, серумен креатинин 152 $\mu\text{mol/l}$, креатининов клирънс (MDRD) 34 ml/min. В урината се установиха левкоцитурия и бактериурия.

Абдоминалната ехография представи нормален образ на черния дроб и жлъчния мехур, повишена ехогенност на панкреаса, двата бъбрека (фиг. 2) с надлъжен размер около 92 mm, високоехогенен паренхим до 13 mm с калцификати, нормален ехографски образ на слезката и пикочния мехур.



Фиг. 2. Ехографски образ на десния бъбрек на пациентка 2. Намалени бъбречни размери и стеснен паренхим, високоехогенен паренхим 11-13 mm с кортикални калцификати (кортикална нефрокалциноза)

По време на болничния престой се проведе антибактериално и спазмо-аналгетично лечение, довело до бързо негативиране на оплакванията и уринната находка.

ОБСЪЖДАНЕ

Синдромът на Sjögren е относително рядко аутоимунно заболяване, засягащо по-често жени на средна възраст, което протича с лимфо-плазмоцитна възпалителна инфилтрация на жлезни и други екстрагландуларни структури (1-3). Може да бъде първично заболяване или да се развие на фона на друга аутоимунна болест, хепатит С и др. (вторичен синдром на Sjögren). Бъбречно-то засягане е относително рядко – при под

10% от пациентите. Понякога то може да предшества класическите клинични прояви на заболяването ксеростомия и ксерофталия (4). Проучванията на A.V. Goules и сътр. (5) показват, че клинично значимо бъбречно засягане е налице при едва 34/715 (4.9%) пациенти с първичен синдром на Sjögren. При 13 от тях авторите доказват тубуло-интерстициални увреждания, при 17 – гломерулонефрит, а при 5 – съчетание от двете. Девет от пациентите с бъбречно засягане загиват (4 от тях на диализно лечение), при 11 се развива бъбречна недостатъчност (при 4 – диализнозависима), а при 9/715 в периода на наблюдение се развива неходжкинов лимфом, като 8 от тях са с бъбречно засягане (гломерулонефрит). Анализът на преживяемостта в тази студия показва, че наличието на бъбречно засягане е лош прогностичен белег, като гломерулното засягане е свързано с повишен риск от развитие на лимфом (5).

Проучванията на S. Maripuri и сътр. (6) демонстрират клинично значимо бъбречно засягане при 24/7276 (0.33%) пациенти с първичен синдром на Sjögren за период от 40 г. Общо 17 са с данни за предимно тубуло-интерстициално засягане (остър или хроничен тубуло-интерстициален нефрит), при 2 е налице криоглобулинемичен нефрит (мезангиокапилярен гломерулонефрит), при 2 – огнищно-сегментна гломерулосклероза, при 3 – неспецифични хистологични изменения. Авторите препоръчват при всички пациенти с първичен синдром на Sjögren да се провеждат скринингови изследвания за бъбречно засягане – серумен креатинин, изследване на урина (дип-стикс и уринен седимент, а при показания – протеинурия), при необходимост – бъбречна биопсия, тъй като бъбречното засягане е лош прогностичен белег и налага активно мониториране и евентуално по-аг-

ресивно лечение с кортикостероиди, цитотоксични и други патогенетични средства.

При описаните от нас пациентки с първичен синдром на Sjögren е налице предимно тубуло-интерстициално засягане с дистална тубулна ацидоза при първата и нефрогенен инсипиден диабет при втората. И при двете се наблюдава ограничаване на бъбречната функция, по-лекостепенно при първата и по-изразено при втората. И при двете не е провеждана бъбречна биопсия, тъй като липсват белези за висока активност на бъбречното ангажиране. При втората има данни за още една аутоимунна болест – болест на Базедов, наложила оперативно лечение във връзка с резистентност към терапията. Освен това при втората пациентка синдромът на Sjögren дебютира именно с бъбречно засягане (нефрогенен инсипиден диабет) няколко години преди появата на класическите прояви като ксеростомия и ксерофталия. И при двете болни ехографското изследване разкрива нефрокалциноза. При първата пациентка е налице и хроничен панкреатит, най-вероятно като проява на синдрома на Sjögren. И при двете пациентки са налице положителни anti-Ro/SSA антитела.

В заключение, представените от нас пациентки демонстрират една по-рядка проява на първичния синдром на Sjögren – бъбречно ангажиране под формата на тубуло-интерстициален нефрит. Този тип ангажиране ехографски най-често се представя с нефрокалциноза. Това подчертава значението на комплексното изследване на болните със синдром на Sjögren, вкл. бъбречна функция, водно-електролитно и алкално-киселинно равновесие, уринни изследвания, абдоминална ехография. При преценка се провежда пункционна бъбречна биопсия.

Библиография

1. Evans R, Zdebik A, Ciurtin C, Walsh SB. Renal involvement in primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology* 2015;54:1541-1548.
 2. Francois H, Mariette X. Renal involvement in primary Sjögren syndrome. *Nat Rev Nephrol* 2016;12(2):82-93.
 3. Arman F, Shakeri H, Nobakht N, et al. A case of kidney involvement in primary Sjögren's syndrome. *Am J Case Rep.* 2017;18:622-626.
 4. Bossini N, Savoldi S, Franceschini F, et al. Clinical and morphological features of kidney involvement in primary Sjögren's syndrome. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16(12):2328.
 5. Goules AV, Tatouli IP, Moutsopoulos HM, Tzioufas AG. Clinically significant renal involvement in primary Sjögren's syndrome: clinical presentation and outcome. *Arthritis Rheum.* 2013;65(11):2945-53.
 6. Maripuri S, Grande JP, Osborn TG, et al. Renal involvement in primary Sjögren's syndrome: a clinicopathologic study. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4(9):1423-31.
-

Адрес за кореспонденция:

Д-р Милена Николова, дм
Клиника по нефрология
УМБАЛ „Александровска”
МУ
ул. "Св. Г. Софийски" № 1
1431 София
e-mail: milena_i_dani@abv.bg

Address for correspondence:

Dr. Milena Nikolova, MD, PhD
Clinic of Nephrology
University Hospital Alexandrovska
Medical University
1 G. Sofiiski Str.
Bg – 1431 Sofia
e-mail: milena_i_dani@abv.bg

БОЛЕСТ НА ФАР С ВОДЕЩИ ПРОЯВИ НА БИПОЛЯРНО АФЕКТИВНО РАЗСТРОЙСТВО – ДИФЕРЕНЦИАЛНОДИАГНОСТИЧНИ АСПЕКТИ (клиничен случай)

В. Вутова¹, Л. Попов², Д. Златарева³, С. Тачева¹, Р. Владимирова¹, В. Стоянова¹,
И. Ялъмова¹, Мл. Пенчев¹, Ж. Нацкова¹, Ст. Димитрова¹, Ст. Кръстев¹, В. Миланова¹

¹Клиника по психиатрия, УМБАЛ „Александровска” – София

²Катедра по образна диагностика, Медицински университет – София

³Клиника по нервни болести, УМБАЛ „Александровска” – София

Резюме. Описва се случай на 59-годишна жена с биполарно афективно разстройство, при който се установява идиопатично натрупване на калций в базалните ганглии (лентикуларни ядра). Неврологичният и соматичният статус са без клинично значими отклонения. Невропсихологичното изследване показва начален когнитивен дефицит. Клиничните и лабораторните данни отговарят на диагностичните критерии за болест на Фар. Обсъжда се връзката между калцификацията на базалните ганглии и възникването на биполарно разстройство.

Ключови думи: болест на Фар, базални ганглии, калцификати, биполарно афективно разстройство

FAHR'S DISEASE WITH MAIN SYMPTOMS OF BIPOLAR AFFECTIVE DISORDER – DIFFERENTIAL DIAGNOSTIC ASPECTS (a case report)

V. Vutova¹, L. Popov², D. Zlatareva³, S. Tacheva¹, R. Vladimirova¹, V. Stoyanova¹,
I. Yalamova¹, M. Penchev¹, J. Natzkova¹, S. Dimitrova¹, St. Krastev¹, V. Milanova¹

¹Clinic of Psychiatry, University Hospital "Alexandrovskia" – Sofia

²Clinic of Neurology, University Hospital "Alexandrovskia" – Sofia

³Clinic of Diagnostic Imaging, University Hospital "Alexandrovskia" – Sofia

Abstract. We present a case of a 59-year-old woman with bipolar affective disorder and idiopathic calcium accumulation in the basal ganglia (lenticular nuclei). Her physical and neurological examinations were without clinically significant abnormalities. Neuropsychological assessment shows mild cognitive deficit. Clinical and laboratory data meet the diagnostic criteria for the Fahr's disease. Discussions were held about the relationship between calcification of basal ganglia and the occurrence of the bipolar disorder.

Key words: Fahr's disease, basal ganglia, calcifications, bipolar affective disorder

ВЪВЕДЕНИЕ

Базалните ганглии имат важна роля както в непосредственото реализиране на двигателните функции, така и в контрола на двигателното поведение на мотивационно ниво (1, 10).

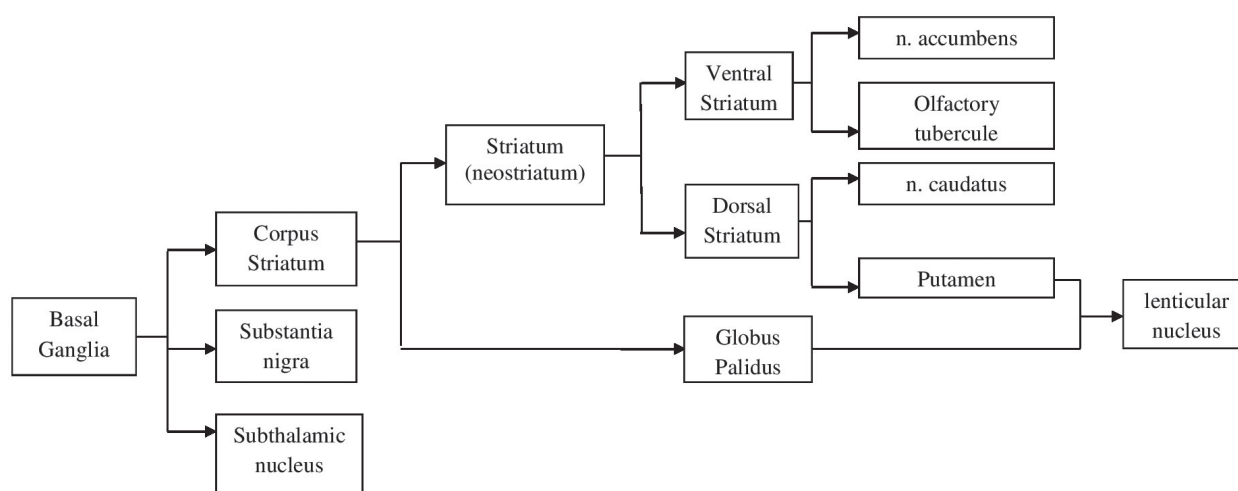
Болестта на Фар е рядко срещано дегенеративно заболяване, характеризиращо се с идиопатично билатерално и симетрично натрупване на калций в различни структури на базалните ганглии, предимно в стрио-паллидарната област (фиг. 1). Болестта е описана

за първи път от немския невролог Фар през 1930 г. При вторично натрупване на калций в базалните ганглии (напр. по ендокринно-метаболически път) състоянието се определя като синдром на Фар (7, 12).

Заболяването се проявява клинично с разнообразни неврологични, психични и когнитивни нарушения. Най-често се манифестира с признаци на паркинсонов или хореоатетозен синдром. Понякога са налице координационни и езикови нарушения, по-рядко – епилептични феномени (7, 12). Психичните нарушения по-често се свеждат до дементен или

депресивен синдром, но се наблюдават също така психотични, афективни, тревожни и личностни разстройства (3, 6, 8, 9, 12). Обикновено възниква между 40- и 60-годишна възраст с постепенно протичане и прогресивно влошаване. Счита се, че има и форми на асимптомно протичане (7).

Описваме случай на биполарно афективно разстройство с късно начало и прогресивно влошаващ се ход, при който се установява идиопатично билатерално и симетрично натрупване на калций в базалните ганглии (лентикуларни ядра).



Фиг. 1. Структури на базалните ганглии

КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ

Пациентката е 59-годишна жена, със средно образование, омъжена, без данни за стресогенни психо-социални фактори.

Налице е фамилна обремененост по бащина линия с афективни разстройства (леля, двама братовчеди и племенник). Липсват значими минали и придружаващи заболявания.

Началото на психичното разстройство е през 2010 г. (на 53-годишна възраст) с прояви на депресивна симптоматика, които отзвучават спонтанно. Идентично състояние е наблюдавано през 2011 г. През януари 2013 г. възниква трети депресивен епизод, преодолян с амбулаторно антидепресивно лечение. От

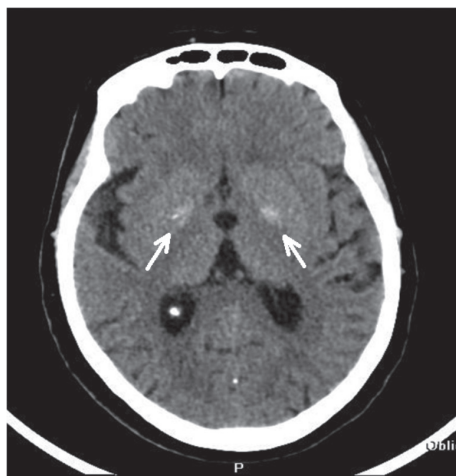
януари 2014 г. следват ежегодни депресивни епизоди, вкл. с депресивно-психотична характеристика, и по-редки, но също ежегодни, умерено изразени манийни епизоди. Заболяването придобива биполарен ход с тенденция към прогресивно влошаване на честотата и тежестта на рецидивите. Провежда редовно поддържащо лечение. В междупристъпните периоди са налице пълноценни, но кратки медикаментозни ремисии.

През м. януари 2016 г. е хоспитализирана в Клиниката по повод поредното манийно влошаване. При постъпването от физикалния преглед липсват патологични отклонения, освен данни за варици на дясната подбедрица

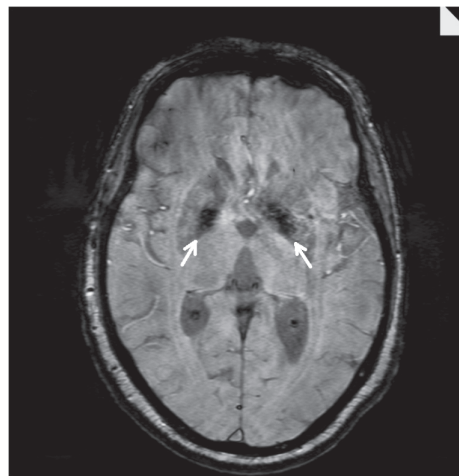
и прояви на непостоянен тремор на горните крайници. От психичния статус се установи класическо манийно състояние без психотични признаци, с водещи симптоми – хипертимия, хипербулия, тахипсихия със свърхценни идеи за повишени възможности.

От дванадесетия ден на клиничния престой, на фона на манийно поведение, се установяват краткотрайни истински зрителни халюцинации, неконгруентни на афекта, възникващи ежедневно при ясно съзнание, към които пациентката е критична.

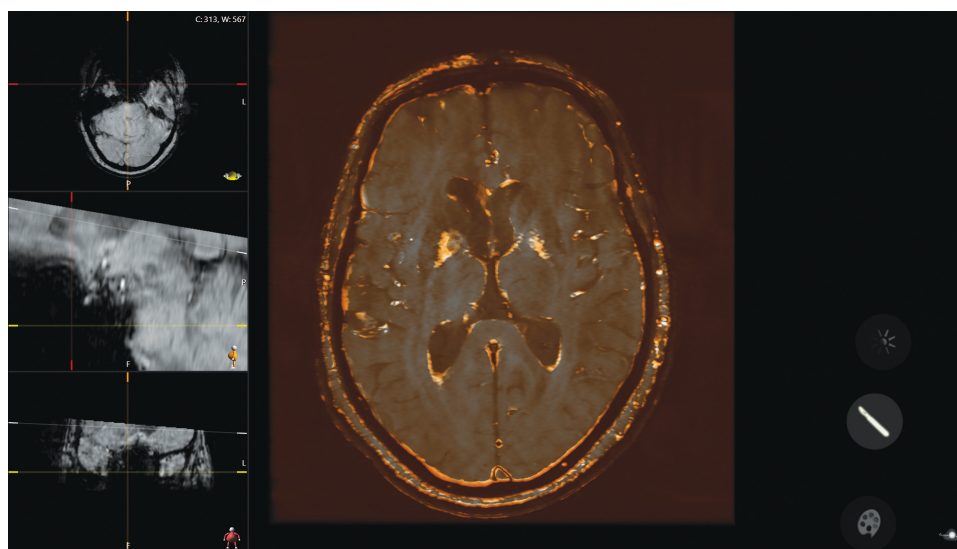
Стандартните лабораторни изследвания, вкл. TSH и FT4, алкална фосфатаза, калций, фосфор, паратхормон, са без клинично значими отклонения. Неврокогнитивната оценка показва дискретни белези на органична увреда и начален когнитивен дефицит (MMSE – 27 т.). При изследване от невролог и ендокринолог не се установиха данни за неврологично или ендокринно заболяване. Компютърна томография (КТ) и ядрено-магнитен резонанс (МР) на главен мозък показаха калцификати в базалните ганглии – лентикуларни ядра (фиг. 2, 3, 4).



Фиг. 2. КТ на главен мозък (аксиален образ). Двустранно в лентикуларните ядра се визуализират хиперденсни зони, представляващи калцификати (стрелките)



Фиг. 3. МР на главен мозък (аксиален образ, SWI). Двустранно в лентикуларните ядра се визуализират безсигнални зони, представляващи калцификати (стрелките)



Фиг. 4. Същият аксиален образ, представен чрез апаратура за 3D виртуална дисекция

Проведе се лечение с Депакин хроно – до 1500 mg/дн. (пл. ниво до 630 mcmol/l), Оланзапин – до 10 mg/дн., литиев карбонат – до 600 mg/дн. (пл. ниво 0,57 mcmol/l), Хлорпро-тиксен – до 30 mg/дн., Атаракс – до 75 mg/дн., Ноотропил – 3 g i.v.

В хода на лечението перцептивните нарушения с органичен характер отзвучаха за около 10 дни. Манийната симптоматика се редуцира значително. Постепенно настъпи изразено подобрение, като през февруари 2016 г. пациентката се изписа в пълна ремисия, апсихотична, критична към състоянието си. Препоръча се поддържащо лечение с Депакин хроно – 1000 mg/дн. (пл. ниво 457 mcmol/l), литиев карбонат – 600 mg/дн. (пл. ниво 0,57 mcmol/l) и Ноотропил – 2400 mg/дн.

ОБСЪЖДАНЕ

Болестта на Фар е невродегенеративно заболяване, свързано с идиопатично билатерално натрупване на калций в базалните ганглии. Допуска се, че в основата на етиологията стои генетичен механизъм. Унаследява се автозомно-доминантно, но има и спорадични случаи. Няколко гена имат влияние, като се изтъква ролята на IBGC1 локус на 14q хромозома, както и хетерозиготна мутация в локус SLC20A2 на 8p11 хромозома (5, 11).

Патогенезата се характеризира със стрио-паллидарни неатеросклеротични билатерални и симетрични калцификации. Налице е хипометаболизъм на базалните ганглии и фронталния дял на мозъка. Предполага се прекъсване на корово-субкорови връзки, при неза-сегнат нигро-стриален път (2, 7).

Идиопатичната калцификация на базалните ганглии е с твърде разнообразна клинична картина, която зависи от степента на увреждане и локализацията на засегнатите структури. Заболяването може да протича с комбинирана неврологична и психиатрична симптоматика, само с неврологична, и по-рядко само с психиатрична симптоматика или асимптомно (3, 6, 7, 9, 12). При симптома-

тичните пациенти калцификацията е по-масивна, в сравнение с асимптоматичните (7). Диференциална диагноза се прави основно с паратиреоиден дисбаланс, съдова енцефалопатия, травма и други заболявания, водещи до калциеви отлагания.

