

Серии научно-практических рецензируемых журналов



Медицинский алфавит

26 (323) 2017



Modern
LABORATORY

MEDICAL ALPHABET
Russian Professional Medical Journal

Современная ЛАБОРАТОРИЯ

том № 3

**XXI ФОРУМ «НАЦИОНАЛЬНЫЕ ДНИ
ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ РОССИИ»**

20–22 сентября 2017 года
Москва, СК «Олимпийский»

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ И НАУЧНЫХ РАБОТ

Наш индекс в каталоге «РОСПЕЧАТЬ» 36228

www.medalfavit.ru

Биохимический автоматический анализатор EasyRA

ЛЕГКО НАУЧИТЬСЯ

УДОБНО РАБОТАТЬ

ПРОСТО ОБСЛУЖИВАТЬ

MEDICA
Products for Health Care



- 150 тестов в час или 340 тестов в час с блоком Na-K-Li-Cl
- Работа с наборами реагентов Medica Corporation
- Автопрограммирование методик (радиочастотная RFID-идентификация реагентных флаконов)
- Охлаждение реагентов на борту анализатора
- Объем реакционной смеси – 150 мкл
- Два отдельных дилютора – для проб и реагентов
- Импульсная ксеноновая лампа со сроком службы 5 лет
- Русифицированное программное обеспечение
- Сенсорный экран



АНАЛИТИКА
В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ С 1989 ГОДА

ЗАО «АНАЛИТИКА» • Москва
(495) 737 0363 • 748 1169
www.analytica.ru • info@analytica.ru

Анализатор EasyRA (MEDICA Corp., США) и расходные материалы к нему зарегистрированы в Росздравнадзоре
ЗАО «АНАЛИТИКА» – авторизованный поставщик продукции компании MEDICA Corp. в России

Коагулометры Tcoag Destiny

единственная в мире серия автоматических анализаторов с оптической и механической регистрацией сгустка

коагуляционные,
турбидиметрические
и хромогенные
тесты

анализ
иктеричных,
гемолизированных
и липемичных
проб

реакционный
объем
75 мкл

аттестованные
для Destiny
реагенты и
контрольные
материалы

Destiny Max

для централизованных
лабораторий



до 350 тестов ПВ в час • 100 проб • 50 реагентов

Destiny Plus

для лабораторий стационаров
и научных исследований



до 180 тестов ПВ в час • 50 проб • 31 реагент

Определяемые параметры

- АЧТВ, ТВ, ПВ, фибриноген
- факторы внешнего пути свертывания (II, V, VII, X)
- факторы внутреннего пути свертывания (VIII, IX, XI, XII)
- волчаночный антикоагулянт
- антитромбин III, протеин С, протеин S, антиплазмин, гепарин, плазминоген
- D-димер и другие тесты



Дистанционный сервисный мониторинг



АНАЛИТИКА
В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ С 1989 ГОДА

ЗАО «АНАЛИТИКА» • Москва
(495) 737 0363 • 748 1169
www.analytica.ru • info@analytica.ru

Коагулометры Destiny (Tcoag) зарегистрированы в Росздравнадзоре и сертифицированы Госстандартом. Все анализаторы производства компании Tcoag имеют Свидетельства об утверждении типа средств измерений. ЗАО «АНАЛИТИКА» — авторизованный поставщик продукции компании Tcoag (Ирландия) в РФ.

Надежность и безопасность в лабораторном секторе



- Взрывобезопасный объем для хранения взрывчатых и легковоспламеняемых веществ соответствует требованиям АTEX 95
- Электронный блок управления позволяет точно задать температуру хранения
- Наличие сигнализации: в случае изменения температуры или незакрытой двери, пропадания питания по сети (визуальная)
- Интегрированная регистрация и хранение данных по min\max температуре, случаях срабатывания сигнализации и пропадания питания
- RS 485 интерфейс и безпотенциальные контакты для дополнительной регистрации данных по температуре и сигнализации
- 1 точка калибровки обеспечивает точный контроль температуры хранения.



ООО «Либхерр-Русланд»
123104 Москва, Большой Палашевский пер. д. 13/2
+7 (495) 280-03-27, +7 (495) 280-03-76,
+7 (495) 280-03-28
www.lab.liebherr.com

LIEBHERR

Качество, дизайн и инновации



Председатель редакционного совета
журнала серии «Современная лаборатория»
Щербо Сергей Николаевич

Редакционная коллегия

Вавилова Татьяна Владимировна, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики и генетики ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

Гильманов Александр Жанович, д.м.н., проф., вице-президент Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики, зав. кафедрой биохимии и лабораторной диагностики ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа

Годков Михаил Андреевич, д.м.н., врач высшей категории, рук. отдела лабораторной диагностики ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского», г. Москва

Долгих Татьяна Ивановна, д.м.н., проф., зав. центральной научно-исследовательской лабораторией и руководитель академического центра лабораторной диагностики Омской государственной медицинской академии, г. Омск

Жуковский Александр Васильевич, д.м.н., проф., кафедры клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», г. Москва

Косырев Александр Борисович, к.м.н., доцент кафедры биохимии ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования», г. Москва, ген. директор ООО ТПО «Медиолаб», г. Москва

Падюков Леонид Николаевич, проф. отделения ревматологии медицинского отдела Каролинского института, Стокгольм, Швеция

Первушин Юрий Владиславович, к.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет», г. Ставрополь

Рысулы Мустафа Рысулович, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики Казахского национального медицинского университета имени С.Д. Асфендиярова (КазНМУ), президент Казахской ассоциации медицинской лабораторной диагностики (КАМЛАД), г. Алматы, Казахстан

Тарасенко Ольга Анатольевна, д.м.н., проф., зам. генерального директора ФГБУ ВНИИИМТ Росздравнадзора, врач высшей квалификационной категории

Терехина Наталья Александровна, д.м.н., проф., зав. кафедрой биохимии Пермской государственной медицинской академии им. акад. Е.А. Вагнера, г. Пермь

Шипулин Герман Александрович, к.м.н., рук. отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва

Щербо Сергей Николаевич, д.м.н., проф., вице-президент Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», г. Москва

Эмануэль Владимир Леонидович, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, директор научно-методического центра Минздрава России по молекулярной медицине на базе СПбГМУ им. И.П. Павлова, вице-президент Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики, гл. специалист-эксперт по клинической лабораторной диагностике Росздравнадзора по Северо-Западному федеральному округу, г. Санкт-Петербург

Editorial Board

Vavilova T. V., MD, DMSci, professor, North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg

Gilmanov A. V., MD, DMSci, professor, Bashkir State Medical University, Ufa

Godkov M. A., MD, DMSci, Research Institute of Emergency Medicine n. a. N. V. Sklifosovsky, Moscow

Dolgh T. I., MD, DMSci, professor, Omsk State Medical Academy, Omsk

Zhukotsky A. V., MD, DMSci, professor, Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow

Kosyrev A. B., PhD, associate professor, al Academy of Postgraduate Education, Mediоlab, Moscow

Padyukov L. N., professor of Karolinska Institute, Stockholm, Sweden

Pervushin Y. N., PhD, professor, Stavropol State Medical University, Stavropol

Rysuly M. R., MD, DMSci, professor, Kazakh National Medical University, president of Kazakh Medical Laboratory Diagnostics Association, Almaty, Kazakhstan

Tarasenko O. A., MD, DMSci Hygiene and Epidemiology Centre, Moscow

Teryokhina N. A., MD, DMSci, professor, Perm State Medical Academy n. a. acad. E. A. Wagner, Perm

Shipulin G. A., PhD, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow

Shcherbo S. N., MD, DMSci, professor, Russian National Research Medical University n. a. N. I. Pirogov, Moscow

Emanuel V. L., MD, DMSci, professor, First State Medical University of St. Petersburg n. a. I. P. Pavlov, St. Petersburg

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ НАШЕГО ИЗДАНИЯ!

Важная информация о форме цитирования материалов, опубликованных в журналах серии «Медицинский алфавит»

В связи с требованием РИНЦ об унификации цитирования ссылки на материалы журнала следует оформлять в строгом соответствии с указанным образцом:

Фамилия И. О. Название статьи. // Медицинский алфавит. — Год. — Том X, № X. — С. XX–XX.

Например: Имельбаева Э. А., Гильманов А. Ж. Особенности эритроцитарных антигенов // Медицинский алфавит. — 2014. — Том 2 («Современная лаборатория»), № 12. — С. 14–18.)

Вопросы об оформлении ссылок направляйте, пожалуйста, по адресу medalfavit@mail.ru.

СОДЕРЖАНИЕ

- 8 Мультиплексный анализ антинуклеарных антител в персонализированной диагностике системной красной волчанки
Е. Н. Александрова, Ж. Г. Верижникова, А. А. Новиков
- 9 Адгезивные и инвазивные свойства токсигенных штаммов *Corynebacterium diphtheriae*
Г. Г. Харсеева, А. А. Алиева, А. В. Лабушкина
- 9 Противогрибковая активность современных антимикотиков: критерии оценки
Н. С. Багирова, Н. В. Дмитриева
- 10 Нарушения метаболизма эритроцитов как факторы прогноза анемии у онкобольных
Е. М. Бакурова
- 11 Исследование активности аргиназы слюны на фоне рака легкого различных гистологических типов
Л. В. Бельская, В. К. Косенок
- 12 Исследование активности метаболических ферментов слюны при нейроэндокринных опухолях легкого различной степени злокачественности
Л. В. Бельская, В. К. Косенок
- 13 Характер распределения специфичностей HLA у пациентов с миелодиспластическим синдромом
Ж. К. Буркитбаев, С. А. Абдрахманова, И. Р. Рамильева, А. А. Турганбекова, Д. К. Баймукашева, Е. Б. Жибурт
- 14 Продукция гамма-интерферона (γ-ИФН) у взрослых и детей
Ж. П. Васнева, Л. В. Беляева
- 14 Сравнение аналитических характеристик и экономическое обоснование выбора анализаторов критических состояний
Л. Б. Гайкова¹, Н. Н. Зыбина², А. И. Ермаков¹
- 15 Направления совершенствования подходов к формированию профессиональных компетенций специалистов среднего звена лабораторной медицины
С. И. Георгиева, Д. С. Иванов, Н. Ф. Камаева, Ж. А. Ким, В. В. Кудрявцева, М. Б. Никитина, М. А. Смердова, Е. С. Фомина, Е. Ю. Хусаинова, Н. Н. Шмюнина
- 16 Ассоциативная взаимосвязь гена CTLA-4 с ранним назначением биологической терапии больным ранним активным ревматоидным артритом в исследовании «РЕМАРКА»
И. А. Гусева, Е. Л. Лучихина, Д. Д. Абрамов, Н. Е. Сорока, Н. В. Демидова, Е. Н. Александрова, А. А. Новиков, Е. Ю. Самаркина, Д. Ю. Трофимов, Д. Е. Каратеев, Е. Л. Насонов
- 17 Ошибки преаналитического этапа микробиологии и пути их минимизации
Л. С. Гусева
- 18 Мониторинг антибиотикотерапии в лабораторной практике
Е. С. Диковская
- 19 Возрастные особенности лабораторных маркеров остеопороза у женщин пожилого возраста
Л. П. Ефимова, Т. Ю. Винокурова, С. Л. Павленко, О. В. Липская, С. Д. Григорук
- 20 Лабораторные предикторы заболеваний желудочно-кишечного тракта, сопровождающихся нарушениями моторики, у детей
А. А. Зиганшина¹, В. С. Сухоруков², В. П. Булатов¹
- 21 Особенности биохимических показателей сыворотки крови, ассоциированные с носительством полиморфного гена CYP2C9 у пациентов с фибрилляцией предсердий, злоупотребляющих алкоголем
А. В. Индутьный, Д. Г. Новиков, Н. А. Трофимович
- 22 Фенотипические и функциональные особенности субпопуляций моноцитов при сепсисе
А. А. Калашикова, Л. В. Чиненова
- 23 Инновации в клинической биохимии как фундаментальная основа трансляционной медицины
В. С. Камышиников, Н. М. Литвинко, П. А. Киселев, Т. М. Юрага
- 24 Поиск онкомаркеров в некодирующей ДНК
А. Э. Кель
- 25 Референтные диапазоны для метода потоковой агрегатометрии тромбоцитов
И. М. Колесникова, Е. В. Ройтман
- 26 Патология антикоагулянтной системы у беременных с отягощенным акушерским анамнезом
Е. А. Королёва, В. А. Елыкомов
- 26 Нарушения гемостаза и их коррекция при патологии сосудов нижних конечностей
Е. А. Королёва, В. А. Елыкомов
- 27 Молекулярно-фармакологическое обоснование назначения повторной гормональной терапии при рецидиве эндометриоза яичников
Е. Н. Карева, Н. А. Коцюбинская, Л. С. Булатова, Е. В. Камагина
- 28 Чувствительность супрессорных Т-лимфоцитов к химиотерапии, облучению и операционному стрессу, применяемых при лечении колоректального рака
Е. Г. Кузьмина, Т. Ю. Мушкарина, Т. В. Константинова, О. Е. Ватин, В. Г. Курасова, Н. П. Сироткина, С. В. Зацаренко
- 29 Возможности скрининга семейной дислипидемии с использованием данных электронной медицинской карты
С. В. Кулешова, Л. О. Минушкина, Е. В. Моляренко
- 30 Использование предикторных биомаркеров здоровья в персонализированном подходе к комплектованию донорских кадров
Е. Р. Кулюцина, Т. В. Крылова, С. В. Железнякова, Е. В. Кривченкова
- 32 Информативность показателей различных методов оценки спонтанной агрегации тромбоцитов у доноров
Е. Р. Кулюцина, Т. В. Крылова, Е. В. Кривченкова, И. В. Шапошникова, И. Д. Глухова, Н. А. Новосельцева, Т. А. Хржановская
- 33 L-альфа-фукан-связывающие лектиновые системы пробиотических бактерий человека в оценке коммуникаций пробиотического компартмента микробиоценозов человека
М. В. Лахтин, В. М. Лахтин, С. С. Афанасьев, В. А. Алешкин
- 34 Ранние биопленки смешанных культур грамположительных и дрожжеподобных микроорганизмов человека в микропанели: прогностико-диагностический потенциал
М. В. Лахтин, В. М. Лахтин, А. Л. Байракова, С. С. Афанасьев
- 34 Иммунодиагностика белковых гормонов на примере ЭПО: подходы и перспективы
М. В. Лахтин, В. М. Лахтин, В. А. Алешкин, С. С. Афанасьев
- 35 Лектиновые системы здоровья
В. М. Лахтин, М. В. Лахтин, С. С. Афанасьев, В. А. Алешкин
- 37 Маркеры эндотелиальной дисфункции и воспаления у больных ишемическим инсультом различной тяжести в остром периоде
О. А. Левашова, И. Г. Золотарев, Н. И. Баранова, И. И. Кухтевич
- 37 Оценка фракции свободного кортизола в слюне у пациентов с различной адаптацией к стрессовому воздействию
Т. В. Лобачевская, С. А. Печальнова
- 38 Мониторинг морфофункционального статуса тромбоцитов человека в условиях окислительного стресса, индуцированного перекисью водорода
М. С. Макаров
- 39 Влияние витамина D на статус адипокинов в сыворотке крови беременных с ожирением
Е. Л. Макарова, Н. А. Терехина
- 40 Опыт модернизации и использования аллергологической диагностики *in vitro* в рамках клинко-диагностической лаборатории
В. А. Малков
- 41 Исследование кристаллогенных свойств мочи детей с дисметаболической нефропатией
А. К. Мартусевич, Л. М. Козлова, Л. К. Ковалева
- 42 Биокристаллоновые технологии в персонализации метаболической реабилитации пациентов с ожогами
А. К. Мартусевич, А. В. Разумовский
- 43 Влияние генно-инженерной биологической терапии на субпопуляции В-лимфоцитов больных системной красной волчанкой
А. А. Меснянкина¹, Е. Н. Александрова¹, С. К. Соловьев¹, А. П. Алексанкин¹, Е. А. Асеева¹, Е. Л. Насонов^{1,2}
- 44 Отдельные иммунопатогенетические аспекты канцерогенеза у лиц с хроническим гастритом
А. В. Москалев, А. С. Рудой

- 45 Динамика уровня иммунорегуляторных Т-клеток при химиолучевом лечении лимфопролиферативных заболеваний
Т.Ю. Мушкаркина, Е.Г. Кузьмина, Т.В. Константинова, Г.С. Неприна
- 46 Интерлейкин-6 в диагностике железодефицитного состояния у онкологических больных
Ю.А. Нестерова, Г.Н. Зубрихина, В.Н. Блиндарь, И.И. Матвеева
- 47 Связь полиморфизма С 677Т гена MTHFR (ALA222VAL) с уровнем гомоцистеина в крови женщин Самарской области
Г.В. Нижарадзе, Н.А. Колотьева, О.А. Балдина, О.В. Арчибасова
- 48 Лабораторные биомаркеры ревматоидного артрита: прошлое, настоящее и будущее
А.А. Новиков, Е.Н. Александрова, М.В. Черкасова
- 48 Информационные технологии в оценке липидного обмена у детей и подростков с сахарным диабетом I типа
А.И. Пиянзин, Д.Ю. Сидун, О.М. Назаркина, Л.А. Хворова, Т.И. Малахова, Е.А. Шарлаева, К.А. Левич, М.Р. Сапкина, О.В. Назаровская
- 49 Корреляционные связи лабораторных показателей у детей с заболеваниями почек
А.И. Пиянзин, Д.П. Налимов, Л.М. Новикова, Е.А. Мошкина³, М.И. Громова³, Е.Н. Жукова³
- 49 Возможности отдельных серологических тестов в диагностике нейросифилиса
Е.В. Пронькина, Ю.А. Иванова, И.В. Казанцев, А.Р. Эйрих, Г.М. Подгурский
- 50 Дифференциальная диагностика новообразований костей и содержание некоторых сывороточных цитокинов
Д.М. Пучиньян, Н.Н. Павленко, Г.В. Коршунов, Е.А. Галашина, Е.В. Глазкова
- 51 Кристаллоскопический мониторинг эффективности комплексной реабилитации пациентов с острыми нарушениями мозгового кровообращения в условиях регионального сосудистого центра
А.В. Разумовский, А.К. Мартусевич, М.М. Вереш, А.В. Дмитриченко
- 52 Использование показателей минерального обмена слезной и ротовой жидкостей детей для оценки эффективности лечения герпетической инфекции
С.Э. Реук, Н.А. Терехина
- 53 Будущее диагностики in vitro: приложения для смартфонов для количественного определения заданных параметров в кале и цельной крови у лежачих больных или в домашних условиях
Анжелика Роот
- 54 Анализ аллерген-специфических иммуноглобулинов классов Е и G4 на биологическом микрочипе
А.Ю. Рубина, Г.У. Фейзханова, О.В. Смолдовская, С.А. Волошин, А.С. Арефьева, Л.В. Павлушкина, Т.А. Филатова, Щербо С.Н.
- 55 Риск развития инфекционных осложнений, вызванных пневмоцистами, у реципиентов донорского сердца
Т.Н. Рыбалкина, Н.В. Каражас, Р.Е. Бошьян, П.А. Веселовский, Е.М. Бурмистров, Т.В. Крупенио, Н.И. Габриэлян
- 56 Изучение острофазных показателей у больных острым бруцеллезом
Н.С. Саркисян, Н.И. Ковалевич, И.В. Санникова, О.В. Махиня
- 57 Иммунологические изменения, выявляемые у пациентов с IgG4-связанным заболеванием
Е.В. Сокол, В.И. Васильев, Е.Н. Александрова
- 57 Дифференциальная диагностика тромбоцитозов
Н.А. Соколова, М.И. Савина
- 58 Биохимические показатели крови при эндогенной интоксикации в ранний период после термической травмы
А.Г. Соловьева, Н.В. Диденко, П.В. Перетягин
- 59 О модели реализации основных принципов непрерывного медицинского образования в существующей системе повышения квалификации врачей клинической лабораторной диагностики
С.Н. Суплютов, И.В. Пашкина
- 60 Роль рутинных показателей коагуляционного гемостаза в стадировании рака шейки матки
Т.В. Сушинская, Н.И. Стуклов, Ю.Э. Доброхотова, Р.М. Фрайтас Норона, А.А. Петренко
- 61 Комплексный подход к выявлению карбапенемаз грамтрицательных бактерий с применением новых методов
О.Г. Тимофеева, С.В. Поликарпова, Н.В. Пивкина, В.В. Балина, Н.А. Бондаренко, В.И. Вечорко
- 61 Молекулярные мишени и лечение немелкоклеточного рака легкого
Н.Е. Торопова, Е.В. Закамова
- 63 Анализ результатов определения мутаций в генах EGFR и BRAF у больных немелкоклеточным раком легкого в Самарской области
Н.Е. Торопова, Е.В. Закамова
- 64 Ненасыщенность липидов плазмы крови у детей, больных муковисцидозом
Т.И. Туркина, С.Н. Щербо, Е.В. Киселева
- 64 Резервный потенциал калликреин-кининовой системы крови и степень эндотелиальной дисфункции у больных гипертонической болезнью I и II стадии в зависимости от длительности заболевания
А.В. Удут, Г.Т. Каиров, Л.Ю. Котловская, В.В. Удут
- 65 Клинико-прогностическая значимость уровней липополисахаридсвязывающего протейна и лактата в крови пациентов с политравмой
И.М. Устьянцева, О.И. Хохлова, О.В. Петухова, Ю.А. Жевлакова
- 66 Цель, задачи и перспективы информатизации лабораторной службы (на примере многопрофильного центра)
И.М. Устьянцева, О.И. Хохлова
- 66 Роль вариабельности генов минеральной плотности костной ткани в развитии пролапса тазовых органов у женщин
М.Б. Хаджиева, С.В. Камоева, Л.Е. Сальникова
- 67 Ингибирование адгезии *Corynebacterium diphtheriae* к клеткам фарингеального эпителия her-2 при помощи иммуномодулятора полиоксидония
Г.Г. Харсеева, А.А. Алиева, Э.Л. Алутина, А.В. Лабушкина
- 67 Состояние иммунитета к дифтерии жителей Ростовской области на современном этапе
Г.Г. Харсеева, А.М. Рябова, Э.Л. Алутина
- 68 Молекулярные маркеры контроля болевого синдрома при терапии больных остеоартрозом
Е.В. Четина, Г.А. Маркова, Е.А. Таскина, Е.П. Шарапова, Н.Г. Кашеварова, Л.И. Алексеева, С.А. Макаров
- 69 Иммунофенотипическая характеристика субклона циркулирующих опухолевых плазматических клеток у больных с плазмодитомой при множественной миеломе
Ю.Ю. Чуксина, К.А. Белоусов, Т.А. Митина, А.К. Голенков
- 70 Особенности изменения С-реактивного белка в крови при сепсисе у детей с ожогами
Н.П. Шень, Д.В. Сучков, С.Н. Суплютов, С.Ю. Мухачева
- 70 Инфекция, вызванная вирусом простого герпеса человека I типа, у больных туберкулезом органов дыхания
А.М. Шибанов, В.А. Стаханов, Н.В. Каражас, Т.Н. Рыбалкина
- 71 Влияние плотности эритроцитов на частоту геморрагических эпизодов у больных гемофилией
Е.С. Шуркина, М.Д. Санатко, Е.П. Феоктистова, Н.И. Зозуля, В.Н. Двирнык
- 72 Медицина 5 «П» — основа новой национальной системы здравоохранения
С.Н. Щербо, Д.С. Щербо
- 73 Прецизионная медицина. Мобильное и цифровое здравоохранение
С.Н. Щербо, Д.С. Щербо, М.Ю. Кралин, В.А. Беспалова, М.И. Савина, Т.И. Туркина
- 76 Подписка

XXI ФОРУМ «НАЦИОНАЛЬНЫЕ ДНИ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ РОССИИ»

20–22 сентября 2017 года
Москва, СК «Олимпийский»

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ И НАУЧНЫХ РАБОТ

Мультиплексный анализ антинуклеарных антител в персонализированной диагностике системной красной волчанки

Е. Н. Александрова, Ж. Г. Верижникова, А. А. Новиков

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии
имени В. А. Насоновой», г. Москва

Multiplex analysis of antinuclear antibodies in the personalized diagnosis of systemic lupus erythematosus

E. N. Aleksandrova, Zh. G. Verizhnikova, A. A. Novikov
Scientific and Research Institute for Rheumatology n.a. V. A. Nasonova,
Moscow, Russia

Системная красная волчанка (СКВ) — системное аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся поликлональной активацией В-клеток и гиперпродукцией широкого спектра аутоантител к различным компонентам клеточного ядра и цитоплазмы, вызывающих иммуновоспалительное повреждение тканей и внутренних органов. Антинуклеарные антитела (АНА) являются основным серологическим маркером СКВ.

Цель. Изучить диагностическое и прогностическое значение мультиплексного иммунного анализа (МИА) АНА (антител к двухспиральной — дс ДНК, Sm, SS-A/Ro, SS-B/La антигенам, нуклеосомам, рибосомальному белку Р — RibP и рибонуклеопротену — РНП-70) при СКВ в сопоставлении с классическими униплексными методами определения АНА (непрямой реакцией иммунофлюоресценции на Нер-2 клетках НРИФ-НЕР-2 и иммуноферментным анализом ИФА).

Материалы и методы. Обследованы 94 пациента с достоверным диагнозом СКВ (критерии SLICC 2012 г.) (80 женщин и 14 мужчин) в возрасте 35,9 (16,0–65,0) года с длительностью заболевания 113,5 (2,0–576,0) месяца. Активность заболевания по шкале SLEDAI-2K составляла 9,7 (0–40) балла, индекс повреждения SLICC/ACR Damage Index (ИП) соответствовал 1,6 (0–18) балла. В группу сравнения вошли 70 больных: 10 с синдромом Шегрена, 16 с системной склеродермией, 10 с ревматоидным артритом, 14 с полимиозитом и дерматомиозитом, 10 с анкилозирующим спондилитом, 10 с остеоартритом. Контрольную группу составили 30 здоровых доноров.

АНА в сыворотке крови определяли тремя методами: 1) НРИФ-НЕР-2 с помощью автоматизированной системы AKLIDES (Medipan GmbH, Германия); 2) ИФА на анализаторе Alegria (Orgentec, Германия); 3) МИА с использованием суспензионных микрочипов (технология xMAP, BioPlex® 2200 ANA Screen, Laboratories Inc. Hercules, США). Позитивные результаты измерения АНА соответствовали значениям: >1:160 (НРИФ-НЕР-2), >1,3 у.е. (для скрининга АНА, ИФА); ≥25 МЕ/мл (для антиген-специфических АНА, ИФА); ≥1,0 ЕД (для скрининга АНА, МИА). Позитивные значения для антител к дсДНК составляли ≥20,0 МЕ/мл (ИФА) и ≥10,0 МЕ/мл (МИА).

Результаты. При скрининговом исследовании АНА в сыворотке крови степень согласованности результатов (а) между НРИФ-НЕР-2 и ИФА (0,438), НРИФ-НЕР-2 и МИА (0,426) была ниже, чем у ИФА и МИА (0,726). У больных СКВ скрининговое определение АНА методом НРИФ-НЕР-2 показало более высокую диагностическую чувствительность (ДЧ) по сравнению с ИФА и МИА (96,8, 79,8 и 82,9 % соответственно, $p < 0,05$). При использовании НРИФ-НЕР-2 ложноотрицательные результаты скринингового исследования АНА регистрировались у 3 % больных СКВ, ИФА у 20 %, МИА у 17 %. Диагностическая специфичность (ДС) скринингового определения АНА методом НРИФ-НЕР-2 была ниже таковой у ИФА и МИА (40, 70 и 57 % соответственно, $p < 0,05$). Исследование АНА к смеси из 26 ядерных антигенов методом ИФА являлось «полезным» лабораторным тестом для диагностики СКВ (отношение правдоподобия отрицательного результата — ОППР: 2,66). По уровню отношения правдоподобия отрицательного результата (ОПОР) НРИФ-НЕР-2 была более информативным тестом для исключения диагноза СКВ, чем методы ИФА и МИА (0,08; 0,29 и 0,3 соответственно).

Степень согласованности между ИФА и МИА при определении антител к дсДНК, Sm, РНП-70, Ro/SS-A (52/60 кДа), La/SS-B была «хорошей» (карра = 0,567; 0,673; 0,775; 0,816; 0,777 соответственно). ИФА обладает высокой ДС при выявлении антител к дсДНК (94 %), Sm (97 %) и РНП-70 (94 %). При использовании ИФА самыми «полезными» маркерами для диагностики СКВ служат антитела к дсДНК и Sm (ОППР: 11,50 и 7,10). МИА антиген-специфических АНА показал, что антитела к дсДНК, Sm и RibP имеют высокую ДС (95–99 %) и ОППР (9,67–15,0), т.е. являются наиболее «полезными»

диагностическими тестами, а антитела к РНП-70, SS-A/Ro и нуклеосомам относятся к категории «полезных» тестов для диагностики СКВ (ДС: 84–95%, ОППР > 2,0). Определение профилей из трех и более антиген-специфических АНА с помощью МИА повышает ДС метода до 98–100%, а ОППР до максимальных значений. Профили из семи субтипов АНА (антител к дсДНК, Sm, RibP, SS-A/Ro, SS-B/La, нуклеосомам и РНП-70; 57,9%, 71,9%, 82,5%, 61,4%, 84,2%, 50,9%, 84,2%) обнаружены при хроническом варианте течения СКВ. При остром течении заболевания одновременно выявляются четыре субтипа АНА (антитела к дсДНК, Sm, SS-A/Ro и нуклеосомам; 77,3%, 45,5%, 40,9% и 72,7%); при подостром течении — два субтипа АНА (антитела к дсДНК и нуклеосомам; 53,3% и 46,7%). По данным МИА, индекс активности заболевания SLEDAI-2К положительно коррелирует с концентрацией антител к дсДНК ($r = 0,55$; $p < 0,05$), нуклеосомам ($r = 0,65$; $p < 0,05$), RibP ($r = 0,32$; $p < 0,05$) и Sm ($r = 0,36$; $p < 0,05$) в крови. Не обнаружено достоверной взаимосвязи между продукцией различных субтипов АНА и ИП. Поражение кожи и слизистых оболочек, почек, ЦНС наиболее часто ассоциируется с обнаружением антител к дсДНК (53,2–64%), нуклеосомам (55,3–66,0%), SS-A/Ro (38,0–40,4%) и Sm (27,8–36,2%).