Психичните нарушения при болестта на Фар са инициална проява в около 40% от случаите (7). Въпреки това патофизиологичната основа за възникването им остава неизяснена (4, 6). По-често се наблюдават депресивни, психотични и когнитивни разстройства (3, 8, 12). Представеният случай е с биполарно афективно разстройство с прогресивно влошаващо се протичане като тежест и честота на рецидивите, без значима неврологична или соматична симптоматика. При поредния рецидив към класическата манийна симптоматика се установяват органичен тип бързо-преходни психотични симптоми. Това налага разширени изследвания, които показват идиопатично симетрично и лекостепенно натрупване на калций в базалните ганглии (лентиккулярни ядра), както и дискретен когнитивен дефицит. Клиничният анализ показва, че още на този етап са налице основните диагностични критерии за спорадичен случай на болест на Фар, а именно: начало между 40- и 60-годишна възраст, двустранна калцификация на базални ганглии, прогресивна невропсихиатрична дисфункция (биполарно разстройство с влошаващ се ход и начален когнитивен дефицит), липса на други причини, пораждащи подобни нарушения.

Отсъствието на неврологична симптоматика обясняваме с възможността да се касае за ранен етап на болестта, както и с факта, че калцификацията е лекостепенна и със специфична локализация – изолирано засягане на лентиккулярните ядра. За окончателно диагностично уточняване е уместно проследяване в следващите години поради вероятността биполарното разстройство и вкалцяването на базалните ганглии да са проява на коморбидност без взаимовръзка помежду им.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нарушените функции на базалните ганглии водят до различни неврологични и психични заболявания. Болестта на Фар е рядко невродегенеративно заболяване с висока генотипна и фенотипна хетерогенност. Необходими са бъдещи изследвания, за да се определи патофизиологичната роля на идиопатичното вкалцяване на базалните ганглии за възникването на психични нарушения.

Наличието на биполарно разстройство при изолирано засягане на базалните ганглии може да се има предвид в изучаването на органичната основа на афективните заболявания. Считаме, че е уместно идиопатичното вкалцяване на базалните ганглии да е част от диференциалната диагноза на психичните разстройства.

Библиография

1. Миланов К, Миланова В. Мозъчни образувания. В: Биологична психиатрия. Том 1 Шизофрения и антипсихотици, 2003; 33-45.
2. Benke T, Karner E, Seppi K, et al. Subacute dementia and imaging correlates in a case of Fahr's disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2004; 75: 1163-1165.
3. Ghormode D, Maheshwari U, Kate N, Grover S. Fahr's disease and psychiatric syndromes: A case series. Ind Psychiatry J, 2011; 20: 136-138.
4. Hibar DP, Westlye LT, Erp TGM et al. Subcortical volumetric abnormalities in bipolar disorder. Molecular Psychiatry, 2016; doi:10.1038/mp.2015.227, 1-7.
5. Hsu SC, Sears RL, Lemos RR et al. Mutations in SLC20A2 are a major cause of familial idiopathic basal ganglia calcification. Neurogenetics, 2013; 14: 11-22.
6. Konig P. Psychopathological alterations in cases of symmetrical basal ganglia sclerosis. Biol Psychiatry, 1989; 25: 459-468.
7. Mufaddel AA, Al-Hassan GA. Familial idiopathic basal ganglia calcification (Fahr's disease). Neurosciences, 2014; Vol. 19 (3) 171-175.
8. Shakibai SV, Johnson JP, Bourgeois JA. Paranoid delusions and cognitive impairment suggesting Fahr's disease. Psychosomatics, 2005; 46: 569-572.
9. Shoib S, Dar MM, Arif T et al. Fahr's disease presenting as mania: A case report. Iran J Psychiatry Behav. Sci, 2012; 6(2) 102-104.
10. Schultz W, Tremblay L, Hollerman JR. Reward prediction in primate basal ganglia and frontal cortex. Neuropharmacology, 1998; 37: 421-429.
11. Yamada M, Tanaka M, Takagi et al. Evaluation of SLC20A2 mutations that cause idiopathic basal ganglia calcification in Japan. Neurology, 2014; 82: 705-712.
12. Wirshing CW. Neuropsychiatric aspects of movement disorders. In Comprehensive Handbook of Psychiatry, Eds. H.I. Kaplan, B.J. Sadock, Baltimore etc. Williams and Wilkins, Vol. 1, 1995; 220 -231.

Адрес за кореспонденция:

Д-р Вася Вутова
Клиника по психиатрия
УМБАЛ „Александровска“
ул. „Св. Г. Софийски“ 1
1431 София
e-mail: vasyavutova@gmail.com

Address for correspondence:

Vasya Vutova, MD
Clinic of Psychiatry
University Hospital Alexandrovska
1 G. Sofiyski Str.
Bg – 1431 Sofia
e-mail: vasyavutova@gmail.com

РОЛЯТА НА microRNAs (miRNAs) В БЕЛОДРОБНАТА ПАТОЛОГИЯ

Р. Чернева, Д. Костадинов

Специализирана болница за активно лечение на белодробни болести „Св. София” – София

Резюме. microRNAs (miRNAs) са клас малки, некодиращи РНК, които регулират генната експресия на посттранскрипционно ниво, като се свързват с матричните РНК. miRNAs са отговорни за фундаментални процеси в клетъчната биология и нарушенията в регулацията им води до възникването на редица патологични състояния. Обзорът представя значението на тези молекули в ембрионалното развитие на белите дробове и редица белодробни заболявания, като астма, хронична обструктивна белодробна болест, кистична фиброза. Като се има предвид значимата роля на тези молекули за различни физиологични или патологични състояния, те биха могли да подпомогнат диагнозата, прогнозата и лечението им.

Ключови думи: miRNA, патогенеза, белодробни заболявания

THE ROLE OF microRNAs (miRNAs) IN RESPIRATORY PATOLOGY

R. Cherneva, D. Kostadinov

Clinic for Active Treatment of Respiratory Diseases “Sv. Sophia” – Sofia

Abstract. microRNAs (miRNAs) are a group of small uncoding RNAs, that regulate gene expression on post-transcriptional level, attaching to matrix RNA. miRNAs are responsible for fundamental processes in cellular biology and the impairment of their regulation leads to the manifestation of many pathologies. This review shows the significance of these molecules for the embryonic development of the lungs and many respiratory diseases such as asthma, chronic obstructive pulmonary disease, cystic fibrosis. Having in mind the significant role of these molecules for the different physiological and pathological conditions, they could improve the diagnosis, prognosis and treatment of these diseases.

Key words: miRNA, pathogenesis, respiratory diseases

ВЪВЕДЕНИЕ

microRNAs (miRNAs) са важни за ембрионалното развитие на белите дробове и патогенезата на белодробните заболявания. Този обзор дава възможност за оценка на ролята им в белодробната патология, като представя последните открития в тази област. miRNA участват в контрола на клетъчния отговор

при различни състояния на стрес и регулират вродения и придобития имунитет. По този начин, макар и индиректно, участват в патогенезата на възпалителните белодробни заболявания. Обзорът представя участието на miRNAs в развитието на белите дробове, както и в патогенезата на различни белодробни заболявания (табл. 1).

Таблица 1. miRNA профили могат да бъдат използвани като диагностични средства или за индивидуализирана терапевтична стратегия

ХОББ	Експресия
miR-223; miR-1274	Повишена
miR-923; miR-937; miR-125b-1	Намалена
miR-101 and miR-144	Повишена
miR-146a	Повишена
miR-452	Намалена
Астма	
miR-126	Повишена
miR-145a	Повишена
miR-146a; miR-146b; miR-181	Повишена
let-7	Намалена
miR-21	Повишена
miR-221; miR-222	Повишена
miR-106a	Повишена
miR-20b	Намалена
miR-155	Повишена
miR-133a	Намалена
Кистична фиброза	
miR-155	Повишена
miR-101; miR-494	Повишена
miR-126	Намалена
miR-138	Намалена
Идиопатична белодробна фиброза	
miR-29	Намалена
miR-2	Повишена
miR-154	Повишена
let-7d	Намалена
miR-17	Намалена
miR-155; miR-125b	Повишена
Пулмонална артериална хипертония	
miR-17-92	Повишена
miR-206	Намалена
miR-143-145	Намалена
miR-21	Повишена
miR-27a	Намалена
miR-204	Намалена
miR-210	Повишена
miR-424	Намалена
miR-503	Намалена
miR-150	Намалена
Остър респираторен дистрес	
miR-127	Намалена
mi21-; miR-155; miR-146	Повишена
miR-32*; miR-466-5p; miR-466-3p	Повишена

*Списък на miRNAs, експресирани в различна степен при белодробните заболявания. ХОББ: хронична обструктивна белодробна болест

микроРНК, БИОСИНТЕЗ И ФУНКЦИЯ

miRNAs са малки некодиращи РНК, които регулират генната експресия на посттранскрипционно ниво. Първите miRNAs – lin-4 и let-7, са открити съответно през 1993 и 2000 г. в *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), като се счита, че са отговорни за ембрионалното развитие. Първоначално се е предполагало, че този клас РНК са налице само при *C. elegans*, но се оказва, че съществуват и в различни породи животни, включително и бозайници. Експресията на miRNAs е пространствено и хронологично регулирана. Това наред с факта, че тези РНК са еволюционно запазени, предполага, че са с важно значение за регулацията на генната експресия както при растения, така и при животни. Установено е, че системата от miRNA при хората контролира повече от 60% от протеин-кодиращите гени (1). Описани са около 2000 miRNAs, които са с ключово значение за ембрионалното развитие и за протичането на редица патологични и физиологични процеси.

miRNAs И БЕЛОДРОБНОТО РАЗВИТИЕ

miRNAs се оказват значими не само за белодробната патология, но и за протичането на нормалното ембрионално развитие на белите дробове и поддържане на хомеостазата им. Белодробното развитие при бозайниците преминава през 6 етапа – ембрионален, glandуларен, каналикуларен, сакуларен, алвеоларен и съдов. След диференциацията на епителните клетки от ендодермата се образува епителната тръба – glandуларен период. През каналикуларната фаза се образуват бронхиолите. От тях, след изтъняване на интерстициума и притискане на епителните клетки, се формират алвеоларните дуктуси и въздухоносните сакове. Това се осъществява през сакуларната фаза. През последния етап (след раждането) се образуват алвеолите (2). Феталното развитие на белите дробове е сложен процес, който е организиран във времето и пространството с участието на множество гени (3). Ключови сигнални молекули за

протичането му са фибробластен растежен фактор (FGFs), трансформиращ растежен фактор- β (TGF- β), Wnts и hedgehogs (4-7). Доказателство за това, че miRNAs са от значение за протичането му, идва от експериментални модели с мишки. При последните генът за Dicer в белодробните епителни клетки е отстранен, което инхибира формирането на епителната тръба и нейното разклоняване. По време на различните фази от ембрионалното развитие на белите дробове е доказана експресията на около 27 miRNAs (8).

miRNAs В БЕЛОДРОБНАТА ПАТОЛОГИЯ

Хронична обструктивна белодробна болест

Тя се характеризира с ограничаване на въздухото потока поради нарушения във функцията на малките дихателни пътища. ХОББ се асоциира с комплекс от генетични, епигенетични и фактори на околната среда. При сравнителен анализ на експресионните профили на miRNAs при пушачи и непушачи се отбелязва потискане на miRNA експресията (табл. 1) (9). Налице са повече от 70 miRNAs, които са с различна експресия в белите дробове на пушачи и непушачи (10). Сред тях 57 са със свръхекспресия, като с най-голяма експресия са miR-223 и miR-1274a. Сред молекулните сигнални пътища тези на трансформиращ растежен фактор- β (TGF- β), Wnt и адхезионните молекули са регулирани от miRNA в най-голяма степен. Представителите на miR10/107 семейството – miR-15b, 424, 107 са свръхекспресирани. Те потискат експресията на SMAD7 – инхибитор на TGF- β сигналния път (11). Установено е, че при пушачи, както и при мишки, изложени на цигарен дим, miR-101 и miR-144 повлияват гена, регулатор на трансмембранната пропускливост при кистичната фиброза cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) (12, 13). През последните години основна цел е откриването на молекули за ранна диагностика на ХОББ. В серум на пациенти с ХОББ са налице 5 miRNA с нарушена експресия. Че-

тири от тях (miR-20, miR-28-3p, miR-34c-5p и miR-100) са с намалена експресия и една е с повишена (miR-7) в сравнение със здрави контроли (14). На този принцип се основава miRNA профилирането при разграничаването на пациенти с ХОББ от тези, които са с ХОББ и белодробен карцином (15, 16).

Астма

Астмата е резултат от възпалителен отговор на белите дробове спрямо фактори от околната среда, който се развива при генетична предиспозиция. Характеризира с обратима бронхиална обструкция, перибронхиално възпаление и белодробна свръхреактивност. Съществена характеристика на астмата е наличието на епизоди на ексацербация, които се развиват в резултат на повишената бронхиална реактивност. Дължат се на екстремна констрикция на мускулните влакна на дихателните пътища в отговор на инхалаторни стимули. В последните етапи на заболяването се наблюдава ремоделиране на дихателните пътища, което се характеризира с десквамация на епителните клетки, хиперплазия на gobletovите клетки, хипертрофия и хиперплазия на гладкомускулните клетки, повишено отлагане на екстрацелуларен матрикс, задебеляване на базалната мембрана, растеж и пролиферация на нови съдове. Възпалителният отговор е от значение за прогресиране на заболяването, като осигурява повишен синтез на IgE и включва трайно привличане на левкоцити, най-вече еозинофили, тип 2 Т-лимфоцити (Th2) и мастоцити. Ключов за ремоделирането е сигналният път на TGF- β . Таблица 1 отразява miRNAs, които са с нарушена регулация при астма. От особен интерес е участието на miRNAs в регулацията на имунния отговор и възпалението. В този контекст miR-21 регулира гена на IL-12. Потискането на miR-21 при мишки, сенсibiliзирани с яйчен белтък, намалява развитието на възпалението, като облекчава алергичната имунна реакция по посока на Th1 отговор (17). В противовес на това развитието на клетъчен отговор в посо-

ка на Th2 е налице при намалена експресия на let-7 в дихателните пътища (18). Възстановяването му при миши модели с астма намалява нивата на IL-13, основен медиатор на алергичното възпаление (18). miR-145 също е отговорна за алергичното възпаление (19). Мишки, изложени на действието на домашен прах и след това инжектирани с инхибитор на miR-145, показват намалени концентрации на проинфламаторни цитокини – IL-13 и IL-5, както и облекчаване на симптомите на астма. Противовъзпалителното действие на инхибитора на miR-145 е сравнимо с това на кортикостероидите (19). Т-лимфоцитната поляризация се регулира и от miR-126, който е мощен индуктор на Th2 алергичния отговор, както и на TLR4 сигналния път при астма (20). Прилагането на негов инхибитор намалява белодробната хиперреактивност, мукусната свръхсекреция, както и акумулирането на еозинофили (20). Делецията на miR-106a при сенсibiliзирани с яйчен белтък мишки също има подобен благоприятен ефект, като увеличава нивата на противовъзпалителния цитокин IL-10 и намалява Th2 отговора. По този начин се облекчава белодробната хиперреактивност (21). Противовъзпалителното действие на IL-10 се определя от това, че потиска експресията на miR-155. Тази miR повишава нивата на PIP3 и активира NF-KB и MAPK (22). Изучена е ролята miRNA при мастоцитите. miR-221, -222 се експресират при активиране на мастоцитите от IgE-антигенен комплекс (23). При експериментални условия са доказани и повишени нива на miR-58, -66 и -75 miRNAs (24). При анализ на тези резултати се оказва, че посочените РНК контролират клетъчния цикъл, TGF- β , белтъчния синтез и възпалението. Интерес представлява фактът, че пролиферацията е налице през ранните етапи от астмата (25). miR-29b и miR-29c са свързани с отлагането на матрикс и регулирането на MMP и са с потисната активност през късните етапи от астмата. Само miR-146a, чиято експресия се контролира от Toll Like Receptors (TLRs), е единствената miRNA, която се експресира

и през трите стадия от заболяването (24). Усилената експресия на miR-146a намалява продукцията на различни проинфламаторни хемокини и цитокини (26, 27). Ангиогенезата е съществена за астмата. Съдовият ендотелен растежен фактор (VEGF) е повишен в тъкани от астматици. Алвеоларните макрофаги също са важен източник на VEGF. Повишената експресия на miR-20b в макрофаги на астматици потиска секрецията на VEGF (28).

Кистична фиброза

Кистичната фиброза е моногенно белодробно заболяване, което се характеризира с обструкция на дихателните пътища с мукус, неутрофилно възпаление и бактериална инфекция. При него е налице прогресивно унищожаване на белодробната тъкан, влошаване на белодробната функция и развитие на емфизем. Генът, отговорен за развитието ѝ, е CFTR. Последният кодира АТФ-зависим трансмембранен клетъчен канал, разположен по апикалната повърхност на епителните клетки. CFTR регулира абсорбцията и секрецията на NaCl, поддържа хомеостазата на течността, покриваща епитела на дихателните пътища. Най-честата мутация на CFTR води до погрешно сгъване, с последваща деградация на белтъка, което причинява дисбаланс в секрецията на Cl⁻ и абсорбцията на Na⁺, и изчерпване на течния слой от повърхността на дихателните пътища. Поради дехидратацията на епителната повърхност мукоцилиарният клирънс се влошава и така компрометира вродения имунитет. Налице са фактори, предразполагащи към развитието на бактериални инфекции с опортюнистични агенти като *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*. Преобладаващото неутрофилно възпаление се счита за тригер в ремоделирането на дихателните пътища, както и за формирането на бронхиектазии. Тези процеси се характеризират със задебеляване на стената на бронхите и фиброза, като се потенцират от продукцията на реактивни кислородни радикали и матриксни металопроотеинази. Oglesby et al. описват за първи път ролята на miRNAs в патогенезата на кистичната фиброза

(29) (табл. 1). В това изследване miR-126 регулира TOM1 – белтък, който е отговорен за ендозомния транспорт на убиквинирани белтъци (30). TOM1 потиска синтеза на IL-1 β , TNF- α и LPS сигнални пътища (31). miR-138 се свързва с транскрипционния регулатор SIN3A и така регулира CFTR. MiR-138 премахва транскрипционната репресия от действието на SIN3A и позволява експресията на дивия и мутантен вариант на CFTR, като по този начин възстановява Cl-transport през епителните клетки (32). In vitro сравнение на miRNA профили от епителни клетки на пациенти с кистична фиброза и здрави контроли показва, че miR-155 е с повишена експресия в болната тъкан (33) (табл. 1).