Выводы. Определение АНА методом НРИФ-Нер-2 служит эталонным скрининговым тестом для диагностики СКВ. ИФА и МИА целесообразно использовать как подтверждающие рефлекс-тесты, позволяющие определять антиген-специфические АНА у больных СКВ с положительными результатами НРИФ-Нер-2. Одновременное исследование профилей из трех и более разновидностей АНА методом МИА повышает специфичность диагностики СКВ. С помощью МИА при хроническом варианте течения СКВ выявляется более широкий профиль АНА, чем при остром и подостром течении заболевания. Активность СКВ положительно коррелирует с профилем АНА, включающим антитела к дсДНК, нуклеосомам, RibP и Sm. Поражение кожи, слизистых оболочек, почек и ЦНС при СКВ ассоциируется с обнаружением профиля антител к дсДНК, нуклеосомам, SS-A/Ro и Sm. Исследование профилей АНА, основанное на применении мультиплексной технологии xMAP, является важным инструментом для реализации персонализированного подхода к диагностике, оценке активности, характера течения и клинко-иммунологических субтипов СКВ.

Адгезивные и инвазивные свойства токсигенных штаммов *corynebacterium diphtheriae*

Г. Г. Харсеева, А. А. Алиева, А. В. Лабушкина

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

Adhesive and invasive properties of toxigenic strains of *C. diphtheriae*

G. G. Kharseeva, A. A. Alieva, A. V. Labushkina
Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Цель. Выявление и сравнительный анализ адгезивной и инвазивной активности типовых и биопленочных культур различных токсигенных штаммов *C. diphtheriae*.

Материалы и методы. Исследованы адгезивные и инвазивные свойства типовых и биопленочных (120- и 720-часовых) культур токсигенных штаммов *C. diphtheriae* на культуре клеток карциномы фарингеального эпителия Нер-2.

Результаты. Способность к адгезии типовых культур всех токсигенных штаммов коринебактерий увеличивалась к 8-му и 18-му часу культивирования, причем динамика их инвазивных свойств коррелировала с адгезией. Наиболее выраженный адгезивно-инвазивный потенциал обнаружили у циркулирующего штамма *C. diphtheriae gravis tox*⁺. Процессы адгезии превалировали над инвазией у штаммов *C. diphtheriae gravis tox*⁺ № 6765, *C. diphtheriae gravis* с «молчащим» *tox*-геном и *C. diphtheriae mitis tox*⁺ № 269. При формировании биопленки адгезивность коринебактерий увеличивалась, а инвазивность резко снижалась.

Выводы. Все исследованные токсигенные штаммы *C. diphtheriae* обладали адгезивной и инвазивной активностью. Наиболее выражены эти свойства были у циркулирующего штамма *C. diphtheriae gravis tox*⁺.

Противогрибковая активность современных антимикотиков: критерии оценки

Н. С. Багирова, Н. В. Дмитриева

ФГБУ «Российский онкологический научный центр имени Н. Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва

Antifungal activity of modern antimycotics: evaluation criteria

N. S. Bagirova, N. V. Dmitrieva
Russian Oncological Scientific Centre n.a. N. N. Blokhin, Moscow, Russia

Терапия инвазивных грибковых инфекций (ИГИ) претерпела значительные изменения за последние несколько лет вследствие появления новых антифунгальных препаратов системного действия (АФС). Возможность выбора противогрибкового средства обеспечивает различные подходы к терапии ИГИ в каждом конкретном случае. Появление резистентных штаммов грибов к АФС диктует дифференцированный подход к лечению ИГИ не только в зависимости от географического региона, но и от профиля конкретного лечебного учреждения. В связи с этим определение чувствительности грибов к АФС приобретает все большее значение. Корректное определение и оценка минимальной ингибирующей концентрации (minimal inhibitory concentration, MIC) препарата в каждом конкретном случае существенно влияет на тактику выбора терапии. При этом необходимо особое внимание обращать на критерии оценки значений MIC, используемые в рутинной практике лабораторий клинической микробиологии. Увеличение количества ИГИ, широкое назначение антифунгальных препаратов и рост резистентности к ним — вот основные причины необходимости тестирования чувствительности грибов к существующим противогрибковым средствам.

В настоящее время усилиями международных организаций методы определения чувствительности грибов *in vitro* к антимикотикам стандартизированы, что является важным условием корректной оценки получаемых результатов, эпидемиологического контроля, адекватной

терапии и профилактики. Результаты тестирования *in vitro* часто используют для выбора подходящего препарата, но не всегда при этом можно ожидать клинической эффективности. Несмотря на это, результаты, полученные *in vitro*, служат хорошим вероятностным ориентиром в том, какие препараты наименее эффективны. Существуют два признанных международных стандартных метода определения чувствительности *Candida spp.* к антифунгальным препаратам: методы и рекомендации, разработанные CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, Институт клинических и лабораторных стандартов) и методы и рекомендации, разработанные EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Европейский комитет по тестированию антимикробной чувствительности). Эти методы обеспечивают рекомендации по определению и оценке получаемых значений MIC не ко всем антимикотикам и видам кандид: нет стандартов в отношении оценки значений MIC для позаконазола и *C. albicans*, позаконазола, вориконазола и *C. glabrata*, позаконазола и *C. tropicalis*, *C. krusei* и *C. parapsilosis*. Отсутствуют стандарты для редких видов кандид. Кроме того, стандарты CLSI и EUCAST различаются, хотя в последнее время наметилась тенденция к синхронизации этих стандартов. Тестирование и оценка резистентности грибов к АФС основаны на определении клинических пограничных значений (CBP, clinical breakpoints) для АФС. До недавнего времени рекомендуемые значения CBP для оценки уровня резистентности к тому или иному препарату не учитывали видоспецифические особенности грибковых возбудителей, но в настоящее время проведена коррекция CBP именно с учетом видоспецифичности грибов. Несколько лет назад было введено понятие эпидемиологических пограничных значений (ECOFF, epidemiological cutoff value) с целью своевременного прогнозирования развития резистентности в популяции определенного вида. ECOFF служит своеобразной эпидемиологической меткой, которая разделяет «дикие» и госпитальные штаммы, обеспечивает более целенаправленный отбор штаммов для исследования механизмов резистентности с помощью молекулярных методов. Следует заметить, что ECOFF не предназначены для использования в качестве подтверждения чувствительности или резистентности *in vivo*, но прогнозировать снижение чувствительности к АФС возможно, если MIC > ECOFF. Процесс, используемый для установления определенных значений ECOFF для каждого класса противогрибковых средств, а также изучение связи с мутациями или иными приобретенными механизмами резистентности (если они известны) находятся под пристальным вниманием специалистов. Установлено, что уровень резистентности *C. glabrata* в отношении флуконазола и эхинокандинов требует постоянного мониторинга, поскольку резистентность *C. glabrata* к эхинокандинам за последние годы выросла в три раза, и фенотипы устойчивости связаны с мутациями в генах *fkс*. Глобальная программа эпиднадзора, опирающаяся на молекулярную идентификацию, определение механизмов резистентности привели к накоплению достаточного количества данных, которые дают более четкое представление об изменении структуры возбудителей ИГИ, о частоте регистрации штаммов со сниженной

чувствительностью, о появлении редких видов грибов. Также стало ясно, что установленные ранее пограничные значения MIC для CBP и доступных противогрибковых препаратов нуждаются в пересмотре и усовершенствовании. Введение в практику ECOFF позволяет проводить мониторинг чувствительности кандид к антимикотикам и улучшить прогноз эффективности профилактики и терапии инвазивных кандидозов.

Основной целью любого тестирования антимикробного действия препарата *in vitro* является прогноз возможного влияния проводимой терапии на исход инфекционного осложнения, определение терапевтического потенциала и спектра активности новых, недавно разработанных препаратов. Таким образом, введение в практику клинических пограничных значений с учетом видоспецифических особенностей грибковых возбудителей, а также эпидемиологических пограничных значений как маркеров своевременного выявления снижения чувствительности в популяции определенного вида грибов трудно переоценить. Совершенствование методов тестирования и оценки значений MIC имеет большое значение и является важным условием корректной оценки, получаемой *in vitro* информации, мониторинга резистентности и выбора адекватной и своевременной антифунгальной терапии.

Нарушения метаболизма эритроцитов как факторы прогноза анемии у онкобольных

Е. М. Бакурова

Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького, г. Донецк, Украина

Erythrocytes metabolism disorders as prognostic factors of oncological patients anemia development

E. M. Bakurova

Donetsk National Medical University n.a. M. Gorky, Donetsk, Ukraine

Функциональное состояние эритроцитов и сохранность их газотранспортных свойств взаимосвязаны с индивидуальными патоморфологическими особенностями опухоли. Развитие гемической гипоксии может способствовать формированию агрессивных форм рака. Дисметаболические процессы в эритроците обуславливают развитие «синдрома старения» и ранней элиминации эритроцитов из-за нарастания количества их патологических форм. Это создает нагрузку на эритропоэз, а в конечном счете, способствует развитию анемии. Угнетение эритропоэза и развитие анемии — грозное осложнение, влияющее на прогноз выживаемости больного. Комбинированная химиолучевая терапия, широко применяемая в клинической практике, оказывает токсическое действие на клетки организма. При этом частота развития анемии составляет 50% и более, возрастая с числом курсов, ухудшая прогноз и эффективность лечения. Дисметаболические процессы в эритроцитах могут стать ранними маркерами данных осложнений, что позволит эффективнее проводить профилактику развития анемии. Супероксиддисмутаза (СОД), глутатионпероксидаза (ГПО) — ферменты-антиоксиданты, инактивирующие супероксидный анион-радикал,

перекись водорода (H_2O_2) в эритроцитах. Также ГПО обезвреживает перекиси жирных кислот, предохраняя мембраны эритроцитов от гемолиза. Известно о протекторной роли внеклеточного аденозина, защищающего эндотелий от токсического воздействия H_2O_2 , которая провоцирует развитие эндотелиальной дисфункции у онкологических больных. Важным для газотранспортной функции эритроцита является стимуляция аденозином образования 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ), облегчающего доставку кислорода в ткани. Контроль за внутрисосудистыми уровнями аденозина и его клеточными эффектами осуществляет аденозиндеаминаза (АДА) — фермент его деградации.

Цель исследования. Установить особенности активности СОД, ГПО, АДА, содержание 2,3-ДФГ в эритроцитах больных распространенными формами рака различных локализаций.

Материалы и методы. Исследования проводили до начала адьювантной ХТ в эритроцитах крови 28 больных раком легких (РЛ), 16 — раком желудка (РЖ), 22 — раком кишечника (РК) $\text{T}_{3-4}\text{N}_x\text{M}_0$ стадий, не имевших анемии. Возраст пациентов 50–79 лет. В контрольную группу включили 25 условно здоровых человек того же возраста. Отмытые эритроциты лизировали по стандартной методике. В исследованиях использовали спектрофотометрический метод. Для определения активности СОД изучали кинетику окисления адреналина. ГПО активность оценивали по изменению содержания восстановленного глутатиона, определяя окрашенные в желтый цвет его производные соединения с 2-нитро-5-тиобензоатом. По снижению оптической плотности аденозина определяли активность АДА. Также исследовали уровни 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ). Концентрацию белка определяли методом Лоури. Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием лицензионных программ MedStat (Альфа) и Statistica 5.5 (StatSoft). При анализе данных для оценки генеральной совокупности использовались стандартные характеристики.

Результаты. Установлено повышение активности эритроцитарной СОД. При РЛ до $0,86 \pm 0,36$ ммоль/мин·мг; при РЖ до $0,93 \pm 0,38$ ммоль/мин·мг; при РК до $0,59 \pm 0,28$ ммоль/мин./мг. Вероятно, это связано с нарастанием уровней супероксидного анион-радикала в эритроцитах. По активности ГПО группы больных были неоднородны. У части больных (11 пациентов [17%] из общей выборки) ГПО эритроцитов не отличалась от контроля ($5,30 \pm 0,87$ и $6,53 \pm 1,13$ нмоль/мин./мг). У остальных выявлено достоверное снижение активности ГПО эритроцитов ($p < 0,01$), составившей при РЛ $1,34 \pm 0,77$ нмоль/мин./мг, при РЖ и РК $1,66 \pm 1,20$ и $1,73 \pm 1,18$ нмоль/мин./мг. Снижение активности ГПО может быть результатом окисления сульфгидрильных групп и свидетельствовать о дисбалансе активности ферментов-антиоксидантов. Параллельно установлено достоверное снижение активности АДА ($p < 0,05$). При РЛ $93,36 \pm 34,10$ нмоль/мин./мг (контроль $170,64 \pm 24,80$ нмоль/мин./мг), при РЖ и РК $85,32 \pm 35,09$ и $128,78 \pm 34,89$ нмоль/мин./мг. При этом в эритроцитах с дисметаболическими нарушениями регистрировали повышение уровней продукции 2,3-ДФГ по сравнению с контролем ($11,98 \pm 3,16$ по сравнению с $5,23 \pm 2,22$ мкмоль/мл, $p < 0,05$). Установлен-

ные нарушения метаболизма эритроцитов у больных раком различных локализаций распространенных стадий, вероятно, универсальны. Указывают на дисфункцию антиоксидантов и избыток H_2O_2 , что ведет к окислению гемоглобина. Также о напряженности транспорта газов указывает низкая активность АДА, способствующая сохранению уровней аденозина, и повышенное образование 2,3-ДФГ.

Выводы. Активность ГПО и АДА — маркеры дисфункции эритронов еще на доанемическом этапе. Они свидетельствуют о повышении риска внутрисосудистого гемолиза эритроцитов и нарушениях транспорта газов.

Исследование активности аргиназы слюны на фоне рака легкого различных гистологических типов

Л. В. Бельская, В. К. Косенок

ФГБОУ ВО «Омский государственный технический университет», ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России; г. Омск

Study of activity of saliva arginase against background of lung cancer of different histological types

L. V. Bel'skaya, V. K. Kosenok

Omsk State Technical University, Omsk State Medical University; Omsk, Russia

Аргиназы — высококонсервативное семейство двухъядерных марганецсодержащих ферментов, которые катализируют гидролиз L-аргинина с образованием орнитина, который является предшественником полиаминов и пролина, и мочевины — продукта детоксикации катаболизма белков. Исследования последних лет убедительно демонстрируют решающую роль аргиназы в иммунологии опухоли. Целый ряд различных типов опухолей не способны синтезировать аргинин и, как следствие, очень чувствительны к аргинин-разрушающим ферментам, в частности к аргиназе. В связи с этим в настоящее время ингибиторы аргиназы широко используются в терапии онкологических заболеваний.

Показатели метаболизма аргинина, в частности, активность аргиназы и содержание оксида азота, традиционно можно определять в сыворотке и плазме крови, однако существует возможность использования смешанной слюны в качестве субстрата. Исследование слюны по многим клинико-биохимическим показателям имеет преимущества по сравнению с рутинными методами лабораторной диагностики с использованием крови, полученной из пальца или из вены. Это прежде всего обуславливается простотой и удобством сбора, неинвазивностью, безболезненностью процедуры, а также отсутствием риска инфицирования при получении биоматериала. При этом слюна адекватно отражает биохимический статус и физиологическое состояние человека. Этот биоматериал широко используется не только в клинической практике, но и при гигиенических и токсикологических исследованиях, а также для изучения фармакодинамики лекарственных средств и в специальных научных целях.

Цель работы. Изучение активности аргиназы и уровня оксида азота в слюне больных раком легкого (РЛ) для обоснования возможности применения данного показателя в клинической лабораторной диагностике.

Материалы и методы. В исследование включены 73 пациента Клинического онкологического диспансера г. Омска и 100 практически здоровых человек, выбранных в качестве контрольной группы. Средний возраст больных составил $58,5 \pm 0,9$ года для основной группы, $49,4 \pm 4,7$ года для контрольной группы. Основная группа включала 73 больных раком легкого с различными гистологическими типами (плоскоклеточный рак — 30, мелкоклеточный рак — 11, аденокарцинома — 32) и формой роста (центральный — 21, периферический — 50, медиастинальная форма — 2). В качестве материала для биохимических исследований использовали слюну. Определение активности аргиназы слюны проводили по методу В. А. Храмова, интенсивность синтеза оксида азота оценивали по содержанию стабильных продуктов его окисления — нитрат-ионов. Статистический анализ полученных данных выполнен при помощи программы Statistica 10.0 (StatSoft) непараметрическим методом с использованием U-критерия Манна-Уитни. Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25-го и 75-го перцентилей [LQ; UQ]. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Установлено, что активность аргиназы в слюне больных РЛ с статистически достоверно выше, чем для контрольной группы (23,67 [9,84; 57,36] и 13,12 [8,95; 23,05] мкмоль орнитина/ч/мл соответственно). Известно, что ферменты аргиназы и NO-синтаза конкурируют между собой за общий субстрат — L-аргинин, в связи с чем активность аргиназы и содержание оксида азота должны изменяться разнонаправленно, что и было установлено по результатам проведенного эксперимента. Аргиназа не только может ограничивать синтез NO, но повышает синтез полиаминов и пролиферацию клеток. Для контрольной группы соотношение аргиназа/NO составило 0,28, тогда как при РЛ — 0,55. Расчет коэффициента корреляции по Спирмену подтвердил наличие отрицательной корреляционной связи между активностью аргиназы и содержанием NO ($r = -0,4064$; $p < 0,05$).

Следует отметить, что максимальное повышение активности аргиназы соответствует начальным стадиям заболевания, равномерно уменьшаясь при переходе от локальных стадий к местно-распространенным (42,91 [8,33; 82,45], 33,95 [7,98; 54,61], 23,76 [18,26; 79,43] и 14,72 [10,11; 15,25] мкмоль орнитина/ч/мл при переходе от $T_1N_{0-3}M_{0-1}$ к $T_4N_{0-3}M_{0-1}$). Такая же тенденция наблюдается на фоне регионарного метастазирования, так при N_0M_{0-1} активность аргиназы составила 40,60 [20,04; 79,43], тогда как при N_3M_{0-1} — 15,25 [9,57; 41,13] мкмоль орнитина/ч/мл. Однако при наличии отдаленного метастазирования активность аргиназы незначительно увеличивается.

Дополнительно проведено определение активности аргиназы в зависимости от гистологического типа РЛ и формы роста опухоли. Показано, что максимальная активность характерна для аденокарциномы (34,22 [8,87; 75,18] мкмоль орнитина/ч/мл), тогда как для плоскоклеточного и мелкоклеточного РЛ она примерно одинакова (21,81 [13,03; 80,76] и 21,90 [9,57; 41,13] мкмоль орнитина/ч/мл соответственно). При периферической форме роста активность аргиназы существенно выше, чем при центральной (27,13 [8,51; 54,96] и 16,76 [10,82; 57,80] мкмоль орнитина/ч/мл соответственно).

Выводы. Проведенные исследования показывают принципиальную возможность определения показателей метаболизма аргинина по смешанной слюне человека. Установлено статистически достоверное увеличение активности аргиназы в слюне больных РЛ, при этом максимальные различия с контрольной группой характерны для ранних стадий заболевания, что важно для своевременной диагностики заболевания. Выявлен дисбаланс активности аргиназы и содержания оксида азота в слюне больных РЛ, который может служить важным диагностическим и прогностическим критерием. Перспективными направлениями практического применения полученных результатов могут являться ранняя диагностика онкологических заболеваний, контроль возникновения рецидива, а также оценка ответа на получаемое лечение.

Исследование активности метаболитических ферментов слюны при нейроэндокринных опухолях легкого различной степени злокачественности

Л. В. Бельская, В. К. Косенок

ФГБОУ ВО «Омский государственный технический университет», ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России; г. Омск

Investigation of metabolic salivary enzymes activity in neuroendocrine lung tumors of various degrees of malignancy

L. V. Bel'skaya, V. K. Kosenok

Omsk State Technical University, Omsk State Medical University; Omsk, Russia

Группа нейроэндокринных опухолей (НЭО) объединяет относительно редко встречающиеся эпителиальные новообразования, которые обладают способностью синтезировать биологически активные вещества и пептидные гормоны. Наиболее часто новообразования данного типа возникают в различных отделах пищеварительного тракта и бронхопульмональной системе. Среди всех нейроэндокринных новообразований 25–30 % составляют НЭО легкого. В соответствии с современными представлениями, НЭО легкого различают по степени злокачественности (G): низкая (типичные карциномы, G1), промежуточная (атипичные карциномы, G2) и высокая степень злокачественности (мелкоклеточный и крупноклеточный рак легкого, G3).

Перспективным направлением является исследование особенностей метаболитических процессов при раке легкого, в частности активности ряда ферментов. Активность ферментов традиционно определяют в сыворотке и плазме крови, однако перспективным является использование в качестве субстрата слюны.

Цель работы. Изучение активности метаболитических ферментов в слюне пациентов с НЭО легкого разной степени злокачественности.

Материал и методы. В исследовании случай — контроль приняли участие добровольцы, которые были разделены на две группы: основную (с диагнозом «рак НЭО легкого») и контрольную группу (условно здоровые). Включение в группы происходило параллельно. В качестве

критериев включения рассматривались: возраст пациентов 30–75 лет, отсутствие какого-либо лечения на момент проведения исследования, в том числе хирургического, химиотерапевтического или лучевого, отсутствие признаков активной инфекции (включая гнойные процессы), проведение санации полости рта. Критерии исключения: отсутствие гистологической верификации диагноза. Контрольная группа включала условно здоровых пациентов, у которых при проведении плановой диспансеризации не было выявлено патологии легких. Исследования одобрены на заседании комитета по этике БУЗ Омской области «Клинический онкологический диспансер» от 21 июля 2016 г., протокол № 15.

У всех участников до начала лечения проводили забор слюны в количестве 2 мл, центрифугировали при 7000 об./мин., определяли активность аминотрансфераз (АЛТ, АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), гаммаглутамилтрансферазы (ГГТ) и α -амилазы. Дополнительно оценивали значение коэффициента де Ритиса, рассчитанного как соотношение активности АСТ/АЛТ (у.е.). Статистический анализ полученных данных выполнен при помощи программ Statistica 10.0 (StatSoft) непараметрическим методом с использованием в зависимых группах критерия Вилкоксона, в независимых группах — U-критерия Манна-Уитни. Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25-го и 75-го перцентилей [LQ; UQ]. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Анализ активности метаболических ферментов для групп НЭО легкого разной степени злокачественности показал, что активность аминотрансфераз статистически достоверно выше для группы G1+G2 (АЛТ — 4,31 [3,00; 6,46], АСТ — 7,00 [4,25; 9,25] Е/л), при этом полученные значения выше соответствующих показателей для контрольной группы (АЛТ — 3,46 [2,38; 4,85], АСТ — 5,67 [3,33; 7,75] Е/л), тогда как активность аминотрансфераз группы G3 и контрольной практически совпадают (АЛТ — 3,96 [2,23; 5,78], АСТ — 5,63 [3,63; 8,29] Е/л). Расчет коэффициента де Ритиса показал статистически достоверное уменьшение на фоне НЭО легкого по сравнению с контрольной группой (G1+G2–1,37 [1,17; 1,80], G3–1,33 [1,05; 1,71], контроль — 1,51 [1,18; 2,06] у.е.). Также показано, что активность ЛДГ, ГГТ и α -амилазы группы G1 + G2 и контрольной группы не отличаются, однако активность ЩФ статистически достоверно выше значений, характерных как для контрольной группы (+78,6%), так и для группы G3 (+61,3%). Группа НЭО легкого высокой степени злокачественности отличается уменьшением активности ЛДГ (–19,1%) и увеличением активности α -амилазы (+72,1%) при постоянном уровне ГГТ.

При более детальном рассмотрении группы НЭО с высокой степенью злокачественности установлено, что активность большинства исследуемых ферментов ниже, чем для группы G1 + G2, исключение составляет активность α -амилазы, возрастающая в случае крупноклеточного и мелкоклеточного рака на 31,0 и 80,7% соответственно. Дополнительно следует отметить увеличение коэффициента де Ритиса для крупноклеточного рака легкого (+17,7%)

в основном за счет уменьшения активности АЛТ (–50,3%, $p = 0,0232$). Для крупноклеточного рака легкого также характерно максимальное значение активности ГГТ (22,4 Е/л). В целом для мелкоклеточного рака активность ГГТ, ЛДГ и ЩФ ниже, чем для крупноклеточного, тогда как для аминотрансфераз и α -амилазы отмечена обратная тенденция.

Выводы. На фоне НЭО легкого наблюдаются метаболические изменения, характеризующиеся уменьшением коэффициента де Ритиса за счет повышения активности АЛТ на фоне повышения активности ЩФ. Понижение активности ЛДГ может означать общее торможение энергетических систем в случае НЭО высокой злокачественности. В свою очередь повышение активности слюнной α -амилазы может быть ответом на развитие системной эндогенной интоксикации, которая более выражена в случае НЭО высокой злокачественности, в особенности мелкоклеточного рака легких.

Характер распределения специфичностей HLA у пациентов с миелодиспластическим синдромом

Ж. К. Буркитбаев¹, С. А. Абдрахманова¹, И. Р. Рамильева¹, А. А. Турганбекова¹, Д. К. Баймукашева¹, Е. Б. Жибурт²

¹РГП на ПХВ «Научно-производственный центр трансфузиологии» Минздрава РК, г. Астана, Казахстан

²ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр имени Н. И. Пирогова» Минздрава РФ, г. Москва

Distribution characteristics of HLA specificities of patients with myelodysplastic syndrome

Zh. K. Burkittbayev, S. A. Abdrakhmanova, I. R. Ramilyeva,

A. A. Turganbekova, D. K. Baymukasheva, E. B. Zhiburt

Scientific and Production Centre of Transfusiology, Astana, Kazakhstan

National Medical and Surgical Centre n.a. N. I. Pirogov, Moscow, Russia

Введение. Миелодиспластический синдром (МДС) — это патология старшей возрастной группы. 80% случаев развития МДС приходится на лиц старше 60 лет. МДС в детском возрасте встречается крайне редко. Несмотря на то что этиология и патогенез МДС остаются пока довольно противоречивыми, было доказано влияние индивидуального антигенного профиля Human leukocyte antigen (HLA-системы) на развитие этого заболевания. Анализ связи наличия определенных лейкоцитарных антигенов у казахстанских пациентов с диагнозом данной патологии ранее не проводился.

Цель. Целью данного исследования является изучение особенностей HLA и проведение поиска связи между развитием МДС и генами HLA-системы.

Материалы и методы. Изучили частоту встречаемости HLA-антигенов I класса (HLA-A, B) и II-класса (HLA-DRB 1*) у больных с МДС, проживающих в Казахстане.

Обследовали 3665 человек: 3621 здорового донора крови и 44 пациентов с диагнозом МДС. Типирование пациентов и доноров крови (HLA-A, B, C, DRB 1, DQB 1) определяли молекулярно-генетическим методом на наборах Protrans (Protrans, Германия). Результаты оценили с использованием дескриптивных статистик, непараметрического χ^2 -критерия, отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала (ДИ 95%).

Результаты. Проведенный анализ выявил характерный профиль распределения специфичностей системы HLA у пациентов с МДС в казахстанской популяции. Изучение распределения антигенов системы HLA у пациентов с МДС позволило предположить существование ассоциативных связей между наличием в фенотипе пациентов антигенов HLA-B*35, *42, *49, HLA-DRB1*11,*15 и развитием данной патологии. Также установлена предположительно защитная роль в отношении МДС антигенов HLA-A*02, HLA-C*07.

Выводы. В будущем полученные данные могут быть использованы при изучении различных онкогематологических заболеваний, ассоциированных с HLA антигенами, и при диагностировании пациентов с МДС.

Продукция гамма-интерферона (г-ИФН) у взрослых и детей

Ж. П. Васнева, А. В. Беляева

АО «Самарский диагностический центр», г. Самара

Gamma interferon (γ -IFN) production in adults and children

Zh. P. Vasneva, A. V. Belyaeva

Samara Diagnostic Centre, Samara, Russia

Введение. Оценка продукции г-ИФН клетками иммунной системы в лабораторной диагностике используется с разными целями. В частности, в настоящее время все более широко рекомендуется использовать интерфероновые тесты в качестве дополнительных или альтернативных в плане своевременной диагностики туберкулезной инфицированности, особенно для детей с проблемной интерпретацией кожных туберкулиновых проб. Среди таковых наиболее широко известен квантифероновый тест (КФТ), предложенный американскими исследователями в 2005 г [1]. По своей сути он представляет регистрацию выброса г-ИФН лимфоцитами периферической крови после инкубации с рекомбинантным туберкулезным белком, имеющимся только в вирулентных штаммах *Mycobacterium tuberculosis*. Однако практика использования КФТ показывает, что до 15,0% случаев отмечаются проблемы в интерпретации полученных результатов (Корнева Н. В. и др., 2015, Истомина Е. В. и др., 2015). По нашему мнению, это может быть связано с индивидуальными особенностями продукции г-ИФН.