Идиопатична белодробна фиброза

Идиопатичната белодробна фиброза (ИБФ) е хронична, прогресираща интерстициална пневмония с неясна етиология, която се характеризира с бързо развитие, в рамките на няколко години. Налице са няколко рискови фактора – вирусна инфекция, експозиция на вредни фактори като запрашеност, инхалация на пари, тютюнопушене, замърсители на въздуха. Счита се, че първоначално ИБФ се инициира от микронаранявания на алвеоларния епител. Продължителното увреждане на епителните клетки води до деструкция на базалната мембрана, активиране на коагулацията и металлопротеинази. В по-късните етапи от заболяването се наблюдава масивно отлагане на екстрацелуларен матрикс от активирани миофибробласти. Последните се получават в резултат на диференциацията на фибробласти, перицити, алвеоларни епителни клетки и мезотелиални клетки. ИБФ се характеризира с абнормно активиране на сигнални пътища, характерни за ембрионалното развитие – WNT/ β -catenin, TGF- β и Sonic hedgehog (34). Първата miRNA, която участва в патогенезата на ИБФ, е let-7d (35). Let-7d е с намалена експресия при проби от пациенти с ИБФ, което е достатъчно, за да индуцира епително-мезенхимната трансформация (EMT) на епителните клетки (табл. 1). Намалената експресия на let-7d се потен-

цира от TGF- β посредством SMAD-зависим механизъм. Инхибирането на активността на let-7d намалява експресията на епителни маркери и едновременно с това увеличава уплътняването на алвеоларните септи (35). Налице са 43 miRNAs, които са със значително повишена експресия в белодробната тъкан от пациенти с ИБФ, като по-голяма част от тях принадлежат на miR-155 семейството с хромозомна локализация 14 (36). Стимулиране на клетъчни линии с TGF- β води до повишена експресия на miR-155. Две допълнителни проучвания при ИБФ свързват TGF- β сигнален път с регулацията на miR-21 и miR-29. Мишки, при които е индуцирана фиброза с блеомицин, показват високи стойности на miR-21 в миофибробластите на белите дробове. Обратно, miR-29 се потиска от TGF- β . Отстраняването на miR-29 потиска експресията на отговорните за екстрацелуларния матрикс гени, както и на няколко гена за фиброза – гена на колагена, ламинините и интегрините (37).

miRNAs КАТО ТЕРАПЕВТИЧНИ ТАРГЕТИ

Прилагането на miRNA в експериментални модели с животни, както и доказателството, че липсата или съответно наличието на абнормна експресия на miRNAs водят до отпадането на нормална или придобиването на патологична за клетките функция, дава основание miRNA да се прилагат за лечението на различни заболявания. При първото клинично проучване е приложена miR-122-подобна молекула (мимикрия) за лечение на хепатит С. Налице са и подходи за потискане на генната експресия или за премахване на свръхекспресията на miRNA в in vitro модели. Създадени са anti-miRNA олигонуклеотиди (anti-miR). Последните се подлагат на различни химични модификации за повишаване на стабилността и бионаличността им. Най-често се добавя фосфоротиоат или 2'-О-метилова група (antagomir oligos). Антагомирите с холестеролова добавка имат по-добра клетъчна проникваемост. Специален интерес представляват затворените нуклеинови кисе-

лини (ЗНК). Те представляват модифицирани рибозни пръстени с много по-голяма нуклеазна устойчивост и с много по-голям афинитет към таргетната комплементарна верига. ЗНК антагомири срещу miR-33 са с много добър ефект при лечението на атеросклерозата при бозайници. Системното прилагане на антагомири е ефикасно и при лечението на сърдечната хипертрофия и фиброза чрез модулиране съответно на нивата на miR-133 и miR-21 (38). Анти-miR-21 антифибротичен ефект е ефикасен и при пациенти с пулмофиброза (17), както и при лечението на диабетната нефропатия (39). За момента най-ефикасен метод за приложение на анти-miRNA или miRNA агонисти е свързването им с аденовируси (AAV). Тази система носи предимства, поради това че аденовирусите имат известен тъканен тропизъм и по този начин осигуряват високи концентрации на miRNA. Освен това внасянето на екзогенни секвенции осигурява продължителна експресия или инхибиране на miRNA. Въвеждането на miR-29 в белите дробове предпазва от развитието на блеомицин-индуцирана фиброза (40). Ефикасността на miR-29 при белодробна фиброза е доказана както в началната фаза, така и в по-напреднал стадий на блеомицин-индуцираната белодробна фиброза. Последната е въведена чрез транспозомна система. Прилагането на miRNA в клиничната практика е свързано с няколко предизвикателства – постигане

на висока бионаличност на miRNA, предотвратяване на нежеланото потискане на генна експресия в здравите клетки. Химически модифицираните miRNA, особено тези, обработени с фосфоротиоат, имат известна токсичност. Лечението на белодробните заболявания е с известни предимства, защото miRNA може да се прилагат инхалаторно. По този начин се намаляват системните ефекти от miRNA и се избягват нежеланите ефекти, свързани с тях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

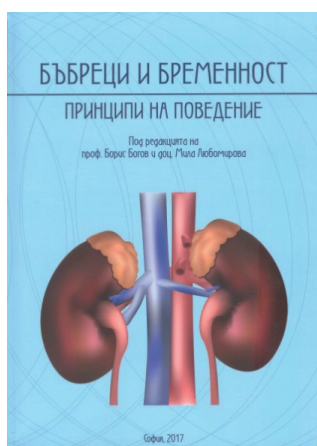
miRNA са ключов механизъм за медиране на клетъчните отговори при различни стресови състояния. Белодробната тъкан е изложена на различни агенти – замърсители, химикали. В действителност има все повече данни за абнормна белтъчна експресия, която се дължи на патологична експресия на miRNA. По-доброто разбиране на връзката между miRNAs и техните таргетни гени би довело до развитието на по-ефективни терапевтични подходи. Възможно е прилагането както на молекули с функционална мимикрия, така и антагонисти на miRNA. Всяко патологично състояние се характеризира с miRNA експресионен профил (табл. 1). По този начин miRNA профили могат да се ползват като диагностични средства или за развитие на персонализирана терапевтична стратегия.

Библиография

1. Friedman RC, Farh KK, Burge CB, et al. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res* 2009;19:92-105.
2. Zoetis T, Hurtt ME. Species comparison of lung development. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 2003;68:121-4.
3. Weng T, Chen Z, Jin N, et al. Gene expression profiling identifies regulatory pathways involved in the late stage of rat fetal lung development. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006;291:1027-37.
4. Ramasamy SK, Mailleux AA, Gupte VV, et al. Fgf10 dosage is critical for the amplification of epithelial cell progenitors and for the formation of multiple mesenchymal lineages during lung development. *Dev Biol* 2007;307:237-47.
5. Wang X, Inoue S, Gu J, et al. Dysregulation of TGF-beta1 receptor activation leads to abnormal lung development and emphysema-like phenotype in core fucose-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:15791-6.
6. Zhang M, Shi J, Huang Y, et al. Expression of canonical WNT/beta-CATENIN signaling components in the developing human lung. *BMC Dev Biol* 2012;12:21.

7. White AC, Xu J, Yin Y, et al. FGF9 and SHH signaling coordinate lung growth and development through regulation of distinct mesenchymal domains. *Development* 2006;133:1507-17.
8. Bhaskaran M, Wang Y, Zhang H, et al. MicroRNA-127 modulates fetal lung development. *Physiol Genomics* 2009;37:268-78.
9. De Flora S, Balansky R, D'Agostini F, et al. Smoke-induced microRNA and related proteome alterations. Modulation by chemopreventive agents. *Int J Cancer* 2012;131:2763-73.
10. Ezzie ME, Crawford M, Cho JH, et al. Gene expression networks in COPD: microRNA and mRNA regulation. *Thorax* 2012;67:122-31.
11. Hayashi H, Abdollah S, Qiu Y, et al. The MAD-related protein Smad7 associates with the TGFbeta receptor and functions as an antagonist of TGFbeta signaling. *Cell* 1997;89:1165-73.
12. Hassan F, Nuovo GJ, Crawford M, et al. MiR-101 and miR-144 regulate the expression of the CFTR chloride channel in the lung. *PLoS One* 2012;7:e50837.
13. Clunes LA, Davies CM, Coakley RD, et al. Cigarette smoke exposure induces CFTR internalization and insolubility, leading to airway surface liquid dehydration. *FASEB J* 2012;26:533-45.
14. Akbas F, Coskunpinar E, Aynaci E, et al. Analysis of serum micro-RNAs as potential biomarker in chronic obstructive pulmonary disease. *Exp Lung Res* 2012;38:286-94.
15. Leidinger P, Keller A, Borries A, et al. Specific peripheral miRNA profiles for distinguishing lung cancer from COPD. *Lung Cancer* 2011;74:41-7.
16. Sanfiorenzo C, Ilie MI, Belaid A, et al. Two Panels of Plasma MicroRNAs as Non-Invasive Biomarkers for Prediction of Recurrence in Resectable NSCLC. *PLoS One* 2013;8:54596.
17. Liu G, Friggeri A, Yang Y, et al. miR-21 mediates fibrogenic activation of pulmonary fibroblasts and lung fibrosis. *J Exp Med* 2010;207:1589-97.
18. Kumar M, Ahmad T, Sharma A, et al. Let-7 microRNA-mediated regulation of IL-13 and allergic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:1077-85.
19. Collison A, Mattes J, Plank M, et al. Inhibition of house dust mite-induced allergic airways disease by antagonism of microRNA-145 is comparable to glucocorticoid treatment. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:160-7.
20. Mattes J, Collison A, Plank M, et al. Antagonism of microRNA-126 suppresses the effector function of TH2 cells and the development of allergic airways disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:18704-9.
21. Sharma A, Kumar M, Ahmad T, et al. Antagonism of mmu-mir-106a attenuates asthma features in allergic murine model. *J Appl Physiol* 2012;113:459-64.
22. McCoy CE, Sheedy FJ, Qualls JE, et al. IL-10 inhibits miR-155 induction by toll-like receptors. *J Biol Chem* 2010;285:20492-8.
23. Mayoral RJ, Deho L, Rusca N, et al. MiR-221 influences effector functions and actin cytoskeleton in mast cells. *PLoS One* 2011;6:e26133.
24. Garbacki N, Di Valentin E, Huynh-Thu VA, et al. MicroRNAs profiling in murine models of acute and chronic asthma: a relationship with mRNA targets. *PLoS One* 2011;6:e16509.
25. Raemaekers T, Ribbeck K, Beaudouin J, et al. NuSAP, a novel microtubule-associated protein involved in mitotic spindle organization. *J Cell Biol* 2003;162:1017-29.
26. Perry MM, Moschos SA, Williams AE, et al. Rapid changes in microRNA-146a expression negatively regulate the IL-1beta-induced inflammatory response in human lung alveolar epithelial cells. *J Immunol* 2008;180:5689-98.
27. Nahid MA, Pauley KM, Satoh M, et al. miR-146a is critical for endotoxin-induced tolerance: IMPLICATION IN INNATE IMMUNITY. *J Biol Chem* 2009;284:34590-9.
28. Song C, Ma H, Yao C, et al. Alveolar macrophage-derived vascular endothelial growth factor contributes to allergic airway inflammation in a mouse asthma model. *Scand J Immunol* 2012;75:599-605.
29. Oglesby IK, Bray IM, Chotirmall SH, et al. miR-126 is downregulated in cystic fibrosis airway epithelial cells and regulates TOM1 expression. *J Immunol* 2010;184:1702-9.
30. Katoh Y, Shiba Y, Mitsunashi H, et al. Tollip and Tom1 form a complex and recruit ubiquitin-conjugated proteins onto early endosomes. *J Biol Chem* 2004;279:24435-43.
31. Yamakami M, Yokosawa H. Tom1 (target of Myb 1) is a novel negative regulator of interleukin-1- and tumor necrosis factor-induced signaling pathways. *Biol Pharm Bull* 2004;27:564-6.
32. Capetandes A, Zhuang M, Haque FN, et al. Vascular endothelial growth factor is increased by human pulmonary cells stimulated with *Dermatophagoides* sp. extract. *Allergy Asthma Proc* 2007;28:324-30.
33. Bhattacharyya S, Balakathiresan NS, Dalgard C, et al. Elevated miR-155 promotes inflammation in cystic fibrosis by driving hyperexpression of interleukin-8. *J Biol Chem* 2011;286:11604-15.
34. Selman M, Pardo A, Kaminski N. Idiopathic pulmonary fibrosis: aberrant recapitulation of developmental programs? *PLoS Med* 2008;5:e62.

35. Pandit KV, Corcoran D, Yousef H, et al. Inhibition and role of let-7d in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182:220-9.
36. Milosevic J, Pandit K, Magister M, et al. Profibrotic Role of miR-154 in Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2012.
37. Cushing L, Kuang PP, Qian J, et al. miR-29 is a major regulator of genes associated with pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011;45:287-94.
38. Carè A, Catalucci D, Felicetti F, et al. MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy. *Nat Med* 2007;13:613-8.
39. Zhong X, Chung AC, Chen HY, et al. miR-21 is a key therapeutic target for renal injury in a mouse model of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2013;56:663-74.
40. Xiao J, Meng XM, Huang XR, et al. miR-29 inhibits bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Mol Ther* 2012;20:1251-60.

Адрес за кореспонденция:*Радостина Влаева Чернева**Многопрофилна болница за активно лечение на белодробни болести "Св. София"**ул. „Хан Пресиян“ № 19**1606 София**тел. 0885129402**e-mail: cherneva_radost@yahoo.com***Address for correspondence:***Radostina Vlaeva Cherneva**Hospital for Active Treatment of Respiratory Diseases, „Sv. Sophia”**19, Han Presian str.**Bg – 1606 Sofia**tel. +359 885129402**e-mail: cherneva_radost@yahoo.com***БЪБРЕЦИ И БРЕМЕННОСТ****Принципи на поведение***Под редакцията на**проф. Борис Богов и доц. Мила Любомирова**Централна медицинска библиотека,
Медицински университет, София, 2017, 272 с.*

Авторският колектив е съставен от водещи специалисти от МУ – София. Книгата обхваща проблема бъбреци и бременност във всичките му аспекти: диагноза, диференциална диагноза, терапевтично поведение, прогноза. Разделите: промени в морфологията и функциите на бъбреците в хода на нормална бременност, образни и имунологични изследвания при бременни с бъбречни заболявания, бременност и остра бъбречна увреда, бременност и хронична бъбречна болест, диабет и бременност, хипертония и бременност, пикочни инфекции при бременни, колагенози и бременност, бременност при хронична диализа и след бъбречна трансплантация, противовъзпалителни и имunosupресивни лекарства по време на бременност и кърмене и др., са разработени на нивото на съвременната световна медицина. Книгата е предназначена за нефролози, акушер-гинеколози, общо-практикуващи лекари и др.

ЕПИГЕНЕТИКА НА СЪРДЕЧНО-СЪДОВИТЕ УСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ДИАБЕТ

Ж. Чернева¹, М. Господинова¹, С. Денчев¹, Р. Чернева²

¹Кардиологична клиника, Медицински институт на МВР – София

²Специализирана болница за активно лечение на белодробни болести „Св. София“ – София

Резюме. Захарният диабет тип 2 е сред водещите заболявания в световен мащаб. Наред с редица други молекулни механизми, хроничната хипергликемия индуцира персистиращо нискостепенно възпаление и причинява ендотелна дисфункция. Налице са достатъчно доказателства, че метилирането на ДНК, посттранслационното модифициране на хистонните белтъци, нетранскрибиращите се къси (miRNA) и некодиращите дълги РНК (LncRNA) са от водещо значение за инициирането, поддържането и прогресирането на микро- и макросъдовите усложнения при диабета. Продължителната експозиция на високи нива на кръвната захар може да причини необратими епигенетични промени. Явлението е известно като „метаболическа памет“. Доколко основаните на епигенетичен подход терапевтични интервенции биха могли да забавят или да ограничат прогресията на сърдечно-съдовите усложнения при диабета, е все още неизяснено. Досега е установено, че некодиращите РНК, са предиктори за появата на сърдечно-съдово засягане и развитие, терапевтичното им приложение обаче е само хипотетично. В настоящия обзор са представени последните открития както в клиничната, така и в експерименталната сфера, които описват епигенетичните промени при сърдечно-съдовите усложнения на диабета.

Ключови думи: епигенетика, захарен диабет, сърдечно-съдово увреждане

EPIGENETICS OF CARDIOVASCULAR COMPLICATIONS OF DIABETES MELLITUS

Zh. Cherneva¹, M. Gospodinova¹, S. Denchev¹, R. Cherneva²

¹Clinic of Cardiology, Medical Institute of the Ministry of Internal Affairs – Sofia

²Clinic for Active Treatment of Respiratory Diseases “Sv. Sofia” – Sofia

Abstract. Type 2 diabetes mellitus has become a major health problem worldwide. Chronic hyperglycemia triggers a low-grade inflammation that leads to endothelial dysfunction. A great amount of data suggests that DNA methylation, post-translational modifications of histones, and long non-coding RNAs play an important role in the initiation, maintenance, and progression of both macro- and microvascular complications of diabetes. Long-term exposure to hyperglycemia induces epigenetic changes that could become irreversible, a phenomenon known as the "metabolic memory". Whether epigenetic-based therapies could be used to slow or limit the progression of cardiovascular disease remains unclear. While non-coding RNAs are currently investigated as potential biomarkers that predict diabetic cardiovascular disease incidence and progression, their therapeutic role is only hypothetical. In this review, we highlight the latest findings in experimental and clinical studies relevant to epigenetics and cardiovascular disease in diabetes.

Key words: epigenetics, diabetes mellitus, cardiovascular complication

ВЪВЕДЕНИЕ

След ИБС захарният диабет е второто по честота заболяване при пациентите със сърдечно-съдова увреда. В САЩ разходите, свързани с неговия терапевтичен контрол и усложнения, достигат около 245 млрд. долара годишно (1). Въпреки че през последните десет години сърдечно-съдовите инциденти при пациентите със захарен диабет са намалели съществено, смъртността, причинена от тях, остава водеща. Патогенезата на сърдечно-съдовите усложнения при диабета е предмет на детайлни изследвания. Счита се, че съдовата увреда, обусловена от хипергликемията, се индуцира от синтеза на свободни кислородни радикали (2). За съдовото засягане са отговорни и няколко други патогенетични механизма, като натрупването и синтеза на крайни гликирани продукти, активирането на протеин-киназа C, стимулирането на полиоловия и хексозоаминов път на метаболизъм. Описаните метаболитни отклонения активират възпалителни сигнални пътища като този на нуклеарен фактор-κB (NF-κB). Последва експресията на провъзпалителни гени, секрецията на цитокини и други молекули на възпалението. Въпреки подробното описание тези механизми се оказват недостатъчни, за да изяснят сложните патофизиологични механизми на сърдечно-съдовите увреждания при диабета. Рискът за развитието им не се асоциира напълно с определени генетични полиморфизми въпреки натрупването на голяма база данни, получени при изследвания на генома на диабетици (свързани с генома, генни асоциации – genome-wide association studies – GWAS) (3). Епигенетичните механизми – ДНК метилиране, посттранслационна модификация на хистоните, не кодиращи РНК, са водещи по отношение на контрола на транскрипцията на гените (4). Следователно епигеномът представлява всички химични модификации на ДНК, които оказват влияние на генната активност. С цел изясняване ролята на епигенома по отношение на някои социално значими заболявания е създадена инициативата – Human Epigenome Project (HEP)

и International Human Epigenome Consortium (IHEC) за изследване на човешкия геном (5). Налице са епигенетични промени, които обясняват дисфункцията на бета-клетките на панкреаса при пациенти със захарен диабет. Епигенетичните механизми са и в основата на възпалението, оксидативния стрес и ендотелната дисфункция – основните механизми на сърдечно-съдовото ангажиране при диабета. Съвременните терапевтични насоки при захарния диабет са свързани с оптимизиране на гликемичния контрол и намаляване на сърдечно-съдовия риск.

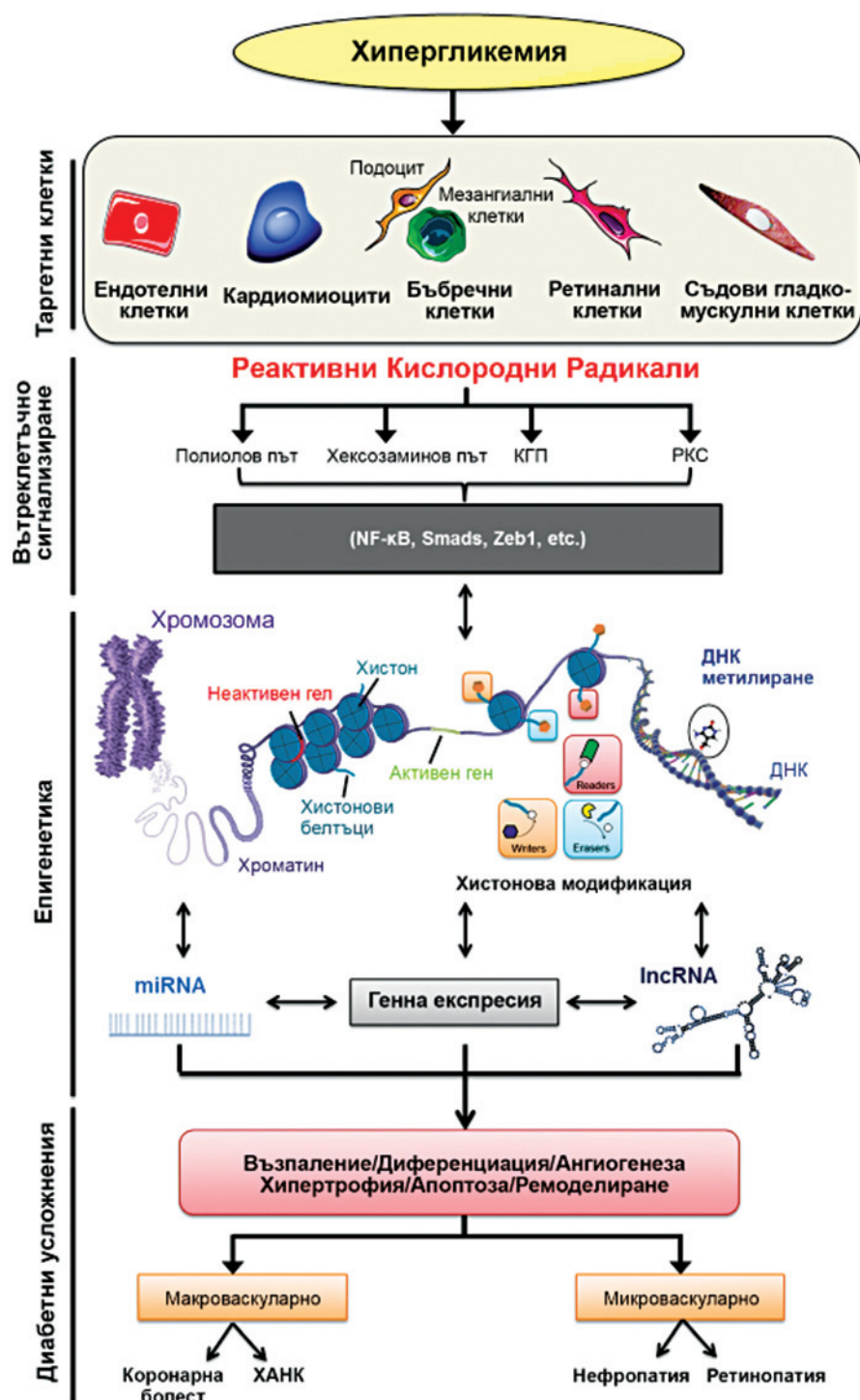
Резултатите обаче не са обнадеждаващи, тъй като голяма част от съдовите усложнения при диабета са необратими. Това дава основание да се пренасочи вниманието към епигенетичните механизми на сърдечно-съдовите увреждания, защото те могат да се модифицират и следователно са подходящи за терапевтично повлияване. Обзорът описва значението на епигенетиката на диабетните сърдечно-съдови усложнения.