Цель. Исследование особенностей спонтанной (г-ИФНсп) и ФГА-стимулированной (г-ИФНстим) продукции г-ИФН у взрослых и детей.

Материалы и методы. Обследовали 324 пациента с хроническими вирусными респираторными заболеваниями (241 взрослый — мужчины [28,0%] и 83 ребенка в возрасте от 1 до 15 лет — мальчики [45,4%]) за период 2010–2014 гг. В периферической крови определяли уровни г-ИФНсп и г-ИФНстим после 24-часовой инкубации при 37 °С с использованием ИФТС («Вектор-Бест», Россия), CD4⁺-Т-лимфоцитов (% и абсолютное значение) с использованием лазерного проточного цитофлюориметра Calibur (BD, США) и МКАТ серии LT («Медбиоспектр», Россия). Статистическая обработка проводилась с использованием программы Statistica 5.5.

Результаты. Уровень г-ИФНсп в среднем у взрослых составил $12,1 \pm 1,6$ пг/мл, у детей — $3,9 \pm 2,3$ пг/мл, г-ИФНстим — $764,0 \pm 34,1$ пг/мл и $585,8 \pm 115,5$ пг/мл соответственно. Так, в 33,0% взрослых и 40,0% случаев детей г-ИФНсп не определялся. Низкие уровни такового ($< 10,0$ пг/мл) у взрослых регистрировались в 33,2%, у детей — в 23,0% случаев, высокие уровни ($> 20,0$ пг/мл) — в 19,5% и 10,8% соответственно.

Значительно повышенные уровни (> 1000 пг/мл) г-ИФНстим у взрослых и детей отмечались в 65,5 и 29,0%, высокие ($100–1000$ пг/мл) — в 26,0 и 47,0%, низкие уровни (< 100 пг/мл) в 15,8 и 18,0% случаев соответственно.

Уровни CD4⁺-Тл у взрослых и детей составили 42,5 и 35,8% ($0,8 \times 10^6$ /л и $1,16 \times 10^6$ /л) соответственно.

Корреляции между г-ИФНсп, г-ИФНстим и уровнем CD4⁺-Тл (% и абсолютным) не обнаружено.

Выводы. У детей на фоне вирусных респираторных инфекций спонтанная и ФГА-стимулированная продукция г-ИФН менее выражена относительно таковых взрослых. Обращает внимание на себя тот факт, что в 10,8% случаев детей отмечается исходно высокий уровень спонтанной продукции г-ИФН и 18,0% случаев пониженная способность продуцировать г-ИФН при стимуляции ФГА в тест — системе *in vitro*. По нашему мнению, таковые индивидуальные особенности продукции г-ИФН у детей на фоне хронических вирусных респираторных инфекций могут сказываться и при использовании интерфероновых тестов в туберкулиновой диагностике.

Сравнение аналитических характеристик и экономическое обоснование выбора анализаторов критических состояний

Л. Б. Гайковская¹, Н. Н. Зыбина², А. И. Ермаков¹

¹ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

²ФГБОУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, г. Санкт-Петербург

Comparison of analytical characteristics and economic rationale for choice of critical care analyzers

L. B. Gaikovaya, N. N. Zyбина, A. I. Ermakov

North-Western State Medical University n.a. I. I. Mechnikov, All-Russian Centre for Emergency and Radiation Medicine n.a. A. M. Nikiforov; Saint Petersburg, Russia

Анализатор газов и электролитов крови — один из самых необходимых приборов для мониторингирования состояния пациентов, находящихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) многопрофильного стационара. Большинство современных анализаторов критических состояний определяют газы крови, электролиты и метаболиты. При этом каждый тип анализаторов имеет свои преимущества или недостатки и для выбора анализатора газов и электролитов необходимо руководствоваться основными критериями: набор измеряемых и вычисляемых параметров; количество выполняемых тестов в день, минимальный объем пробы, время простоя анализатора из-за калибровок прибора, наличие быстрого и доступного сервисного обслуживания. Однако имеется особенность — это деление

анализатора газов и электролитов на традиционные, работающие на электродах (калибровка по газовой смеси, каждый раствор в отдельном контейнере) и картрижные (в картридже содержатся все необходимые для работы растворы).

Цель. Целью работы было сравнение аналитических характеристик традиционных и картрижных анализаторов для оценки их эффективности и экономической целесообразности.

Материалы и методы. Были проанализированы 105 образцов крови, поступающих в лабораторию на исследование газов и электролитов, одновременно на двух анализаторах: традиционном (ABL800 FLEX производства Radiometer Medical) и картрижном (GEM Premier 3500 производства IL Werfen). Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием программы Statistica 10.0 (Stasoft Inc.) с расчетом средних величин и стандартной ошибкой среднего значения ($M \pm m$). Для сравнения средних значений использовали t-критерий.

Результаты. При сравнении средних значений были получены достоверные изменения ($p < 0,05$) по пяти показателям: pCO_2 , HCO_3^- , Ca^{2+} , ABE и SBE. Однако расчетные параметры ABE и SBE были исключены из статистической обработки по причине неравенства их дисперсий. Остальные показатели, исследованные на разных анализаторах, дали равный коэффициент вариации, что указывает на одинаковую воспроизводимость двух разных приборов. Учитывая данные биологической и аналитической вариации и используя метод оценки достоверности различий между двумя лабораторными показателями на основании RCV (Reference Change Values), выявленные статистически достоверные различия по pCO_2 , HCO_3^- и Ca^{2+} с 95 %-м доверительным интервалом являются клинически не значимыми.

Таким образом, полученные результаты исследований, выполненные на двух анализаторах аналитически надежны и сопоставимы, что адекватно отражает изменения в электролитном и газовом составе крови пациентов и подтверждает их эффективность.

При равной эффективности анализаторов для экономического обоснования выбора анализатора применяется метод клиничко-экономического анализа — минимизации затрат. При этом необходимо рассчитывать все затраты (прямые и косвенные). К прямым затратам относится стоимость анализатора и реагентов и расходного материала, техническое обслуживание анализаторов, зарплата сотрудников лаборатории. К косвенным затратам относятся такие затраты, которые трудно перевести в денежный эквивалент, но они имеют большое значение. На наш взгляд, к таким затратам можно отнести «качество» анализа (невозможность соблюдения ГОСТа 53079.4–2008) и эмоциональные затраты сотрудников реанимаций по доставке проб крови в любое время и погоду в экспресс-лабораторию. В основном это касается стационаров, которые имеют павильонную систему расположения зданий, при этом экспресс-лаборатория расположена на достаточном расстоянии от ОРИТ (их может быть несколько), а проведение пневмопочты технически невозможно из-за того, что здания стационара являются памятником архитектуры, например, больница Петра Великого в г. Санкт-Петербурге (1907 года начала строительства). Для проведения качественных анализов, особенно такого анализа как кислотно-основное состояние, важно соблюдать правила преаналитического этапа: время выполнения исследований

не должно превышать 3–5 минут, а при условии отдаления ОРИТ от экспресс-лаборатории это выполнить сложно.

Для такого типа стационаров одним из возможных решений уменьшения времени от забора крови до проведения исследования и получения качественного результата может быть реализация принципа point of care, когда анализаторы критических состояний расположены у постели больного. При этом анализаторы должны быть очень просты в использовании, не требовать сервисного обслуживания, иметь автоматический контроль качества, встраиваться в ЛИС/ГИС. Всеми этими характеристиками обладают многие анализаторы, однако анализаторы семейства GEM имеют особенности — универсальный картридж, систему интеллектуального контроля качества IQM и удаленный доступ. При этом работу на анализаторе может осуществлять персонал реанимации, а с помощью удаленного доступа сотрудники лаборатории контролировать работу анализатора и фиксировать проблемы, связанные с качеством исследования. Гибкость картриджной системы позволяет подобрать картридж с наименьшей себестоимостью анализа.

Вывод. Таким образом, применение картрижных анализаторов в условиях ОРИТ клинически эффективно и экономически целесообразно.

Направления совершенствования подходов к формированию профессиональных компетенций специалистов среднего звена лабораторной медицины

С. И. Георгиева¹, Д. С. Иванов², Н. Ф. Камаева¹, Ж. А. Ким¹, В. В. Кудрявцева¹, М. Б. Никитина¹, М. А. Смердова², Е. С. Фомина¹, Е. Ю. Хусаинова¹, Н. Н. Шмонина²

¹ГБПОУ «Медицинский колледж № 1» Департамента здравоохранения г. Москвы

²ЗАО «Вектор-Бест Европа», г. Москва

Methods of improving approaches to formation of professional competencies of mid-level specialists in laboratory medicine

S. I. Georgieva, D. S. Ivanov, N. F. Kamaeva, Zh. A. Kim, V. V. Kudryavtseva, M. B. Nikitina, M. A. Smerdova, E. S. Fomina, E. Yu. Husainova, N. N. Shmonina

Medical College No. 1, Vector-Best Europe Co.; Moscow, Russia

Новые социально-экономические условия жизни потребовали модернизацию российского здравоохранения и вызвали широкое внедрение наукоемких технологий в лабораторной практике. В этой связи перед образовательными учреждениями поставлены особые задачи по подготовке квалифицированных кадров для современных клинических лабораторий. В настоящее время подготовка специалистов для лабораторной медицины ведется как высшими учебными учреждениями, так и средними профессиональными образовательными организациями.

В медицинском колледже № 1 ДЗМ обучаются студенты по специальности 31.02.03 «лабораторная диагностика». Они получают квалификацию «медицинский технолог» (углубленная подготовка) и «медицинский лабораторный техник» (базовый уровень). Подготовка лабораторных специалистов среднего звена здравоохранения проводится

в соответствии с ФГОС СПО 3. В рамках этих стандартов студенты приобретают профессиональные компетенции на теоретических и практических занятиях по профильным специальностям (профессиональным модулям). Организация учебного процесса по каждому модулю включает традиционные формы обучения: изучение теоретического курса, выполнение лабораторно-практических работ, учебная и производственная практика. Лишь аудиторной работой невозможно в полной мере сформировать необходимые профессиональные компетенции лабораторного специалиста. Поэтому в целях реализации компетентностного подхода обучения наша образовательная организация предусматривает применение в учебном процессе ряда активных и интерактивных форм проведения занятий не только в учебных аудиториях, но и на тренингах, мастер-классах, на профессиональных конференциях и выставках.

Одна из новых организационных форм внеаудиторной работы с практической направленностью начиналась с посещения специализированных тематических выставок. В настоящее время студенты уже являются постоянными участниками традиционных осенних и весенних встреч специалистов лабораторной медицины. В дни работы конференций выставочные площадки и залы становятся своеобразными учебными базами для будущих лабораторных кадров. Студенты посещают презентации и мастер-классы ведущих зарубежных и отечественных компаний-производителей лабораторного оборудования, познают и осваивают на их стендах новейшие лабораторные технологии, участвуют в симпозиальных заседаниях и в дискуссиях, где обсуждаются практические достижения, актуальные проблемы и перспективы развития лабораторной службы.

Новизной в организации профессионально-ориентированной работы учащихся стало плодотворное взаимодействие преподавателей лабораторных дисциплин колледжа с сотрудниками компаний «Радиометр», «Сарториус», «Аналитика», «Вектор-Бест», «Юнимед», «Эколаб». Специалисты этих компаний выезжают к нам с презентациями и читают лекции, а также проводят семинары и дают мастер-классы на лабораторно-практических занятиях в колледже.

Совместно с компанией «Вектор-Бест Европа» был разработан долгосрочный практико-ориентированный проект «Инновационные технологии в лабораторной диагностике». Учебные цели проекта: ознакомить студентов с современными и новейшими лигандными и молекулярно-биологическими технологиями; предоставить участникам проекта возможность выполнять исследования на аналитическом оборудовании непосредственно на рабочих местах в многопрофильных клинических лабораториях. Проект реализуется по трем направлениям лабораторной диагностики: биохимия, иммунология, микробиология. Программы проекта, их содержание и этапы согласованы с учебными рабочими программами соответствующих профессиональных модулей. Ключевую позицию в этих программах занимают высокотехнологические методы и современные лабораторные технологии. Особое место уделено молекулярно-генетическим и иммунологическим исследованиям в КДЛ. При организации занятий применяются разнообразные формы активного обучения. Большой интерес студенты проявляют на индивидуальных тренингах в многопрофильных лабораториях

лечебных учреждений: НИИ СП им. Н.В. Склифосовского, ГНЦ им. А.И. Бурназяна и МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. Учебными исследованиями в рамках проекта руководят заведующие лабораториями, врачи-лаборанты, преподаватели колледжа, сотрудники компании «Вектор-Бест Европа». В соответствии с программами творческая работа продолжается. Такой подход к учебному процессу активизирует познавательную активность студентов и способствует развитию их высокой мотивации к будущей профессии. Учащиеся становятся не только свидетелями, но и участниками радикальных преобразований, которые происходят в практическом здравоохранении. Успешность и степень подготовки лабораторного специалиста находится в прямой зависимости от того, насколько условия его обучения приближаются к реальной профессиональной деятельности.

Следует отметить принципиальную модернизацию процесса подготовки кадров, в т.ч. среднего звена здравоохранения для лабораторной медицины. Прежде всего, это внедрение системы непрерывного медицинского образования для всего лабораторного сообщества, введение аккредитации на основании новых профессиональных стандартов и приказ от 25.06.2014 № 309 Министерства здравоохранения РФ, на основе которого разработан План мероприятий по расширению функций специалистов со средним медицинским образованием. В целом представляется, что всё актуальнее становятся вопросы профессионального взаимодействия всех сотрудников клинических лабораторий, особенно по вертикали, и, следовательно, корпоративная ответственность за улучшение профессиональных качеств специалистов среднего звена лабораторной службы.

Ассоциативная взаимосвязь гена CTLA-4 с ранним назначением биологической терапии больным ранним активным ревматоидным артритом в исследовании «РЕМАРКА»

И. А. Гусева¹, Е. Л. Лучихина¹, Д. Д. Абрамов³, Н. Е. Сорока², Н. В. Демидова¹, Е. Н. Александрова¹, А. А. Новиков¹, Е. Ю. Самаркина¹, Д. Ю. Трофимов², Д. Е. Каратеев¹, Е. Л. Насонов¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В. А. Насоновой», г. Москва

²ЗАО «Научно-производственная фирма „ДНК-технология“», г. Москва

³ФГБУ «Государственный научный центр „Институт иммунологии“» Федерального медико-биологического агентства России, г. Москва

Association of CTLA4 gene with early administration of biological therapy in active early rheumatoid arthritis patients in REMARCA study

I. A. Guseva, E. L. Luchikhina, A. S. Avdeeva, D. D. Abramov, N. V. Demidova, E. N. Alexandrova, A. A. Novikov, E. Y. Samarkina, D. Y. Trofimov, D. E. Karateev, E. L. Nasonov

Scientific and Research Institute for Rheumatology n.a. V. A. Nasonova, DNA-Technology Co., National Research Centre — Institute of Immunology; Moscow, Russia

Цель. Изучить ассоциативную связь полиморфизмов генов иммунного ответа и фоллатного обмена с ранним назначением генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП) в связи с неэффективностью монотерапии МТ.

Материалы и методы. В молекулярно-генетическое исследование включены 85 больных из проспективного исследования «РЕМАРКА» (Российское исследование Метотрексата и биологических препаратов при Раннем активном Артрите), средний возраст — $52,0 \pm 12,9$ лет, длительность заболевания $4,1 [1,0; 6,0]$ мес., hs-СРБ $40,6 \pm 45,4$ мг/л, позитивность по АЦЦП 96,0%. Всем пациентам первоначально был назначен МТ с быстрой эскалацией дозы до 20–25 мг/нед. При неэффективности назначали комбинированную терапию МТ+ГИБП (главным образом, адалимумаб). Каждые три месяца эффективность терапии контролировали по индексам активности DAS 28, SDAI, CDAI. Генотипирование полиморфизмов генов *PTPN22* (+1858 C>T), *TNFAIP3* (rs6920220, rs10499194), *CTLA-4* (+49A>G), *TNFA* (–308A>G), *IL-6* (–174G>C), *IL-6R* (+358A>C), *IL-10* (–592A>C, –1082 A>G), *MCP-1/CCL2* (+2518A>G), *MTHFR* +677C/+, +1298A/C) выполнено методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием оригинальных сиквенс-специфических праймеров и проб, меченных различными флюоресцентными метками (НПФ «ДНК-Технология»). Автоматическая регистрация и интерпретация полученных результатов проводились на отечественном инновационном детектирующем амплификаторе ДТ-96 (ООО «ДНК-Технология»). Генотипирование проводилось согласно инструкции фирмы-изготовителя наборов. При проверке работоспособности созданных тест-систем в качестве референсного метода определения генотипа образцов использовали автоматическое секвенирование ДНК по Сэнгеру с применением автоматического секвенатора ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США).

Результаты. Через три месяца монотерапии МТ 60 из 85 (70,6%) пациентов имели хороший ответ и продолжили монотерапию МТ. У 25 пациентов (29,4%) был выявлен неудовлетворительный ответ на МТ, и этим пациентам был добавлен ГИБП. Носителям мутантного гомозиготного генотипа GG ГИБП был назначен чаще, чем носителям хотя бы одного аллеля А (AA+AG) (11/22, 50,0% и 14/60, 23,3% соответственно), OR = 3,5 [95% CI 1,1–11,1], $p = 0,03$). Кроме того, полиморфизм *CTLA-4* (+49A>G) (генотипы GG vs AA/AG соответственно) был ассоциирован с базовыми индексами активности DAS 28 ($6,3 \pm 0,9$ и $5,5 \pm 1,2$, $p = 0,005$), SDAI ($38,7 \pm 14,4$ и $30,2 \pm 14,9$, $p = 0,04$), CDAI ($34,5 \pm 12,9$ и $27,8 \pm 12,3$, $p = 0,03$). У носителей гомозиготного генотипа GG РА клинически манифестирует в более молодом возрасте и раньше диагностируется ($45,1 \pm 11,7$ и $54,3 \pm 11,1$ лет, $p = 0,03$; $3,5 \pm 1,1$ и $4,4 \pm 1,4$ мес., $p = 0,001$ соответственно).

Выводы/заключение. Проведенное исследование позволило установить, что полиморфизм гена *CTLA4* ассоциирован с более тяжелым РА и может служить предиктором раннего назначения ГИБП у больных с ранним активным РА.

Ошибки преаналитического этапа микробиологии и пути их минимизации

А. С. Гусева

ООО «ДиаСтрим», Г. Москва

Errors of preanalytical stage of microbiology and ways to minimize them

L. S. Guseva

DiaStream Co., Moscow, Russia

Микробиология, как любая наука, весьма специализирована. Высокая изменчивость микроорганизмов вынуждает лабораторию всегда быть начеку; цена ошибки — не только здоровье и жизнь пациента, но и эпидемиологическое благополучие региона. Любая лабораторная работа включает в себя три обязательных этапа: преаналитический; аналитический; постаналитический.

Цель. На каждом из этапов существуют свои специфические ошибки. Большая их часть связана с человеческим фактором, поэтому путем автоматизации сводят их влияние к минимуму. В своей работе микробиолог/специалист лабораторной диагностики руководствуется правилами организации работы лаборатории. Наиболее частые ошибки происходят из-за неправильной организации рабочего пространства и возможной контаминации.

Материалы и методы. ГОСТ ISO 7218–2011 «Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям» (также описывает расположение и оснащение лабораторий). Следует отслеживать качество воды при микробиологических исследованиях.

Результаты. Надо не забывать, что вода в зависимости от региона может быть железистой и насыщенной солями жесткости. А также иметь pH, не равный 7. Электропроводность воды, полученной в лаборатории, должна быть не более 25 мкС/см (что эквивалентно сопротивлению 40000 Ом·см) при 25 °С, если не требуется иное. Микробное загрязнение не должно превышать 10 на кубический сантиметр или ниже.

Для сухих сред нашим основным документом будет инструкция, в которой прописаны навески и объемы. Задача микробиолога — правильное хранение и перенос, не допускающие контаминацию. Инструкция прописывает навески от 0,1 г до 0,001 г и диапазон pH с допустимой погрешностью $\pm 0,2$. Также стоит заметить правила измерения pH. Значения даются при нормальных условиях: 25 °С и давлении 760 мм рт. ст. Не стоит забывать, что дистиллированная и даже бидистиллированная вода не имеет pH, равный четко 7. При несоблюдении правил могут возникать следующие проблемы: среда не застывает. Что мы понимаем под pH? pH или активность ионов водорода определяется как отрицательный десятичный логарифм ионов оксония: $\text{pH} = -\log_{10} [\text{H}_3\text{O}^+]$. Из уравнения видно, что при изменении концентрации в 10 раз pH изменится на целую единицу, поэтому важно правильно уметь измерять даже малые изменения в pH. Прибор, что измеряет активность ионов водорода, нам знаком как pH-метр. Работает он за счет создания электрохимической цепи между раствором, мембраной электрода и раствором внутри электрода. И пересчетом потенциала/концентрации ионов оксония в растворе на значение pH. Этот потенциал рассчитывается через уравнение Нернста. Где изменяемые

параметры — активность ионов (которая, кстати, существенно зависит от Т) и Т в коэффициенте, а E_0 — записанное в приборе значение, измеренное при нормальных условиях.

Коэффициент $2,3 RT/nF$ (E_N) — это угловой коэффициент, который напрямую зависит от температуры. Следует отметить, что константа диссоциации воды зависит от температуры. В чистой воде с ростом температуры от 0 до 100 °С нейтральная точка сдвигается на 1,34 единицы рН вниз! Подобной погрешности может помочь избежать электрод с термокомпенсацией. Константа диссоциации в средах разной плотности отличается. Если измерять растворы разной плотности, то может забиваться мембрана электрода, что снижает срок его эксплуатации. Время установления показаний электрода может увеличиваться. рН-электроды — это чувствительные измерительные инструменты, требующие надлежащего ухода. Неиспользуемые рН-электроды следует держать в растворе для хранения (3М КСl).

Современные весы достигли такого уровня, что не требуют специального помещения, однако для корректных показаний существуют определенные правила взвешивания, которые помогут избежать серьезных ошибок. Весовой стол должен быть устойчивым, не прогибаться и не качаться при работе. Лучше если будет прикреплен к стене или полу. На весовом столе не должны проводиться иные операции, кроме взвешивания. Весовой стол должен быть выделен только для весов. Материал столешницы должен быть из немагнитного материала, чтобы не накапливать электромагнитный заряд. Не использовать сталь. Не подкладывать мягкие коврики под весы для выравнивания. Стол для весов надо устанавливать в углу комнаты. В этих областях здания наименьший уровень вибраций. Не устанавливайте на пути прохождения воздушных потоков, кондиционеров. Не размещайте весы вблизи окон и осветительных приборов, в первую очередь касается ламп накаливания (используйте лампы дневного света) и батарей. Прямой солнечный свет и тепловое излучение создают воздушные потоки, которые в свою очередь влияют на показания прибора. Не отключайте весы от источника питания, держите их всегда включенными, это позволит обеспечить необходимое тепловое равновесие.

При первом включении в зависимости от модели рекомендуется прогреть весы: 12 часов — микровесы, около 6 — аналитические и 3 часа — прецизионные.

Начиная работу в лаборатории, включите весы заранее от 30 минут до 1 часа в зависимости от инструкции. При взвешивании следует обязательно выдерживать образец до комнатной температуры.

При взвешивании масса одного и того же сосуда может оказываться разной. Эффект этот связан с электростатическим зарядом, используемого контейнера. Обычно это стекло или пластик, которые могут накапливать заряд. Такой же эффект наблюдается, если протереть шерстяной/ворсистой тканью по поверхности. Для нейтрализации заряда применяются ионизаторы. Калибровка весов — это настройка отклика весов и уменьшение погрешности.

Выводы. Таким образом, если придерживаться всех правил работы с весами и рН-метрами, т.е. проводить регулярную проверку воды, в случае низкого рН происходит кислый гидролиз и (или) взята неправильная навеска (ГОСТ,

приложение С) При большей навеске образуется осадок. Нельзя измерять водные растворы и суспензии одним рН электродом. Не следует держать электроды в дистиллированной воде, это ведет к утечке ионов из стеклянной мембраны (увеличивается время отклика). При длительном хранении необходимо следить, чтобы раствор полностью покрывал мембрану. Ожидаемый срок службы рН электрода при правильном использовании и уходе составляет 1–3 года. Среди факторов, уменьшающих срок жизни рН электродов важное значение имеет высокая температура и критические значения рН. Необходимо поддерживать нормальную влажность в помещении пределах 45–60%. Не следует проводить взвешивание, если относительная влажность выходит за пределы диапазона от 20 до 80%. Регулярно выполняйте настройку весов: при первом использовании; при установке весов на новом месте; при изменении настроек / поправке уровня; при значительных изменениях температуры, влажности и давления. Перед каждым взвешиванием убедитесь, что весы показывают точно ноль. При необходимости выполните калибровку. Содержите весовую камеру и чашу весов в чистоте, для взвешивания используйте только чистые емкости. Не используйте ткань, загрязненную маслами. Старайтесь не сметать частицы загрязнений в отверстия. Перед началом чистки отсоедините все съемные компоненты (стекла и чаши).

Мониторинг антибиотикотерапии в лабораторной практике

Е. С. Диковская

ООО «ДиаСтрим», Г. Москва

Monitoring of antibiotic therapy in laboratory practice

E. S. Dikovskaya
DiaStream Co., Moscow, Russia

Антибиотикостойчивость бактерий в настоящий момент является одной из наиболее важных и актуальных проблем инфектологии. Практически все известные науке бактерии-возбудители инфекционных заболеваний (за редким исключением) в большей или меньшей степени проявляют устойчивость к тем или иным антибактериальным препаратам. Открытие антибиотиков является одним из важнейших достижений науки XX века. Первый антибиотик — пенициллин — был открыт английским учёным А. Флемингом. С 1946–1950 г.г. были открыты около 200 антибиотиков, в период с 1965–1970 г.г. — 1000 антибиотиков, с 1980–1985 г.г. — 2000, с 1995–2000 г.г. — 3000 антибиотиков. Однако практическое значение получили в период с 1945–1975 г.г. 1,6% созданных антибиотиков, с 1975–2000–0,11%. В настоящее время известны около 12000 различных антибиотиков. Около 97% всех известных антибиотиков токсичны, в клинике применяются лишь около 200 препаратов. Бета-лактамы антибиотиков составляют около 34% среди всех существующих в настоящее время антибиотиков. Существуют разные классификации антибиотиков: 1. классификация антибиотиков по спектру антимикробного действия; 2. классификация антибиотиков по типу воздействия на микроорганизмы; 3. классификация антибиотиков по механизму действия; 4. классификация

антибиотиков по химическому строению. Для семейства бета-лактамовых антибиотиков характерно то, что они все имеют β -лактамовое кольцо. Бета-лактамовые антибиотики являются гидрофильными веществами. Они проникают в клетки бактерий через пуриновые каналы внешней мембраны и связываются с пенициллинсвязывающими белками, расположенными на внутренней мембране бактериальной клетки. В семейство бета-лактамовых антибиотиков входят пенициллины, цефалоспорины (I–V поколений), комбинированные препараты (ампициллин/сульбактам, амоксициллин/клавуланат, тикарциллин/клавуланат, пиперациллин/тазобактам, цефоперазон/сульбактам), карбапенемы (имипинем и меропенем), монобактамы (азтреонам).

Цель. В Республике Беларусь в УО «Витебский государственный медицинский университет» была разработана группой ученых под руководством доктора медицинских наук, профессора В.М. Семенова тест-система «Биолактам» для мониторинга за антибиотикотерапией бета-лактамовыми антибиотиками. Данная тест-система позволяет определить тактику назначения бета-лактамовых антибиотиков у больных с различными инфекционными заболеваниями при исследовании любой биологической жидкости, включая первичный очаг. Тест-система «БиоЛактам» позволяет установить причину отсутствия эффекта антибактериальной терапии, быстро изменить тактику лечения и обоснованно выбрать необходимый антибактериальный препарат.

Материалы и методы. Метод основан на изменении окраски синтетического антибиотика цефалоспоринового ряда при распаде его бета-лактамовой связи при контакте с образцом для исследования. Время определения бета-лактамовой активности занимает от 45 (сыворотка крови) до 135 минут (остальные субстраты). Данная тест-система может быть использована на любых полу- и автоматических анализаторах ИФА. В основе функционирования тест-системы «БиоЛактам» лежит хроматографическая методика, базирующаяся на изменении окраски синтетического антибиотика цефалоспоринового ряда при распаде его бета-лактамовой связи. При этом происходит батохромный сдвиг в хромофорной системе молекулы, и окраска реакционной смеси меняется с желтой на красно-оранжевую. Максимум поглощения продукта реакции меняется с 390 нм на 486 нм, что и делает возможным спектрофотометрическую детекцию.

Результаты. При использовании данной тест-системы в сыворотке крови было выявлено, что повышение показателя активности более 68,2% указывает на необходимость назначения тяжелому больному антибиотиков дальнего резерва, не относящихся к бета-лактамам (т.е. левофлоксацина, ванкомицина, линезолида, амикацина, нетилмицина, рифампицина, хлорамфеникола), либо ингибитор-защищенных бета-лактамов.