МЕХАНИЗМИ НА ЕПИГЕНЕТИКА

Епигенетиката изучава наследствените промени на генната експресия, които не се дължат на промяна в състава на ДНК секвенциите. Хромозомната ДНК съществува под формата на политетрамерна структура. Тетрамерите – нуклеозомите, представляват комплекс от 4 хистонни белтъка, около които е увита ДНК. Въпреки че хистонните белтъци дълго време са се приемали като пасивни структурни единици на нуклеозомата (6), вече е доказано, че те допринасят за генната експресия, като в зависимост от организацията на хроматина могат да представят неговата активна (еухроматин) или неактивна форма (хетерохроматин). По този механизъм хистоните модулират транскрипционното състояние на гените (7). Епигенетичните механизми на модулация на генната експресия дават възможност за възникването на неунаследими промени на генетичния код в отговор на адаптация към внезапно настъпила промяна на околната среда. От друга страна,

при по-продължителната експозиция на ноксата настъпват трайни промени на генетичния код, които се предават и в следващото поколение от клетки. Основни епигенетични

механизми са метилирането на цитозина на ДНК, посттранслационните модификации на хистонните белтъци, както и експресията на некодиращи РНК (9) (фиг. 1).



Фиг. 1. Сигнални и епигенетични пътища, медиращи сърдечно-съдовите усложнения при диабет

ДНК метилиране

ДНК метилирането е реакция, при която метиловата група се добавя към ДНК с помощта на ензим ДНК-метилтрансфераза. Обикновено местата за свързване са нуклеотидите – цитозин или аденин. Това е един от най-стабилните епигенетични маркери (10). На ДНК метилиране се подложени специфични динуклеотидни последователности, наречени CpG острови (цитозин и гуанин, разделени от фосфатен остатък – cytosine paired to guanine). В рамките на целия геном при нормалните клетки повечето от CpG районите са метилирани. За разлика от тях участъците, в които са налице дълги последователности от CpG динуклеотиди, са неметилирани. Диференциацията, дегенерацията, импринтингът могат да индуцират метилиране на различни промотори и така да потиснат генната транскрипция (11). Потискането на експресията на тумор-супресорните гени при различни видове рак се дължи на хиперметиране на промоторите им. Метилиране може да се наблюдава и в участъци от хромозомите, различни от CpG районите. Абнормното метилиране или хипометилиране на ДНК промоторите на специфични гени е сред механизмите за развитието на човешките заболявания – възпаление, рак, сърдечно-съдови заболявания, автоимунни болести (12).

Посттранслационна модификация на хистоните

Хистоните са белтъците, около които се уви-ва ДНК, за да формира тетрамерна структура, наречена нуклеозома. Пет са видовете хистони – H1, H2A, H2B, H3 и H4. N-краят на хистоните често е подложен на химични модификации като ацетилиране, метилиране, фосфорилиране и др. Явлението е известно като посттранслационна хистонна модификация. В резултат се променя структурата на хроматина, както и свързването на транскрипционни фактори към него (13). Освен по този механизъм посттранслационната хистонна модификация регулира транскрипция-

та, като създава домени за свързване на ко-активатори, корепресори и други, свързани с хроматиновата структура белтъци. Следователно промяната в химичния състав на хистоновите молекули модулира еухроматина (активна форма, достъпен за транскрипция) в неактивна форма хетерохроматин (недостъпен, неактивна форма). Посттранслационна хистонна модификация контролира транскрипцията, като може да индуцира или да потисне експресията на гена (14).

Некодиращи РНК

Некодиращите РНК (noncoding RNA – ncRNA) са функционални РНК, които не се транслират под формата на белтъци или полипептиди. Известни са microRNA – (miRNAs) и дълги некодиращи long non-coding RNA (lncRNA). Малките са с дължина около 20-22 нуклеотида, докато дългите достигат около 200 (15). Те регулират генната експресия, като се свързват с 3' нетранскрибируемия край на матричните РНК (мРНК). По този начин те могат да инхибират транслацията на белтъците, да доведат до деградация на матричната РНК или секвестрирането ѝ в далечен участък. miRNA са важни регулатори на транскрипцията на около 60% от гените. Функцията и значението на lncRNAs обаче са ненапълно изяснени. Счита се, че те могат да регулират хроматинната структура и да организират протеинни комплекси около хромозомите, както и да активират разположени на разстояние промотори (16).

ЕПИГЕНЕТИКА НА СЪРДЕЧНО-СЪДОВИТЕ ЗАБОЛЯВАНИЯ ПРИ ДИАБЕТ

Хипергликемия, възпаление, епигенетична регулация на сърдечно-съдовите клетки

Хроничната хипергликемия, възпалението, оксидативният стрес оказват влияние върху метилирането на ДНК, посттранслационната модификация на хистоните, както и на некодиращите РНК. Експериментални проучвания доказват, че епигенетичните проме-

ни, които настъпват в резултат на хипергликемията или възпалението са налице както в различните видове сърдечно-съдови клетки, така и в периферни мононуклеарни клетки (17). При хипергликемия хистон-метилтрансферазата (Set-7) монометилюва лизин 4 на хистон 3 на промотора на гена, който кодира p65-субединицата на транскрипционен фактор NF-κB в ендотелните клетки. В резултат се стимулират експресията на NF-κB p65 и синтезът на възпалителни цитокини. Paneni et al. описват подобни резултати, но при моноцити, изолирани от диабетици (18). Медирането от хипергликемията метилиране се асоциира с повишени нива на междуклетъчна адхезионна молекула-1 (ICAM-1), моноцитен-хемоатрактантен белтък-1 (MCP1), както и с оксидативния маркер 8-изопростогландин – F2α. Miao et al. (19) установяват, че периферните мононуклеари реагират различно на хипергликемията, тъй като лимфоцитите и моноцитите имат различни профили на метилиране на хистоните. В сравнение със здрави контроли моноцитите на диабетици със 3Д тип 2 показват хиперацетилиране на промотори на транскрипционни фактори, като тези епигенетични промени корелират с експресията на TNF-α и активността на COX-2. Miao et al. (19) са изследвали пациенти, участвали в Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) проучването. Те сравнили лица, подложени на конвенционално диетолечение (случаи), които са развили микросъдово увреждане, с пациенти, участвали в групата с интензивно инсулинолечение, при които няма данни за микросъдова увреда (контроли). Авторите описват хиперацетилиране на промоторните региони в моноцитите, но не и в лимфоцитите на случаите в сравнение с контролите. Описаните резултати утвърждават наличието на метаболитна памет, както и концепцията за ранен гликемичен контрол – основен фактор, определящ развитието на настъпилите по-късно усложнения, асоциирани с диабета. Експериментални модели с клетъчни линии, поставени в условия на хипергликемия, също потвърждават съществу-

ването на метаболитна памет – дори при контролиране на нивата на кръвната захар клетъчните линии продължават да експресират проинфламаторни и отговорни за фиброзата гени (20).

Ендотелни клетки

Ендотелните клетки са разпръснати из цялата сърдечно-съдова система и следователно са пряко изложени на хипергликемията. Ендотелната дисфункция се развива бързо, в самото начало дори без клинична изява. Епигенетичните промени, асоциирани с хипергликемията, засягат първоначално именно ендотелните клетки. В клетъчни култури на клетки от аорта Villeneuve et al. (21) описват, че преходна хипергликемия индуцира промени в промотора на p65 субединицата на NF-κB, като по този начин опосредства възникването на трайни епигенетични последствия. Подобни са данните на Brasacchio et al. (22). В ендотелни клетки от аорта те установяват, че хипергликемията увеличава ацетилирането на H3K4, а редуцира това на H3K9. Paneni et al. (23) описват, че в човешки ендотелни клетки, подложени на хипергликемия, е налице епигенетично обусловено стимулиране на активността на митохондриалния адаптор – p66Shc. Авторите доказват деметилиране на CpG района на промотора на гена му, както и H3 ацетилиране. Свързана експресията на p66Shc е налице дори и след постигане на нормогликемия и може да се инхибира след терапевтична намеса. В ендотелни клетки от ретина на мишки с диабетна ретинопатия е установено ацетилиране на гените, отговорни за различни възпалителни маркери (24). Наред с механизмите на метилиране на ДНК и посттранслационна хистонна модификация се оказва, че и miRNA имат значима роля за развитието на ендотелната дисфункция. Доколко lncRNAs допринасят за това състояние, е все още недобре изяснено. Наскоро Yan et al. доказват, че lncRNA-MIAT (myocardial infarction-associated transcript) е значително експресиран в ендотелни клетки от ретина, изложени на хипергликемия. Инхибирането ѝ

намалява значително неоваскуларизацията (25). Проучвания от експериментални модели с мишки показват, че хипергликемията стимулира експресията на възпалителни гени, като индуцира развитието на проатерогенен отговор в съдовите гладкомускулни клетки. Подобни са и данните на Villeneuve et al. (26). В човешките съдови клетки хипергликемията предизвиква ацетилирането на хистоните H3 на K9 и K14. В тези райони се наблюдава деметилиране. Същата група установява високи нива на miR-125b. Последната редуцира метилирането на H3K9me3 в промоторите на възпалителните гени, в резултат на което се увеличава синтезът на цитокини.

Кардиомиоцити

Monkemann et al. (27) доказват, че оксидативният стрес уврежда кардиомиоцита, като опосредства медираната от p53 апоптоза при пациенти с диабетна кардиомиопатия. Метилирането на p21(WAF1/CIP1) гена, който кодира няколко протеин-кинази, е ранна изява от развитието на диабетната кардиомиопатия при плъхове с диабет. Gaikwad et al. (28) установяват деацетилиране и дефосфорилиране на H3 в сърцето и бъбреците на болни от диабет плъхове, обуславящи промяна в екстрацелуларния матрикс и последваща хипертрофия. Няколко вида miRNAs са отговорни за хипертрофията, апоптозата и фиброзата на кардиомиоцити на пациенти с диабет.

Бъбречни клетки

Налице са различни експериментални модели на диабетна нефропатия. В клетъчна култура от мезангиални клетки, стимулирани с TGF- β , подложени на хипергликемия, е налице H3 метилиране на K4 и хипометилиране на K9 в областта на промоторите на няколко гена, стимулиращи фиброзата. Gaikwad et al. (28) доказват, че развитието на бъбречна недостатъчност индуцира ацетилиране на H3, деметилиране и фосфорилиране на кардиомиоцитите на мишки със ЗД тип 2, като по този начин потенцира развитието на сърдечна хипертрофия. Доказана е ролята на

няколко miRNAs по отношение на началната увреда на подоцитите и мезангиалните клетки при развитието на диабетната нефропатия. Повечето от изследванията с miRNAs са проведени в различни клетки и на различни етапи от развитието на диабетната нефропатия, като нито едно проучване не е валидирало резултатите си при експериментални модели.

РОЛЯТА НА ЕПИГЕНЕТИЧНИТЕ МЕХАНИЗМИ В КЛИНИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ НА СЪРДЕЧНО-СЪДОВИТЕ УСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ЗАХАРЕН ДИАБЕТ

При проследяване на пациентите от DCCT проучването е установено, че пациенти с диабет тип 1, които са били с интензифициран режим на лечение, са развили по-малко микросъдови увреждания в сравнение с тези с конвенционален режим. Тези различия са налице, въпреки че към края на 4-тата година се отчита уеднаквяване на стойностите на HbA1C за двете групи (29). Това епидемиологично проучване е първото, което показва, че ранният и агресивен гликемичен контрол е съществен за превенцията на сърдечно-съдовите увреждания в дългосрочен план. Ползите от него се запазват дори след изтичане на периода на първоначален стриктен гликемичен контрол – ефект, известен като ефект на завещанието (legacy effect). Още преди две десетилетия United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) доказва, че пациентите с диабет тип 2 и интензифицирано инсулинолечение имат по-малка микросъдова увреда и не демонстрират съществено различие по отношение на макросъдовото ангажиране в сравнение с пациентите с конвенционална антидиабетна терапия (30). В дългосрочен план, десет години по-късно, същата кохорта показва, че пациентите с интензифицирано инсулинолечение имат по-малко микро- и макросъдово увреждане, въпреки че не се различават значимо по отношение на гликемичния си контрол спрямо пациентите с конвенционално лечение. Подобни са

и резултатите, установени от Veterans Affairs Diabetes Trial (VADT). При него първоначално не се установява разлика по отношение на сърдечно-съдовото ангажиране, независимо от режима на терапия. Десет години по-късно обаче честотата на сърдечно-съдовите увреждания е намалена (31).

За разлика от тях обаче проучванията Action in Diabetes and Vascular Disease: Preterax and Diamicron MR Controlled Evaluation (ADVANCE) (32) и Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) (33) не показват съществена полза от интензифицираните режими на инсулинолечение при пациенти с вече доказана съдова болест или такива с висок сърдечно-съдов риск. Не се описва предимство по отношение на превенцията или ограничаването на степента на съдово ангажиране. Предполага се, че причината за подобни резултати е сравнително краткият период на проследяване на пациентите. Епигенетичните механизми, отговорни за метаболитната памет както в ендотелните, така и в съдовите гладкомускулни клетки, съвпадат с други епидемиологични и клинични проучвания. Хипергликемията индуцира епигенетични промени, които се запазват дори след постигане на нормогликемия – явление, което обяснява липсата на обратно развитие на съдовата увреда при диабета при пациенти с продължителен лош гликемичен контрол. Въпреки че са малко на брой, клиничните проучвания, свързани с епигенетиката на сърдечно-съдовите заболявания при захарен диабет, потвърждават някои от по-ранните резултати, описани в експериментални модели.

ДНК метилирането и посттранслационните модификации на хистоните са проучени в периферни кръвни клетки на пациенти със ЗД. Последните са сурогатни поради липсата на достъп до сърдечно-съдовите клетки. Дори в отделните субпопулации обаче има различия в епигенома на моноцитите и лимфоцитите, поставени при хипер- или нормогликемични условия. Няколко изследвания описват генома на съдовите гладкомускулни клетки и на адипоцитите при здрави контро-

ли с обезитет и пациенти със ЗД тип 2 (34). Основните насоки за момента са концентрирани към търсенето на miRNAs в плазма или урина. Предполага се, че miRNAs биха могли да бъдат биомаркери за диагнозата и прогнозата на съдовото ангажиране при болни от диабет пациенти (35).

Епигенетика на макроваскуларните увреждания при диабета

Промените в ДНК метилирането и посттранслационната модификация на хистоните са добре известни в патогенезата на ИБС, сърдечната недостатъчност, дилатативната и хипертрофичната кардиомиопатия, аритмиите, както и друга съдова патология. В големи кохортни проучвания е доказано, че miRNAs са потенциални прогностични маркери за развитие на ИБС, включително и при диабетци. Полиморфизмът на miR-4513rs2168518 се асоциира с по-голяма честота на сърдечно-съдови рискови фактори като повишена глюкоза на гладно, повишена честота на ЗД тип 2, както и по-лоша преживяемост при пациенти с ИБС (36). Motawae et al. доказват, че miR-9 и miR-370 са много по-високи при пациенти с ИБС и ЗД тип 2 в сравнение с пациенти, които имат само ЗД тип 2 или само ИБС. Zampetaki et al. установяват, че в рамките на десетгодишно проследяване на 832 пациенти miR-126 е силен прогностичен фактор за развитие на миокарден инфаркт (37). При пациенти с ИБС и ЗД тип 2 са по-ниски нивата на експресия на miR-126 в циркулиращи ендотелни клетки. Няма данни относно честотата на ДНК метилирането или посттранслационната модификация на хистони при пациенти с периферна съдова болест. Водещо значение се отдава на miRNAs. Те биха могли да подпомогнат диагнозата на заболяването. В експериментални модели е описано значението на miR-503 за развитието на периферната съдова болест при мишки със захарен диабет (38). При пациенти със ЗД тип 2 и периферна съдова болест са изолирани 12 вида miRNA, които биха подпомогнали ранната диагноза на заболяването.

Въпреки че резултатите от това изследване са реплицирани в две по-малки кохорти от пациенти, дизайнът на проучването не е включвал оценка на прогностичната роля на miRNAs за развитие на периферна съдова болест.

Епигенетика на микроваскуларните увреждания при диабета

Клиничните проучвания, както и тези, проведени с тъканни и клетъчни култури, утвърждават значението на епигенетичните механизми за развитието на микросъдовите усложнения при 3Д тип 2, описани в експериментални модели при животни. Sapienza et al. (39) сравняват пациенти с бъбречна недостатъчност и 3Д тип 2, както и такива без диабетна нефропатия. Те изследват слюнка и доказват, че при двете групи са налице 187 гена, които се различават по степента на метилиране на ДНК. При пациенти с бъбречна недостатъчност Stenvinkel et al. (40) описват връзката между степента на хиперметиране и нивата на C-reactive protein (CRP), както и тези на интерлевкин-6 (IL-6), независимо от това дали са диабетици, или не. Геномното профилиране, проведено при пациенти с терминална бъбречна недостатъчност, в това число и диабетици, показва метилиране на енкхансерите на гени, отговорни за фиброзата при гломерулосклероза. При малка кохорта от пациенти със 3Д тип 1, Bellet al. (41) сравняват пациенти с нефропатия и такива без бъбречно засягане. Авторите установяват различно метилиране на 19 CpG района, като давността на диабета корелира със степента на метилиране на CpG районите. При сравняване на поколенията, родени от майки със 3Д тип 1, и такива, които са имали бащи със 3Д тип 1, е доказано, че пациентите с майки диабетички са с по-малък бъбречен резерв, което предполага по-голям риск от артериална хипертония, бъбречно и съдово заболяване. Освен това при тях е налице по-малка степен на метилиране в сравнение с поколението от бащи със 3Д тип 1. ДНК метилтрансферазата – ензим, който катализира метилирането на ДНК и регулирането на ген-

ната експресия през ембрионалния период, е хипометилиран в поколението на майките със 3Д тип 1. Малко са изследователите, които анализират значението на плазмената и уринната концентрация на miRNAs по отношение на диабетната нефропатия. Neal et al. (42) доказват много ниски нива на обща miRNAs при пациенти с терминална бъбречна недостатъчност в сравнение с такива с леко по степен бъбречно заболяване. В допълнение miR-210 и miR-16 корелират с прогресирането на нефропатията. Подобно е и значението на miR-200, miR-29a и miR-192. Argyropoulos et al. (43) доказват 27 miRNAs в урина, като експресията им корелира с тежестта на бъбречно засягане, оценена чрез креатининовия клирънс и албуминовата екскреция. miRNA профилирането, проведено при пациенти със 3Д тип 1, показва, че miR-145 и miR-130a са повишени, докато miR-424 и miR-155 са намалени при пациенти с микроалбуминурия в сравнение със здрави контроли. При проучване контрола/пациент сред диабетици с различна по степен диабетна ретинопатия, Maghbooli et al. (44) разкриват тенденция за по-висока степен на метилиране при пациентите спрямо здравите контроли, като степента на метилиране корелира с тежестта на съдово увреждане, което не може да се обоснове от наличието или липсата на хипертония или давността на диабета. Над 300 са miRNAs, описани в експериментални модели на клетки от ретина на диабетици. Само малка част от тях обаче са валидирани в клинични проучвания. При пациенти, със 3Д тип 2 miR-21 предпазва ендотелните клетки от глюкотоксичните ефекти на хипергликемията (45). Qing et al. (46) доказват, че при пациенти с непролиферативна ретинопатия комбинацията от три miRNAs: miR-21, miR-181c и miR-1179, може да предвиди развитието на пролиферация на съдовете с точност до 82%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Значението на епигенетиката за сърдечно-съдовите усложнения при пациенти със

захарен диабет е все още ненапълно изяснено. Необходими са по-големи проучвания за уточняване на диагностичното и прогностичното значение на екстрацелуларните miRNAs. Проучвания като UKPDS и VADT показват, че епигенетичните механизми, свър-

зани със сърдечно-съдовите усложнения на диабета, са обратими, дори и след време. Това е терапевтична перспектива за диабетици с вече установени сърдечно-съдови усложнения, като се използват тъканноспецифични епигенетични модулатори.