При исследовании мокроты у пациентов с бактериальной пневмонией, ХОБЛ, раком легких, тромбозом легочной артерии или комбинированной патологией было выявлено, что если наблюдается высокий уровень бета-лактамовой активности мокроты (>20%) у больных с бактериальными инфекциями дыхательных путей, то это говорит о сниженной эффективности проводимой антибактериальной терапии с применением бета-лактамовых препаратов первого уровня, о необходимости назначения

антибиотиков резерва, включая бета-лактамовые препараты, устойчивые к большинству бета-лактамаз (карбапенемы, цефалоспорины четвертого поколения, ингибитор-защищенные препараты) или о необходимости назначения антибиотиков резерва, не относящихся к группе бета-лактамов.

Были проведены исследования в спинномозговой жидкости у пациентов с бактериальными и вирусными менингитами, субарахноидальными кровоизлияниями. При этом было выявлено, что высокая бета-лактамовая активность ликвора связана с размножением в нем *S. aureus*, гемофилов или энтеробактерий, способных продуцировать бета-лактамазы. Эти возбудители вызывают 21,2% всех регистрируемых гнойных менингитов. Относительно высокая (>40%) бета-лактамовая активность СПМЖ соответствует приблизительно удвоенной (1,9–3,2 раза) вероятности провала антибактериальной терапии гнойных менингитов. Для того чтобы этого избежать, необходимо менять первоначально назначенные антибиотики на антибиотики резерва (карбапенемы, цефалоспорины четвертого поколения) или антибиотики второй линии из других фармакологических групп.

Выводы. Благодаря использованию в лабораторной практике тест-системы Биолактам можно достичь снижения вероятности развития осложнений, сокращения длительности лечения, снижения частоты необоснованной смены антибиотиков, снижения стоимости терапии, снижения роста резистентности бактерий к антибиотикам. Применение тест-системы БиоЛактам может привести к сокращению необоснованного применения бета-лактамовых антибиотиков до 20%. Благодаря полученным данным есть возможность произвести быструю замену в схеме лечения антибиотиков, что приводит к существенному сокращению продолжительности госпитализации почти на пять суток. Обоснованное назначение антибиотиков на начальном этапе лечения тяжелых бактериальных инфекций позволяет облегчить течение заболевания, улучшить прогноз, снизить частоту развития осложнений, а также уменьшить стоимость медикаментозной терапии в целом, существенной экономии денежных средств в пределах 20–30%.

Возрастные особенности лабораторных маркеров остеопороза у женщин пожилого возраста

А.П. Ефимова, Т.Ю. Винокурова, С.А. Павленко, О.В. Липская, С.Д. Григорук

БУ ВО «Сургутский государственный университет», г. Сургут
МСЧ ООО «Газпром трансгаз Сургут», г. Сургут

Age aspects of clinical interpretation of laboratory markers of osteoporosis in elderly women

L.P. Efimova, T.Y. Vinokurova, S.L. Pavlenko, O.V. Lipskaya, S.D. Grigoruk
Surgut State University, Gazprom Transgaz Surgut Co.; Surgut, Russia

Лабораторные маркеры остеопороза позволяют существенно дополнить диагностическую информацию клинических и рентгенологических методов исследования. В связи с этим актуально изучение данных маркеров в возрастном аспекте.

Цель. Сравнить лабораторные маркеры остеопороза у женщин среднего и пожилого возраста, длительно проживающих в условиях Севера.

Материалы и методы. Обследованы 102 женщины, постоянно проживающие в условиях Севера не менее 20 лет. Обследование проведено при первичном обращении в медико-санитарную часть ООО «Газпром трансгаз Сургут» вне приема заместительной гормональной терапии и включало определение минеральной плотности кости, клинический осмотр эндокринолога, определение лабораторных показателей: маркер резорбции костей дезоксипиридинолин (DPD, Pylilinks-D) в моче и BETA CrossLaps (С-концевые телопептиды, образующиеся при деградации beta коллагена I типа) в моче. Исследование DPD проводили иммунохемилюминесцентным методом, на аппарате Immulite 1000, Siemens; Beta-CrossLaps — иммуноферментным методом на аппарате Personal LAB с использованием наборов реактивов Urine BETA CrossLaps (CTX-I) ELISA (IDS Limited, Соединенное Королевство). Обследованы две группы женщин: первая группа до 60 лет (50–59 лет, средний возраст $55,00 \pm 2,59$) — 64 человека, вторая — 60 лет и старше (60–69 лет, средний возраст $62,20 \pm 2,46$) — 38 человек.

Результаты. Уровень маркера резорбции кости DPD у женщин первой группы составил $9,07 \pm 3,66$ нмоль DPD/ммоль креатинина, у женщин второй группы — $10,69 \pm 12,1$ нмоль DPD/ммоль креатинина. Различия между группами статистически не значимы. Показатель BETA CrossLaps в моче в первой группе составил $0,98 \pm 0,88$ мкг/ммоль, во второй группе $0,83 \pm 0,61$ мкг/ммоль, $p > 0,05$. Одновременное повышение обоих показателей встречалось у 20 больных (31%) первой группы и у 4 больных (10%) второй группы. Повышение одного из маркеров остеопороза у лиц среднего возраста отмечено у 50%, у лиц пожилого возраста — 60%.

Выводы. Сравнение лабораторных маркеров остеопороза у женщин среднего и пожилого возраста не выявило значимых различий. У женщин пожилого возраста с постменопаузальным остеопорозом чаще, чем у женщин среднего возраста, выявляются изменения DPD и BETA CrossLaps в моче, что повышает диагностическую ценность этих показателей у пожилых.

Лабораторные предикторы заболеваний желудочно-кишечного тракта, сопровождающихся нарушениями моторики, у детей

А. А. Зиганшина¹, В. С. Сухоруков², В. П. Булатов¹

¹ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Казань

²ОСП «НИКИ педиатрии имени академика Ю. Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

Laboratory prognostic markers of gastrointestinal tract disorders associated with dysmotility in children

A. A. Ziganshina, V. S. Sukhorukov, V. P. Bulatov
Kazan State Medical University, Kazan, Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov, Moscow, Russia

В настоящее время биомаркеры, отражающие изменения метаболических процессов, рассматриваются в качестве ключа к персонализированной медицине. Поиск лабораторных предикторов патологических состояний лежит в основе

современной профилактической медицины, учитывающей риск развития заболевания в каждом индивидуальном случае, с возможностью принятия своевременных мер для его предотвращения. Изучение молекулярных механизмов патологии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) является актуальной задачей современной практической и фундаментальной медицины. Заболевания пищеварительной системы, сопровождающиеся нарушениями моторики, широко распространены в педиатрической практике. Сократительная активность во многом зависит от цитозенергетического статуса тканей. Следовательно, разумно предположить, что дисбаланс метаболитов, имеющих отношение к энергетическому обмену, предопределяет появление моторных расстройств пищеварительной системы.

Цель. Выявить лабораторные предикторы заболеваний желудочно-кишечного тракта, сопровождающихся нарушениями моторики, у детей.

Материалы и методы. Были обследованы 100 пациентов в возрасте от 2 до 17 лет, находящихся на стационарном лечении в диагностическом отделении ГАУЗ «ДРКБ» Минздрава Республики Татарстан и в педиатрическом отделении ГАУЗ «Клиника медицинского университета» в г. Казань. Основная группа была сформирована из двух подгрупп: 40 пациентов с установленным диагнозом «рефлюкс-эзофагит» и 40 детей с хроническим запором. Контрольная группа состояла из 20 соматически здоровых детей без признаков патологии желудочно-кишечного тракта. Было проведено определение кислот в плазме крови с помощью колориметрии. Применялся простой метод определения лактата в биологических жидкостях В. А. Храмова (1996), а также модифицированный метод Умбрайт для измерения концентрации пирувата. Определение уровня ацилкарнитинов осуществлялось методом тандемной хромато-масс-спектрометрии с ионизацией в электроспрее. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета GraphPad InStat (версия 3.05; 2000), табличного редактора Microsoft Excel 2007. Были рассчитаны средние величины (M) и ошибки средней (m). Для подтверждения достоверности различий между сравниваемыми совокупностями при нормальном распределении признака применялся критерий Стьюдента (t) для независимых выборок и критерий Манна-Уитни для распределения отличного от нормального. Вероятность ошибки при отклонении нулевой гипотезы (p) считалась равной или менее 0,05.

Результаты. В связи с отсутствием статистически значимых различий между показателями пациентов с эзофагитом и запором ($p > 0,05$), данные подгруппы были объединены в процессе статистической обработки. Средние значения пирувата в основной группе были ниже возрастной нормы (0,05; норма — 0,06–0,16 ммоль/л), с достоверными различиями с группой контроля (0,09 ммоль/л; $p = 0,001$). Показатель энергетического дефицита, выраженный соотношением содержания молочной и пирувиноградной кислот был значительно превышен в основной группе (31,95; норма — 8–10) с более низкими значениями в группе сравнения (12,50; $p = 0,001$). Несмотря на то что усредненные показатели свободного карнитина не превышали норму (19–45 мкмоль/л), показатели были значительно

выше в основной группе (39,85 против 32,26 мкмоль/л; $p = 0,0007$). Среднее содержание связанного карнитина у детей с патологией ЖКТ составило 41 %, в то время как в норме не должно превышать 30 %. При сравнении средних, значения в основной группе были выше относительно здоровых детей (15,99 против 11,51 мкмоль/л; $p = 0,0003$).

Выводы. Признаки дефицита клеточного энергообмена у детей с моторной дисфункцией пищеварительного тракта указывают на влияние исходного цитоэнергетического статуса организма на формирование данных патологических состояний. Изученные метаболиты являются потенциальными прогностическими маркерами заболеваний ЖКТ у детей, определение которых позволит провести своевременную коррекцию энерготропными препаратами, что потенциально повлияет на частоту рецидивов и выраженность клинических проявлений заболевания.

Особенности биохимических показателей сыворотки крови, ассоциированные с носительством полиморфного гена *CYP2C9* у пациентов с фибрилляцией предсердий, злоупотребляющих алкоголем

А. В. Индутный, Д. Г. Новиков, Н. А. Трофимович

ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Омск

Features of biochemical indices of blood serum associated with presence of polymorphic gene CYP2C9 in patients with atrial fibrillation who abuse alcohol

A. V. Indutny, D. G. Novikov, N. A. Trofimovich
Omsk State Medical University, Omsk, Russia

Хроническое употребление алкогольсодержащих напитков характеризуется множеством метаболических изменений. Обнаружено, что этиловый спирт проявляет ингибирующее действие на активность фермента цитохром P450 2C9, зависящее от концентрации алкоголя. С другой стороны, активность фермента определяется генетической предрасположенностью. Указанный фермент принимает участие в метаболизме ряда лекарственных препаратов, в том числе, антикоагулянтов непрямого действия, а соответственно особенности биотрансформации лекарственного препарата зависят от этих двух факторов, влияющих на активность цитохром P450 2C9. Установлено, что как эпизодическое, так и хроническое употребление алкоголя примерно в два раза увеличивает вероятность развития геморрагических осложнений, в особенности у пациентов, имеющих полиморфные аллели гена *CYP2C9* и принимающих Варфарин более одного года. Вместе с тем носительство полиморфных аллелей гена, кодирующего данный фермент, в сочетании с эффектами хронического употребления алкоголя, вероятно, может приводить и к развитию других метаболических нарушений на фоне лекарственной терапии.

Цель исследования. Выявить особенности биохимического состава сыворотки крови, ассоциированные с носительством полиморфных аллелей гена *CYP2C9* у пациентов с фибрилляцией предсердий, злоупотребляющих алкоголем.

Материалы и методы. Проведено исследование 70 образцов крови пациентов БУЗОО «Клинический кардиологический диспансер» г. Омска в возрасте от 35 до 85 лет с установленным диагнозом «фибрилляция предсердий» (I48), злоупотребляющих и не злоупотребляющих алкоголем. Все пациенты были разделены на две группы по результатам анкетирования с использованием опросника CAGE, анкеты для выявления постинтоксикационного алкогольного синдрома — ПАС и данных объективного обследования — сетка LeGo. Исследуемую группу составили 24 пациента, ответивших положительно на два и более вопроса теста CAGE и (или) при наличии 15 и более признаков ПАС. В группу сравнения вошли 46 пациентов, давших на вопросы теста CAGE все отрицательные или один положительный ответ, и (или) у которых было выявлено менее 15 признаков анкеты ПАС. Критериями исключения были заболевания печени алкогольного и неалкогольного генеза.

Для исследования биохимических показателей использовали сыворотку венозной крови. Взятие образцов проводили с соблюдением актуальных требований к осуществлению преаналитического этапа лабораторного исследования. При помощи биохимического анализатора Konelab 20 (Thermo Fisher Scientific, Финляндия; тест-систем компании Human, Германия) определяли концентрацию общего холестерина, холестерина ЛПВП, холестерина ЛПНП. Генетический полиморфизм исследовали с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови. Носительство полиморфного аллеля Ile+359Leu гена *CYP2C9* определяли с помощью тест-систем «SNP-экспресс» (НПФ «Литех», Россия). Исследование материала выполняли на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории и Академического центра лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «ОмГМУ» Минздрава России. Статистическая обработка проведена с помощью программы Statistica 6.1. Учитывая характер распределения выборки, использовали непараметрические критерии. Нулевой считали гипотезу о совпадении медианных значений двух выборок. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез принимали $p = 0,05$.

Результаты. При анализе полиморфного локуса Ile+359Leu гена *CYP2C9* было выявлено, что носители полиморфных аллелей гена *CYP2C9* составили в целом по выборке 35,7 %, в группе пациентов с признаками хронического употребления алкоголя 25 % и 41,3 % в группе сравнения. В то же время, по данным других авторов, частота встречаемости данного аллеля в различных регионах России составляет 20–35 %. Вероятно, обнаруженные различия являются региональной особенностью и могут быть объяснены мультиэтническим происхождением населения юга Западной Сибири. Была выявлена биохимическая разнородность групп по содержанию общего холестерина и холестерина ЛПНП — у гомозиготных носителей аллеля «дикого типа» содержание общего холестерина выше на 34,4 %, а содержание холестерина ЛПНП — на 53,3 % (Mann — Withney U.; $p = 0,043$ и Mann — Withney U.; $p = 0,021$ соответственно), это наблюдение верно для пациентов с фибрилляцией предсердий без признаков

злоупотребления алкоголем. В исследуемой группе наблюдается отличие от общей популяции — медианные значения общего холестерина и холестерина ЛПНП у гомозиготных носителей аллеля «дикого типа» и гетерозигот практически равны (Mann — Withney U.; $p = 0,652$ и Mann — Withney U.; $p = 0,650$ соответственно). Уровень ХС ЛПВП статистически значимо не различался между группами (Mann — Withney U.; $p = 0,485$ и $p = 0,587$ соответственно). При вычислении показателя ХС не-ЛПВП была получена аналогичная картина. По рекомендациям РКО следует определять уровень ХС не-ЛПВП у лиц с уровнем ТГ $\geq 2,3$, а в исследуемой группе уровень ТГ был выше указанного у 21,7% пациентов, в группе сравнения у 16,7%. Статистически значимых различий концентрации ТГ между группами не было выявлено ($p = 0,085$ и $p = 0,522$ соответственно). Ряд исследователей считают, что уровень ХС не-ЛПВП отражает риск нежелательных кардиоваскулярных событий лучше, чем традиционно оцениваемый уровень ХС ЛПНП. У гомозиготных носителей аллеля «дикого типа» уровень ХС не-ЛПВП выше на 31%, чем у гетерозиготных носителей в общей популяции, та же тенденция наблюдается в группе сравнения (Mann — Withney U.; $p = 0,036$), в исследуемой группе эти показатели не различаются (Mann — Withney U.; $p = 0,725$).

Выводы. Исследованный у пациентов с фибрилляцией предсердий генетический полиморфизм Ile+359Ile гена *CYP2C9* ассоциирован с уровнями ряда биохимических показателей сыворотки крови. У гомозиготных носителей аллеля «дикого типа» больных фибрилляцией предсердий, злоупотребляющих алкоголем, обнаружено повышение содержания общего холестерина, холестерина ЛПНП и холестерина не-ЛПВП, что может увеличивать риск развития нежелательных кардиоваскулярных осложнений в данной когорте больных.

Фенотипические и функциональные особенности субпопуляций моноцитов при сепсисе

А. А. Калашникова, А. В. Чиненова

ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, г. Санкт-Петербург

Phenotypic and functional features of monocyte subpopulations in sepsis

A. A. Kalashnikova, L. V. Chinenova
All-Russian Centre for Emergency and Radiation Medicine n.a.
A. M. Nikiforov, Saint Petersburg, Russia

Моноциты — это клетки врожденного иммунитета, входящие в состав мононуклеарно-фагоцитарной системы. Принято выделять три субпопуляции моноцитов: классические CD 14⁺CD 16⁻, переходные CD 14⁺CD 16⁺ и неклассические CD 14⁺dimCD 16⁺. Субпопуляции различаются по экспрессии молекул, опосредующих распознавание, фагоцитоз и представление антигенов, что приводит к их функциональным особенностям и степени вовлечения в тот или иной иммунный процесс.

В норме в крови значительно преобладают классические моноциты. Основная функция этих клеток — фагоци-

тоз апоптотических телец и антигенов, опсонизированных комплементом. По мнению зарубежных исследователей, участие неактивированных классических моноцитов в IgG-опосредованном фагоцитозе является сомнительным. Классические моноциты характеризуются наименее выраженной экспрессией HLADR и CD 80, CD 86, что отражает их антигенпрезентирующую функцию.

Переходные моноциты составляют одну из минорных популяций. Эти клетки образуются в результате активации и дифференцировки классических моноцитов. Их основные функции: IgG-опосредованный фагоцитоз, распознавание PAMP и синтез цитокинов, антигенпрезентация. Реализация этих функций возможна благодаря высокой экспрессии CD 64 и CD 16, CD 14 и TLR, HLADR и костимуляторных молекул.

Неклассические моноциты слабо экспрессируют CD 14 и скавэнджер-рецепторы, что ограничивает их участие в распознавании LPS и элиминации апоптотических клеток. Они с максимальной плотностью экспрессируют HLADR и костимуляторные молекулы, антигенпрезентация — одна из основных их функций. Выраженная экспрессия TLR 4 приводит к активации этих клеток при взаимодействии с DAMP и PAMP и синтезу цитокинов.

Сепсис является инфекционным заболеванием нециклического типа, которое вызывается постоянным или периодическим проникновением в кровь различных микроорганизмов и их токсинов, приводящих к развитию системной воспалительной реакции. Для понимания механизмов патогенеза сепсиса и выявления новых лабораторных маркеров, позволяющих мониторировать состояние тяжелобольных пациентов, представляется целесообразным изучение изменений субпопуляций моноцитов при сепсисе.

Цель. Определение особенностей фенотипа и продукции цитокинов субпопуляциями моноцитов при сепсисе в сравнении с нормой. Выявление взаимосвязи между количественными изменениями субпопуляций моноцитов периферической крови и бактериемией.

Материалы и методы. Обследованы в динамике 16 пациентов с сепсисом (47 наблюдений), 10 мужчин и 6 женщин, средний возраст 58 ± 14 лет, SOFA $9,4 \pm 2,1$ балла. Группа здоровых лиц ($n = 12$) была сопоставима по полу и возрасту. Материал для исследования — цельная периферическая кровь и сыворотка.

Стандартными методами проводили бактериологический посев крови (флаконы Bact/Alert, анализатор VITEK2). Методом проточной цитофлуориметрии (Navios) оценивали субпопуляции моноцитов, а также экспрессию HLADR, CD 64 (антитела IgG1FITC, CD 64FITC, CD 14PE, CD 16PC 5, HLADRPC 7, CD 45APC-AF750, все Beckman Coulter, США). Методом ИФА (наборы Вектор-Бест) определяли содержание в сыворотке IL-1b, IL-6, TNF α , IL-10.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием Statistica 5.0. Применяли корреляционный анализ по Спирмену, критерий Манна-Уитни.

Результаты. При сепсисе по сравнению с нормой отмечается снижение доли классических моноцитов ($73,6 \pm 10,2\%$ против $84,4 \pm 4,8\%$, $p < 0,05$) и увеличение доли переходных клеток ($17,3 \pm 8,3\%$ против $9,4 \pm 4,1\%$, $p < 0,05$).

Фенотип субпопуляций моноцитов пациентов с сепсисом по сравнению с нормой имеет следующие особенности:

- повышенную плотность экспрессии (mean) CD 14, особенно выраженную в субпопуляциях переходных и неклассических моноцитов ($37,0 \pm 13,0$ против $29,8 \pm 8,9$ и $6,8 \pm 2,8$ против $4,1 \pm 0,9$ соответственно; изменения на уровне тенденции);
- повышенную плотность экспрессии (mean) IgG-рецепторов. Плотность экспрессии CD 64 увеличивается на всех субпопуляциях моноцитов: классические ($5,5 \pm 1,8$ против $2,9 \pm 0,5$, $p < 0,01$), переходные ($5,5 \pm 1,8$ против $2,3 \pm 0,4$, $p < 0,01$), неклассические ($2,2 \pm 0,7$ против $0,8 \pm 0,1$, $p < 0,01$). Плотность экспрессии CD 16 переходными и неклассическими моноцитами также заметно превышает норму ($9,1 \pm 4,4$ против $5,2 \pm 1,2$ и $19,2 \pm 9,3$ против $8,7 \pm 3,4$ соответственно, $p < 0,01$).
- сниженную плотность экспрессии HLADR. Снижение плотности экспрессии и доли HLADR+ моноцитов особенно выражено в популяции CD 14⁺CD 16⁺ клеток ($7,8 \pm 4,2$ против $21,3 \pm 2,8$ и $78,5 \pm 14,5$ против $99,8 \pm 0,1$ соответственно, $p < 0,01$), тогда как в популяции переходных клеток эти изменения наименее выражены.

Содержание цитокинов в сыворотках пациентов с сепсисом в ряде случаев превышало норму. Выявлено повышение концентрации IL-6 ($141,2 \pm 112,3$ пг/мл против $7,1 \pm 4,3$ пг/мл, $p < 0,01$), TNFα ($21,2 \pm 13,2$ пг/мл против $5,8 \pm 4,1$ пг/мл, $p < 0,05$), тенденция к повышению концентрации IL-1b и IL-10. Максимальное содержание TNFα и IL-10 ($30,4 \pm 17,9$ пг/мл и $52,1 \pm 26,8$ пг/мл соответственно) определено в сыворотках пациентов со снижением доли классических моноцитов за счет увеличения относительного количества переходных. Определена прямая корреляционная зависимость между относительным количеством в крови CD 14⁺CD 16⁺ клеток и содержанием IL-10 ($p < 0,05$) в сыворотке.

Сопоставлены результаты динамических наблюдений за изменениями относительного количества субпопуляций моноцитов и посевов крови. Выявлено, что появление микроорганизмов в крови сопровождалось увеличением доли переходных моноцитов. При отрицательных результатах бактериологического исследования крови популяция переходных моноцитов снижалась до значений близких к норме. Отмечена тесная взаимосвязь между увеличением доли переходных моноцитов и бактериемией ($p < 0,05$).

Выводы. При сепсисе отмечается перераспределение субпопуляций моноцитов, а именно снижение доли классических моноцитов и увеличение относительного количества переходных клеток. Фенотип всех субпопуляций моноцитов претерпевает изменения, связанные с активацией иммунного ответа на антигены бактерий: увеличение плотности экспрессии рецептора к LPS CD 14, рецепторов IgG CD 64 и CD 16. Отмечается снижение антигенпрезентирующей функции, наиболее выраженное в субпопуляции классических моноцитов.

Среди провоспалительных цитокинов максимальных концентраций достигает IL-6. Его содержание не связано с изменениями субпопуляций моноцитов и является, по-видимому, результатом продукции различных клеток. Основными продуцентами IL-10 являются переходные моноциты.

Выявление тесной взаимосвязи между увеличением доли переходных моноцитов и бактериемией свидетельствует о выраженной роли этих клеток в противобактериальной защите. Динамические наблюдения за изменениями субпопуляций моноцитов целесообразно использовать для наблюдений за тяжелобольными пациентами.

Инновации в клинической биохимии как фундаментальная основа трансляционной медицины

В. С. Камышников, Н. М. Литвинко, П. А. Киселев, Т. М. Юрага

Белорусская медицинская академия последипломного образования; Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск, Белоруссия

Innovations in clinical biochemistry as fundamental basis of transmission medicine

V. S. Kamysnikov, N. M. Litvinko, P. A. Kiselyov, T. M. Yuraga
Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Institute of Bioorganic Chemistry; Minsk, Belarus

Отмеченные в последние годы технологические достижения в области медико-биологических исследований привели к формированию и активному становлению трансляционной лабораторной медицины, основывающейся на переносе открытий и других достижений, сделанных в области ориентированных фундаментальных исследований, в медицинскую практику с целью повышения эффективности диагностики и лечения заболеваний.

В результате совместной творческой деятельности специалистов в области химии и лабораторной медицины, осуществленной в рамках заданий Государственных программ, курируемых НАН Беларуси, созданы уникальные, открывающие новые перспективы в решении задач практического здравоохранения тест-системы, использование которых открывает широкие возможности в решении задач практического здравоохранения.

Цель. Разработка и внедрение в клиническую практику инновационных технологий лабораторных исследований при отдельных формах мембранной патологии, обусловленной снижением антиокислительной и повышением фосфолипазной активности биологических сред (жидкостей и тканей) организма.

Материалы и методы. Тест-система для скрининга биологических жидкостей и фармсубстанций на антиоксидантную активность «ОксиСтат» (2015) и набор реактивов для определения активности панкреатической фосфолипазы A2 в крови человека методом фотометрического анализа (2015) отечественного (белорусского) производства.

Результаты. В ходе выполнения задания «Разработка и освоение производства наборов реагентов на базе стабильных радикалов для характеристики антирадикальной активности биологических жидкостей» (научные руководители д. х. н. П. А. Киселев и д. м. н. В. С. Камышников, 2012–2015 гг.) создана не имеющая аналогов тест-система, включающая в себя в качестве основного один-единственный реактив на базе стабильных радикалов (АБТС⁺⁺), способный изменять выраженность своей окраски при добавлении к нему минимального количества испытуемой

жидкости, содержащей антиоксиданты как биологической, так и иной природы, например, экстракта растений либо лекарственных препаратов. По регистрации оптической плотности раствора при 625 нм спустя три минуты после внесения в реагент испытуемой жидкости (с использованием ординарного фотометрического оборудования), оцениваются результаты исследования; при использовании же мутных сред (например, экстрактов растений, лекарственных препаратов) представляется возможным оценивать результаты исследования методом ЭПР-анализа на анализаторе электронного парамагнитного резонанса, созданного белорусскими специалистами и производимого в настоящее время в Российской Федерации.

Для гидрофобных соединений реакцию можно проводить в этиловом спирте. Допускается проведение анализа как в ручном, так и в автоматическом режиме.

Производство зарегистрированных Министерством здравоохранения Республики Беларусь наборов реагентов «Оксистат» (каждый из которых включает три компонента: стабилизированный катион-радикал 2,2'-азинобис-3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты — АБТС⁺⁺, калибратор и буфер) освоено на базе хозрасчетного опытного предприятия Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси. Эти наборы реагентов уже нашли широкое применение для выполнения научно-практических исследований по оценке антиоксидантного статуса организма, в том числе у детей (допускается возможность исследования капиллярной крови) и пациентов, страдающих острым панкреатитом и другими формами патологии.

Констатация ослабления антиокислительной защиты организма позволяет судить о так называемой «мембранной патологии», определяющей в основном прогноз развития всех соматических заболеваний.

К диагностике формирования мембранной патологии тесно причастна инновационная разработка, выполненная в период 2010–2015 гг. в рамках задания «Разработка и апробация новой биохимической тест-системы для выявления воспалительных процессов желудочно-кишечного тракта по фотометрическому определению активности панкреатической фосфолипазы А2 в крови» подпрограммы «Диагностикумы» ГП «Импортозамещающая фармпродукция»: научные руководители — д.х.н. Литвинко Н. М. (ИБОХ НАН Б) и профессор, д.м.н. Камышников В. С. (БелМАПО). Разработка состоит в создании совершенно новой, не имеющей в мире аналогов тест-системы «ФЛА2-ФОА», предназначенной для определения активности панкреатической фосфолипазы А2. В ее основе лежит защищенная двумя патентами на изобретение технология, базирующаяся на регистрации изменений в спектрах поглощения, вызванных процессом связывания с гемоглобином отщепленного от молекулы фосфолипида остатка жирной кислоты.

В отличие от других маркеров панкреатита, разработанный лабораторный тест позволяет выявлять деструктивные формы панкреатита, требующие проведения неотложного хирургического лечения.

Диагностическая надежность этого оригинального метода исследования была подтверждена результатами экспериментального исследования по моделированию

острого панкреатита у крыс, выполненного в рамках задания программы «Конвергенция» — «Лабораторная верификация патохимических изменений в поджелудочной железе при экспериментальном панкреатите» (2015).

Результаты экспериментального исследования подтвердили данные клинического наблюдения о том, что тест определения активности панкреатической фосфолипазы А2 является идеальным маркером деструктивной формы панкреатита.

Выводы. В ходе выполнения научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ в рамках финансируемых целевым назначением тем НИР созданы две уникальные, не имеющие аналогов тест-системы, адаптированные к ординарному фотометрическому оборудованию клиничко-диагностических лабораторий лечебно-профилактических учреждений. Их использование значительно расширяет возможности клинического применения технологий исследования общей антиокислительной и фосфолипазной активности, что особенно важно для выявления отдельных форм мембранной патологии.