Библиография

1. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380(9859):2095-128.
2. Munzel T, Gori T, Bruno RM, et al. Is oxidative stress a therapeutic target in cardiovascular disease? *Eur Heart J*. 2010;31(22):2741-8.
3. Prudente S, Dallapiccola B, Pellegrini F, et al. Genetic prediction of common diseases. Still no help for the clinical diabetologist! *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2012;22(11):929-36.
4. Egger G, Liang G, Aparicio A, et al. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*. 2004;429(6990):457-63.
5. Maunakea AK, Chepelev I, Zhao K. Epigenome mapping in normal and disease states. *Circ Res*. 2010;107(3):327-39.
6. Li B, Carey M, Workman JL. The role of chromatin during transcription. *Cell*. 2007;128(4):707-19.
7. Workman JL, Kingston RE. Alteration of nucleosome structure as a mechanism of transcriptional regulation. *Annu Rev Biochem*. 1998;67:545-79.
8. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell*. 2007;128(4):693-705.
9. Nightingale KP, O'Neill LP, Turner BM. Histone modifications: signalling receptors and potential elements of a heritable epigenetic code. *Curr Opin Genet Dev*. 2006;16(2):125-36.
10. Miranda TB, Jones PA. DNA methylation: the nuts and bolts of repression. *J Cell Physiol*. 2007;213(2):384-90.
11. Jones PA. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat Rev Genet*. 2012;13(7):484-92.
12. Fouse SD, Nagarajan RO, Costello JF. Genome-scale DNA methylation analysis. *Epigenomics*. 2010;2(1):105-17.
13. Guo JU, Su Y, Shin JH, et al. Distribution, recognition and regulation of non-CpG methylation in the adult mammalian brain. *Nat Neurosci*. 2014;17(2):215-22.
14. Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol*. 2010;28(10):1057-68.
15. Karlic R, Chung HR, Lasserre J, et al. Histone modification levels are predictive for gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(7):2926-31.
16. Orom UA, Shiekhattar R. Long noncoding RNAs usher in a new era in the biology of enhancers. *Cell*. 2013;154(6):1190-3.
17. Miao F, Wu X, Zhang L, et al. Histone methylation patterns are cell-type specific in human monocytes and lymphocytes and well maintained at core genes. *J Immunol*. 2008;180(4):2264-9.
18. Paneni F, Costantino S, Battista R, et al. Adverse epigenetic signatures by histone methyltransferase Set-7 contribute to vascular dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circ Cardiovasc Genet*. 2015;8(1):150-8.
19. Miao F, Chen Z, Genuth S, et al. Evaluating the role of epigenetic histone modifications in the metabolic memory of type 1 diabetes. *Diabetes*. 2014;63(5):1748-62.
20. Miao F, Gonzalo IG, Lanting L, et al. In vivo chromatin remodeling events leading to inflammatory gene transcription under diabetic conditions. *J Biol Chem*. 2004;279(17):1809 1-7.
21. Villeneuve LM, Reddy MA, Lanting LL, et al. Epigenetic histone H3 lysine 9 methylation in metabolic memory and inflammatory phenotype of vascular smooth muscle cells in diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(26):9047-52.
22. Brasacchio D, Okabe J, Tikellis C, et al. Hyperglycemia induces a dynamic cooperativity of histone methylase and demethylase enzymes associated with gene activating epigenetic marks that coexist on the lysine tail. *Diabetes*. 2009;58(5):1229-36.
23. Paneni F, Mocharlam P, Akhmedov A, et al. Gene silencing of the mitochondrial adaptor p66(Shc) suppresses vascular hyperglycemic memory in diabetes. *Circ Res*. 2012;111(3):278-89.
24. Kadiyala CS, Zheng L, Du Y, et al. Acetylation of retinal histones in diabetes increases inflammatory proteins: effects of minocycline and manipulation of histone acetyl transferase (HAT) and histone deacetylase (HDAC). *J Biol Chem*. 2012;287(31):25869-80.
25. Yan B, Yao J, Liu JY, et al. lncRNAMIAT regulates microvascular dysfunction by functioning as a competing endogenous RNA. *Circ Res*. 2015;116(7):1143-56.
26. Villeneuve LM, Kato M, Reddy MA, et al. Enhanced levels of microRNA-125b in vascular smooth muscle cells of diabetic db/db mice lead to increased inflammatory gene expression by targeting the histone methyltransferase Suv39h1. *Diabetes*. 2010;59(11):2904-15.
27. Monkemann H, De Vriese AS, Blom HJ, et al. Early molecular events in the development of the diabetic cardiomyopathy. *Amino Acids*. 2002;23(1-3):331-6.
28. Gaikwad AB, Gupta J, Tikoo K. Epigenetic changes and alteration of Fbn1 and Col3A1 gene expression under hyperglycaemic and hyperinsulinaemic conditions. *Biochem J*. 2010;432(2):333-41.

29. Retinopathy and nephropathy in patients with type 1 diabetes four years after a trial of intensive therapy. The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. *N Engl J Med.* 2000;342(6):381-9.
30. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet.* 1998;352(9131):837-53.
31. Duckworth W, Abraira C, Moritz T, et al. Glucose control and vascular complications in veterans with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2009;360(2):129-39.
32. Group AC, Patel A, MacMahon S, et al. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2008;358(24):2560-72.
33. Gerstein H, Miller M, Byington R, et al. Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes Study. Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2008;358(24):2545-59.
34. Drogan D, Boeing H, Janke J, et al. Regional distribution of body fat in relation to DNA methylation within the LPL, ADIPOQ and PPAR gamma promoters in subcutaneous adipose tissue. *Nutr Diabetes.* 2015;5:e168.
35. Guay C, Regazzi R. Circulating microRNAs as novel biomarkers for diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol.* 2013;9(9):513-21. A comprehensive review paper relating to circulating microRNAs in patients with diabetes.
36. Li Q, Chen L, Chen D, et al. Influence of microRNA related polymorphisms on clinical outcomes in coronary artery disease. *Am J Transl Res.* 2015;7(2):393-400.
37. Zampetaki A, Willeit P, Tilling L, et al. Prospective study on circulating microRNAs and risk of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(4):290-9. This study is the most comprehensive on the prognostic role of miRNAs in coronary artery disease.
38. Caporali A, Meloni M, Vollenkle C, et al. Deregulation of microRNA-503 contributes to diabetes mellitus-induced impairment of endothelial function and reparative angiogenesis after limb ischemia. *Circulation.* 2011;123(3):282-91.
39. Sapienza C, Lee J, Powell J, et al. DNA methylation profiling identifies epigenetic differences between diabetes patients with ESRD and diabetes patients without nephropathy. *Epigenetics.* 2014;6(1):20-8.
40. Stenvinkel P, Karimi M, Johansson S, et al. Impact of inflammation on epigenetic DNA methylation – a novel risk factor for cardiovascular disease? *J Intern Med.* 2007;261(5):488-99.
41. Bell CG, Teschendorff AE, Rakyan VK, et al. Genome-wide DNA methylation analysis for diabetic nephropathy in type 1 diabetes mellitus. *BMC Med Genomics.* 2010;3(5):33-38.
42. Neal CS, Michael MZ, Pimlott LK, et al. Circulating microRNA expression is reduced in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26(11):3794-802.
43. Argyropoulos C, Wang K, McClarty S, et al. Urinary microRNA profiling in the nephropathy of type 1 diabetes. *PLoS ONE.* 2013;8(1):e54662.
44. Maghbooli Z, Hosseini-nezhad A, Larijani B, et al. Global DNA methylation as a possible biomarker for diabetic retinopathy. *Diabetes Metab Res Rev.* 2015;31(2):183-9.
45. Zeng J, Xiong Y, Li G, et al. MiR-21 is overexpressed in response to high glucose and protects endothelial cells from apoptosis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2013;121(7):425-30.
46. Qing S, Yuan S, Yun C, et al. Serum miRNA biomarkers serve as a fingerprint for proliferative diabetic retinopathy. *Cell Physiol Biochem.* 2014;34(5):1733-40.

Адрес за кореспонденция:

Жейна Влаева Чернева
Кардиологична клиника
Медицински институт на МВР
бул. „Ген. Скобелев“ № 79
1606 София
тел. 0889569777
e-mail: jenicherneva@yahoo.com

Address for correspondence:

Zheyne Vlaeva Cherneva, MD, PhD
Clinic of Cardiology
Medical Institute of the Ministry of Internal Affairs
79 "General Skobelev" blvd
Bg – 1606 Sofia
tel. +359889569777
e-mail: jenicherneva@yahoo.com

COLISTIN – ФАРМАКОКИНЕТИКА, ФАРМАКОДИНАМИКА, КЛИНИЧНО ПРИЛОЖЕНИЕ

Ю. Мартева-Проевска, Ц. Велинов

Централна лаборатория по микробиология, УМБАЛ „Александровска“ – София

Резюме. Лечението на инфекции, причинени от MDR грам(-) бактерии, е изключително трудно. Поради липсата на нови антибиотици една от малкото терапевтични възможности понастоящем е colistin – стар антибиотик, чиято употреба в продължение на десетилетия е силно ограничена поради токсичността му. В обзора се прави преглед на наличните към момента данни за фармакокинетиката, фармакодинамика и препоръките за клиничното приложение на colistin с цел правилната му и разумна употреба.

Ключови думи: colistin, фармакокинетика, фармакодинамика, клинично приложение

COLISTIN – PHARMACOKINETICS, PHARMACODYNAMICS, CLINICAL USE

Y. Marteva-Proevska, Tz. Velinov

Central Laboratory of Clinical Microbiology, UMHAT „Aleksandrovska“ – Sofia

Abstract. The treatment of infections caused by MDR Gram(-) bacteria is extremely difficult. Because of the lack of new antibiotics, one of the few therapeutic options now is colistin – an old antibiotic whose use was restricted for decades due to its toxicity. This review provides an overview of currently available knowledge about pharmacokinetics, pharmacodynamics and recommendations for clinical use of colistin in order to support its proper and prudent use.

Key words: colistin, pharmacokinetics, pharmacodynamics, clinical use

Появата и широкото разпространение на бактерии, резистентни на множество антибиотици, представлява изключително сериозна заплаха за здравеопазването в световен мащаб (12). Счита се, че инфекциите, причинени от мултирезистентни (MDR) грам(-) бактерии, са причина за повече от 700 000 смъртни случая годишно, като през 2050 г. се очаква техният брой да достигне 10 000 000 (45). Понастоящем, една от малкото възможности за лечение на инфекции, причинени от MDR грам(-) бактерии, е colistin.

Colistin принадлежи към групата на полимиксините – нерибозомни, циклични липопептидни антибиотици, открити през 1947 г. (13). Те имат сходна химична структура с катионните антимикробни пептиди (дефензини и грами-

цидини), които са първа линия на защита на еукариотните клетки срещу бактериална колонизация (43). Разрешен е за клинична употреба през 1959 г. Първоначално се използва за лечение на инфекции, причинени от грам(-) бактерии. През 70-те и 80-те години на миналия век, поради проявените токсични свойства и наличието на по-безвредни алтернативи, употребата на colistin постепенно намалява и парентералното му приложение е почти преустановено (13). В следващите 2 десетилетия colistin се използва основно за профилактика и лечение на белодробни инфекции, причинени от грам(-) бактерии при пациенти с муковисцидоза (13). През последното десетилетие, във връзка с бързото разпространение на MDR грам(-) бактерии, употребата на

colistin се увеличи (54). Тъй като е разрешен за клинична употреба преди почти 60 години, colistin не е подлаган на задължителните сега процедури за регистрация на нови лекарства (40). Недостигът на фармакологична информация ограничава рационалната му употреба и води до неправилно дозиране, потенциална токсичност и развитие на резистентност (2). Colistin (Polymyxin E) е мултикомпонентен антибиотик, съставен от няколко близкородствени липопептида с обща структура – цикличен хептапептид с трипептидна странична верига, ацилирана в N-терминалния си участък от мастна киселина (32). Формите за парентерално приложение на Polymyxin E обикновено съдържат няколко различни компонента, като преобладаващи са Polymyxin E1 и E2 (обикновено > 80%) (51).

Colistin проявява бактерицидна активност срещу повечето грам(-) аеробни бактерии, включително *Acinetobacter* spp., *P. aeruginosa*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp., *E. coli*, *Salmonella* spp, *Citrobacter* spp., *Y. pseudotuberculosis*, *H. influenzae* (13). Притежава и значима *in vitro* активност спрямо *S. maltophilia* (83-88%) (13). Вродено резистентни са *B. mallei*, *Providencia* spp, *Proteus* spp, *Serratia* spp, *Edwardsiella* spp, *Brucella* spp, аеробни грам(+) и грам(-) коки, грам(+) аеробни бактерии, всички анаероби, фунги и паразити (13).

ФАРМАКОКИНЕТИКА/ФАРМАКОДИНАМИКА

Colistin се използва под формата на Colistin sulfate и Colistimethate (Colistin methanesulfonate) sodium (CMS) (13). CMS е неактивен прекурсор на colistin, по-слабо токсичен от colistin sulfate (4). Получава се от colistin чрез химична реакция с формалдехид и натриев бисулфит (7, 13).

CMS и colistin имат много различна фармакокинетика (29). CMS е нестабилен *in vitro* и *in vivo* (4). Свързва се слабо с плазмените протеини (13). В човешка плазма се хидролизира, при което могат да се получат до 32 различни, частично сулфометилирани метаболита, включително и активен colistin (36). Colistin се свързва с плазмените протеини в

около 50% (36). При инфектирани пациенти обаче се установяват различия, вероятно поради индуцирано от инфекцията увеличение на плазмените концентрации на α 1-киселия гликопротеин (40). Серумният полуживот на CMS при здрави доброволци е приблизително 1,5 h след *i.v.* и 2,75-3 h след *i.m.* приложение (27). Пикови серумни концентрации се получават 10 минути след *i.v.* приложение (36). Елиминационният полуживот на CMS е 2,1 h, а обемът му на разпределение е 0,34 l/kg (27). Елиминационният полуживот на colistin е 4,2 h (27).

Около 60% от приложения CMS се елиминира в непроменен вид чрез бъбреците основно чрез гломерулна филтрация и в по-малка степен чрез тубулна секреция (27). При пациенти с нормална бъбречна функция реналният клирънс на CMS е по-голям, отколкото скоростта на превръщането му в colistin, поради което само около 20-25% от приложената доза CMS се превръща *in vivo* в активна форма, а концентрациите на получения colistin са ниски (41). За разлика от CMS colistin се елиминира предимно по неренален път, като голяма част се реабсорбира в бъбречните тубули (41). Вероятно реабсорбцията в бъбречните тубули е свързана с нефротоксичността на полимиксините. Независимо от факта, че colistin се екскретира слабо чрез бъбреците, концентрацията му в урината може да е относително висока, в резултат на превръщането на CMS в colistin в уринарния тракт (41). При бъбречна недостатъчност, бъбречната екскреция на CMS намалява, поради което по-голяма част от него се превръща в colistin и се удължава плазменият полуживот (36). Не е установена жлъчна екскреция при хора (13).

Чрез перитонеална диализа от организма се отстраняват приблизително 1 mg colistin/h, като средно 16% от общата доза се отстраняват по време на една 2-часова процедура (27). Поради лошия клирънс се препоръчва при пациенти на перитонеална диализа colistin да се прилага в доза 2 mg/kg/d (27).

Стари проучвания показват, че colistin се свързва здраво с мембранните липиди на клетките на много тъкани, включително черен дроб, бял дроб, бъбреци, сърце и мускули (13). Освобождаването на тъканно свързания антибиотик е много бавно и непълно, дори 5 дни след последната приложена доза (13). Colistin прониква слабо в плевралната кухина, белодробния паренхим, костите и цереброспиналната течност (36). При пациенти без значително възпаление на менингите само 5% от приложения i.v. colistin прониква в ликвора (34). Причините за това не са изяснени, но се предполага, че влияние може да оказва високото молекулно тегло на colistin. Елиминационният полуживот на colistin в серума и цереброспиналната течност е сходен (34).

Инхалаторното приложение на полимиксин подобрява проникването в белодробния паренхим (27) и увеличава антимикробната ефективност на CMS (8). Ratjen et al. провеждат мултицентрово проучване при 30 пациенти с муковисцидоза, с цел определяне на концентрациите на colistin в храчка, серум и урина след инхалаторно приложение на еднократна доза от 2 MIU CMS. Установените серумни концентрации на colistin са значително по-ниски от получаваните при системно приложение, като достигат своя максимум 1,5 h след инхалиране, след което спадат (44). Средно $4,3 \pm 1,3\%$ от инхалираната доза се установява в урината (44). Максималните концентрации в храчките са поне 10 пъти по-високи от граничните стойности на MIC за *P. aeruginosa* (44). Достигат своя максимум 1 час след инхалаторното приложение на colistin, след което спадат, но и 12 часа по-късно средните концентрации са $> 4 \text{ mg/l}$ (44). Boisson et al. сравняват интрапулмоналната и системната фармакокинетика на CMS и colistin след аерозолно и интравенозно приложение на CMS при критично болни пациенти. Концентрациите на colistin в течността, покриваща белодробния епител (ELF = epithelial lining fluid), показват много големи вариации (9,53-1137 mg/l), но са значител-

но по-високи от плазмените (0,15-0,73 mg/l) след аерозолно, но не и след i.v. приложение на CMS (8). При инхалаторно приложение на CMS 9% от дозата достига до ELF и само 1,4% пресистемно се превръща в colistin (8). Colistin предизвиква бързо, концентрационно зависимо убиване на бактериите с незначителни постантибиотични ефекти при клинично приложими концентрации (29, 50). Хетерорезистентност към colistin, т.е. наличие на резистентни субпопулации в щамове, които се определят като чувствителни въз основа на MIC, е установена при клинични изолати на *A. baumannii* (31), *K. pneumoniae* (19, 35), *E. cloacae* (37) и *P. aeruginosa* (6). Способността на резистентните субпопулации бързо да се размножават под въздействие на colistin е демонстрирано при in vitro PK/PD модел, който имитира дозовия режим при хора (47).

Фармакокинетично-фармакодинамичният индекс (PK-PD), който в най-голяма степен корелира с антибактериалната активност срещу *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, е съотношението между площта под кривата, концентрация – време, за несвързания антибиотик от 0-24 h и MIC ($\text{fAUC}_{0-24} / \text{MIC}$) (5, 7, 16). За постигане на максимален антибактериален ефект при минимален риск от нефротоксичност срещу изолати с $\text{MIC} \leq 1 \text{ } \mu\text{g/ml}$ се препоръчва да се поддържа средна steady-state плазмена концентрация от $2 \text{ } \mu\text{g/ml}$ (28). При неадекватно съотношение $\text{fAUC}_{0-24} / \text{MIC}$ съществува голяма вероятност за терапевтичен неуспех (28).

КЛИНИЧНА УПОТРЕБА И ИНДИКАЦИИ

Colistin sulfate се прилага локално за лечение на бактериални кожни инфекции и перорално (под формата на таблетки или сироп) за селективна чревна деконтаминация (13). Colistimethate sodium (CMS) се прилага парентерално (предимно i.v.) и инхалационно за лечение на инфекции, причинени от грам(-) бактерии, резистентни на другите налични антибиотици, доказано чрез подходящо in vitro определяне на чувствителността (13). Аерозолно приложение на colistin (CMS) се използ-

ва за профилактика на белодробните екзацербации и влошаване на белодробната функция при пациенти с муковисцидоза, колонизирани с *P. aeruginosa* (3, 13, 15). Инхалаторното приложение на colistin, въпреки че не е официално одобрено от FDA, се използва и при лечение на пациенти с нозокомиална пневмония, свързана с апаратна вентилация (VAP) (13).

ДОЗИРОВКА И НАЧИНИ НА ПРИЛОЖЕНИЕ

Оптималната клинична употреба на colistin е силно затруднена от различните начини на дозиране и представяне на дозировките (39). Проблемът до голяма степен се дължи на объркващата терминология, използвана в публикации от различни части на света (39). Използват се две основни конвенции, базирани на *in vitro* тестове за микробиологична стандартизация, чрез които се описва съдържанието на флаконите за парентерално приложение и съответните дози CMS (39). В Европа, Великобритания, Индия съдържанието на флаконите и дозировката се представят в международни единици (IU), като се добавя и информация за съответстващите им mg CMS (39). В Северна и Южна Америка, Югоизточна Азия и Австралия съдържанието на флаконите и дозировката се представят в милиграми (mg) colistin base activity (CBA) (39).

1 000 000 IU (1 MIU) $\approx$ 30 mg CBA $\approx$ 80 mg CMS, т.е. 1 mg CBA $\approx$ 2.7 mg CMS (39). Изразяването на дозировката на colistin в mg, без да се уточнява дали става въпрос за CMS или CBA, създава предпоставки за грешки, а това от своя страна застрашава безопасността на пациентите (39).

CMS се произвежда във флакони под формата на стерилен лиофилизиран бял прах, който се разтваря непосредствено преди употреба с вода за инжекции или с 0,9% NaCl. Прилага се най-често интермитентно, чрез бавна (30-60 min), i.v. инфузия през интервал от 8-12 h (10) и значително по-рядко – i.m., интратекално/интравентрикуларно и инхалаторно (13).

Определянето на подходящата доза CMS е изключително трудно, тъй като клирънсът на colistin зависи от бъбречната функция

и варира много при пациенти с един и същ креатининов клирънс (38). Освен това плазмените концентрации, необходими за постигане на желания антибактериален ефект, се припокриват с тези, които увеличават риска от нефротоксичност (38). Препоръчаните в миналото дозови режими за CMS от 1-2 млн. IU на всеки 8 h при пациенти с тегло > 60 kg, водят до постигане на субоптимални steady-state плазмени концентрации при повечето критично болни пациенти, особено при запазена бъбречна функция (7, 16, 42).

Nation et al. (2017) провеждат най-голямото до момента международно мултицентрово, популационно проучване на фармакокинетиката на CMS и colistin при 214 възрастни, критично болни пациенти с креатининов клирънс 0-236 ml/min. На базата на направения анализ предлагат схема за дозиране при различни категории критично болни пациенти, която цели постигане на средна steady-state плазмена концентрация на colistin от 2 mg/l (табл. 1) (38).

В България се използва Colistin Alvogen. Производителят препоръчва натоварваща доза от 9 MIU, последвана от поддържаща доза от 9 MIU/дневно, приложени като 2-3 отделни дози (10). Корекция на дозата се налага при бъбречна недостатъчност, но не и при пациенти с чернодробни увреждания. При пациенти в старческа възраст с нормална бъбречна функция не се налага корекция на дозата (10). *Jacobs et al.* (2016) изследват фармакокинетиката на CMS и colistin при критично болни пациенти с остра бъбречна недостатъчност, която налага интермитентна хемодиализа, и установяват, че за да се поддържа плазмена концентрация на colistin > 3 mg/l за $fAUC_{0-24}/MIC > 10$ (при $MIC < 1.5$ mg/l) за системни инфекции и $fAUC_{0-24}/MIC > 50$ (при $MIC = 0.5$ mg/l) за белодробни инфекции, дозовият режим за CMS трябва да бъде 2 x 1,5 MIU в дните без хемодиализа. Хемодиализата трябва да се провежда в края на дозовия интервал, като след приключването ѝ трябва да се приложи още 1 доза от 1,5 MIU (т.е. в дните с хемодиализа общата дневна доза е 4,5 MIU) (21).

Таблица 1. Предложения за натоварваща и дневна доза CMS за постигане на плазмена концентрация от 2 mg/l при различни категории критично болни пациенти (адаптирана от Nation et al., 2017)

Доза	Категория критично болни пациенти	Предложена дозировка
Натоварваща доза	За всички пациенти	Натоварваща доза CBA (mg) = colistin $C_{ss, avg}$ (mg/l) x 2,0 x идеално телесно тегло (kg) За да се постигне плазмена $C_{ss, avg}$ концентрация от 2 mg/l при пациент с идеално телесно тегло от 75 kg, натоварващата доза трябва да бъде 300 CBA (9MIU) Първата регулярна дневна доза трябва да се приложи 12 часа по-късно.
Дневна доза	За пациенти, които не са на бъбречнозаместителна терапия	Дневна доза CBA (mg) = Colistin $C_{ss, avg}$ (mg/l) x $10^{(0,0048 \times CrCl + 1.825)}$
		CrCl (ml/min)
		Доза CMS за постигане на плазмена $C_{ss, avg}$ концентрация от 2 mg/l
		mg CBA/дневно
		MIU/дневно
		0
		130
		3,95
		5 до < 10
		145
		4,40
		10 до < 20
		160
		4,85
		20 до < 30
		175
		5,30
		30 до < 40
		195
		5,90
		40 до < 50
		220
		6,65
		50 до < 60
		245
		7,40
		60 до < 70
		275
		8,35
		70 до < 80
		300
		9,00
		80 до < 90
		340
		10,3
		≥ 90
		360
		10,9
Дневна доза	За пациенти на бъбречнозаместителна терапия	Базовата дневна доза за постигане на плазмена $C_{ss, avg}$ концентрация от 2 mg/l при пациент с CrCl (ml/min) нула е 130 mg CBA/дневно (3,95 MIU/дневно) Когато се прави бъбречнозаместителна терапия, е необходима добавка към изходната доза – 10% от изходната доза за всеки час бъбречнозаместителна терапия
	Интермитентна хемодиализа	Недиализни дни – 130 mg CBA/дневно (3,95 MIU/дневно) Добавка за дните с диализа: 30% към базовата дневна доза след 3-часова процедура 40% към базовата дневна доза след 4-часова процедура Диализата трябва да се направи към края на дозовия интервал. Добавката към базовата дневна доза трябва да се приложи след приключване на диализата, заедно със следващата доза CMS
	SLED (Sustained low-efficiency dialysis) – продължителна, нискоэффективна диализа	При провеждане на SLED – добавят се 10% към базовата дневна доза за постигане на плазмена $C_{ss, avg}$ концентрация от 2 mg/l Например за пациент на 10-часова нощна SLED процедура всеки ден, на който се прилага CMS на 12 часа, необходимата доза се изчислява по следния начин: Базова доза от 130 mg CBA/дневно при CrCl (ml/min) нула + допълнителна доза от 10% от базовата за всеки час x 10. В този случай дневната доза ще бъде 260 mg CBA (7,9 MIU/дневно). Препоръчва се SLED да започне 1-2 часа след обедната/вечерната доза. В такъв случай може би е по-удобно и по-безопасно да се прилагат 2 x 130 mg през 12 часа.
	CRRT – непрекъсната бъбречнозаместителна терапия	При провеждане на CRRT – добавят се 10% към базовата дневна доза за постигане на плазмена $C_{ss, avg}$ концентрация от 2 mg/l Препоръчваната доза в този случай е 440 mg CBA/дневно (~ 13 MIU/дневно)

Дозирание при деца

При деца ≤ 40 kg дозата е 75 000-150 000 IU/kg дн., разделени в 3 дози (10). При тегло > 40 kg се използват препоръките за дозирание при възрастни (10).

Colistin може да се прилага и i.m., но това се използва рядко в клиничната практика, тъй като тази форма на приложение е изключително болезнена (13).

Приложение на colistin при лечение на VAP (пневмония, свързана с апаратна вентилация)

VAP е една от най-честите вътреболнични инфекции в интензивни отделения, като засяга 10-30% от пациентите на апаратна вентилация с продължителност повече от 48 ч (48). Смъртността може да варира от 10% до $> 70\%$, в зависимост от общото състояние на пациентите и патогенността на инфектиращите микроорганизми (49). В последните години значително нарасна процентът на VAP, причинени от MDR грам(-) бактерии, особено *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* (49). Поликатионната/хидрофилна структура на colistin ограничава проникването му в белодробната тъкан, поради което ефикасността му при i.v. приложение е спорна (15, 33, 49). Друг сериозен проблем, свързан с i.v. монотерапия, е рискът от селектиране на резистентност към colistin, поради недостатъчна концентрация в белодробните тъкани (33).

Небулизацията е метод, предложен за постигане на бактерицидни концентрации на антибиотици, особено аминогликозиди и colistin, на алвеоларно ниво при пациенти с VAP, причинени от MDR грам(-) бактерии. Инхалираните антимикробни аерозоли водят до получаване на високи антибиотични концентрации в белите дробове, без повишен риск от системна токсичност и появата на MDR чревна флора (15). Методиката обаче не е стандартизирана и неправилното приложение на colistin и други медикаменти може да доведе до директно увреждане на белодробната тъкан с потенциално сериозни и животозастрашаващи странични ефекти (26). Аерозолното

приложение на colistin може да бъде полезно допълнение към i.v. терапия при лечение на VAP, причинена от чувствителни само на colistin грам(-) бактерии (49). Комбинираното, аерозолно и i.v., приложение на colistin се свързва с по-висок процент клинично излекуване, по-кратък период на апаратна вентилация след началото на VAP, по-често постигане на бактериална ерадикация (1, 18, 49) и по-ниска нефротоксичност (1).

VAP, причинена от *A. baumannii* и *P. aeruginosa*, е лекувана ефективно и безопасно и само посредством високи дози (5 MIU на всеки 8 h) аерозолно прилаган colistin (33). По-висок процент на терапевтичен успех се наблюдава при VAP, причинена от *A. baumannii* (91%), докато при тези с *P. aeruginosa* той е 59% (33). Плазмените концентрации на colistin се увеличават значително между 2-3 ден от инхалаторното му приложение (33). Счита се, че натрупването с времето се дължи на бавен системен пасаж през алвеоларно-капиллярната мембрана (33). Когато colistin се прилага само аерозолно за лечение на VAP, процентът на остро бъбречно увреждане (AKI) е значително по-нисък, отколкото при i.v. приложение (24, 33).

Поради липсата на специална форма за инхалаторно приложение, за аерозолно лечение с colistin се използва предназначеният за i.v. терапия CMS. Прилагането на i.v. форми на colistin за инхалация обаче е свързано с рискове (3). През 2008 г. McCoy описва смъртен случай след аерозолно приложен CMS при пациент с муковисцидоза – CMS е разтворен, след което е оставен да престои няколко часа, в резултат на което се хидролизира почти напълно. След инхалаторното му приложение при пациента се развива остър ARDS, завършил летално (26).

Ефективността и безопасността на аерозолното приложение на медикаменти, включително и colistin, зависи много от използваната техника (26). Повечето небулайзери са проектирани по такъв начин, че доставят аерозолно прилаганите медикаменти в проксималните отдели на въздухоносните пътища, но не и

в белодробния паренхим (26). Небулайзерите, предназначени за употреба от спонтанно дишащи пациенти (напр. с муковисцидоза), не трябва да се използват при пациенти на апаратна вентилация (25). Нивото на проникване в дихателната система зависи от размера на генерираните от небулайзера частици MMAD (mass median aerodynamic diameter) (26). Оптималният размер на MMAD за достигане до белодробните алвеоли е 1-3 μm (26), а рутинно използваните джет небулайзери генерират частици с размер около 5 μm MMAD, като различията между апаратите, произведени от различни фирми, са значителни (26). Проникването на аерозолните частици в дисталните отдели на дихателната система може да се възпрепятства и от влажността във вентилаторния кръг, която може да причини хидроскопичен растеж и rain-out ефект в ендотрахеалната тръба (26). За да се преодолее антагонизма на храчките (активно свързване с муцина), концентрациите на прилаганите аерозолно антибиотици трябва да бъдат поне 25 пъти по-високи от минималната инхибираща концентрация (MIC) на патогена (26).

Дозировката на аерозолно прилагания CMS не е уточнена. Препоръчваната дозировка от производителите в UK е 40 mg (500 000 IU) на всеки 8 часа при пациенти с тегло ≤ 40 kg и 80 mg (1 000 000 IU) на всеки 8 часа при пациенти с тегло > 40 kg (13). При лечение на рекурентни белодробни инфекции дозата може да се увеличи до 160 mg (2 000 000 IU) на всеки 8 часа (13).

Установено е обаче, че независимо от високите дози (1 MIU на всеки 8 ч) CMS, използвани при колонизирани пациенти с бронхиектазии, при много от тях след 8 часа концентрациите в течността, покриваща белодробния епител, не са по-високи от 4 mg/l, поради което при лечение на пневмония трябва да се използват високи дози от 5 MIU/8 часа (9). Необходими са фармакокинетични проучвания, които да определят дозировките при пациенти с колонизация, трахеобронхит и пневмония (9). По-високите дози изискват по-дълги периоди

на небулизация (~ 1 час), които не се толерират добре от пациенти с ARDS (9). *Dhanani et al.* (2016) предлагат мерки за оптимизиране на параметрите при апаратна вентилация, необходими за аерозолно приложение на антибиотици (табл. 2).

Таблица 2. Оптимизиране на параметрите на апаратите за изкуствена вентилация при аерозолно приложение на антибиотици, адаптирана от *Dhanani et al.*, 2016 (9)

- ✓ разполагане на небулайзера в инспираторния край, на 10 cm, проксимално от Y-парчето
- ✓ разреждане в 10 ml физиологичен разтвор
- ✓ отстраняване на HME филтър
- ✓ режим на вентилация – volume controlled
- ✓ модел на въздушния поток – constant inspiratory flow
- ✓ настройки на апарата – RR 12/min, I:E ratio 50%, VT 8 ml/kg
- ✓ End-inspiratory pause, 20% duty cycle
- ✓ приложение над 60 минути
- ✓ издишаните аерозолни частици да се събират във филтър

HME = heat and moist exchanger; RR = дихателна честота, VT = tidal volume

Приложение на colistin за лечение на менингит/вентрикулит, причинени от MDR грам(-) бактерии

Colistin (CMS) се прилага и интратекално/интравентрикуларно (IT/IVT) за лечение на инфекции на ЦНС, причинени от MDR *A. baumannii* (22, 23). Клинично и микробиологично излекуване се наблюдава в $> 80\%$ от случаите, като стерилизация на ликвора се постига след средно 3 (23) до 4,5 дни (22) от началото на терапията. Най-често се използва дневна доза 40 000-500 000 IU colistin (3.2-40 mg CMS), приложени 1 или 2 пъти дневно (23). CMS се разтваря в 0.9% стерил физиологичен разтвор. Прилага се чрез вентрикуларен катетър или спинална игла, след като е източено съответното количество цереброспинална течност (23). За пациенти с

външен вентрикуларен дренаж, дренажът се прекъсва за 2 часа (23). Продължителността на IT/IVT с colistin е 2-3 седмици, но може да варира в зависимост от клиничния отговор, като стерилизация на ликвора се очаква в рамките на 72 часа от началото ѝ (23). Като цяло IT/IVT приложение на colistin се понася добре (22), като в редки случаи може да се развият химичен вентрикулит или доза-зависими гърчове (23).

КОМБИНИРАНА ТЕРАПИЯ С COLISTIN

Поради хетерорезистентност и честото използване на субоптимални концентрации за лечение на инфекции, причинени от MDR грам(-) бактерии, рискът от развитието на резистентност при монотерапия с colistin е много голям. Съществуват много малко проспективни клинични проучвания, които правят оценка на ефективността от комбинираното приложение на полимиксини с други антибиотици. Основната част от проучванията се базират на *in vitro* тестове за синергизъм. От всички антибиотици, изследвани за синергизъм с полимиксините, трябва да се отбележи ефикасността на комбинацията с рифампицин. Комбинацията colistin-rifampicin показва в много висок процент ефективност при MDR *A. baumannii* при повечето проучвания (30). Същата комбинация показва силно вариращ синергизъм при *P. aeruginosa* (14-100%) (2). Комбинацията Polymixin B-rifampicin показва много висок процент синергизъм и при *K. pneumoniae*, включително и по отношение на резистентни на карбапенеми и colistin щамове (11). Обещаващи резултати за ефективност *in vitro* показва и комбинацията colistin/meropenem при карбапенем-резистентни *A. baumannii* (2).

Гликопептидите, които нямат ефект спрямо грам(-) бактерии, показват много висок процент синергизъм с полимиксини. *Gordon et al.* установяват във висок процент синергизъм на комбинацията vancomycin-colistin при MDR *A. baumannii* (17). Поради нефротоксичността и на двата антибиотика приложението им *in vivo*

вероятно няма да бъде подходящо (2). Синергизъм *in vitro* се наблюдава и при комбиниране с по-слабо токсични гликопептиди, teicoplanin (32). Липсват клинични проучвания за ефекта от тази комбинация *in vivo*. Други ефективни *in vitro* комбинации са colistin-minocyclin (при MDR *A. baumannii*), Polymixin B-doxycycline/tigecycline (MDR *K. pneumoniae*), colistin-ceftazidime (MDR *P. aeruginosa*) (2).

Съществуват ретроспективни проучвания за ефектите от комбинираната терапия *in vivo* при възрастни, но много малко за лечение на инфекции при новородени. Единственият предложен вариант до момента е за комбинирано приложение на colistin + meropenem ± rifampicin (2).

ТОКСИЧНОСТ И СТРАНИЧНИ ДЕЙСТВИЯ

Най-често наблюдаваните странични ефекти при приложение на colistin са нефро- и невротоксичност (14).

Основният страничен ефект, който ограничава приложението на полимиксините, е нефротоксичността. Тя е доза-зависима, като рискът от развитието ѝ се увеличава при плазмени концентрации на colistin > 2,5-3 µg/ml (46), при по-възрастни пациенти, предхождащо бъбречно увреждане, хипоалбуминемия и едновременно приложение на нестероидни противовъзпалителни средства, аминогликозиди или ванкомицин (53). Клинично се проявява с увеличение на серумния креатинин и намаление на креатининовия клирънс (14). Могат да се наблюдават също хематурия, протеинурия, цилиндриурия или олигурия, а в някои случаи и остра тубулна некроза (14). Проявява се обикновено през първата седмица от лечение с colistin и в повечето случаи е обратима (53). Честотата на нефротоксичност в по-старите публикации варира от 20,2 до 36% (14), а в по-новите – от 6 до 55% (53). Тези разлики се дължат до голяма степен на използването на различни критерии за дефиниране на понятието бъбречна недостатъчност (53). В последните години все повече проучвания използват RIFLE (Risk-Injury-Failure-Loss-End stage renal disease) класификацията за регистриране

на нефротоксичността при приложение на colistin, което би дало по-добра база за сравнение на резултатите (20).

Невротоксичността също е доза-зависима и се наблюдава значително по-рядко (14). Клинично може да се прояви със замаяност, мускулна слабост (генерализирана или не), лицева или периферна парестезия, частична глухота, зрителни нарушения, световъртеж, объркване, халюцинации, гърчове, атаксия и нервномускулна блокада (обикновено под формата на миастения-подобен клиничен синдром, както и дихателна недостатъчност или апнея в резултат на парализа на дихателната мускулатура) (14). В по-старата литература най-често наблюдаваните неврологични странични ефекти са парестезиите, които се проявяват при приблизително 27% от пациентите, с i.v. приложение на CMS (14). Обикновено са доброкачествени и механизмът им на възникване вероятно не е свързан с нарушения в нервната трансмисия (14). Рискови фактори за развитието на невротоксичност са хипоксия и едновременното приложение на полимиксини с миорелаксанти, наркотици, седативи, анестетици или кортикостероиди (14). При пациенти с нарушена бъбречна функция или миастения гравис е налице по-голям риск от развитие на нервномускулна блокада и респираторна парализа (14).