Поиск онкомаркеров в некодирующей ДНК

А. Э. Кель

ООО «Биософт.ру», ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения РАН, г. Новосибирск

Search for oncomarkers in noncoding DNA

A. E. Kel

Biosoft.ru, Institute for Chemical Biology and Fundamental Medicine; Novosibirsk, Russia

Целью данной работы явилось создание нового подхода к выявлению онкомаркеров на основе компьютерного анализа «некодирующей» регуляторной ДНК. Основной задачей было продемонстрировать на нескольких примерах возможности компьютерного анализа регуляторных участков генома по выявлению энхансеров и сайленсеров в геноме специфических для различных форм рака и показать как такой анализ позволяет эффективно находить новые онкомаркеры, такие как островки ДНК гиперметилирования в промоторах и энхансерах генов, кодирующих белки патологически измененных онкологических сигнальных путей клеток опухоли. Конечной целью работы была валидация метода на основе выявления этих маркеров в крови пациентов на ранних стадиях развития колоректального рака.

Материалы и методы. Мы применили передовые методы системной биологии на основе сочетания анализа нуклеотидных последовательностей и граф-топологических алгоритмов, используя компьютерную платформу BioUML (biouml.org) и разработанную на ее основе конвейерную систему «От генома к мишеням», которая позволяет изучать композиционной структуры промоторов, идентифицировать предполагаемые транскрипционные факторы вовлеченные в регуляцию процессов связанных с онкогенезом, а также выявлять и топологически моделировать пути передачи сигналов приводящие к переходу клетки к неконтролируемому делению.

Результаты. Микрочиповые исследования, секвенирование нового поколения и масспектрометрические исследования являются в настоящее время общеприня-

тыми методами исследования механизмов комплексных болезней человека, таких как рак. В различных исследованиях выявляются сотни генов, изменение экспрессии которых связаны с раком. Однако наблюдаемые изменения экспрессии генов зачастую представляют собой лишь «эхо» реальных молекулярных процессов, происходящих в раковых клетках. Нарушения в работе сложных регуляторных сетей, регулирующих такие фундаментальные клеточные процессы, как гибель и выживаемость клеток может вызвать канцерогенные трансформации клеточного гомеостаза, приводящие к болезни. Мы применили системно биологический подход для изучения данных по крупномасштабному профилированию большой коллекции образцов опухолей колоректального рака (более 200 образцов опухолей различных стадий рака и около 100 образцов нормальных эпителиальных тканей кишечника пациентов. Данные проекта SysCol). С помощью компьютерной платформы BioUML мы проанализировали данные по экспрессии генов в этих образцах (RNA-seq) совместно с данными по метилированию ДНК (Illumina микрочип). На основе анализа композиционных модулей (комплексов сайтов связывания транскрипционных факторов) в гиперметилированных регуляторных районах и на основе последующего анализа путей сигнальной трансдукции в опухолевых клетках нам удалось выявить причинно-следственные взаимоотношения между метилированием различных участков ДНК на ранних стадиях развития опухоли и массивными изменениями в регуляции уровня транскрипции множества генов в ходе развития опухоли. Такие причинно-следственные связи позволили нам выделить несколько районов ДНК метилирования в регуляторных «не кодирующих» районах генов как наиболее перспективные ранние биомаркеры колоректального рака. Среди выявленных участков метилирования можно упомянуть участок промотора гена COL1A2 (патент № 2612890), который, как было нами показано, перекрывается с сайтами связывания транскрипционных факторов семейства E2F, одних из основных регуляторов клеточного цикла. В результате этой работы мы создали веб сайт, позволяющий проводить диагностику образцов по значениям 6-ти биомаркеров ДНК метилирования и 4-м биомаркерам микроРНК, измеренным в крови пациентов.

Вход на этот веб сайт осуществляется по ссылке: biouml.org/bioumlweb/#anonymous=true&perspective=Сигнатура%20ДНК-метилирования%20и%20микроРНК%20экспрессии%20для%20диагностики%20колоректального%20рака.

Выводы. Необратимые структурные изменения регуляторных сетей из-за эпигенетической «эволюции» регуляторных (некодирующих) участков генома могут вызвать трансформации, переключающие нормальное состояние на состояние болезни. Мы называем такие структурные изменения «шагающими пассажами». Анализ этого феномена помогает нам понимать механизмы молекулярных переключений (например, между программами смерти клетки и программами выживания клетки) и распознавать перспективные биомаркеры для ранней диагностики рака, а также для стратификации пациентов для различных способов лечения. Такая структурная пластичность ре-

гуляторных сетей, наблюдающаяся в геномах развитых эукариот, на мой взгляд, является результатом эволюционного «араморфоза» в направлении возникновения совершенно нового механизма эволюции многоклеточных организмов — механизма регуляторных адаптаций.

Финансирование. Работа была частично профинансирована инновационным проектом «Информационная платформа для биомедицинских исследований» фонда «Сколково».

Референтные диапазоны для метода потоковой агрегатометрии тромбоцитов

И. М. Колесникова, Е. В. Ройтман

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

Reference ranges for platelet functional analyzer

I. M. Kolesnikova, E. V. Roitman
Russian National Research Medical University n.a. N.I. Pirogov, Moscow, Russia

Введение. Метод потоковой агрегатометрии тромбоцитов (PFA) позволяет оценивать функцию тромбоцитов в условиях, максимально приближенных к физиологическим. Агрегация тромбоцитов происходит в условиях моделирования потока и «места повреждения сосуда». Результатом теста является «время закрытия» (СТ) — время от начала прохода пробы крови по капиллярам и контакта с пористой мембраной, покрытой индукторами агрегации, до момента полного перекрывания пор тромбоцитарными агрегатами. Инструкция к прибору содержит референтные интервалы СТ, которые были получены для европейской популяции, отличающейся от российской популяции по возрастному, расовому и гендерному составу. Поэтому целью нашей работы стало определение референтных диапазонов тестов COL/ADP, COL/EPI и P2Y во взрослой популяции г. Москвы.

Материалы и методы. Материалом исследования служила цельная венозная кровь, полученная от условно здоровых доноров и стабилизированная цитратом натрия 3,8 % (S-Monovette PFA, Саршtedт, Германия). Выборка составила 90 человек, постоянно проживающих в г. Москве (из них: мужчин 66, женщины 24). Каждая проба была проанализирована на приборе INNOVANCE® PFA-200 (Сименс, Германия) с использованием картриджей: 1) с коллагеном и АДФ (картридж COL/ADP); 2) с коллагеном и адреналином (картридж COL/EPI); 3) картридж с АДФ и PGE₂ для выявления ингибиторов рецептора P2Y₁₂ (картридж P2Y). Значения СТ были охарактеризованы медианой и ее доверительным интервалом с надежностью 95 %. Кроме того, была проведена оценка различий в доверительных интервалах, связанных с гендерной принадлежностью доноров, с использованием теста Манна-Уитни.

Результаты. Для теста COL/ADP референтный диапазон СТ составил 96,2–114,5 с (для европейской популяции — 68–121 с), при этом достоверных различий, связанных с гендерной принадлежностью доноров, не выявлено ($p > 0,05$). Для теста COL/EPI общий референт-

ный диапазон составил 158,2–188,7 с (для европейской популяции — 84–160 с). При этом для доноров-мужчин референтный диапазон составил 161,3–199,6 с, а для доноров-женщин — 131,2–193,4 с (различия достоверны, $p = 0,05$). Согласно инструкции значения теста P2Y должны быть менее 106 с. Согласно полученным данным для теста P2Y референтные значения времени закрытия (СТ) оказались в диапазоне 73,2–88,0 с независимо от гендерной принадлежности доноров ($p > 0,05$).

Выводы. Эксплуатация анализатора INNOVANCE® PFA-200 предполагает, что каждая лаборатория должна самостоятельно установить для себя диапазон ожидаемых значений тестов COL/ADP, COL/EPI и P2Y. Агрегационный ответ на адреналин различается у мужчин и женщин: для последних характерны более короткое время закрытия и более широкий диапазон референтных значений СТ. Выявленные различия в диапазонах нормальных значений теста COL/EPI для мужчин и женщин могут быть связаны с положительным влиянием метаболитов прогестерона на повышение внутриклеточной концентрации кальция в тромбоцитах и, как следствие, ускорением их активации, в то время как стимуляция тромбоцитов адреналином приводит преимущественно к секреции тромбоцитарных гранул. Стимуляция тромбоцитов АДФ, по сравнению с адреналином, приводит к активации тромбоцитов за счет взаимодействия с двумя типами рецепторов ($P2Y_1$ и $P2Y_{12}$) приводит к повышению внутриклеточной концентрации кальция ($P2Y_1$) и к секреции тромбоцитарных гранул ($P2Y_{12}$), что объясняет отсутствие влияния гендерной принадлежности доноров на диапазоны нормальных значений для тестов COL/ADP и P2Y. Другим возможным объяснением влияния гендерной принадлежности доноров на скорость активации тромбоцитов адреналином может служить более выраженная эмоциональная реакция доноров-женщин на процедуру кроводачи. Полученные результаты могут служить ориентировочными для крупных городов центральной части России.

Патология антикоагулянтной системы у беременных с отягощенным акушерским анамнезом

Е. А. Королёва, В. А. Елыкомов

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул

Pathology of anticoagulant system in pregnant women with obstetric anamnesis

E. A. Korolyova, V. A. Elykomov
Altai State Medical University, Barnaul, Russia

Цель. Оценить состояние антикоагулянтного звена системы гемостаза у беременных с отягощенным акушерским анамнезом.

Материалы и методы. Обследованы 120 беременных женщин во II триместре с отягощенным акушерским анамнезом (репродуктивные потери). В контрольную группу вошли 30 здоровых беременных женщин во II триместре.

Всем беременным определяли наличие антифосфолипидного синдрома (патологических волчаночных анти-

коагулянтов), а также скрининг нарушений активности физиологических антикоагулянтов — антитромбина III и системы протеинов С и S. Исследования проводили на автоматическом анализаторе показателей системы гемостаза CA-1500, Sysmex. Использовали наборы реагентов производства Siemens.

Результаты. Из 120 пациенток основной группы у 8 (6,7%) выявлен антифосфолипидный синдром, что подтверждалось выявлением волчаночных антикоагулянтов. Выявлены достоверные различия активности антитромбина III и суммарной активности протеинов С и S по сравнению с контрольной группой. Так, активность антитромбина III в основной группе была в пределах $78,3 \pm 5,6\%$, в контрольной — $96,0 \pm 4,2\%$, $p < 0,05$. Суммарная активность протеинов С и S по нормализованному отношению (НО) составила $0,72 \pm 0,03$ в основной группе, по сравнению с $0,93 \pm 0,02$ в контрольной группе ($p < 0,05$).

Выводы. Таким образом, у беременных женщин с отягощенным анамнезом в виде репродуктивных потерь выявлены нарушения антикоагулянтного звена гемостаза: снижение активности антитромбина III, суммарной активности протеинов С и S. Наряду со снижением действия физиологических антикоагулянтов у 6,7% беременных выявлены патологические волчаночные антикоагулянты, свидетельствующие об антифосфолипидном синдроме. Эти нарушения антикоагулянтной системы формируют склонность к повышенному тромбообразованию, т.е. тромбофилию, что, вероятно, является одной из причин репродуктивных потерь.

Нарушения гемостаза и их коррекция при патологии сосудов нижних конечностей

Е. А. Королёва, В. А. Елыкомов

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул

Hemostasis disturbances and correction in pathology of vessels of lower extremities

E. A. Korolyova, V. A. Elykomov
Altai State Medical University, Barnaul, Russia

Цель. Изучить состояние системы гемостаза и необходимость дополнительной коррекции у больных с облитерирующими заболеваниями и тромбозами артерий и вен нижних конечностей до и после лечения, включающего тромбэктомию и методы консервативной терапии (антикоагулянты, дезагреганты).

Материалы и методы. Обследованы 160 пациентов. Больные, страдающие заболеваниями артерий (64 человека), были разделены на три группы: 1А — 37 человек с атеросклерозом артерий нижних конечностей (АНК) без тромботических осложнений; 2А — 10 человек, у которых на фоне имеющегося атеросклероза АНК развился острый тромбоз артерий или шунта; 3А — 17 человек с облитерирующим тромбангиитом АНК. Больные с патологией вен нижних конечностей (ВНК), 96 человек, были разделены на пять групп: 1В — 10 человек с варикозной болезнью ВНК без тромботических осложнений; 2В — 20 чело-

век с острыми тромбозами поверхностных ВНК, возникшими на фоне имеющейся варикозной болезни; 3В — 38 человек с острыми тромбозами глубоких вен без признаков варикозной болезни. Кроме того, нами выделены и проанализированы две группы больных с осложнениями острых тромбозов глубоких ВНК: 4В — 8 человек с тромбозом легочной артерии (ТЭЛА), 5В — 20 человек с посттромбофлебитическим синдромом. Наличие тромба в просвете сосуда во всех случаях было доказано результатами дуплексного сканирования, артерио- или венографией. В контрольную группу вошли 40 здоровых людей.

Проводилось изучение основных звеньев системы гемостаза, тромбоцитарно-сосудистого (число тромбоцитов, адгезия, спонтанная и индуцированная агрегация тромбоцитов); коагуляционного звена (АЧТВ, тромбиновое и протромбиновое время), маркеров тромбинемии (о-фенантролиновый тест, D-димер), физиологических антикоагулянтов (антитромбин III, протеины С и S) и фибринолиза (плазминоген, XIIa-зависимый лизис). Лабораторные анализы выполняли на автоматическом агрегометре и анализаторе показателей системы гемостаза CA-1500, Sysmex. Использовали наборы реагентов производства Siemens.

Исследования проводили при поступлении больных в клинику, в процессе и по окончании лечения. В ряде случаев учитывали также отдаленные результаты лечения.

Результаты. Во всех перечисленных группах больных имелись изменения показателей системы гемостаза. Так, усиление адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов наблюдалось при патологии и АНК, и ВНК. Максимальные нарушения выявлены в группах больных с тромбозами: 2А, 3В, 4В ($p < 0,01$). Все больные с гиперагрегацией тромбоцитов получали аспирин. В процессе лечения проводился контроль функции тромбоцитов. При наличии резистентности к аспирину (таких больных было выявлено девять, что составило 5,7% от общего числа больных) был назначен тиклид, оказавший впоследствии дезагрегантное действие.

При исследовании показателей коагуляционного гемостаза и фибринолиза гиперфибриногенемия выявлена во всех группах, кроме 1В. Максимальный уровень фибриногена (до 11 г/л) зарегистрирован в группе 3В. Гиперкоагуляция по АЧТВ в наибольшей степени была выражена в группах 3В, 4В, а достоверное увеличение тромбинемии, выявляемое с помощью паракоагуляционных тестов, в группах 2А, 3В, 4В. У больных этих же групп обнаружено и максимальное увеличение фибринолиза.

При исследовании основных физиологических антикоагулянтов среди больных с патологией АНК выявлено достоверное, по сравнению с контролем, снижение активности системы протеинов С и S ($p < 0,01$) и антитромбина III ($p < 0,05$) в группе 2А. У больных с патологией ВНК несостоятельность системы протеинов С и S ($НО < 0,7$) обнаружена в группах: 2В — у 3 человек (из 20), 3В — у 18 (из 38), 4В — у 4 (из 8), 5В — у 6 (из 20), а снижение активности антитромбина III ниже 80% выявлено у 11 человек, что составило 11,4% от общего числа больных с патологией ВНК, преобладание нарушений отмечено в группах 3В и 4В. Сочетанного снижения активности антикоагулянтов не было ни у одного пациента. При лечении гепарином у больных группа 2А произошла коррекция показателей

коагуляционного и антикоагулянтного звеньев гемостаза, а в группах больных с тромбозами ВК, получавших гепарин и непрямые антикоагулянты, в 12 случаях из 31 коррекции показателя НО не произошло.

Выводы. Таким образом, у больных с заболеваниями АНК и ВНК имеются нарушения всех звеньев гемостаза, в большей степени выраженные у больных с тромбозами ВНК. На фоне традиционного (хирургического и консервативного) лечения данных патологических состояний происходит коррекция нарушений тромбоцитарного звена гемостаза. Показатели стандартной коагулограммы, а также антикоагулянтного звена у ряда больных остаются нарушенными (7,5% от общего числа больных). Поэтому в целях восстановления активности антикоагулянтной защиты у ряда больных с наибольшими проявлениями тромботического процесса нами предложено дополнительно использовать трансфузии криосупернатантной плазмы как источника основных физиологических антикоагулянтов.

Молекулярно-фармакологическое обоснование назначения повторной гормональной терапии при рецидиве эндометриоза яичников

Е. Н. Карева, Н. А. Коцюбинская, Л. С. Булатова, Е. В. Камагина

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

Molecular pharmacological rationale for re-appointment of hormonal therapy in ovarian endometriosis recurrence

E. N. Kareva, N. A. Kotsyubinskaya, L. S. Bulatova, E. V. Kamagina
Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov, Moscow, Russia

Введение. Лечение эндометриоза яичников является актуальной проблемой медицинской науки в связи с широким распространением заболевания и отсутствием абсолютно эффективных методов лечения. На сегодняшний день, согласно рекомендациям ведущих гинекологических сообществ, гестагены и комбинированные пероральные контрацептивы являются препаратами выбора для лечения эндометриоза. Однако риск возникновения рецидива заболевания после комплексного лечения, включающего гормональную терапию, достаточно высок: 20% через 1–2 года, 40% через пять лет и 50% через 5–7 лет. Повторный курс лечения гестагеносодержащими препаратами при рецидиве заболевания будет эффективен при сохраненной чувствительности ткани к гестагенам. Для реализации своей активности гестагены взаимодействуют со специфическими мембранными и ядерными рецепторами. Поэтому актуальным является поиск молекулярно-фармакологического обоснования проведения повторной гестагено-терапии эндометриоза яичников среди транскриптома эндометриальной ткани.

Цель. Сравнительный анализ экспрессии генов рецепторов прогестерона (PR-A, PR-B и PGRmC1) и эстрадиола (mER, ER α и ER β) в первичной и рецидивирующей ткани у женщин с эндометриозом яичников. Поиск обоснования эффективности проведения повторной противорецидивной гормональной терапии в составе комплексного лечения эндометриоза яичников.

Материалы и методы. В исследование вошли 94 пациентки репродуктивного возраста: 82 пациентки с первичным случаем эндометриоза яичников, 12 пациенток с рецидивом заболевания. Всем обследованным выполняли хирургическое вмешательство с использованием лапароскопического доступа: кистэктомия или экономная резекция яичников. Из биоптата ткани выделяли мРНК с помощью комплекта реагентов «РИБО-преп» (AmpliSens, Россия), получение кДНК проводили с помощью реакции обратной транскрипции с использованием комплекта реагентов «РЕВЕРТА-L» (AmpliSens, Россия). Для полимеразной цепной реакции в реальном времени использовали набор готовых реактивов для ПЦР «Реакционная смесь 2,5× для проведения ПЦР-РВ в присутствии SYBR Green I», соответствующие праймеры (Синтол) и прибор iCycler iQ5 real-time PCR (BioRad, Германия). В качестве контрольного гена использовался ген *Gapdh*. Для определения уровней экспрессии генов использовались формулы $0,5^{-\Delta Ct}$ и $2^{-\Delta\Delta Ct}$, данные выражали в о.е. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы GraphPadPrism 5.0

Результаты. Сравнительный анализ экспрессии генов рецепторов половых стероидов между тканью первичного эндометриоза яичников и рецидивом выявил различие в экспрессии генов рецепторов эстрадиола: увеличение экспрессии mER в три раза, ER_{β} в пять раз, а также снижение экспрессии рецептора ER_{α} в семь раз в ткани с рецидивом по сравнению с первичным случаем заболевания ($p \leq 0,05$). Различий в экспрессии генов рецепторов прогестерона в первичной ткани эндометриоза и рецидивирующей выявлено не было.

Выводы. Различие в экспрессии генов рецепторов эстрадиола (mER , ER_{α} , ER_{β}) в рецидивирующей ткани по сравнению с тканью первичного случая заболевания подтверждает участие рецепторов эстрадиола в патогенезе эндометриоза яичников как промоторов пролиферации гормон-зависимых тканей репродуктивного тракта женщины. Отсутствие изменений в экспрессии рецепторов прогестерона в эндометриозной ткани при рецидиве заболевания говорит о сохранении чувствительности гетеротопий к гестагенотерапии, является теоретическим обоснованием для повторного назначения гормонального лечения.

Чувствительность супрессорных Т-лимфоцитов к химиотерапии, облучению и операционному стрессу, применяемых при лечении колоректального рака

Е. Г. Кузьмина, Т. Ю. Мушкарина, Т. В. Константинова, О. Е. Ватин, В. Г. Курасова, Н. П. Сироткина, С. В. Зацаренко

Медицинский радиологический научный центр имени А. Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, г. Обнинск

Sensitivity of suppressor T-lymphocytes to chemotherapy, radiation and operational stress, used in treatment of colorectal cancer

E. G. Kuzmina, T. Yu. Mushkarina, T. V. Konstantinova, O. E. Vatin, V. G. Kurasova, N. P. Sirotkina, S. V. Zatsarenko
Medical Radiological Research Center n.a. A. F. Tsyb — a branch of Federal Medical and Biological Centre 'National Medical Research Center for Radiology', Obninsk

Введение. В основе канцерогенеза, как известно, лежит снижение способности иммунной системы удалять генетически измененные клетки (мутировавшие и вирус-инфицированные). Основная роль в поддержании гомеостаза и элиминации таких клеток принадлежит реакциям клеточного типа, осуществляемым НК-клетками, Т-киллерами, ТНК-лимфоцитами и макрофагами. Стабильность функционирования эффекторных клеток, как выясняется в последнее время, ограничивается действием ключевой супрессорной регуляторной популяции Т-клеток, названных Трег-клетками. Повышение их уровня в крови человека обнаружено при различных нозологических формах рака (рак печени, легкого, поджелудочной железы, яичников, гемобластозах и др.). Показано, что циркулирующие в периферической крови и инфильтрирующие опухоль Трег-клетки супрессируют противоопухолевый иммунитет, ускоряя рост опухоли. В ряде исследований отмечена прямая корреляция роста их числа со стадией опухолевого процесса, тяжестью течения и снижением выживаемости. При колоректальном раке, КРР также обнаруживают повышение Трег-клеток. Поэтому поиск способов их снижения для восстановления эффективности противоопухолевого иммунитета относится к числу актуальных направлений и требует самого внимательного изучения. Предполагается, что эффективность лечения раковых заболеваний может быть обусловлена нормализацией уровня Трег-лимфоцитов и восстановлением противоопухолевого иммунитета.

Цель исследования — определить исходное количество и чувствительность регуляторных Т-клеток к факторам комбинированного химиолучевого лечения больных КРР и выяснить связи Трег-клеток с функционированием иммунной системы.

Материалы и методы. В анализ включены данные обследования 35 больных КРР, Т2–4N1–2M0–1. 30 (86%) из них были с распространенным процессом III–IV стадиями заболевания. Всего выполнены 146 исследований: до лечения (первичные больные) — 18, после неoadъювантной ХЛТ (ЛТ 50 Гр+Садох) — 42; в ранний период после оперативного вмешательства — 54 (часть больных обследована дважды); в послеоперационном периоде после адъювантной ХЛТ (ЛТ 50 Гр+Садох) — 32 исследования. Средний возраст пациентов составил 55 лет. Контрольную группу представили данные 40 практически здоровых людей, сопоставимых по возрасту, обследованных в период наблюдения и лечения больных КРР. Двухплатформенным методом учитывали процент и абсолютное количество Трег-клеток иммунофенотипа $CD45^{+}CD4^{+}CD25^{+}CD127^{-}$. Фенотипирование с четырехцветной меткой проводили на проточном цитофлуориметре FACSCantoII и моноклональными антителами (фирма Becton Dickinson, США), используя программу Cellquest.

В сыворотке периферической крови методом ИФА определяли спонтанно продуцируемый и индуцированный компонентами комбинированного лечения уровень цитокинов (ИЛ6, ФНО α , ИЛ4 и ИЛ10), используя реагенты фирмы Вектор Бест (Россия). В иммунном статусе оценены: Т-, В-, НК-лимфоциты ($CD3^{+}$, $CD19^{+}$, $CD16^{+}$), хелперная и цитотоксическая субпопуляции Т-клеток

(CD4⁺, CD8⁺); активированные, в том числе через домен гибели, лимфоциты и Т-клетки (HLA-DR⁺, CD3⁺HLA-DR⁺, CD3⁺CD95⁺, CD4⁺CD95⁺); пролиферация лимфоцитов (РБТЛ, спонтанная, индуцированная ФГА); иммуноглобулины М-, G-, A- классов сыворотки крови; фагоцитоз микробной взвеси *St. aureus*). В статистическом анализе использованы t-критерий Стьюдента, корреляционный и многофакторный анализ.

Результаты и обсуждение. Исходно при КРР в два раза повышено относительное и абсолютное количество Т-reg клеток (7,46% / $0,070 \times 10^9$ кл/л против 3,69% / $0,031 \times 10^9$ кл/л, $p < 0,05$). Через 2–3 недели после предоперационной ХЛТ их исходное количество статистически значимо снизилось до уровня нормы ($0,036 \times 10^9$ кл/л), процент Тreg остался примерно на исходном уровне (7,69%, $p < 0,05$). В послеоперационном периоде (в течение 1–7 суток) количество Тreg-клеток сохранялось на уровне нормы ($0,032 \times 10^9$ кл/л), а процент был повышенным, статистически значимо не отличаясь от уровня после ХЛТ ($p > 0,05$). После завершения адьювантной ХЛТ (как улучшившей или стабилизовавшей процесс, так и не способствовавшей положительной динамике лечения), процент регуляторных Т-клеток возрос до 10,5%, а количество до $0,048 \times 10^9$ кл/л без достоверных отличий от состояния в послеоперационном периоде.

Таким образом, неоадьювантная предоперационная ХЛТ, операция и послеоперационная ХЛТ статистически значимо снижают до нормы количество Тreg-клеток, сохраняя или даже повышая их процентное содержание. Компоненты лечения оказывают более сильное действие на количество лимфоцитов, субпопуляции Т-клеток и их пролиферацию; в меньшей степени на число В- и NK-клеток; повышают процент активированных Т-клеток и NK-лимфоцитов, усиливают функцию фагоцитов. Многофакторный анализ выявляет корреляции Тreg-клеток с этими показателями. Поэтому как снижение Т-клеточного и усиление гуморального иммунитета, так и развитие воспалительной реакции могут быть связаны с активностью повышенного уровня относительно резистентных к ХЛТ Тreg-клеток. Гибель лимфоцитов осуществляется, по-видимому, как контактом Тreg-клеток с эффекторами, так и неконтактным взаимодействием за счет повышенной продукции ИЛ10, супрессирующего иммунитет. Повышение в раннем послеоперационном периоде в крови ИЛ10, провоспалительного ИЛ6 и ФНОα и возрастание количества лейкоцитов отражают развитие воспаления на фоне снижения Т-клеточного и усиления В-клеточного иммунитета. Причем более глубокие изменения наблюдаются у пациентов, в сыворотке которых сочетается повышенный уровень сывороточных ИЛ6, ИЛ10. У большинства пациентов при этом отмечено также повышение уровня ФНОα, а у некоторых и ИЛ4.

Выводы. Исходно при КРР значительно повышено относительное и абсолютное количество Тreg-клеток. Выявлена их большая резистентность к компонентам химиолучевого лечения КРР по сравнению с хелперной и цитотоксической субпопуляциями Т-лимфоцитов, а также по сравнению с В- и NK-клетками. Корреляционные взаимосвязи Тreg-клеток с показателями иммунитета предполагают их участие в развитии недостаточности

лимфоцитарного звена, преимущественно за счет Т-клеточного компартмента, в развитии воспалительных реакций, обусловленных лейкоцитами и гуморальными факторами. В развитие дисбаланса иммунных реакций в ходе ХЛТ свой вклад вносит ИЛ10, оказывающий супрессию иммунитета, и ИЛ6, способствующий развитию воспаления. Их сочетание, а также комбинация с повышенным уровнем ФНОα и ИЛ4 сопряжены с большей супрессией Т-клеточного иммунитета и преобладанием гуморальных реакций.

Полученные результаты относительной резистентности Тreg-клеток к ХЛТ закладывают основу для разработки и внедрения в клиническую практику новых методических подходов, направленных на элиминацию избытка Тreg-клеток и восстановление функционирования противоопухолевого иммунитета при КРР.

Возможности скрининга семейной дислипидемии с использованием данных электронной медицинской карты

С. В. Кулешова, Л. О. Минушкина, Е. В. Моляренко

ФГБУ «Поликлиника № 2» Управления делами Президента РФ, г. Москва

Possibilities for screening family dyslipidemia using electronic medical record data

S. V. Kuleshova, L. O. Minushkina, E. V. Molyarenko
Polyclinic No. 2 of the Administrative Department of the President of Russia, Moscow, Russia

В настоящее время в качестве одной из важных причин развития так называемой «ранней» ИБС рассматривают наличие какого-либо выраженного фактора риска. Наиболее значимым из них является выраженное повышение уровня липопротеидов низкой плотности. Имеются основания полагать, что такое увеличение чаще всего имеет наследственное происхождение. Окончательно сформировались современные представления о так называемой семейной форме гиперлипидемии (СГ) после того, как были разработаны относительно недорогие методики полногеномного секвенирования следующего поколения (next generation sequencing). Частота встречаемости СГ составляет от одного случая на 500 человек до одного случая на 200 человек. В некоторых же регионах с небольшой миграцией населения частота встречаемости СГ может достигать до одного случая на 60 человек. Между тем, по некоторым данным, частота выявления СГ даже в развитых странах составляет не более 1% случаев. В нашей стране это заболевание вообще практически не выявляется. В то же время своевременное выявление этого заболевания является абсолютно принципиальным, поскольку назначение гиперлипидемических препаратов таким больным (прежде всего статинов) дает возможность существенно улучшить продолжительность жизни. В поликлинике № 2 основой скрининга СГ стала возможность использовать данные электронной медицинской карты больного и базы данных, внедренной в практику работы к 2015 году. Появление портала, способного совместить медицинские информационные системы (МИС) и лабораторные информационные системы (ЛИС), обеспечило интеграцию разноплановых данных в единую базу. Вводимые значения

автоматически сравниваются с информацией медицинских справочников. В случае отклонения от референтных значений анализу присваивается признак критического или патологического значения с обязательной отметкой на бланке. Имеющийся функционал позволяет выделить в базе лабораторных данных любые заданные отклонения. Это позволило на основании данных, получаемых при диспансеризации оценить возможную распространенность дислипидемии

Целью исследования было оценить возможности проведения скрининга семейной дислипидемии в рутинной амбулаторной практике на основании голландских критериев The Dutch Lipid Clinic Network.

Материал и методы исследования. Первоначальный отбор пациентов для скрининга проводился по данным электронной медицинской карты. В течение года (июнь 2016 г. — май 2017 г.) прикрепленный контингент поликлиники составил 9370 человек — 4076 мужчин и 5294 женщины. Возрастные группы: до 19 лет — 53 человека, 20–29 лет — 1000 человек, 30–39 лет — 2337 человек, 40–49 лет — 1812 человек, 50–59 лет — 1633 человека, 60–69 лет — 1601 человек, 70–79 лет — 702 человека, 80–84 года — 118 человек, 85 лет и старше — 112 человек. 486 больных уже имеют установленные сердечно-сосудистые заболевания (группа активного наблюдения кардиологов) и уже получают гиполипидемическую терапию. В течение года из наблюдаемого контингента подлежали диспансеризации 5083 человека, прошли диспансеризацию 5054 человека. Были выполнены 4849 анализов уровня ЛНП. Из электронной базы данных были отобраны лица, у которых уровень ЛПН был 5 ммоль/л и выше.

Исследование уровня липидов крови проводилось в сыворотке венозной крови. Согласно требованиям клинических рекомендаций, определение проводилось стандартным оптимизированным методом на биохимическом анализаторе Konelab 20XT, реагентами фирмы HUMAN (Германия). Липидный профиль исследовался ферментативными колориметрическими тестами с использованием антилипидного фактора для устранения мутности реакционной смеси. Результат выдавался с использованием референтных интервалов с верхними и нижними пределами.

Результаты исследования. При обследовании было выявлено 283 пациента, имевших уровень ЛНП выше 5,0 ммоль/л (133 мужчины и 150 женщин, средний возраст $52,3 \pm 1,36$ года), 9 человек среди обследованных имели уровень холестерина ЛНП выше 6,4 ммоль/л. Таким образом, 101 больному было присвоено три балла по голландским критериям и девяти — пять баллов. Для всех пациентов, имевших уровень холестерина ЛНП выше 5,0 ммоль/л, был проведен дополнительный анализ данных электронных медицинских карт. При этом у одного больного в карте имелись данные о выявленной липоидной дуге роговицы, впервые зарегистрированные в возрасте больного до 45 лет, у 32 пациентов отмечены данные о раннем возникновении ИБС у родственников, у 27 больных при обследовании были выявлены признаки раннего развития значимого атеросклеротического поражения церебральных или периферических сосудов. Из отобранной группы шесть и более баллов по голландским критериям имели

12 больных. Для этих пациентов диагноз семейной гиперхолестеринемии является высоковероятным. 14 больных имели пять баллов, 38 больных — четыре балла, 219 больных — три балла. Для этих больных диагноз семейной гиперхолестеринемии представляется возможным.

Выводы. Таким образом, использование возможностей стандартного лабораторного обследования в сочетании с использованием системы электронной медицинской документации позволяет проводить отбор пациентов для своевременной диагностики семейных форм нарушения липидного обмена и возможного каскадного скрининга семейной дислипидемии.

Использование предикторных биомаркеров здоровья в персонализированном подходе к комплектованию донорских кадров

Е. Р. Кулюцина, Т. В. Крылова, С. В. Железнякова, Е. В. Кривченкова

Пензенский институт усовершенствования врачей — филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, г. Пенза

ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр крови», г. Пенза

Use of predictive health biomarkers in personalized approach for acquisition of donor frames

E. R. Kulyutsina, T. V. Krylova, S. V. Zheleznyakova, E. V. Krivchenkova
Penza Institute for Postgraduate Study of Doctors — a Branch of Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Penza Regional Clinical Blood Centre; Penza, Russia

Цель исследования. С помощью персонализированного подхода с использованием предикторных биомаркеров и системного анализа разработать и обосновать комплексную клинко-лабораторную оценку здоровья доноров с целью оптимизации процессов заготовки гемокомпонентов. В задачи исследования входило: 1) проанализировать динамику предикторных биомаркеров здоровья доноров и распространенность их патологических уровней в различных гендерных и возрастных группах; 2) на основании комплексной клинко-лабораторной оценки здоровья доноров создать экспериментальное программное обеспечение активной базы данных комплекса интерактивных электронных паспортов доноров в режиме удаленного доступа по схеме «клиент/сервер» для создания централизованной интеллектуальной системы обработки, хранения и защиты информации на уровне специализированного медицинского учреждения (центр крови).

Материалы и методы. На базе ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр крови» проведено комплексное клинко-лабораторное обследование 301 донора, поддержанное грантом Российского фонда фундаментальных исследований «Алгоритмы и программное обеспечение медицинской информационно-аналитической системы в области гематологии», выполненное в рамках научных исследований по договору о совместной научно-технической деятельности с Алтайским филиалом учреждения Российской академии наук Гематологического научного центра РАН по теме «Новые лабораторные технологии

обеспечения эффективности трансфузий гемокомпонентов». В исследование были включены 77 доноров крови и 224 донора плазмафереза, которые были распределены по группам по полу и возрасту.

В каждой группе доноров преобладали мужчины и доноры самой молодой (18–31 год) возрастной группы. Доноры плазмы обследовались те, которые пришли на донацию после перерыва (отдыха) от одного месяца и более. Все доноры крови были первичные. Доноры отвечали на вопросы анкеты, отражавшие анамнестические данные для выяснения возможной семейной склонности к тромбофилическим состояниям и связанных с ними патологиями, и вопросы, касающиеся факторов, которые имеют значение в развитии взаимосвязанных между собой анемического синдрома, склонности к тромбофилии и гипергомоцистемии. Было проведено биохимическое обследование, включавшее предикторы сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ): гомоцистеин (ГЦ), высокочувствительный СРБ (вЧСРБ), цистатин С, ПЦР-диагностика генетических полиморфизмов, ассоциированных с нарушениями фолатного цикла, ведущих к гипергомоцистемии (ГГЦ), проводилась по четырем генам.

Результаты. К потенциальным факторам атеросклероза, тромбозов и, как следствие, риска ССЗ, относят ГГЦ. В нашем исследовании ГГЦ достоверно чаще выявлялась у мужчин в наиболее молодой обследуемой группе (18–31 год) (34%) и, наоборот, у женщин в старшей возрастной группе (46–60 лет) (33%). Установлено, что концентрация ГЦ у мужчин в группе 18–31 года была достоверно выше (12,97 [10,07; 18,67] мкмоль/л, $p < 0,5$), чем в группе мужчин 32–45 лет (10,75 [8,57; 12,54] мкмоль/л). Уровень ГЦ в третьей, старшей возрастной группе мужчин был ниже по сравнению с обеими группами, однако различия были статистически незначимыми.

У женщин наиболее высокие значения ГЦ были зарегистрированы в возрастной группе 46–60 лет (12,62 [9,23; 15,8]). При сравнении показателей у мужчин и женщин в группах сопоставимых по возрасту статистически значимые более высокие значения ГЦ отмечались в группе мужчин относительно группы женщины 18–31 года и в группе мужчины 32–45 лет относительно женщин этого же возраста. При проведении корреляционного анализа выявлена умеренная прямая корреляционная связь концентрации ГЦ с полом ($R = 0,319$, $p = 0,0001$) и возрастом у мужчин ($R = 0,272$, $p = 0,007$).

Полученные данные о распределении полиморфизмов генов, связанных с нарушениями обмена фолатов, говорят о некоторых особенностях в распределении генотипов высокого риска у доноров, т.е. населения Пензенской области. Так, если по литературным данным, частота встречаемости неблагоприятных генотипов *C/T* и *T/T* полиморфизма метилентетрагидро-фолатредуктазы *MTHFR:677 C>T* колеблется в пределах 30–40%, то в нашем исследовании она составляла 15–67%; неблагоприятных генотипов *A/C* и *C/C* полиморфизма метилентетрагидро-фолатредуктазы *MTHFR:1298 A>C* — 20–30%, в нашем исследовании была значительно выше — 43–74%; неблагоприятных генотипов *A/G* и *G/G* полиморфизма *B12*-зависимая метионин-синтаза *MTR:2756 A>G* — 20–30%, в нашем исследо-

вании — 47–66%; неблагоприятных генотипов *A/G* и *G/G* полиморфизма метионин-синтазы редуктазы *MTRR:66 A>G* в общей популяции — 40–50%, в нашем исследовании — 79–89%. Выявлена значимая обратная корреляционная связь концентрации ГЦ и генетических полиморфизмов, ассоциированных с нарушениями фолатного цикла, у людей молодого и среднего возраста, преимущественно мужчин, что позволяет сделать вывод об отсутствии их прямой взаимосвязи у здорового населения.

Анализ концентрации цистатина С в различных возрастных группах у мужчин обнаружил статистически значимый высокий шанс частоты встречаемости (ЧВ) повышенных показаний у мужчин старшей возрастной группы (46–60 лет) (31,6%) по отношению к мужчинам самой молодой возрастной группы (18–31 год) (11,3%). Выявлено, что ЧВ повышенных значений цистатина С у женщин варьировала от 24 до 33,3% и не имела статистически значимых различий. ЧВ гиперцистатинемии среди групп мужчин была выше в старшей возрастной группе. Среди различных возрастных групп женщин различий не отмечалось. Но более высокая наблюдаемая частота распространенности патологически высоких значений у женщин, чем у мужчин в целом, свидетельствует о наличии и роли ренальной патологии в риске ССЗ у данных гендерных и возрастных групп.

Выявлялась тенденция к более высокой встречаемости повышенных значений вЧСРБ у женщин по сравнению с мужчинами в целом. Оценивая ЧВ повышенных значений данного показателя, варьировавшую в пределах 21–37% как в группе мужчин, так и женщин, не установлено статистически значимых различий во всех группах обследуемых.

Сочетания повышенных значений двух или трех предикторов были в среднем в 4–12% случаев во всех группах кроме групп женщин 32–45 и 46–60 лет, где определялся патологически высокий уровень только одного из трех предикторов.

Выводы. 1. Высокая социальная значимость тромбообразования и трудности ранней диагностики предтромботических состояний делают проблему выделения и ведения группы высокого тромбогенного риска у доноров и в целом у населения Пензенской области весьма актуальной. 2. Ведение генетических паспортов в совокупности с определением предикторных биомаркеров здоровья, сердечно-сосудистых рисков, разработка на этой основе комплекса профилактических мероприятий для конкретного донора, жителя Пензенской области, должны составлять, на наш взгляд, концептуальную и методическую основу научно-практического направления не только персонализированной, но и предиктивной (предсказательной), профилактической медицины.

Таким образом, полученные результаты системного клиничко-лабораторного обследования с использованием предикторных биомаркеров здоровья позволят оптимизировать и совершенствовать персонализированный подход к комплексной оценке здоровья при комплектовании донорских кадров, научно обосновать целевые программы профилактических мер, направленных на улучшение не только качества жизни и здоровья доноров, но и в целом населения Пензенской области.

Информативность показателей различных методов оценки спонтанной агрегации тромбоцитов у доноров

Е. Р. Куюлюцина, Т. В. Крылова, Е. В. Кривченкова,
И. В. Шапошникова, И. Д. Глухова, Н. А. Новосельцева,
Т. А. Хржановская

Пензенский институт усовершенствования врачей — филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, г. Пенза

ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр крови», г. Пенза

Informativeness of indices of various methods for estimating spontaneous platelet aggregation of donors

E. R. Kulyutsina, T. V. Krylova, E. V. Krivchenkova, I. V. Shaposhnikova, I. D. Glukhova, N. A. Novoseltseva, T. A. Khrzhanovskaya
Penza Institute for Postgraduate Study of Doctors — a Branch of Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Penza Regional Clinical Blood Centre; Penza, Russia

Цель. Изучить спонтанную агрегационную способность тромбоцитов у доноров по показателям светопропускания и параметров агрегации по кривой среднего размера радиуса агрегатов.

Материалы и методы. Обследованы 38 доноров плазмафереза (18 мужчин и 19 женщин) в возрасте от 19 до 62 лет на базе ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр крови» г. Пензы. Среди доноров были выделены две группы: первая группа доноров с показателями агрегатограмм, не выходящими за пределы нормы (показатель агрегации [значение среднего размера агрегатов] через 2 минуты после начала перемешивания не превышал 1,35 отн. ед.) ($n = 29$); вторая группа доноров с патологическими изменениями в агрегатограммах по данному показателю агрегации ($n = 9$).

Агрегационная активность тромбоцитов изучалась на лазерном анализаторе 230-LA НПФ «Биола», сопряженного через интерфейс с IBM-совместимым компьютером по показателям различных методов оценки спонтанной агрегации по кривой среднего размера агрегатов и светопропускания.

Определялись следующие параметры агрегации по кривой среднего размера агрегатов.

1. Максимальный размер тромбоцитарных агрегатов — максимальное значение среднего размера агрегатов после добавления индуктора (отн. ед.) (МРТА).
2. Время достижения максимального размера тромбоцитарных агрегатов (сек.) (ВДМРТА).
3. Максимальная скорость образования агрегатов тромбоцитов — максимальный наклон кривой среднего размера агрегатов (отн. ед. в мин.) (МСкРТА).
4. Время достижения наибольших тромбоцитарных агрегатов (сек.) (ВДНТА).

Определялись показатели светопропускания.

1. Максимальная степень агрегации тромбоцитов — отношение оптической плотности на высоте агрегации тромбоцитов к исходной оптической плотности (%) (МСАТ).
2. Время достижения максимальной степени агрегации (сек.) (ВДМСАТ).

3. Максимальная скорость агрегации тромбоцитов — максимальный наклон кривой светопропускания, измеряемой отношением процентов к минутам (% в мин.) (МСкАТ).
4. Время достижения максимальной скорости агрегации тромбоцитов (сек.) (ВДМСкАТ).

Полученные данные представлены в виде среднего значения и ошибки средней величины ($M \pm m$).

Результаты. В связи с непосредственным участием тромбоцитов в атеротромбозе и активным использованием дезагрегантов в профилактике сосудистых катастроф в последнее время отмечается увеличение интереса к оценке их функциональной активности (Сумароков А. Б., 2011; Усачева Е. В., 2013; Степанова Ю. И., 2016). Известно, что повышение агрегации тромбоцитов является важным элементом патогенеза развития заболевания, а также возникновения осложнений.

Кроме стимулированной агрегации тромбоцитов, выделяют спонтанную агрегацию (агрегацию без применения каких-либо индукторов), когда избыток агрегатов тромбоцитов циркулирует в системном кровотоке. При длительном повышении спонтанной агрегации тромбоцитов может происходить ремоделирование сосудистой стенки и, прежде всего, мелких сосудов. (Козловский В. И., 2013). Зарубежными и российскими учеными было показано, что высокие значения спонтанной агрегации тромбоцитов являются фактором риска развития атеросклероза. Но остается невыясненным вопрос о частоте встречаемости и выраженности нарушений агрегационной активности тромбоцитов без применения стимулирующих факторов, как показателя оценки фактора риска развития атеротромбоза у доноров.

Группа доноров 1 с показателями агрегатограмм, не выходящими за пределы нормы по показателю агрегации (показатель агрегации [значение среднего размера агрегатов] через 2 минуты после начала перемешивания не превышал 1,35 отн. ед.), который был предложен производителем данного агрегометра в качестве параметра оценки агрегации, оказалась в 3,2 раза больше группы сравнения.

В группе 1 показатели параметров агрегации по кривой среднего размера агрегатов имели следующие значения: МРТА — $1,21 \pm 0,03$ отн. ед.; ВДМРТА — $248,96 \pm 14,07$ с; МСкРТА — $0,16 \pm 0,01$ отн. ед. в мин.; ВДНТА — $142,45 \pm 16,26$ с. В группе 2 данные показатели имели более высокие значения и составили соответственно МРТА — $1,79 \pm 0,11$ отн. ед.; ВДМРТА — $264 \pm 18,08$ с; МСкРТА — $0,66 \pm 0,29$ отн. ед. в мин.; ВДНТА — $182,22 \pm 26,4$ с.

Показатели светопропускания в группе 1 с нормальными значениями показателя агрегации были следующими: МСАТ — $1,49 \pm 0,14$ %; ВДМСАТ — $276,69 \pm 7,59$ с; МСкАТ — $1,26 \pm 0,2$ % в мин.; ВДМСкАТ — $150,72 \pm 15,89$ с. В группе 2 эти показатели составили: МСАТ — $4,59 \pm 2,2$ %; ВДМСАТ — $270,55 \pm 19,79$ с; МСкАТ — $1,93 \pm 0,73$ % в мин.; ВДМСкАТ — $137 \pm 30,82$ с.

Выводы. 1. Проведенные результаты исследования показывают, что у 23,7 % доноров отмечается повышение агрегационной способности тромбоцитов. 2. Изучив данные агрегатограмм доноров, можно установить, что более высокие значения параметров агрегации по кривой

среднего размера агрегатов наиболее достоверно отражают гиперагрегационную способность тромбоцитов, чем показатели светопропускания. 3. В ходе данной работы выявлено, что только один показатель МСАТ, т.е. максимальное приращение светопропускания, можно использовать в качестве ранней оценки спонтанной гиперагрегации тромбоцитов и риска развития атеротромбоза.

L-альфа-фукан-связывающие лектиновые системы пробиотических бактерий человека в оценке коммуникаций пробиотического компартмента микробиоценозов человека

М. В. Лахтин, В. М. Лахтин, С. С. Афанасьев, В. А. Алешкин

ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, г. Москва

L-alpha-fucan-binding lectin systems of human probiotic bacteria in evaluation of communications of probiotic compartment of human microbiocenoses

M. V. Lakhtin, V. M. Lakhtin, S. S. Afanasyev, V. A. Aleshkin
Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology n.a.
G. N. Gabrichevsky, Moscow, Russia

Нами было установлено присутствие пробиотических лектиновых систем (ЛС, лактобациллярных и бифидобактериальных лектинов: ЛЛ, БЛ), распознающих гликоконъюгаты (ГК). ЛЛ и БЛ проявляли спектр биологических активностей, обусловленных иницирующим взаимодействием с ГК-мишенями. Содержащие фукозу природные ГК составляют характеристические паттерны поверхности ряда условных микробных патогенов и паразитов человека, участвуют во взаимодействии сперматозоидов и яйцеклеток, вовлекаются в лектиновый сигналинг дендрцитов, кофункционирующих с лимфоцитами; распознаются защитными клетками с рецепторами гликанов комплексного типа, являются обязательным компонентом Н(И)-группы крови, проявляются как маркеры овокарцином и рака.

Цель. Оценить функциональный потенциал L-фукан-связывающих ЛС пробиотических бактерий человека.

Материалы и методы. Пробиотические бактерии — из коллекции микроорганизмов при МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора. Компоненты бактериальных культур (27–200 кД, рI 4–8) фракционировали, разделяли изоэлектрофокусированием в пластине полиакриламидного (ПАА) геля и проводили электроблоттинг. Белки окрашивали посредством SYPRO protein blot stain (Bio-Rad), а ЛС (сильно- и слабокислые в интервалах рI 4,0–4,5 и 4,5–7,0 соответственно; щелочные в интервале рI 7–8; комплексный препарат [КП] с кислыми и щелочными лектинами на примере Ацилакта) визуализировали последовательной обработкой ГК-биотином и стрептавидин-пероксидазой. Флюоресценцию и хемилюминесценцию регистрировали в реальном времени в системе BioChem System (UVP, Calif.). Использовали ГК с множественными экспонированными остатками углеводов на ПАА-коре (Углевод-ПАА-биотин, www.lectinity.com), имитирующие природные гликополимеры. Влияние ЛС или ГК на культуральные внутрибрюшинные макрофаги мышей оценивали

путем расчета индекса миграции макрофагов (ММ) в соответствии с программным алгоритмом, разработанным для скринингового теста клеточной миграции макрофагов, использующего систему «МигРоСкрин» (СП «Ниармедик Плюс»). Фагоцитоз бактерий лейкоцитами, выделенными из периферической крови человека, изучали стандартным методом. Влияние пробиотических лектинов, фасолевого фитогемагглютинина (РНА, Sigma), сальмонеллезного липополисахарида (ЛПС) (Пирогенал, Москва) или бактериального фагоцитоза на продукцию фактора-альфа некроза опухолей (ФНО) лейкоцитами оценивали ELISA. Титры (мкг/мл) цитоагглютинации препаратами лектинов в отношении сialiдазных эритроцитов А(II)-группы крови человека составляли: $1,30 \pm 0,20$ (сильнокислые ЛЛ), $6,00 \pm 0,62$ (щелочные ЛЛ), 6930 ± 525 (комплексный препарат [КП] кислых и щелочных ЛЛ).

Результаты. 1. Пробиотические бактерии характеризовались отличающимися от маннозо/псевдоманнан-ПАА-, N-ацетилгалактозамин/псевдомуцин-ПАА- и других углеводов-ПАА-связывающих ЛС L-фукоза/псевдофука-ПАА-связывающими ЛС в белковых массивах: *B. bifidum* 791 (мажоры ЛС вблизи рI 3,9), *B. longum* B379M (ЛС, главным образом, в пределах рI 4,0–4,4), *L. helveticus* NK1 (ЛС с рI 4,0–4,4 и [в меньшей степени] 3,6–3,7). Как правило, бифидобактериальные ЛС обнаруживались как более интенсивные и рI-расширенные комбинации компонентов (мажоров и миноров) в сравнении с лактобациллярными ЛС. 2. Стимуляция ММ наблюдалась как L-фукоза-ПАА ($14,5 \pm 2,1$) > D-Манноза-ПАА ($3,5 \pm 0,40$) > N-ацетил-D-галактозамин-ПАА ($1,00 \pm 0,09$). 3. В субгемагглютинирующих концентрациях влияние щелочных БЛ ($13,0 \pm 2,0$), ЛЛ ($7,50 \pm 0,60$) и кислых ЛЛ ($7,00 \pm 0,61$) на ММ было сходным с таковым ГК-имитаторов L-фукана и D-маннана. Имело место синергистическое влияние КП ЛЛ на ММ ($13,0 \pm 1,6$). 4. КП ЛЛ дозозависимо обратно пропорционально влиял на степень продукции ФНО (200–600 пг/мл) лейкоцитами, в то время как сильнокислые или щелочные ЛЛ на продукцию ФНО практически не влияли: проявляли низкую способность индуцировать продукцию ФНО (126–254 пг/мл) лейкоцитами, которая была сравнима с уровнями спонтанной продукции ФНО (126–129 пг/мл) или индуцированной фагоцитозом *B. bifidum* продукции ФНО (106–150 пг/мл), отличающимися от индуцирования ФНО стимуляцией лейкоцитов ЛПС или ФГА (182–458 и 197–271 пг/мл соответственно). Действие КП ЛЛ на лейкоциты не было связано с гемагглютинирующей активностью, а по своему характеру и времени отличалось от влияния на лейкоциты ФГА и ЛПС.

Выводы. Способность к синергизму с белками-партнерами создает базу успешного кофункционирования пробиотических ЛС в коммуникационных сетях в качестве сигналов и навигаторов аффинных надмолекулярных информационных (направленных, заданных, ожидаемых) сборок. L-фукан / (производные фукана) и соответствующие им ЛС пробиотических бактерий в организме человека, по-видимому, вовлекаются как во внутримикробиоценозные перекрестные коммуникационные процессы распознавания, так и в коммуникации между микробиоценозами и врожденными и адаптационными защитными системами

в рамках интерактома суперорганизма человека. Такие ЛС целесообразно использовать как L-фукан / (производные фукуана)-удерживающие / несущие / доставляющие и высвобождающие лекарства, пребиотики и другие эффекторы агенты, регуляторы пробиотических активностей, переключатели про- и противовоспалительных цитокиновых сетей, индукторы отдельных цитокинов и их каскадов, участники влияния на фаго/пино/эндоцитоз лейкоцитами / макрофагами, индикаторы опухолевых клеток и вкладчики в антиопухолевое действие. Пробиотические функционально эффективные компоненты ЛС могут быть временно (обратимо) ассоциированы с «неперевариваемыми» гликанами — потенциальными пребиотиками и иммуномодуляторами. Не исключено, что бифидобактерии поддерживают свою выживаемость и выживаемость лактобацилл в том числе путем использования L-фукан / (производные фукуана)-связывающих ЛС. Нельзя исключать и перспективы тонкой (на уровне фукозосодержащих гликополимеров) регуляции процессов, связанных с оплодотворением (его поддержкой и пролонгированием).

Ранние биопленки смешанных культур грамположительных и дрожжеподобных микроорганизмов человека в микропанели: прогностико-диагностический потенциал

М. В. Лахтин, В. М. Лахтин, А. А. Байракова, С. С. Афанасьев

ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, г. Москва

Early biofilms of mixed cultures of human Gram-positive and yeast like microorganisms in microplate: prognostic diagnostic potential

M. V. Lakhtin, V. M. Lakhtin, A. A. Bayrakova, S. S. Afanasyev
Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology n.a.
G. N. Gabrichevsky, Moscow, Russia

Ранние биопленки (БП) моно- и смешанных культур микроорганизмов обычно формируются *in vitro* в течение 24–72 часов. Они характеризуют межклеточные взаимоотношения, позволяющие прогнозировать особенности БП в организме.

Цель. Оценить прогностико-диагностическую ценность ранних БП пробиотических и условнопатогенных микроорганизмов на основании собственных результатов.

Материалы и методы. Изоляты лактобацилл *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei* (8 штаммов в общем лактобациллярном пуле) и кандид *C. albicans* (пул — 8 штаммов) и *C. tropicalis* (пул — 8 штаммов) из урогенитального тракта пациентов, проходивших обследование в КДЦ при НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г. Н. Габричевского. Монокультуры и смеси лактобацилл и кандид в оптимизированных соотношениях культивировали в жидкой среде MRS в микропанелях (общий объем в лунках составлял 250 мкл) в течение 2–3 дней при 37 °С. БП окрашивали генцианвиолетом, который экстрагировали раствором уксусной кислоты, экстракт переносили в другую микропанель и измеряли поглощение при 620 нм. Результаты упорядочивали в ряды

ранжированных штаммов в составе видзависимых блоков в порядке возрастания / снижения БП-образования моно- и смешанными культурами (в последнем случае оценивали вклад пула лактобацилл (8 штаммов) на БП-образование каждым из 16 штаммов кандид. Цифровые фотографии БП получали сканированием микропанелей на приборе HP Deskjet F2187. Проводили компьютерное редактирование картин поверхности лунок.

Результаты. 1. Влияние пробиотического лактобациллярного компартмента на условно-патогенный кандидный компартмент урогенитального тракта. 1.1. Консорциумное влияние пула лактобацилл. Трехвидовый пул лактобацилл (штаммы 104, 106, 109, 143, 183, 183a) максимально супрессировал БП-образование в подгруппе *C. albicans* (штаммы 3, 26, 45, 147, 161 в едином блоке). 1.2. Влияние лидерных штаммов в пуле лактобацилл. Выявленные лидерные штаммы в лактобациллярном пуле *L. acidophilus* 124 и *L. casei* 124b характеризовались преимущественным действием на *C. albicans* *C. tropicalis* соответственно (наблюдалось соответствующее перераспределение блоков в рядах). 2. Визуальная мультипараметровая характеристика БП моно- и смешанных культур микроорганизмов. Оптимизация выявления особенностей (до семи визуальных параметров) БП-ландшафта в лунках микропанели (с учетом поверхности дна и боковых стенок) позволила более точно характеризовать характер и распределение БП в моно- и смешанных культурах.

Заключение. Результаты перспективны в исследовании смешанных микробных ранних БП, для оценки микробиологических взаимоотношений пробиотического и условно патогенного компартментов в биотопах слизистых открытых полостей организма, лабораторной диагностики условнопатогенных микробов, отбора и поиска пробиотических консорциумов и лидерных штаммов, оценки межпуловых взаимоотношений в микробиоценозах биотопов, визуального анализа БП бактериально-дрожжевых культур.

Имэджевая диагностика белковых гормонов на примере ЭПО: подходы и перспективы

М. В. Лахтин, В. М. Лахтин, В. А. Алешкин, С. С. Афанасьев

ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, г. Москва

Bioimagination of protein hormones on example of EPO: approaches and prospects

Lakhtin M. V., M. V. Lakhtin, V. M. Lakhtin, V. A. Aleshkin, S. S. Afanasyev
Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology n.a.
G. N. Gabrichevsky, Moscow, Russia

Рекомбинантный эритропоэтин человека (рчЭПО) — один из самых востребованных биотехнологических продуктов — широко используется при лечении анемий, почечной недостаточности, гипоксий. Актуальна разработка имэджевого в режиме реального времени высокоинформативного анализа лекарств, в том числе системных форм рчЭПО и эчЭПО (эндогенного) в моче. Важны новые подходы к анализу ЭПО, расширяющие возможности терапии белковыми гормонами.