При инхалаторно приложение на CMS може да се наблюдават възпаление на гърлото, кашлица, бронхоконстрикция и стягане в гърдите (14). Бронхоконстрикцията може да се развие и при пациенти без анамнеза за астма или атопия, като обикновено изисква прекратяване на лечението и приложение на бронходилататори и допълнително кислород (14). В по-старите публикации честотата на съобщаваните алергични реакции, свързани с приложението на CMS, е приблизително 2% (14). При 22% от пациентите с i.v. приложение на CMS се съобщава за лек сърбеж, който не налага прекратяване на терапията (14). При няколко пациенти се съобщава и за появата на обрив. В по-новата литература – няколко съобщения за случаи на контактен дерматит

(екзема или еритематозна ерупция) след локално приложение на colistin sulfate и очно приложение на CMS (14).

За предотвратяване на страничните действия се препоръчва често изследване на урина и на серумни урея и креатинин, внимателен ежедневен мониторинг на диурезата и неврологичния статус, ранно и правилно коригиране на дозата при нарушена бъбречна функция, избягване на едновременното приложение на други медикаменти с нефро- или невротоксично действие (14). Бронхоконстрикцията обикновено се повлиява при лечение с бронходилататори, поради което могат да се прилагат профилактично преди инхалаторния colistin (14).

ПРЕДОЗИРАНЕ

Предозиране на полимиксини, особено на CMS, е съобщено няколко пъти в по-старата литература. В повечето случаи то води до развитие на остра бъбречна недостатъчност и различни прояви на невротоксичност, включително нервномускулна блокада и апнея, но рядко се стига до фатален изход (14). Няма антидот при предозиране на colistin (14). Поведението включва прекъсване на терапията и провеждане на подходяща поддържаща терапия (14). При остра бъбречна недостатъчност хемодиализата и перитонеалната диализа могат само да контролират бъбречните усложнения, но имат много слабо влияние върху елиминирането на полимиксините (14). При развитие на апнея е необходима апаратна вентилация (14).

ЛЕКАРСТВЕНИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Едновременното приложение на полимиксини с курареформени мускулни релаксанти и други невротоксични медикаменти като етер, тубокурарин, сукцинилхолин, галамин, декаметониум и натриев цитрат трябва да се избягва, тъй като може да предизвика нервномускулна блокада (14). Трябва да се избягва комбинацията с нефротоксични медикаменти като аминокликозиди (14). Ако все пак се налага да се прилагат едновременно, се препоръчва много внимателен мониторинг на бъбречната функция (14).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Антибиотичната терапия на инфекции, причинени от MDR грам(-) бактерии, представлява сериозен терапевтичен проблем. Все по-често се налага да се използват необичайни комбинации от антибиотици с надеж-

дата, че ще бъдат ефективни. Понастоящем colistin е една от малкото терапевтични възможности и само чрез правилна и разумна употреба ще може да се използва максимално до създаването на нови и по-ефективни антибиотици.

Библиография

1. Abdellatif S, Trifi A, Daly F, et al. Efficacy and toxicity of aerosolised colistin in ventilator-associated pneumonia: a prospective, randomised trial. *Ann Inten Care*, 2016; 6:26.
2. Balaji V, Jeremiah SS, Baliga PR. Polymyxins: Antimicrobial susceptibility concerns and therapeutic options. *Indian J Med Microbiol*, 2011; 29:230-42.
3. Ballmann M, Smyth A, Geller DE. Therapeutic approaches to chronic cystic fibrosis respiratory infections with available, emerging aerosolized antibiotics. *Respir Med*, 2011; 105(Suppl 2):S2-S8.
4. Bergen P, Li J, Rayner C, et al. Colistin Methanesulfonate Is an Inactive Prodrug of Colistin against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006; 50(6):1953-1958.
5. Bergen PJ, Bulitta JB, Forrest A, et al. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Investigation of Colistin against *Pseudomonas aeruginosa* Using an In Vitro Model. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010; 54(9):3783-3789.
6. Bergen PJ, Forrest A, Bulitta JB, et al. Clinically Relevant Plasma Concentrations of Colistin in Combination with Imipenem Enhance Pharmacodynamic Activity against Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* at Multiple Inocula. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011; 55(11):5134-5142.
7. Bergen PJ, Landersdorfer CB, Zhang J, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of 'old' polymyxins: what is new? *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012; 74(3):213-223.
8. Boisson M, Jacobs M, Grégoire N, et al. Comparison of Intrapulmonary and Systemic Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate (CMS) and Colistin after Aerosol Delivery and Intravenous Administration of CMS in Critically Ill Patients. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014; 58(12):7331-7339.
9. Dhanani J, Fraser JF, Chan H-K, et al. Fundamentals of aerosol therapy in critical care. *Crit Care*, 2016; 20:269.
10. Colistin Alvogen – кратка характеристика на продукта (ИАЛ).
11. Elemam A, Rahimian J, Doymaz M. In Vitro Evaluation of Antibiotic Synergy for Polymyxin B-Resistant Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Clin Microbiol*, 2010; 48(10):3558-3562.
12. European Medicines Agency. 26 May 2016. Updated advice on the use of colistin products in animals within the European Union: development of resistance and possible impact on human and animal health. EMA/231573/2016.
13. Falagas ME, Kasiakou SK, Saravolatz LD. Colistin: The Revival of Polymyxins for the Management of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections. *Clin Infect Dis*, 2005; 40(9),1333-1341.
14. Falagas ME, Kasiakou SK. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Crit Care*, 2006; 10(1):R27.
15. Florescu DF, Qiu F, McCartan MA, et al. What is the efficacy and safety of colistin for the treatment of ventilator-associated pneumonia? A systematic review and meta-regression. *Clin Infect Dis*, 2012; 54:670-680.
16. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, et al. Population Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and Formed Colistin in Critically Ill Patients from a Multicenter Study Provide Dosing Suggestions for Various Categories of Patients. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011; 55(7):3284-3294.
17. Gordon NC, Png K, Wareham DW. Potent Synergy and Sustained Bactericidal Activity of a Vancomycin-Colistin Combination versus Multidrug-Resistant Strains of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010; 54(12):5316-5322.
18. Gu WJ, et al. Colistin for the treatment of ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria: A systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents*, 2014; 44 (6): 477-485.
19. Halaby T, Naiemi N, Kluytmans J, et al. Emergence of Colistin Resistance in Enterobacteriaceae after the Introduction of Selective Digestive Tract Decontamination in an Intensive Care Unit. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013; 57(7):3224-3229.
20. Hartzell JD, Neff R, Ake J, et al. Nephrotoxicity Associated with Intravenous Colistin (Colistimethate Sodium) Treatment at a Tertiary Care Medical Center. *Clin Infect Dis*, 2009; 48 (12):1724-1728.
21. Jacobs M, Grégoire N, Mégarbane B, et al. Population Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and Colistin in Critically Ill Patients with Acute Renal Failure Requiring Intermittent Hemodialysis. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016; 60(3):1788-1793.
22. Katragkou A, Roilides E. Successful Treatment of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Central Nervous System Infections with Colistin. *J Clin Microbiol*, 2005; 43(9):4916-4917.
23. Khawcharoenporn T, et al. Intrathecal colistin for drug-resistant *Acinetobacter baumannii* central nervous system infection: a case series and systematic review. *Clin Microbiol Infect*, 2010; 16(7):888-894.
24. Kim YK, Lee JH, Lee H-K, et al. Efficacy of nebulized colistin-based therapy without concurrent intravenous colistin for ventilator-associated pneumonia caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Thorac Dis*, 2017; 9(3):555-567.
25. Kollef MH, Hamilton CW, Montgomery AB. Aerosolized antibiotics: do they add to the treatment of pneumonia? *Curr Opin Infect Dis*, 2013; 26(6):538-544.

26. Kollef MH. Counterpoint: Should Inhaled Antibiotic Therapy Be Used Routinely for the Treatment of Bacterial Lower Respiratory Tract Infections in the ICU Setting? No, Chest, 2017; 151(4):740-743.
27. Kwa AL, Tam VH, Falagas ME. Polymyxins: A review of the current status including recent developments. Ann Acad Med Singapore, 2008; 37:870-83.
28. Landersdorfer CB, Nation RL. Colistin: how should it be dosed for the critically ill? Semin Respir Crit Care Med, 2015; 36:126-135.
29. Li J, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. Lancet Infect Dis, 2006; 6(9):589-601.
30. Li J, Nation RL, Owen RJ, et al. Antibigrams of multidrug-resistant clinical Acinetobacter baumannii: promising therapeutic options for treatment of infection with colistin-resistant strains. Clin Infect Dis, 2007; 45(5):594-598.
31. Li J, Rayner CR, Nation RL, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother, 2006; 50:2946-50.
32. Li J, Rayner CR, Nation RL, et al. Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and Colistin in a Critically Ill Patient Receiving Continuous Venovenous Hemodiafiltration. Antimicrob Agents Chemother, 2005; 49(11):4814-4815.
33. Lu Q. Efficacy of High-dose Nebulized Colistin in Ventilator associated Pneumonia Caused by Multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii. Anesthesiol, 2012; 117(6):1335-1347.
34. Markantonis SL, Markou N, Foustier M, et al. Penetration of Colistin into Cerebrospinal Fluid. Antimicrob Agents Chemother, 2009; 53(11):4907-4910.
35. Meletis G, Tzampaz E, Sianou E, et al. Colistin heteroresistance in carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae. J Antimicrob Chemother, 2011; 66:946-947.
36. Michalopoulos AS, Falagas ME. Colistin: recent data on pharmacodynamics properties and clinical efficacy in critically ill patients. Ann Inten Care, 2011; 1:30.
37. Napier BA, Band V, Burd EM, et al. Colistin Heteroresistance in Enterobacter cloacae Is Associated with Cross-Resistance to the Host Antimicrobial Lysozyme. Antimicrob Agents Chemother, 2014; 58(9):5594 -5597.
38. Nation RL, Garonzik SM, Thamlikitkul V, et al. Dosing Guidance for Intravenous Colistin in Critically Ill Patients. Clin Infect Dis, 2017; 64(5):565-571.
39. Nation RL, Li J, Cars O, et al. Consistent Global Approach on Reporting of Colistin Doses to Promote Safe and Effective Use. Clin Infect Dis, 2014; 58(1):139-141.
40. Nation RL, Li J. Colistin in the 21st Century. Curr Opin Infect Dis, 2009; 22 (6):535-543.
41. Nation RL, Velkov T, Li J. Colistin and Polymyxin B: Peas in a Pod, or Chalk and Cheese? Clin Infect Dis, 2014;59(1):88-94.
42. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, et al. Population Pharmacokinetic Analysis of Colistin Methanesulfonate and Colistin after Intravenous Administration in Critically Ill Patients with Infections Caused by Gram-Negative Bacteria. Antimicrob Agents Chemother, 2009; 53(8):3430-3436.
43. Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. Clin Microbiol Rev, 2017; 30(2):557-596.
44. Ratjen F, Rietschel E, Kasel D, et al. Pharmacokinetics of inhaled colistin in patients with cystic fibrosis. J Antimicrob Chemother, 2006; 57:306-11.
45. Review on Antimicrobial Resistance. Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations. 2014.
46. Sorlí L, Luque S, Grau S, et al. Trough colistin plasma level is an independent risk factor for nephrotoxicity: a prospective observational cohort study. BMC Infect Dis, 2013; 13:380.
47. Tan CH, Li J Nation RL. Activity of Colistin against Heteroresistant Acinetobacter baumannii and Emergence of Resistance in an In Vitro Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model. Antimicrob Agents Chemother, 2007; 51(9):3413-3415.
48. Torres A, Ferrer M, Ramo'n Badia J. Treatment Guidelines and Outcomes of Hospital-Acquired and Ventilator-Associated Pneumonia. Clin Infect Dis, 2010; 51(S1):S48-S53.
49. Tumbarello M, et al. Effect of Aerosolized Colistin as Adjunctive Treatment on the Outcomes of Microbiologically Documented Ventilator-Associated Pneumonia Caused by Colistin-Only Susceptible Gram-Negative Bacteria. Chest, 2013; 144(6):1768-1775.
50. Velkov T, Roberts KD, Nation RL, et al. Pharmacology of polymyxins: new insights into an 'old' class of antibiotics. Future Microbiol, 2013; 8(6). doi:10.2217/fmb.13.39
51. Velkov T, Thompson PE, Nation RL, et al. Structure – activity relationships of polymyxin antibiotics. J Med Chem, 2010; 53: 1898-1916.
52. Wareham DW, Gordon NC, Hornsey M. In vitro activity of teicoplanin combined with colistin versus multidrug-resistant strains of Acinetobacter baumannii. J Antimicrob Chemother, 2011; 66:1047-51.
53. Yahav D, Farbman L, Leibovici L, et al. Colistin: new lessons on an old antibiotic. Clin Microbiol Infect, 2012; 18:18-29.
54. Yu Z, Qin W, Lin J, et al. Antibacterial Mechanisms of Polymyxin and Bacterial Resistance. BioMed Res Internat, 2015; 679109.

Адрес за кореспонденция:

Д-р Юлия Мартева-Проевска
 Централна лаборатория по микробиология
 УМБАЛ „Александровска“
 ул. „Св. Г. Софийски“ № 1
 1431 София
 e-mail: proevska@abv.bg

Адрес за кореспонденция:

Yulia Marteva-Proevska, DM
 Central Laboratory of Clinical Microbiology
 УМАХТ „Alexandrovskа“
 1. Sv. G. Sofiyski str.
 Bg – 1431 Sofia
 e-mail: proevska@abv.bg

ИСТОРИЯ И ОБРАЗОВАТЕЛНИ ПРОБЛЕМИ НА КЛИНИЧНАТА ГЕНЕТИКА

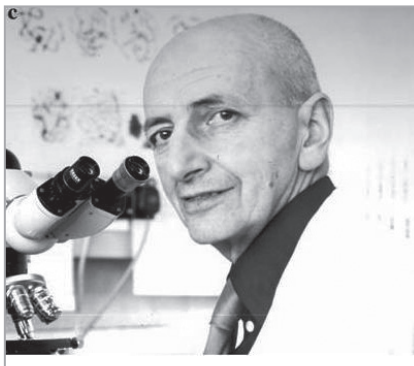
Е. Симеонов

Детска клиника, УМБАЛ "Александровска" – София

HISTORY AND EDUCATIONAL ISSUES OF CLINICAL GENETICS

E. Simeonov

Pediatric Clinic, UHAT "Alexandrovskia" – Sofia



Проф. Пол Полани (1914-2006)

Историята и развитието на клиничната генетика са тясно свързани с името и делото на проф. Пол Полани. Роден в Триест, завършва медицинско образование, вкл. дисертационен труд по неврофизиология в университета в Пиза. Поради отказ да членува в партията на диктатора Мусолини през 1939 г. емигрира в Англия с намерение да специализира генетика. През войната работи в детска болница в Източен Лондон. След войната постъпва като докторант в детската болница Guy's Hospital, където остава до края на професионалния си път. Първоначално работи по детска церебрална парализа, а по-късно по вродени сърдечни малформации. През 1960 г. е назначен за директор на новата Paediatric Research Unit, което му дава възможност да създаде първия комплексен център

по медицинска генетика в Англия. През този период проф. Полани вече е твърдо убеден в следното:

- наред със съществуващите академичните структури по медицинска генетика е необходимо създаване на клинични генетични групи, които да внедряват генетични подходи в клиничната практика;
- в организационно отношение тази дейност трябва да се регионализира под формата на регионални генетични центрове;
- в клиничната генетика има огромни възможности за научноизследователска работа.

Структура на Paediatric Research Unit, 1960 г.: цитогенетика, биохимична генетика, експериментална биология на развитието, имунология на развитието, **Клинична генетика и генетично консултиране**, епидемиологи на вродените аномалии.

ОСНОВНИ НАУЧНИ ПРИНОСИ

- Генетика на вродените кардиопатии
- Хромозомна етиология на синдрома на Търнър
- Хром. транслокации при фамилен синдром на Даун
- Проблеми на мейозата
- Генетика на цветната слепота
- Майчина възраст и неразделяне на хромозомите (1968, 1976)
- Епидемиологични изследвания на репродуктивната недостатъчност
- Пренатална цитогенетична диагноза.

Тези идеи на Проф. Пол Полани и други изтъкнати специалисти по генетика на човека послужиха като основа за развитието на клиничната генетика в продължение на много десетилетия. Сега вече има много международни списания: Clinical Genetics, Clinical Dysmorphology, Application of Clinical Genetics, Clinical Epigenetics, PLoS Genetics, Neurogenetics, Neuropsychiatric Genetics, Neuromuscular Disorders, Behaviour Genetics, Autism Genetics, Orphanet Journal of Rare Diseases, Genes and Immunity,

Journal of Pediatric Genetics, както и множество национални и международни научни дружества по клинична генетика.

Какво е медицинска (или клинична) генетика?

Клиничната генетика, като част от медицинската генетика, е относително нова специалност, възникнала във Великобритания след Втората световна война (1946 г.) в детската болница Great OrmondStreet Hospital в Лондон. Сега в здравеопазването на Великобритания има около 90 консултанти по клинична генетика, които работят в 25 регионални центъра, подпомагани от стотици парамедицински и научни специалисти.

Каква е разликата между медицинска и клинична генетика?

Често двата термина са взаимно заменяеми, но клинична генетика се използва предимно за означаване на приложението на научните постижения на медицинската генетика за решаване на клинични проблеми при пациенти. Кралският колеж на лекарите във Великобритания, който ръководи обучението на лекарите, нарича тази специалност КЛИНИЧНА ГЕНЕТИКА, а лекарите, които я придобиват – СПЕЦИАЛИСТИ ПО КЛИНИЧНА ГЕНЕТИКА.

ПРОФЕСИОНАЛНА ХАРАКТЕРИСТИКА

Клиничният генетик е медицински специалист с висше образование, призната основна клинична специалност и допълнителна подготовка по клинична генетика. Той трябва да умее да поставя диагноза и да лекува пациенти с напълно или отчасти генетични болести, да организира скрининг за вродени болести, да назначава лечение и да сътрудничи с други специалисти в тази област. Например да изследва пациенти с повишен риск за болест на Alzheimer и да участва в лечението на болести като муковисцидоза, хемофилия, сърповидноклетъчна анемия, да лекува различни форми на рак и други наследствени болести.

НЯКОИ ПО-ИЗВЕСТНИ ЕВРОПЕЙСКИ КЛИНИЧНИ ГЕНЕТИЦИ

МЕСТОРАБОТА, ИМЕ

London:	<i>M. Baraitser, M. Bobrow, C. Berry, C. Carter, M. Pembrey, R. Laxova (u Brno, Madison)</i>
Newcastle	<i>J. Burn, C. Angus (u Cardiff);</i>
Manchester	<i>R. Harris, D. Donnai, A. Emery, (u Edinburg)</i>
Rotterdam	<i>R. Nijmayer, H. Galjaard</i>
Leuven	<i>J. P. Fryns</i>
Birmingham	<i>J. Edwards (u Oxford), P. Farndon;</i>
Oxford	<i>G. Fraser</i>
Glasgow	<i>M. Ferguson-Smith</i>
Cardiff	<i>P. Harper, H. Hughes (u Toronto), J. Sampson;</i>
Aberdeen	<i>A. Johnston</i>
Belfast	<i>N. Nevin</i>

Клиничната генетика е медицинска специалност, чийто обект са:

- диагнозата на наследствените болести и вродените аномалии с клинични и лабораторни, вкл. скринингови методи;
- установяване на наличие и величина на генетичен риск, предоставяне на генетична информация на семейството, лечение на болните индивиди и пренатална диагноза;

- специалистите по клинична генетика работят в мултидисциплинарни регионални генетични центрове, в тясно сътрудничество с лабораторни специалисти, други клинични и академични специалисти.