Цель. На основании собственных данных суммировать потенциал имэджевой диагностики ЭПО.

Материалы и методы. Использовали метод Lasne анализа ЭПО изoeлектрофокусированием в полиакриламидном геле (А), электроблотингом на гидрофобную мембрану immobilon P (Millipore) (блот 1) через гидрофильную мембрану Durapore (Millipore) (Б), обработкой б্লота 1 моноклональными антителами (мАТ) к чЭПО (В), кислым переносом мАТ (блот 2-АТ1) (Г), достройкой комплексом АТ2-биотин-стрептавидин-пероксидаза (Д), регистрацией хемилюминесценции пероксидазного субстрата в системе BioChem System (UVP) (Е) [9]. Биотинилированные полимерные гликоконъюгаты (ГК) (www.lectinity.com) использовали в доокрашивании I комплексом II (ГК-биотин-стрептавидин-пероксидазой).

Результаты. 1. Модификации анализа ЭПО (в скобках преимущества): А — низковольтный электрофорез (600–700 В, ночь, 8–10 °С) (дискретность картин, доступность оборудования, комфортное время); Б — двухстороннее фотографирование полусухой дюраторовой мембраны (контрольной реплики более 20 скрининговых треков; оценка зоны рчЭПО [ее ослабление] и примесей [характеристика образца]), В–Г — получение б্লотов 1 — верхнего и нижнего, в том числе с комплексом ЭПО-АТ1-АТ2-стрептавидин-пероксидаза (I) (возможность контроля полос ЭПО до б্লота 2, оценка примесей), Д — кислый перенос пероксидазной активности б্লота 1 с комплексом I (адекватность полосам ЭПО без примесей), Б–Д — термопромывки, использование твина вместо альбумина, Е — анализ б্লота 2 нового и б্লотов 1 (оценка примесей в образцах, агрессии и ветвления в соседние треки с точкой разветвления в начале серии полос рчЭПО в направлении от катода к аноду, полосы рчЭПО на концах веток [феномен «яблоко на Адамовом дереве»]), проявление б্লотов субстратом BioWest (UVP) после промывки при рН субстрата (8,6–8,9) при 50–55 °С (однородность и выравнивание фона, особенно полносборочных б্লотов 1, что открывает возможность не применять б্লот 2; более полное удаление примесей); перенос окрашенных полос рчЭПО с б্লота 1 на б্লот 2; ступенчатая нелинейная временная дифференциально-интегральная регистрация свечения (позволяет точно [через максимум] устанавливать точную — оптимальную воспроизводимую картину соотношения полос ЭПО [с возможностью регистрации мозаики доминирования одних полос над другими]). 2. Концептуальная новизна диагностики: 2.1. Конверсия рчЭПО-эчЭПО в организме человека (моче) (позволяет у пациентов в моче оценивать рчЭПО в зоне эчЭПО, контролировать время и степень конверсии). 2.2. Паттерновая диагностика ГК-зависимых серийных ассиметричных групп (стретчей) форм ЭПО (доокрашивание комплекса I комплексом II) (расширяет р1-диапазон диагностики; выявляет новые более или менее кислые формы ЭПО, увеличивает общее число форм, усиливает проявление отдельных форм и их сочетаний, усиливает мозаичность / ассиметричность серий форм; выявляет диагностические комбинации форм [2–3 и более форм, в том числе визуально устойчивых при хранении б্লотов при 5 °С], выявляет новые ГК-распознающие на-

боры форм ЭПО, в том числе синалосвязывающие в области агрегированных форм [надмолекулярных ансамблей с потенциальной новой физиологической активностью]; стандартизирует и различает коммерческие препараты рчЭПО [достаточно 2–3 проверенных и выбранных ГК]). 3. Предложен двухступенчатый (последовательные обработки при рН 4 и рН 3) дот-блоттинг оценки присутствия рчЭПО в концентратах (500 раз, > 27 кД) мочи. 4. После хранения 1–3 недели полносборочных б্লотов I с исследованной хемилюминесценцией мочевого рчЭПО при 5 °С выявлялись в треках в ответ на однократное добавление 0,03 % H_2O_2 протяженные продукты перекисного окисления с интенсивностью свечения, прямо пропорциональной присутствию рчЭПО, что имеет диагностическое значение.

Заключение. Результаты раскрывают потенциал процедур (упрощение, замена, сокращение, снижение времени и затрат реагентов, повышение надежности результатов, сцепленность признаков, комфортность времени) имэджевого анализа ЭПО, акцентируют использование новых блотинговых и лектин-гликоконъюгатных подходов, обосновывают перспективы диагностики терапевтических белков (в том числе высокогликозилированных), их комплексов и ансамблей.

Лектиновые системы здоровья

В. М. Лахтин, М. В. Лахтин, С. С. Афанасьев, В. А. Алешкин

ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, г. Москва

Lectin systems of health

V. M. Lakhtin, M. V. Lakhtin, S. S. Afanasyev, V. A. Aleshkin
Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology n.a.
G. N. Gabrichevsky, Moscow, Russia

Лектины — объект возрастающего интереса гликобиологов, гликоиммунологов, гликомедиков и гликобио(нано)технологов. Лектины относятся к углеводы / гликоконъюгаты (ГК) / гликотопы / паттерны-связывающим / чувствительным / распознающим белкам неиммуноглобулиновой и неферментной (углеводсвязывающий модуль / участок / домен / эпитоп не совпадает с каталитическим) природы. Лиганды/ модуляторы лектинов — углеводы, ГК и пептиды.

Цель. Суммировать представления о лектиновых системах здоровья (ЛСЗ).

Распространенные во всех таксономических группах и упорядоченные на всех уровнях построения и функционирования организма. Различают твердофазные (мембранные, поверхностноклеточные, внеклеточных матрикса / гликокаликса, оболочечные и слизевые), растворимые (молекулярные, комплексные, ансамблевые, рецептор-подобные сборочные), тканевые и органные (соответствующие тропизму), организменные (интерактомные, персонифицированные).

Аутоиммунные, врожденного и адаптивного иммунитета, надзорные. Базисные. Адаптивные, способные перестраиваться / переключаться в ответ на сигналы. Необходимые факторы иммунобиологического надзора (ИБН).

Мультифункциональные, кофункционирующие, вспомогательные / подмостковые. В том числе «строительные» (мажорные) и сигнальные (минорные). Иницируют активности (и далее каскады и сети), иницируемые и сцепленные путями распознавания ГК. Кофункционируют с ферментами и иммуноглобулинами на всех уровнях ИБН.

Противопоставленные в ответах симметрично и ассиметрично (в том числе сборочные и рецепторподобные — с регуляцией направления сборки надсубъединичных / надмолекулярных комплексов и ансамблей [проблема модифицированных и стареющих молекул распознавания], в том числе в направлениях стыков — сайтов нового распознавания, например, в направлении ориентации межсубъединичной / межмолекулярной «щели» [МЩ]; при этом регулярно возникает сцепленная с предыдущим актом аффинной сборки новая или модифицированная прежняя лектиновая активность [например, при появлении связывания сиаловых ГК посредством МЩ или белково-агрегатными ансамблями]; следствие сборки — ранжированный по сродству набор мишеней).

Распознающие паттерны, чувствительные к расположению ГК на ограниченном ландшафтном рельефе. Важны кластерность (близость в пространстве) в гликане (его мультиантенность) и наборов гликанов, наличие ограниченно подвижных впадин / крипт / щелей / карманов, выступов / шпилек / антенн, комбинационных мозаик перечисленного как ключи мобильной / адаптационной комплементарности.

Скоординированные в единую сеть ИБН как дежурного (работающего в ритмах, замедляющих самоконтроль при старении), с инфраструктурой коммуникационных сетей (базисных плюс надстроечных) врожденного иммунитета.

Сбалансированные (интегрированные, самоконтролируемые, создающиеся «в противовес» сигнальным изменениям окружения).

Базисные — эволюционно древние — для надстроечных (функционально продвинутых). Являются одной из причин возникновения системных болезней (при нарушении базисных коммуникаций (острые, переходящие в хронические — необратимые).

Циркулирующие дежурные надзорные (как нейропамять нейросети, но с резко замедленным ритмом; при старении — вклад в замедление за счет возрастания «информационного шума» [разрывов и нарушений] в сетях). Устанавливают «разрывы» в узлах коммуникаций, запускают шунты.

Информационные (участвуют в создании адаптивной мобильной кратковременной памяти, переходящей в долговременную в результате презентаций нарушений дежурным центрам ИБН и нервной системе).

Иерархически подчиненные. Функционируют как «сеть-в-сети» (ЛЗС среди компонентов любой защитной системы), интегрируясь в суперЛЗС сети интерактома. Низшие иерархии «не видят» / не контролируют высшие иерархии (контроль только «сверху» от высших иерархий в ответ на сигналы «снизу»). «Выравнивание» / уравнивание иерархий (в том числе за счет шунтовых надстроечных коммуникаций) приведет к взаимоконтролируемому «горизонтальному» сигналлингу.

Козволюционирующие. Молекулярная сцепленная со структурой ЛЗС эволюция системного распознавания: (углеводы [простые и сложные] — гликаны и полисахариды — гликозидные модифицированные ГК [гликаны и полисахариды] — паттерны с углеводной / ГК и гидрофобной [липидной, ароматической и другой] частями / мозаиками ландшафта) — рецепторподобные паттерны, твердофазные в сочетаниях и с ограниченной подвижностью для комплементарности контакта. В соответствии с системами выстраиваются ряды ранжированного узнавания мишеней в окружении ЛЗС (ряды каскадного распознавания мишеней отражают соответствие мишеней этапам последовательной сборки ЛЗС, в противоположность рядам уже имеющихся пространственно разобщенных независимых друг от друга мишеней). В результате достигаются тропизм, индивидуальность и самоидентификация тканей и органов. Уровни распознавания могут быть представлены в составе направленной вверх спирали, вертикальные срезы которой отражают иерархически продвинутые типы / мишени узнавания. При этом кластерность мишеней эволюционирует (Asn-гликан [N-гликан] в рамках комбинаций антенн, дендримерных конструкций; несколько Asn-гликанов, «площадки» муцинового типа с Ser / Thr-гликанами [О-гликанами]; комбинации рецепторов лектинового типа [например, С-типа, из числа CD-антигенов, других ориентированных на паттерны]; мозаики микромишеней в паттерне [например, Toll-подобных рецепторах]).

Поддерживающие тропизм тканей и органов, участвующие в персонификации (уникальности) организма. В консервативной сети комплексов с биомаркерными ГК или типовым набором распознаваемых паттернов.

Сетевые (базисные и надстроечные — шунтовые, частично компенсирующие / корректирующие системные болезни). Представлены многоуровневыми сетями комплемента, свертывания крови, цитокиновыми и сетями других типов защиты. Метаболомбиотические (с действием «сеть-на-сеть»).

Диагностирующие, киллерные и корректирующие. Направлены против модифицированных ГК как ошибочных «псевдомутаций» фенотипов, в том числе с нарушенным действием сети ферментов, неферментативным гликозированием при старении.

Противопоставленные враждебным факторам локального окружения и окружающей среды (микробным, вирусным, другим).

Стратегические / перспективные. Для установления и регуляции базисных узлов (переключения в надстроечные) межклеточных и межтканевых коммуникаций, предупреждения, выявления, и коррекции их нарушений. Средства дежурного самоконтроля, факторы гомеостаза, биомаркеры и мишени для терапии.

Заключение. ЛЗС универсальны, расширяют потенциал ИБН, создают новые возможности развития медицинских технологий защиты, диагностики, применения в профилактике и терапии системных болезней. Возможны многоуровневые сетевые стратегии применения ЛЗС.

Маркеры эндотелиальной дисфункции и воспаления у больных ишемическим инсультом различной тяжести в остром периоде

О. А. Левашова, И. Г. Золкормяев, Н. И. Баранова, И. И. Кухтевич

Пензенский институт усовершенствования врачей — филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, г. Пенза

Markers of endothelial dysfunction and inflammation in patients with ischemic stroke of varying severity in acute phase

O. A. Levashova, I. G. Zolkornyaev, N. I. Baranova, I. I. Kukhtevich
Penza Institute for Postgraduate Study of Doctors — a Branch of Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Penza, Russia

Ишемический инсульт (ИИ) является важнейшей медико-социальной проблемой, обусловленной высокой долей в структуре общей заболеваемости, инвалидизацией и смертностью. Среди факторов, влияющих на развитие сердечно-сосудистой патологии, в том числе и ИИ, является эндотелиальная дисфункция (ЭД) и воспаление. Согласно современным представлениям, ЭД — один из важных механизмов патогенеза ишемического повреждения головного мозга, что, вероятно, связано с нарушением ключевых метаболических процессов, секрецией различных регуляторных молекул, структурно-функциональной целостностью гематоэнцефалического барьера. Маркером повреждения эндотелия могут выступать циркулирующие эндотелиальные клетки (ЦЭК) изучение механизмов активации воспалительного ответа при острой ишемии головного мозга признано одним из приоритетных направлений в современной неврологии. Лабораторным маркером, характеризующим развитие воспалительной реакции, является С-реактивный белок (СРБ).

Цель исследования. Изучение уровня маркеров эндотелиальной дисфункции и воспаления у больных ишемическим инсультом различной степени тяжести в острой стадии заболевания.

Материалы и методы. Обследованы 45 пациентов (20 мужчин и 25 женщин) с ишемическим инсультом в каротидном бассейне. Возраст обследованных составил 61,6 [55; 70] года. В исследование включались пациенты, поступившие в стационар в первые сутки от начала инсульта. Тяжесть неврологического дефицита оценивалась с помощью шкалы Национального института здоровья (NIHSS). Ишемический характер инсульта подтверждался методами нейровизуализации (КТ головного мозга). Пациенты в зависимости от тяжести мозгового инсульта были разделены на две группы. Первую группу составили 26 пациентов с инсультом легкой и средней степени тяжести, от 4 до 14 баллов по шкале NIHSS. Во вторую группу вошли 19 пациентов с тяжестью инсульта от 15 до 22 баллов по NIHSS. Контрольную группу составили 12 человек. Количество ЦЭК определяли на проточном цитофлуориметре BD FACS Calibur с использованием меченых флуорохромами моноклональных антител к поверхностным антигенам клеток: CD 146-FITC в качестве метки для ЦЭК и CD 45-PE как панлейкоцитарный антиген. Концентрацию СРБ в сыворотке крови измеряли иммунотурбидиметрическим методом реактивами «Диасис» (Германия). Статистическую обработку результатов проводили

с использованием непараметрических методов при помощи программы Statistica 6. Полученные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [25%; 75 %]). Сравнение количественных признаков проводили по критерию Манна-Уитни. Корреляции изучаемых показателей оценивали по критерию Спирмена. Критической величиной уровня значимости (p) считали значение 0,05.

Результаты. Уровень ЦЭК у пациентов первой группы с инсультом легкой и средней тяжести составил 1×10^4 [0; 2×10^4] клеток. Во второй группе (тяжелое течение ИИ) количество десквамированных эндотелиоцитов равнялось $2,5 \times 10^4$ [1×10^4 ; 3×10^4] клеток. В группе контроля значения изучаемого показателя составили 0 [0; $1,5 \times 10^4$] клеток. Количество десквамированных эндотелиоцитов у пациентов в острой стадии ишемического инсульта различной степени тяжести статистически значимо отличалось от контроля. При сравнении уровня ЦЭК у больных ишемическим инсультом первой и второй группы не выявлено статистически значимых различий, однако по результатам корреляционного анализа обнаружена умеренная положительная зависимость между уровнем ЦЭК и тяжестью заболевания ($R = 0,47$, $p = 0,035$). Полученные результаты свидетельствуют о развитии эндотелиальной дисфункции в острой фазе ишемического инсульта.

Определение СРБ у больных ишемическим инсультом выявило статистически значимое повышение данного показателя во все сроки наблюдения, как в первой, так и во второй группе по сравнению с контролем (1 [0; 3] мг/л). Так, уровень СРБ у пациентов с легким и средним вариантом течения ИИ составил 9,0 [2; 12] мг/л. Наиболее высокие значения СРБ выявлены у больных с тяжелым инсультом — 23,5 [1; 39] мг/л. Проведение корреляционного анализа показало наличие умеренной положительной связи между концентрацией острофазного белка и тяжестью острой ишемии мозга ($R = 0,51$, $p = 0,042$).

Выводы. Острый период ишемического инсульта различной степени тяжести характеризуется развитием эндотелиальной дисфункции и выраженной воспалительной реакцией. Изучение патофизиологических механизмов ишемического повреждения мозга позволит определить перспективные направления для фармакологической нейропротекции и репарации.

Оценка фракции свободного кортизола в слюне у пациентов с различной адаптацией к стрессовому воздействию

Т. В. Лобачевская¹, С. А. Печальнова²

¹Кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной генетики ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

²Клинико-диагностическая лаборатория «Глобус-мед», г. Санкт-Петербург

Assessment of free cortisol fraction in saliva at patients with different adaptation to stressful influences

T. V. Lobachevskaya, S. A. Pechal'nova
First Saint Petersburg State Medical University n.a. I. P. Pavlov, Clinical Laboratory 'GlobusMed'; Saint Petersburg, Russia

Актуальность. Жители больших городов подвержены ежедневному стрессу. На сегодняшний день необходим метод, позволяющий распознать степень и нарушение адаптации к стрессу на ранних этапах. Практика показывает, что наиболее распространенные методы оценки функции коры надпочечников — общий кортизол в сыворотке крови (в утренние часы, а также соотношение утро–вечер), свободный кортизол в суточной моче — хорошо подходят для выявления органической патологии. Эти методы не фиксируют субклинических отклонений, даже при наличии явных нарушений, выявленных методами психодиагностических тестов. Исследование кортизола в слюне — это неинвазивная процедура, позволяющая полноценно оценить суточное колебание данного метаболита (оптимально по четырем точкам) без визита в медицинское учреждение. При этом оценивается биологически активная свободная фракция кортизола, не связанная с белком переносчиком.

Цель. Провести сравнение стадий стресса (Г. Селье) у пациентов обследованных с использованием психодиагностических тестов с лабораторными результатами суточных колебаний кортизола в слюне. Сформировать критерии определения стадии стресса по уровню кортизола в слюне в течение суток.

Материалы и методы. Венозная кровь и слюна пациентов без органической патологии надпочечников. Всего обследованы 40 человек (13 мужчин, 27 женщин) в возрасте от 18 до 55 лет (средний возраст составил 37 лет).

Определение содержания общего кортизола в сыворотке проводили на анализаторе UniCelDxi (Beckman Coulter, США). Фракция свободного кортизола слюны оценивалась по четырем точкам в течение суток в утренние, дневные, вечерние и ночные часы на анализаторе cobas (Roche Diagnostics, Швейцария). Для оценки психологического состояния использовалось психодиагностическое тестирование самочувствия Н. Е. Водопьяновой.

Результаты. Оценка суточных колебаний свободного кортизола в слюне (четыре точки) у психологически устойчивых, согласно тестированию пациентов, не выявила отклонений от нормы. У пациентов со средней степенью напряжения (удовлетворительной адаптацией) выявляется изолированное повышение кортизола в утренние часы (больше 19,1 нмоль/л, от незначительного увеличения до 2–3-кратного подъема). В данной группе пациентов также отсутствует адекватное снижение кортизола в дневное время (значения выше нормы, в среднем 15–20 нмоль/л, и составляют 59–94 % от утренних показателей).

У пациентов с длительным стрессом (период дезадаптации) отмечается снижение уровня кортизола по всем четырем точкам, значительно изменяется вид суточной кривой, основной подъем наблюдается не в утренние, а в дневные и вечерние часы. Отдельно следует выделить группу пациентов, у которых отмечается изолированный подъем в вечернее время, связанный с привычным психоэмоциональным напряжением в эти часы.

Из 40 опрошенных пациентов, более половины, 28 человек, набрали 16–26 баллов, что соответствует психологическому периоду напряжения или удовлетворительной адаптации. Согласно симптоматическому тестированию

у пациентов в данной группе выявлены умеренные признаки эмоциональной и вегетативной неустойчивости, нарушение сна, тревога и страхи. Семь пациентов набрали более 26 баллов, что соответствует уровню дезадаптации. У пяти пациентов уровень психологической адаптации был в пределах нормы.

Кроме того, было проанализировано наличие сопутствующей патологии. В данной группе пациентов у 73 % следует отметить как лабораторные проявления гипотиреоза (референсный интервал ТТГ более 4,2 мкМЕ/мл, признаки дислипидемии), так и клинические (более половины обследуемых отмечает склонность к отекам, утомляемость, снижение ясности мышления, нарушение ритма сердца и т.д.). У 89 % пациентов выявлена низкая концентрация гормона 25(ОН)D различной степени выраженности.

Был проведен корреляционный анализ между содержанием кортизола в утренней порции слюны и набранными баллами по симптоматическому тестированию самочувствия Н. Е. Водопьяновой. Показано наличие статистически значимой положительной корреляционной связи средней силы. Коэффициент корреляции Спирмена 0,749, $p = 0,005$.

Выводы. Таким образом, показано, что определение суточных колебаний кортизола в слюне является чувствительным и объективным методом оценки степени адаптации пациента к стрессу. Данные исследования общего кортизола в сыворотке крови не выявили существенных корреляций с психоэмоциональным статусом пациентов. Планируется расширение группы исследования, дальнейшее сравнение характера кривых колебаний свободного кортизола у групп с различным проявлением адаптации к стрессовым воздействиям.

Мониторинг морфофункционального статуса тромбоцитов человека в условиях окислительного стресса, индуцированного перекисью водорода

М. С. Макаров

ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н. В. Склифосовского» Департамента здравоохранения г. Москвы

Monitoring of human platelets' morphofunctional rate under H₂O₂-induced oxidative stress

M. S. Makarov

Research Institute of Emergency Care n.a. N. V. Sklifosovsky, Moscow, Russia

Актуальность. Взаимодействие клеток с активными формами кислорода представляет интерес как для клеточной биологии, так и для лабораторной медицины. При многих патологических состояниях активные формы кислорода (в первую очередь супероксид-радикал и перекись водорода) оказывают заметное воздействие на клетки циркулирующей крови. Известно, что перекись водорода (H₂O₂) обладает способностью регулировать функциональную активность клеток, в том числе тромбоцитов. В клинической лабораторной диагностике тромбоциты человека являются значимым маркером для оценки гемостаза, кроме того, анализ тромбоцитов позволяет оценивать репаративный и регенеративный потенциал

всего организма. Мониторинг качества тромбоцитов имеет особое значение при неотложных состояниях, сопровождающихся окислительным стрессом и выработкой большого количества эндогенной H_2O_2 . При этом остается неизученным воздействие H_2O_2 на морфофункциональный статус тромбоцитов.

Цель. Исследовать морфофункциональные свойства тромбоцитов человека в присутствии разных концентраций H_2O_2 .

Материалы и методы. В работе использовали тромбоциты, полученные у доноров крови с помощью аппаратного афереза. До начала эксперимента тромбоцитные концентраты хранили при комнатной температуре и постоянном помешивании в течение 1–5 суток. В суспензию тромбоцитов вносили 3-процентный раствор перекиси водорода, конечная концентрация H_2O_2 в исследуемых пробах составила 20, 40, 50, 60, 80, 400 и 600 мкМ. Действие каждой концентрации H_2O_2 оценивали после инкубации в течение 2 часов при 22 и 37 °С. С целью оценить способность низких доз H_2O_2 блокировать адгезию тромбоцитов и их дегрануляцию клетки инкубировали на предметном стекле с 20–80 мкМ H_2O_2 в течение 1 часа при 37 °С. Тромбоциты исследовали с помощью оригинального метода оценки морфофункционального статуса тромбоцитов человека, основанного на их окрашивании витальными красителями. Оценивали содержание тромбоцитов с гранулами (в %), их морфофункциональную и адгезивную активность, наличие и размер тромбоцитарных агрегатов после экспозиции с H_2O_2 .

Результаты. После инкубации тромбоцитов как при 22 °С, так и при 37 °С в присутствии 20–80 мкМ H_2O_2 не наблюдалось видимых изменений структуры клеток. Биологически полноценные тромбоциты (клетки с гранулами) сохраняли весь объем гранул в составе цитоплазмы, не менялись количество тромбоцитов с гранулами и их адгезивная активность. Под действием 400 мкМ H_2O_2 тромбоциты оставались интактными после их инкубации при 22 °С. При 37 °С отмечено постепенное снижение морфофункциональной и адгезивной активности тромбоцитов. В результате через 2 часа все тромбоциты не содержали гранул и были не способны к адгезии, при этом в суспензии можно было выявить агрегаты диаметром 20–40 мкм. Под действием 600 мкМ H_2O_2 спонтанная агрегация тромбоцитов наблюдалась уже через 10 минут после начала экспозиции: в условиях 22 °С через 2 часа образовывались многочисленные мелкие агрегаты (до 10 мкм), при 37 °С тромбоциты сначала формировали крупные конгломераты до 300 мкм, которые затем распадались на агрегаты диаметром 30–40 мкм. Полная дегрануляция агрегирующих тромбоцитов наступала через 30–60 минут. Нужно особо подчеркнуть, что после внесения 400–600 мкМ H_2O_2 в пробы, где все клетки изначально не содержали гранул, агрегация тромбоцитов не происходила. Есть данные, что эндогенная H_2O_2 в концентрации до 50 мкМ выполняет регуляторные функции в тромбоцитах, предотвращая их спонтанную активацию. Наше исследование показало, что низкие дозы H_2O_2 не препятствовали адгезии тромбоцитов. При 20–80 мкМ H_2O_2 тромбоциты активно адгезировали на пред-

метном стекле, через 1 час экспозиции при 37 °С число адгезировавших на стекле клеток составляло в среднем 105 тыс. на $см^2$ и соответствовало тому, что наблюдается при аналогичном процессе в отсутствие H_2O_2 . Параллельно с этим в адгезирующих тромбоцитах наблюдалось постепенное смещение всех гранул к периферии и их выброс за пределы клетки. Можно заключить, что концентрации 20–80 мкМ H_2O_2 не способны стабилизировать гранулы тромбоцитов в ходе их адгезии. Стоит особо отметить, что в пробах с 60–80 мкМ H_2O_2 при дегрануляции адгезирующих тромбоцитов на стекле не наблюдалось активации еще не адгезировавших тромбоцитов в суспензии. Если до начала эксперимента среднее содержание тромбоцитов в суспензии составляло $56 \pm 4\%$, то через 2 часа экспозиции при 60–80 мкМ H_2O_2 — $34 \pm 2\%$. Таким образом, в суспензии порядка 50–70 % от всего числа тромбоцитов с гранулами оставались на стадии «покоя», сохраняя свою внутреннюю целостность и способность к адгезии. В условиях 40–50 мкМ H_2O_2 этот эффект был выражен гораздо слабее — при 50 мкМ в суспензии сохранялось 20–30 % от исходного числа тромбоцитов с гранулами, при 40 мкМ — всего 5–8 %. При 20 мкМ H_2O_2 все тромбоциты в суспензии полностью дегранулировали так же, как и адгезирующие тромбоциты.

Выводы. Высокие дозы перекиси водорода вызывают массовую дегрануляцию биологически полноценных тромбоцитов, что может приводить к их агрегации даже при 22 °С. Добавление к адгезирующим тромбоцитам 50–80 мкМ H_2O_2 не способствует стабилизации гранул в их составе. В присутствии 40–80 мкМ H_2O_2 снижается чувствительность тромбоцитов «покоя» к выбросу гранул активированными тромбоцитами.

Влияние витамина D на статус адипокинов в сыворотке крови беременных с ожирением

Е. Л. Макарова, Н. А. Терехина

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Минздрава России, г. Пермь

Effect of vitamin D on adipokines' status in serum of pregnant women with obesity

E. L. Makarova, N. A. Teryokhina

Perm State Medical University n.a. E. A. Wagner, Perm, Russia

Цель. Изучение влияния витамина D_3 на адипокиновый статус в сыворотке крови беременных с ожирением.

Материалы и методы. Основную группу составили 80 беременных с нарушением жирового обмена. В группу сравнения вошли 20 здоровых беременных женщин с нормальной массой тела (ИМТ $22,9 \pm 1,19$ кг/м²). Контролем служила сыворотка крови 120 здоровых небеременных женщин. Содержание адипонектина и лептина в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа. Содержание 25-гидроксиколекальциферола (25-(ОН)- D_3) определяли в сыворотке крови иммуноэлектрохемилюминесцентным методом. Недостаток витамина D диагностировали при содержании в сыво-

ротке крови 25-(ОН)-D₃ от 20 до 32 нг/мл, при уровне 20 нг/мл — дефицит. После определения содержания витамина D₃ в сыворотке крови женщинам с нарушением жирового обмена были назначены препараты, содержащие холекальциферол в дозе 1200 МЕ ежедневно в течение восьми недель.