Определен обем информация по медицинска и клинична генетика трябва да получават всички специалисти на различни нива на здравеопазването – медицински сестри, акушерки, лекари, стоматолози, както на преддипломно, така и по време на следдипломното си образование. Очевидно тази информация трябва да съответства на мястото, което заема или предстои да заеме съответният специалист в системата на здравеопазването. Паралелно с това трябва да се организира обучение за специалисти по клинична генетика и геномика на лекари с основна медицинска специалност – педиатрия, АГ, вътрешна медицина, неврология, офталмология, УНГ болести и др., което продължава между 3 и 4 г. и се извършва в университетски клиники или регионални мултидисциплинарни генетични центрове.

Това е особено необходимо в ерата на прецизната медицина, нов модел на здравеопазване, който интегрира генетична информация, данни за микробиома и информация за среда и стил на живот на пациента, с оглед на по-добра идентификация и класифициране на болестния процес и предоставяне на подходящи терапевтични решения (4, 5).

СПЕЦИАЛИЗАЦИЯ ПО КЛИНИЧНА ГЕНЕТИКА ВЪВ ВЕЛИКОБРИТАНИЯ

Основни умения и знания

1. Добра клинична практика: анамнеза, обективно изследване, параклинични изследвания, назначения, лечение, вкл. време за изследване и вземане на решение
2. Процедури и манипулации: венепункция, кожна биопсия, клинична фотография
3. Умения за общуване и генетично консултиране
4. Формална генетика и основни научни знания
5. Най-чести показания за насочване към специалист по клинична генетика: изоставане в НПР, вродени аномалии (единични, множествени), хромозомни болести, дефекти на невралната тръба
6. Неврогенетика
7. Педиатрична генетика и дисморфология
8. Генетика на злокачествените заболявания
9. Пренатална диагноза и фетална дисморфология
10. Генетика на сърдечно-съдовите заболявания
11. Лабораторна генетика
12. Поддържане на доверие и професионално поведение
13. Етични и законови проблеми
14. Организация на генетичните служби за обслужване на населението
15. Обучение на пациентите и болестна профилактика
16. Отношения с колеги
17. Обучителни способности и образователен надзор
18. Научноизследователски интереси
19. Добре овладени клинични умения за практикуване на медицина, основана на доказателства.

ПЕДИАТРИЧНА ГЕНЕТИКА И ДИСМОРФОЛОГИЯ

Знания: познаване на показателите на нормално развитие и установяване на изоставане в развитието; обяснение на морфогенезата при деформация, малформация, дисрупция и дисплазия; познаване на честите и по-редките дисморфични синдроми.

Умения: Снемане на изчерпателна анамнеза и извършване на подробно физикално изследване. Фотодокументиране на основните патологични промени. Назначаване на подходящи изследвания при изоставане в развитието и/или дисморфичен синдром.

Определяне на ДД при неясни случаи. Критично използване на списания и база данни за синдром на идентификация. Обсъждане на случаи при несигурност и субективност на диагнозата. Способност за предоставяне на диагностична информация в рамките на мултидисциплинарна клинична група. Представяне и обсъждане с колеги на интересни пациенти.

Поведение:

- Да осъзнава важността на клиничното заключение, времето и такта при изясняване на диагнозата и информиране на родителите на дете със сериозни аномалии и увреждания.
- Да оценява емоционалните реакции на родителите при ранна диагноза на синдром или изоставане в развитието.
- Да оценява възможни неблагоприятни реакции на родители при промяна на предишна диагноза.
- Да осъзнава и обяснява на семейството, когато диагностичната дейност прекраща границата от чисто диагностичен към научноизследователски интерес и ограниченията, с които това е свързано (6).

ИЗИСКВАНИЯ НА АМЕРИКАНСКИЯ БОРД ПО МЕДИЦИНСКА ГЕНЕТИКА И ГЕНОМИКА (ABMGG) ЗА СПЕЦИАЛНОСТ ПО КЛИНИЧНА ГЕНЕТИКА:

Клиничен генетик може да бъде лице, което има:

- висше медицинско образование (MD);
- 2 г. специализация по основна клинична специалност в ABMGG-акредитирана клиника;
- 2 г. специализация по клинична генетика в ABMGG-акредитирана клиника (общо 4 г. клинична подготовка по специална клинична програма);
- притежава валидно медицинско свидетелство;
- има доказана компетентност за поставяне на обоснована генетична диагноза, лечение и консултативни умения при пациенти с вродени/наследствени болести (7).

КЛИНИЧНА ГЕНЕТИКА В УНГАРИЯ

Декрет на МЗ № 66/1999 г. регламентира създаването на специалност “Клинична генетика”, която може да бъде придобита от лица с висше медицинско образование без или с основна медицинска специалност и допълнително 2 г. обучение по клинична генетика:

- 6 мес. – педиатрия и АГ, вкл. интраутеринна диагностика;
- по 3 мес. цитогенетична, молекулярногенетична лаборатории;
- по 1.5 мес. генетика на вътрешни болести/генетично консултиране;
- дерматологична генетика/генетично консултиране;
- офталмологична генетика/генетично консултиране;
- неврогенетика/генетично консултиране (8).

КЛИНИЧНАТА ГЕНЕТИКА В РУСИЯ

През август 1989 г. беше направено преустройство на Федералния научен център по медицинска генетика (ФНЦМГ), в резултат на което бяха създадени два института: Институт по генетика на човека и Институт по клинична генетика.

Издаден е и учебник по клинична генетика: В. Н. Горбунова, Д. Л. Стрекалов, Е. Н. Суспицын, Е. Н. Имянитов. **Клиническая генетика: учебник для вузов, 2015.**

НАЦИОНАЛНИ И МЕЖДУНАРОДНИ ДРУЖЕСТВА И АСОЦИАЦИИ ПО КЛИНИЧНА ГЕНЕТИКА (DUTCH SOCIETY OF CLINICAL GENETICS, 2017).

- Дружества и асоциации по клинична генетика в САЩ: около 75, в различни области на клиничната генетика в щатите Maryland, Illinois, Washington, California и Florida.
- Европейски дружества по клинична генетика: повече от 52 във Великобритания, Франция, Холандия, Германия, Белгия, Италия и др. – научна активност, годишни конгреси, списания, бюлетени.
- Почти 32 дружества по клинична генетика в Азия, главно в Япония, Сингапур, Индия, Китай.
- Дружества по клинична генетика в Средния изток – 24 дружества и асоциации с редовни конгреси в Дубай и Абу Даби.
- През 2016 и 2017 г. тези дружества и асоциации са провели почти 150 национални и международни конгреса и конференции в различни части на света.

БГ ПРОГРАМА ЗА ОБУЧЕНИЕ ПО МЕДИЦИНСКА ГЕНЕТИКА (2016 Г.)

Медицинската генетика е клинична специалност, която обединява клинико-генетични, молекулярногенетични и геномни дисциплини. Медицинската генетика е в основата на нови, съвременни направления в медицината.

Изисквано базово образование за допускане до обучение по специалност "Медицинска генетика" – завършено висше образование по специалност „Медицина“ на образователно-квалификационна степен „Магистър“ и професионална квалификация „Магистър-лекар“.

ПРОГРАМА: Клинична генетика. Онкогенетика; Генетика на метаболитни заболявания; Генетика на развитието; Вродени анемии; Неврогенетика; Генетика на инфертилитета; Генетика на сърдечно-съдовите заболявания; Генетика на невро-мускулните заболявания; Генетика на инфекциозните заболявания; Генетика на имунологичните заболявания; Фармакогенетика и фармакогеномика; Морално-етични, психологични и правни аспекти на генетичната профилактика при човека; Други.

Основни различия с английската програма

- Обучението по клинична генетика (ниво ST3) изисква специалност по педиатрия, вътрешна медицина и друга основна специалност.
- То има продължителност между 2 и 4 г.
- Специализираният консултативен съвет (The Speciality Advisory Committee) включва като членове преподаватели, асистенти и обучаеми по специалността, както и мненията на Clinical Genetics Society, Royal College of Paediatrics and Child Health, както и мнения на пациентите, обобщени от техни представители в SAC.
- Приемът във всеки регионален обучителен център по Клинична генетика се определя съвместно с регионалните съветници по специалността "Клинична генетика" (Regional Specialty Advisors in Clinical Genetics).

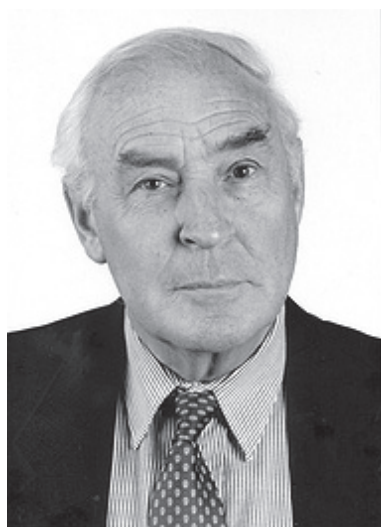
БГ ПРОГРАМА ЗА СПЕЦИАЛИЗАЦИЯ ПО ПЕДИАТРИЯ

VI. Дородова патология (лекционен курс, педиатрия)

1. Вродени заболявания – ембрио- и фетопатии
2. Генетични заболявания – обща характеристика
3. Хромозомни болести, свързани с автозомите
4. Хромозомни болести, свързани с гонозомите
5. Моногенни заболявания – АР, АД, Х-свързани
6. Най-чести наследствени болести на обмяната на веществата

7. Профилактика и лечение на пренатално обусловените болести
8. Медикогенетична консултация
9. Медицинска генетика и обмяна на веществата – 3 месеца (практическо обучение)

Тази програма не се отличава особено от програмата за студенти по медицина от V курс. Освен това 3-мес. практическо обучение протича формално, без контрол върху качеството на усвоените знания. Основен дефект на програмата е отсъствието на основния проблем на педиатричната генетика – клиничната дисморфология, както и етичните аспекти на клиничната генетика.



КЛИНИЧНАТА ГЕНЕТИКА В БЪЛГАРИЯ

Клиничната генетика в България е свързана с името на проф. Hans Galjaard, лекар със специалности по педиатрия и биохимична генетика, дългогодишен ръководител на Департамент по медицинска биология и генетика в университета Erasmus, Ротердам, с два основни отдела: по лабораторна генетика с акцент върху наследствените болести на метаболизма и по клинична генетика с ръководител проф. Ниермайер.

През 1982 г. по препоръка на проф. Galjaard като консултант на СЗО за България по 2 научни инфраструктурни проекта с „Фонд по народонаселението“, ООН (1980-1986), беше създадена секция „Клинична генетика“ към НИП с кадри на НИП (проф. Ш. Ниньо) и НИАГ (проф. Светославова).

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ НА СКГ

- Два амбулаторни клинични кабинета за деца и бременни жени в НИП и НИАГ;
- Клиника по генетика с 20 легла с интензивен сектор;
- Цитогенетична лаборатория;
- Лаборатория по наследствени болести на метаболизма;
- Лаборатория за тъканно култивиране;
- Клиничен психолог;
- Регионален регистър за вродени аномалии с членство в EUROCAT;
- Широкомасщабна амбулаторна и стационарна диагностично-лечебна дейност, вкл. генетично консултиране и пренатална диагноза при семейства с вродени/наследствени заболявания в тясно сътрудничество с колеги от НИАГ (проф. Хаджиев, д-р Василева, д-р Димитрова и др.);
- Активна образователна дейност с ежегодни курсове по различни проблеми на клиничната генетика с областните зав. генетични кабинети;
- Интензивна научноизследователска дейност с множество публикации у нас и в чужбина.

По-важни практически постижения

1. В рамките на Национална програма по генетика в СКГ бяха подготвени областни специалисти по клинична генетика.
2. С участие на представители на СКГ беше решен положително въпросът за ензимната заместителна терапия при болестта на Gaucher.



3. Регистър за ВА – София – популационната честота на ВА за 4-годишен период. Беше установено, че общата честота на единични/множествени вродени аномалии в района на София през периода 1996-1999 г. възлиза на $748/39\,124 = 1.91\%$. Уместно е да се напомни, че в тези данни не са включени по-голяма част от единичните ВА, които представляват около 2/3 от всички ВА.
 4. Пренатална диагноза и постнатално лечение/проследяване на пациенти с дефекти на коремната стена.
 5. Честота и клинично изследване на вродени аномалии на скелета.
 6. Значение на психологичните проблеми в клиничната генетика.
- Секцията по клинична генетика на НИП беше закрыта през 2001 г. без мотиви и предупреждение от ИД на педиатричната болница д-р Дренски (специалист по физиотерапия и курортология).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Клиничната генетика, като част от медицинската генетика, съществува от 1960 г. и е призната като отделна специалност в повечето страни по света.
2. Най-добро развитие и постижения в Европа КГ показва във Великобритания, Холандия, Франция, Германия, Дания, Унгария и др.
3. След 2001 г. има отстъпление в развитието на КГ в България с ликвидирането на СКГ и регистъра за ВА.
4. Ежедневната клинична практика показва сериозни пропуски по отношение на своевременна диагноза на вродени и наследствени болести при деца и възрастни, което се отразява неблагоприятно на лечението и генетичната профилактика на тази група патологични състояния.
5. Необходими са спешни мерки за съвременно обучение по КГ на всички нива медицински специалисти, във всички основни медицински специалности, вкл. създаване на система за обучение по КГ и на специалности по клинична и лабораторна генетика, в съответствие с международните стандарти.

Библиография

1. Harper P S. Recorded interviews with human and medical geneticists. Hum Genet. 2017; 136(2): 149–164.
2. Polani PE, Carter CO, Emery AEH et al. MRC/DHSS working group on genetic counselling and service implications of clinical genetics research: report. HMSO; London: 1979b. p. 24.
3. Polani PE. Medical and clinical genetics: their roots and challenge. Acta Genet. Med. Gemellol (Roma), 1996;45(1-2):127-36.
4. Scott McGrath, S., D. Ghera. Building towards precision medicine: empowering medical professionals for the next revolution. BMC Med Genomics. 2016; 9: 23.
5. Houwink EIJF. et al. Genetic educational needs and the role of genetics in primary care: a focus group study with multiple perspectives. BMC Fam Pract. 2011; 12: 5
6. Joint Royal Colleges of Physicians Training Board, Specialty training curriculum for Clinical Genetics, London, August 2012.
7. American Board of Medical Genetics and Genomics (ABMG) Training Options Updated August 4, 2017.
8. The Ministry of Health Decree 66/1999 (XII. 25.) The 'clinical genetics' qualification in Hungary.



ИЗИСКВАНИЯ КЪМ АВТОРИТЕ

Общи изисквания:

Изискванията към авторите на сп. „Съвременна медицина“ са съобразени с „Единните изисквания към ръкописите, представяни на биомедицинските списания: писане и редакция на биомедицинска публикация“, предложени през 2007 г. от международен комитет от редактори на медицински списания. (www.icmje.org). Приемат се за печат материали, които не са публикувани в писмен или електронен вид и не са дадени за печат в друго издание. Прилага се декларация (www.medunion-bg.org/subpagesspisanie.aspx?id=2). Всички съавтори следва да удостоверят съгласието си за публикация на предлагания материал. Авторът, посочен за контакт, е задължен да съгласува с всички съавтори препоръките за корекции. Авторите носят отговорност за съдържанието на публикациите. Представените материали и описаните в тях изследвания следва да съответстват на утвърдените етични стандарти относно провеждането на клинични и/или експериментални проучвания с хора и опитни животни. Не трябва да се упоменават пациенти с техните имена, инициали или снимков материал, на който могат да бъдат разпознати. Предложените материали се публикуват след одобряване и рецензиране от Редакционната колегия.

Технически изисквания:

Материалите се представят в електронен вид (e-mail, CD или USB-флаш, написани с името на първия автор и заглавието).

- За оригинална статия и кратко съобщение: **ВЪВЕДЕНИЕ**, **ЦЕЛ**, **МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ**, **РЕЗУЛТАТИ**, **ОБСЪЖДАНЕ**, **ИЗВОДИ**;
- Обзорите започват с **ВЪВЕДЕНИЕ**, а останалата част от текста се разделя структурно по преценка на авторите;
- **РЕЗЮМЕТАТА** към оригиналните статии, кратките съобщения и обзорите повтарят съответната структура;

Материалът е с включени заглавия, автори и работно място, резюмета, ключови думи, адрес за контакти (всичко дотук на български и английски език), текст и библиография.

Публикувани материали в рубриките:	Максимален обем страници:
Оригинални статии	12
Обзори	15
Кратки съобщения	5
Форум (писма до редакцията)	1

- **Заглавие** – без съкращения;
- **Автори** – фамилия и инициали на името. При автори, работещи на различни места, се използват цифрови индекси, поставени след фамилното име на съответния автор и пред наименованието на местоработата му (нов ред);
- **Резюме** – до 300 думи, обобщаващо най-същественото в оригиналната статия, обзора или краткото съобщение;
- **Ключови думи** – до 7-8, на български и на английски език;
- **Адрес за контакти** – име, пощенски адрес, телефонен номер и e-mail адрес (по желание) на отговорния автор;
- **Основен текст** – на български език. Желателно е да се избягват чуждиците, когато е възможно. Допуска се използването на общоприети съкращения, които следват цялостното наименование – там, където то се появява за първи път. Библиографските източници се цитират в края на съответното изречение, с поредния номер от библиографията, изписан в кръгли скоби. Мерните единици следва да са в системата SI.
- Илюстрациите включват таблици, схеми, формули (Power Point или Word), фигури, снимки JPEG или PDF формат;

- **Библиография** – изписване на оригиналния език и подредба според последователността на цитиране на източника в текста. За цитираната литература на български език се изброяват всички автори, а за тези на латиница – трима, следвани от et al. Препоръчително е цитиране на българските автори, работили в съответната област, и броят цитирани източници за обзорните материали да е между 30 и 60.
- **Статии от списание:** Автор(и). Заглавие на статията. Заглавие на списанието (съкратено по Index Medicus), година, том (volumen), номер на книгата (брой) в скоби, страници (от-до). *Пример:* Yakub YN, Freedman RB, Pabico RC. Renal transplantation in systemic lupus erythematosus. Nephron, 1981, 27(1), 197-201.
- **Публикации от сборник:** Автор(и). Заглавие. В: (за латиница In:) Заглавие на сборника. Поредност на изданието, редактори. Местоиздаване (град), издателство, година на издаването, страници (от-до). *Пример:* Wilkinson AH. Evaluation of the transplant recipient. In: Handbook of Kidney Transplantation. 2nd ed. G. M. Danovitch (Ed.). Boston, Little, Brown and Co., 1996, 109-122.
- **Книги:** Автор(и). Заглавие. Местоиздаване (град), издателство, година на издаването, страници (от-до). *Пример:* Шейтанов Й. Системни васкулити. С., ЦИМ, 1997, 8-11.
- **Благодарности** – в края на материала авторите могат да изкажат благодарност към лица или институции, които са допринесли интелектуално или са оказали техническа, материална или финансова помощ.

Статистическа обработка:

- Статистическите методи трябва да се описват достатъчно подробно, така че информираният читател, който има достъп до оригиналните данни, да може да провери представените резултати.
- Резултатите трябва да се представят количествено (когато е възможно) чрез подходящи индикатори за грешката на измерване или неопределеност (например доверителни интервали).
- Да се избягва използването единствено на р-стойности при проверката на хипотези, тъй като този подход не дава достатъчно количествена информация. Желателно е да се посочват точните р-стойности, заедно с подходящите доверителни интервали.
- Трябва да се посочва точно целевата популация, за която ще се отнасят изводите, както и критериите за подбор на участниците в експеримента. В този случай трябва да се посочи и начинът на рандомизация. Броят на измерванията (обемът на извадката) задължително се посочва и се обосновава начинът на изчисляването.
- Цитират се стандартни източници на подобни проучвания и статистическият анализ.
- Трябва да се посочат статистическите програми, с които е извършен анализът.
- При обобщаването на данните в раздел „Резултати“ трябва да се посочват и статистическите методи, използвани при анализа.
- Броят на таблиците и графиките да се ограничава до необходимия за списанието и аргументирането на резултатите.
- Да се избягва дублирането на информация (едни и същи данни, представени като таблица и фигура; в текста и в илюстрация; с повече от един тип анализ).
- Да се дефинират еднозначно използваните статистически термини, съкращения, символи.

Препоръчително е авторите (поне един от колектива) да подкрепят списанието чрез годишен абонамент в редакцията.