Результаты. Содержание 25-(ОН)-D₃ в сыворотке крови беременных с ожирением до лечения было ниже нормы, дефицит витамина был выявлен у 47,0% беременных с ожирением, а недостаток был выявлен в 94% случаев. При увеличении массы тела происходило снижение содержания 25-(ОН)-D₃ в сыворотке крови беременных женщин: при I степени ожирения $23,78 \pm 0,11$ нг/мл, при II степени $21,64 \pm 0,08$ нг/мл, при III степени $16,87 \pm 0,18$ нг/мл. После медикаментозной коррекции витамином D содержание 25-(ОН)-D₃ в сыворотке крови увеличилось: при I степени ожирения $32,03 \pm 0,23$ нг/мл, при II степени $31,83 \pm 0,14$ нг/мл, при III степени $27,15 \pm 0,81$ нг/мл. Содержание лептина в сыворотке крови здоровых беременных было выше, чем в крови небеременных женщин $9,81 \pm 0,08$ нг/мл и $15,6 \pm 0,21$ нг/мл соответственно. Содержание этого гормона в сыворотке крови беременных с ожирением в четыре раза превысило содержание у здоровых беременных и составило $60,50 \pm 0,44$ нг/мл. При делении пациенток с нарушением липидного обмена на подгруппы по степеням ожирения была выявлена прямая корреляционная зависимость: чем больше масса тела, тем больше содержание лептина в сыворотке крови. После медикаментозной коррекции витамином D₃ в течение двух месяцев содержание лептина снизилось и практически достигло уровня в сыворотке крови беременных без ожирения — $19,00 \pm 50,39$ нг/мл. Содержание адипонектина в сыворотке крови здоровых беременных было достоверно выше ($13,60 \pm 0,75$ мкг/мл), чем у пациенток с нарушением липидного обмена ($6,94 \pm 0,82$ мкг/мл). В сыворотке крови беременных с ожирением при увеличении массы тела установлено снижение содержания адипонектина: при I степени ожирения $7,31 \pm 0,13$ мкг/мл; при II степени $6,77 \pm 0,08$ мкг/мл; при III степени $6,36 \pm 0,15$ мкг/мл. После коррекции витамином D₃ произошло повышение содержания адипонектина в сыворотке крови беременных с ожирением до $9,8 \pm 0,33$ мкг/мл. Показатель приблизился к уровню здоровых женщин только у пациенток с I степенью ожирения и составил $15,91 \pm 0,24$ мкг/мл. В группе женщин, принимавших во время беременности витамин D₃, в три раза реже наблюдалось недонашивание беременности (15,3 против 48,2%), отсутствовало такое осложнение, как гестационный сахарный диабет (0,0 против 7,4%).

Выводы. При сочетании беременности и ожирения содержание витамина D₃ в сыворотке крови снижено. Выявлена прямая корреляционная зависимость массы тела и содержания лептина и обратная корреляционная зависимость массы тела и содержания адипонектина. Медикаментозная коррекция витамином D в дозировке 1200 МЕ позволяет нормализовать содержание лептина и адипонектина, нивелируя риск развития таких осложнений, как невынашивание и гестационный сахарный диабет.

Опыт модернизации и использования аллергологической диагностики *in vitro* в рамках клинко-диагностической лаборатории

В. А. Малков

ООО «ТАФИ-Диагностика», г. Владивосток

Experience of modernization and use of allergic diagnostics in vitro in clinical diagnostic laboratory

V. A. Malkov

Tafi-Diagnostika Co., Vladivostok, Russia

В лаборатории «ТАФИ-Диагностика» с 2006 года использовался анализатор НУТЕС™ 288. С развитием прогресса в лабораторной медицине и фундаментальных открытий в аллергологии, таких как издание «Согласительный документ WAO-ARIA-GA²LEN по молекулярной аллергодиагностике» данный анализатор более не мог выполнять потребности практикующих клинических специалистов. Было принято однозначное решение о приобретении анализатора Phadia® 250 (работающего по технологии ImmunoCAP®, являющейся на данный момент «золотым стандартом» в аллергодиагностике), как оптимального устройства по автоматизации и производительности, отвечающего всем потребностям лаборатории.

Для клинической адаптации тест-систем Phadia® в лаборатории «ТАФИ-Диагностика» были исследованы сыворотки 88 пациентов — парно, одновременно по одним и тем же параметрам; а именно аллерген f2 (коровье молоко, 33 человека), h1 (домашняя пыль [greer labs], 33 человека), m5 (*Candida albicans*, 27 человек) на анализаторах НУТЕС™ 288 (производство НУСОР) и Phadia® 250 (производство Phadia®, Thermo Fisher Scientific, Inc.).

В результате клинической адаптации анализатора Phadia® 250 и практического использования были сделаны выводы: выявлены отклонения от истинного содержания специфических иммуноглобулинов E в сыворотке пациентов в 15,8% случаев, полученных на НУТЕС™ 288 по сравнению с Phadia® 250 при проведении клинической адаптации в лаборатории ООО «ТАФИ-Диагностика», г. Владивосток. Технология Immuno CAP® System сочетает в себе много серьезных преимуществ (в качестве твердой фазы используются специально вспененный материал, производный бромциан-активированной целлюлозы и надежный метод детекции — иммунофлуоресцентный анализ). Также анализатор Phadia® 250 позволяет использовать тесты по молекулярной аллергодиагностике и получать новую важную информацию для исследования горизонтов аллергологии. Работа на анализаторе Phadia® 250 более удобна для персонала лаборатории (хранение аллергенов на борту, возможность добавления образцов в течение дня, соответствие концепции Walkaway и т. д.).

Исследование кристаллогенных свойств мочи детей с дисметаболической нефропатией

А. К. Мартусевич, Л. М. Козлова, Л. К. Ковалева

ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, г. Нижний Новгород
ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Киров

Study of urine crystallogenic properties in children with dismetabolic nephropathy

A. K. Martusevich, L. M. Kozlova, L. K. Kovalyova

Privolzhsky Federal Medical Research Centre, Nizhny Novgorod; Kirov State Medical University, Kirov; Russia

На протяжении нескольких последних десятилетий активно изучается применимость методов оценки кристаллогенных свойств мочи для диагностики состояния почек. Так, специалистами МОНИКИ имени М. Ф. Владимирского изучены морфологические особенности структуризации мочи у взрослых больных уролитиазом; с школой акад. В. Н. Шабалина и проф. С. Н. Шатохиной создана «ЛИТОС-система», проф. В. Л. Эмануэлем с соавт. разрабатываются комбинированные подходы, сочетающие применение кристаллоскопии и лазерной корреляционной спектроскопии и т. д.

В то же время до сих пор отсутствуют простые и экономичные кристаллоскопические тесты для диагностики и дифференциации заболеваний почек, обладающие достаточной информативностью, специфичностью и прогностической ценностью. Особенно это касается патологических состояний, при которых еще не происходит формирование самих уролитов, к числу которых, в частности, может быть причислена дисметаболическая нефропатия.

Цель. Изучение кристаллогенных свойств мочи детей в норме и при дисметаболической нефропатии (ДН).

Материалы и методы. Проведено открытое сравнительное проспективное исследование, в которое были включены 60 детей в возрасте 7–14 лет. Сформированы две группы, сопоставимых по возрасту и полу. Основную группу составили дети с ДН ($n = 16$), группу сравнения — практически здоровые дети ($n = 44$), у которых на основании углубленного клинико-лабораторного обследования не выявлено отклонений со стороны мочеполовой системы. Диагноз «дисметаболическая нефропатия» был верифицирован клинически и с применением стандартных функционально-лабораторных методов.

Все дети были включены в исследование только после подписания родителями или иными законными представителями информированного согласия.

У всех обследованных лиц однократно получали образцы мочи, для которых изучали кристаллогенные свойства в соответствии с методом классической кристаллоскопии. Высушенные микропрепараты оценивали морфологически (путем описания особенностей структуризации высушенного образца биологической жидкости) и визуаметрически (с применением собственной системы параметров) [Мартусевич А. К., Гришина А. А., 2009]. Основными визуаметрическими показателями, оцениваемыми в балльной шкале, служили кристаллизуемость (отражает количественную сторону кристаллизации — плотность кристаллических

элементов в фации), индекс структурности (характеризует сложность структуропостроения), степень деструкции фации (представляет собой индикатор качественной стороны процесса — правильности образования структур) и выраженность краевой зоны микропрепарата.

Полученные данные были обработаны статистически в программном пакете Statistica 6.1 для Windows. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. С учетом характера распределения признака для оценки статистической значимости различий применяли Н-критерий Краскала-Уоллеса.

Результаты. Установлено, что фации мочи практически здоровых детей характеризуются значительной возрастной вариабельностью даже с учетом того, что для включения в данное исследование выбран относительно узкий диапазон возрастов (7–14 лет). В то же время представляется возможным выделить наиболее общие закономерности дегидратационной структуризации мочи детей. Так, в данных микропрепаратах выявляется активное кристаллообразование, причем в фациях преобладают одиночно-кристаллические элементы с включением единичных крупных (преимущественно линейных) структур, отличающихся умеренной деструкцией. Следует отметить, что в этом случае краевая зона также выражена слабо, прослеживается не во всех микропрепаратах мочи лиц группы сравнения. Это является показателем отсутствия в образцах биологической жидкости значимых количеств белка, формирующих данную область фации.

У детей основной группы, у которых верифицировано наличие ДН, наблюдали принципиально иные особенности структуропостроения кристаллограмм мочи. Так, в рассматриваемом случае фации биологической жидкости содержат преимущественно многочисленные мелкие одиночные кристаллы, равномерно распределенные по поверхности образца. При этом последние, как и обнаруженные в микропрепаратах мочи данных пациентов единичные прямоугольные элементы, относительно крупных размеров, обладают значимыми признаками деструкции. Краевая зона в большинстве кристаллограмм мочи детей основной группы не визуализируется.

Приведенные закономерности полностью подтверждаются результатами визуаметрического анализа данных фаций, осуществленного с использованием собственных полуколичественных параметров. В частности, установлено, что в высушенных образцах мочи практически здоровых детей индекс структурности, характеризующий сложность формируемых элементов, а также количественный показатель интенсивности кристаллообразования — кристаллизуемость, находятся на средних значениях.

У представителей основной группы оба параметра демонстрируют отчетливую и статистически значимую тенденцию к изменению ($p < 0,05$ по сравнению с уровнем, выявленным для здоровых детей), причем указанные сдвиги имеют разнонаправленную динамику. Так, индекс структурности в фациях мочи пациентов с изучаемой патологией почек в 1,62 раза ниже, чем у здоровых лиц ($p < 0,05$), тогда как кристаллизуемость увеличивается в 1,79 раза по отношению к физиологическому уровню ($p < 0,05$).

Подобные изменения отражают именно стимуляцию кристаллогенного потенциала биосреды, сопровождающуюся фрагментацией структурных элементов микропрепарата.

Аналогичная сдвигам морфологии образцов мочи динамика наблюдается и в отношении степени деструкции фаций и выраженности краевой зоны в них. В частности, существенное нарастание степени деструкции кристаллограмм биосреды (в 1,48 раза; $p < 0,05$ по сравнению с практически здоровыми детьми) косвенно свидетельствуют о патологическом характере перестройки ее кристаллостаза. Напротив, параметр, описывающий выраженность краевой зоны микропрепаратов, закономерно снижается у детей с ДН по отношению к представителям группы сравнения (в 3,11 раза; $p < 0,05$).

Выводы. Выявлены различия кристаллоскопической картины мочи у детей с дизметаболической нефропатией по сравнению с практически здоровыми обследуемыми лицами аналогичного возраста. Эти особенности были зафиксированы как при морфологическом описании высушенных образцов биологической жидкости, так и при их критериальной оценке. Общей тенденцией сдвигов кристаллостаза мочи при ДН у детей является активация кристаллогенеза биосреды с нарастанием степени деструкции элементов и полным исчезновением в микропрепаратах краевой белковой зоны.

Биокристалломные технологии в персонификации метаболической реабилитации пациентов с ожогами

А. К. Мартусевич, А. В. Разумовский

ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, г. Нижний Новгород
ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России, г. Нижний Новгород

Biocrystalloscopic technologies in personification of metabolic rehabilitation for patients with burns

A. K. Martusevich, A. V. Razumovsky
Privolzhsky Federal Medical Research Centre, Nizhny Novgorod State Medical Academy; Nizhny Novgorod, Russia

Многими исследованиями, в том числе работами нашего коллектива, доказано формирование окислительного стресса у пациентов термической травмой. Это обуславливает необходимость его патогенетической коррекции, которая может быть произведена путем использования активных форм кислорода и оксида азота в различной форме.

С другой стороны, продемонстрирована гетерогенность состояния окислительного метаболизма даже у клинически идентичных пациентов, что детерминирует целесообразность применения технологий индивидуализации лечебно-реабилитационных мероприятий.

В этом плане в настоящее время для методов, сопряженных с воздействием на баланс прох и антиоксидантных систем, предложен лишь биохемилюминесцентный анализ, однако его проведение затрудняется рядом причин, в числе которых как непосредственно аппаратная погрешность, так и субъективный (человеческий) фактор. Поэтому поиск и изучение возможностей других кандидатных методов сохраняют свою актуальность.

С учетом вышеуказанного, **целью** данного исследования служила оценка роли биокристалломных методов в персонификации биорадикальной терапии у пациентов с ожогами.

Материалы и методы. Разрабатываемый способ ориентирован на индивидуализацию назначения биорадикальной терапии, которая может быть представлена озono-кислородной смесью, озонированными растворами, синглетным кислородом и оксидом азота в форме ингаляций или введения динитрозильных комплексов железа с различными лигандами — физиологического донора NO.

Для реализации технологии (биокристалломного пре-теста) до назначения биорадикальной терапии у пациентов получали образцы крови с выделением из нее сыворотки путем центрифугирования по стандартной методике. На следующем этапе осуществляли со-дегидратацию сыворотки крови с несколькими потенциальными дозами лечебного агента. Результат дегидратационной структуризации сформированных биосистем оценивали с использованием собственной системы полуколичественных показателей. Оптимальной считали дозу соединения, при действии которой на биожиidкость наблюдали наиболее приближенные к интактному образцу значения.

Эффективность технологии изучали у 45 пострадавших с термической травмой, разделенных на три равных по численности группы, которые были сопоставимы по глубине и площади полученного ожога и возрастно-половой структуре. Первая группа ($n = 15$) получала стандартную комплексную терапию, представителям второй группы ($n = 15$) дополнительно назначали курс ежедневных ингаляций синглетного кислорода в едином режиме (100 % мощности генератора), а пациентам третьей группы ($n = 15$) мощность последнего подбирали индивидуально (50, 75 либо 100 %), основываясь на результатах биокристалломного пре-теста. Синглетно-кислородную воздушную смесь создавали с помощью аппарата Airnergy Professional Plus (Германия).

Эффективность лечения пациентов оценивали по динамике локального статуса, а также по данным биохемилюминесцентного анализа (Fe-индуцированная биохемилюминесценция). В качестве основных оценочных параметров использовали интенсивность максимальной фотовспышки, рассматриваемая как индикатор максимальной способности биосубстрата к окислению, и параметр, обратный светосумме хемилюминесценции, характеризующий общую антиоксидантную активность биосреды.

Описание результатов собственного и инициированного кристаллообразования биологического субстрата производили с использованием системы полуколичественных параметров (Мартусевич А. К., Гришина А. А., 2009). Основными визуаметрическими показателями, оцениваемыми в балльной шкале, служили кристаллизумость (Кр; отражает количественную сторону кристаллизации — плотность кристаллических элементов в фации), индекс структурности (ИС; характеризует сложность структуропостроения), степень деструкции фации (СДФ; представляет собой индикатор качественной стороны процесса — правильности образования структур) и выраженность краевой зоны микропрепарата (Кз).

Полученные данные были обработаны статистически в программном пакете Statistica 6.1 для Windows. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. С учетом характера распределения признака для оценки статистической значимости различий применяли Н-критерий Краскала-Уоллеса.

Результаты. Установлено, что у представителей второй группы течение ожоговой болезни было более мягким по сравнению с первой группой, что реализовалось в ускорении темпов эпителизации ожоговых ран, оптимизации параметров, характеризующих эндогенную интоксикацию (в частности, уровень молекул средней массы) и состояния окислительного метаболизма крови пострадавших. Это подтверждало ранее полученные нами данные об эффективности включения ингаляций синглетного кислорода в комплексный алгоритм ведения тяжелообожженных пациентов. В то же время по всем приведенным выше критериям фиксировали преимущество третьей группы по отношению ко второй.

Аналогичные результаты имели место и для динамики биофлуоресценции сыворотки крови больных сформированных групп. Так, при проведении курса стандартной терапии на 10–12-е сутки послеожогового периода отмечали повышение максимальной фотовспышки в 1,57 раза по сравнению с практически здоровыми людьми ($p < 0,05$), тогда как у пациентов второй группы выявлено менее существенное нарастание уровня параметра (в 1,4 раза; $p < 0,05$). Применение биокристалломной индивидуализации лечения в плане выбора мощности генератора обеспечивало минимальную стимуляцию процессов перекисного окисления липидов (лишь на 25 % выше, чем у практически здоровых людей; $p < 0,05$).

Эти тенденции полностью подтверждены и по динамике антиоксидантной активности сыворотки крови. Выявлено, что на фоне стандартного лечения у пациентов первой группы фиксировали двукратное снижение соответствующего показателя по сравнению с физиологической нормой ($p < 0,05$). Дополнение стандартного алгоритма персонифицированным курсом ингаляций синглетного кислорода способствовало увеличению данного параметра на 27 % относительно пострадавших первой группы ($p < 0,05$), а использование индивидуализации — на 46 % соответственно ($p < 0,05$).

Выводы. Проведенные исследования позволили установить, что при назначении биорадикальной терапии (на примере ингаляций синглетного кислорода) использование персонификации путем применения биокристаллометрического пре-теста способствует улучшению результатов лечения пострадавших с ожогами. Это проявляется как по клиническим данным, так и на основании результатов биофлуоресцентного анализа сыворотки крови.

Влияние генно-инженерной биологической терапии на субпопуляции В-лимфоцитов больных системной красной волчанкой

А. А. Меснянкина¹, Е. Н. Александрова¹, С. К. Соловьев¹, А. П. Алексанкин¹, Е. А. Асеева¹, Е. Л. Насонов^{1,2}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В. А. Насоновой», г. Москва

²Кафедра ревматологии Института профессионального образования ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский университет)» Минздрава России, г. Москва

Impact of gene engineering biological therapy on subpopulations of B-lymphocytes in patients with systemic lupus erythematosus

A. A. Mesnyankina, E. N. Alexandrova, S. K. Solovyov, A. P. Alexankin, E. A. Aseeva, E. L. Nasonov

Scientific and Research Institute for Rheumatology n.a. V. A. Nasonova, First Moscow State Medical University n.a. I. M. Sechenov; Moscow, Russia

Цель. Оценить исходное количество и динамику субпопуляций В-лимфоцитов периферической крови в сопоставлении с клиническими показателями активности, иммунологическими показателями крови у пациентов с системной красной волчанкой под влиянием терапии ритуксимабом (РТМ) и белимумабом (БЛМ).

Материалы и методы. 39 пациентов с достоверным диагнозом «СКВ высокой и средней степени активности заболевания» (по индексу SLEDAI-2K) были разделены на три группы — 30 больных получали ритуксимаб в дозе 500–2000 мг, пяти пациентам назначался БЛМ в дозе 10 мг/кг массы тела, четверым больным проводилась комбинированная терапия РТМ в дозе 500–1000 мг, после чего через три месяца назначался БЛМ по стандартной схеме. До начала терапии ГИБП и затем каждые три месяца в течение года проводилось определение субпопуляций В-лимфоцитов и клинико-иммунологическое обследование больных. Деплецией CD 19⁺ В-лимфоцитов после курса РТМ считалось снижение их количества ниже 0,5 %: 0 % — полная деплеция, 0,1–0,5 % — частичная деплеция, выше 0,5 % — отсутствие деплеции. Субпопуляции В-лимфоцитов в периферической крови определялись методом многоцветной проточной цитофлуориметрии с использованием панели моноклональных антител к поверхностным мембранным маркерам В-лимфоцитов. Исследовали абсолютное количество CD 19⁺-В-клеток, В-клеток «памяти» (CD 19⁺CD 27⁺), «непереключенных» (CD 19⁺IgD⁺CD 27⁺) и «переключенных» (CD 19⁺IgD⁺CD 27⁺) В-клеток «памяти», наивных (CD 19⁺IgD⁺CD 27⁺), плазмобластов (CD 19⁺CD 38⁺⁺⁺IgD⁺CD 27⁺CD 20⁺), плазматических клеток (CD 19⁺, CD 38⁺), «двойных негативных» В-клеток (CD 19⁺CD 27⁺IgD⁺). Статистическая обработка результатов проводилась с применением программы Statistica 7.0 (StatSoft, США), включая методы непараметрического анализа. Для параметров, распределение которых отличалось от нормального, при сравнении двух групп использовался U критерий Манна-Уитни, результаты представлены в виде медианы [Me] [25–75-го процентиля] Применялись также методы описательной статистики. Корреляцион-

ный анализ проводился с использованием рангового коэффициента корреляции Спирмена. Статистическая значимость определялась как $p < 0,05$.

Результаты. Исходный уровень В-лимфоцитов у 39 больных СКВ составлял: общая популяция В-лимфоцитов $0,13 [0,07; 0,29] \times 10^9/\text{л}$, наивные (зрелые) В-лимфоциты $0,1 [0,04; 0,2] \times 10^9/\text{л}$; В-клетки «памяти» $0,001 [0,0008; 0,004] \times 10^9/\text{л}$; «непереключенные» $0,005 [0,002; 2] [0,0002; 0,0008] \times 10^9/\text{л}$; плазматические клетки $0,0015 [0,0002; 0,008] \times 10^9/\text{л}$; двойные негативные В-клетки $0,029 [0,0147; 0,05] \times 10^9/\text{л}$.

Пациенты с высокой активностью СКВ ($n = 24$; SLEDAI2K — 18 ± 5) и поражением жизненно важных органов (ЖВО), как правило, имели более высокие уровни двойных негативных клеток «памяти» ($r = 0,52$; $p < 0,001$) при относительно низких количествах наивных В-клеток ($r = -0,54$; $p < 0,0007$) по сравнению с больными без тяжелой органной патологии ($n = 15$; SLEDAI2K — 8 ± 2). Статистически значимой корреляции содержания антител (в т. ч. антител к нДНК, Ro, La) и определенных субпопуляций В-клеток у представленных больных выявить не удалось. Обнаружены достоверные различия в группах по длительности заболевания с момента установления диагноза. Процентное содержание общей популяции CD19⁺В-лимфоцитов было ниже у пациентов с длительностью заболевания более одного года ($n = 15$; $p < 0,04$).

Терапия РТМ у пациентов с достижением полной и частичной деpleции к третьему месяцу наблюдения приводила к заметному уменьшению количества наивных и двойных негативных В-клеток «памяти», в меньшей степени «непереключенных» и «переключенных» В-клеток «памяти». У больных с частичной деpleцией резидуальными клетками являлись, главным образом, наивные ($0,0005 [0,0003; 0,001] \times 10^9/\text{л}$), «непереключенные» ($0,00055 [0,00003; 0,001] \times 10^9/\text{л}$), «переключенные» ($0,0005 [0,0002; 0,001] \times 10^9/\text{л}$), двойные негативные В-клетки «памяти» ($0,0006 [0,0003; 0,001] \times 10^9/\text{л}$). Быстрое восстановление числа «двойных негативных», «непереключенных», «переключенных» В-клеток «памяти» и плазмобластов после курса РТМ к шестому месяцу от начала терапии расценивалось как предиктор раннего обострения СКВ ($0,0035 [0,0019; 0,005] \times 10^9/\text{л}$ и $0,0005 [0,0; 0,002] \times 10^9/\text{л}$; $0,0024 [0,0005; 0,005] \times 10^9/\text{л}$ и $0,00014 [0,0; 0,00085] \times 10^9/\text{л}$; $0,001 [0,0003; 0,0035] \times 10^9/\text{л}$ и $0,00015 [0,0; 0,001] \times 10^9/\text{л}$; $0,000015 [0,000009; 0,00006] \times 10^9/\text{л}$ и $0,000002 [0,000001] \times 10^9/\text{л}$ у 4 больных с обострением и 26 пациентов без обострения соответственно).

У всех пяти пациентов, получающих БЛМ на различных этапах контроля, наблюдалось уменьшение клинико-лабораторных признаков активности СКВ (BILAG-16 [13; 17], 8 [1; 8], 8 [1; 9], 5 [2; 12]; SLEDAI2K — 8 [8; 10], 6 [5; 8], 6 [4; 8], 5 [4; 7] на нулевом визите, через 3, 6, 9 месяцев соответственно), снижение уровней антител к нДНК (87 [73; 137] Ед/мл, 140,9 [55; 144] Ед/мл, 73,9 [41,9; 139] Ед/мл, 43,7 [42,3; 81] Ед/мл), с одновременным угнетением наивных В-клеток ($0,09 [0,03; 0,105] \times 10^9/\text{л}$, $0,02 [0,02; 0,12] \times 10^9/\text{л}$, $0,02 [0,02; 0,03] \times 10^9/\text{л}$, $0,025 [0,02; 0,065] \times 10^9/\text{л}$), плазматических клеток ($0,0001 [0,00007; 0,013] \times 10^9/\text{л}$, $0,00006 [0,00004; 0,029] \times 10^9/\text{л}$, $0,00008 [0; 0,007] \times 10^9/\text{л}$, $0 [0; 0,005] \times 10^9/\text{л}$) и плазмобластов ($0,0005 [0,0001$;

$0,0007] \times 10^9/\text{л}$, $0,0003 [0,0002; 0,0006] \times 10^9/\text{л}$, $0 [0; 0] 10 \times 9/\text{л}$, $0,0001 [0,00005; 0,0002] \times 10^9/\text{л}$) исходно, через 3, 6 и 9 месяцев соответственно.

Комбинированная терапия РТМ и БЛМ наиболее эффективно обеспечивала снижение активности заболевания, пролонгировала достигнутую ремиссию. Несмотря на ожидаемое восстановление числа В-лимфоцитов к шестому месяцу от инициации РТМ, после подключения к терапии БЛМ репопуляция основных групп В-лимфоцитов происходила медленнее. Такая терапия способствовала дальнейшему сокращению количества плазмобластов и плазматических клеток, препятствовала синтезу аутоантител.

Выводы. Оценка динамики субпопуляций В-лимфоцитов в периферической крови предоставляет новые возможности в определении нарушения функции и регуляции клеточного иммунитета у больных СКВ, может быть полезным диагностическим параметром для мониторинга аутоиммунного заболевания, а также являться ценным инструментом в оценке и прогнозировании ответа.

Отдельные иммунопатогенетические аспекты канцерогенеза у лиц с хроническим гастритом

А. В. Москалев, А. С. Рудой

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Минобороны России, г. Санкт-Петербург

Separate immunopathogenesis aspects of carcinogenesis at persons with chronic gastritis

A. V. Moskaev, A. S. Rudoy

Military Medical Academy n.a. S. M. Kirov of the Ministry of Defense of Russia, Saint Petersburg, Russia

На протяжении ряда лет, опираясь на данные собственных исследований и литературы, мы изучали вопросы иммунопатогенеза острого и хронического гастрита (ХГ), язвенной болезни. Однако вопросы взаимосвязи хронического атрофического гастрита (ХАГ) с риском развития аденокарциномы желудка оставались не затронутыми.

Поэтому целью нашей работы было обобщить и выделить основные иммунопатогенетические аспекты канцерогенеза у лиц с атрофическим гастритом.

Материалы и методы. Нами были проанализированы 134 работы отечественных и 97 иностранных авторов, посвященных данной проблеме.

Результаты. Установлено, что риск развития рака желудка возрастает экспоненциально в зависимости от стадии и степени тяжести атрофического гастрита. При этом у пациентов с тяжелой степенью атрофии увеличивается приблизительно в 9–16 раз по сравнению с риском у лиц со здоровой слизистой оболочкой желудка (СОЖ). В частности, атрофия и кишечная метаплазия, часто встречающиеся патологические изменения, составляют фон, на котором развиваются дисплазия эпителия и аденокарцинома желудка кишечного типа. Таким образом, ХАГ, особенно при развитии кишечной метаплазии, считается предраковым состоянием, коррелирующим со степенью и топографией трофических/метапластических изменений. Также сегодня не вызывает сомнения ассоциация между *H. pylori* и раком желудка. Еще в 1994 г. Международное агентство по изуче-

нию рака (IARC) признало этот микроорганизм канцерогеном первого порядка из-за его эпидемиологической связи с аденокарциномой желудка и MALT-лимфомой желудка. Таким образом, своевременный скрининг *H. pylori* может привести к ранней диагностике рака желудка. Однако отсутствуют четкие рекомендации по единому подходу к ведению данных пациентов. Вместе с тем стандартизация ведения пациентов с предраковыми состояниями позволит выявить лиц с наибольшим риском, а также новые данные иммунопатогенеза острого и ХГ. Считается, что сочетание вирулентности микроорганизма и генетической восприимчивости хозяина ведет к более тяжелому хроническому воспалению и более быстрому прогрессированию рака желудка, по крайней мере, для кишечного типа. Неоднократно рассматривался вопрос генов и генетических изменений, а также их последствий для канцерогенеза желудка, хотя их роль и не всегда была ясна. При не менее чем 50-процентной инфицированности мирового населения *H. pylori*, только у небольшой части, менее чем у 2%, развивается рак желудка. При трофическом *H. pylori*-ассоциированном гастрите часто, в 25% случаев, возникают гиперпластические полипы, однако их злокачественная трансформация наблюдается редко — менее чем в 3% случаев. Риск развития атрофии зависит от активности и распространенности хронического воспаления. У пациентов со сниженной продукцией кислоты (гипохлоргидрия) наблюдается быстрая колонизация всей поверхности желудка. Кроме этого, выделяют следующие основные эффекты *H. pylori* на СОЖ. Проникновение *H. pylori* внутрь эпителиоцитов приводит к их прямому повреждению. Развитию дистрофии эпителия, его некрозу и апоптозу эпителиоцитов и индукции иммуновоспалительной реакции, сопровождающейся продукцией каталазы, фосфолипаз, протеаз, гиперпродукцией гастрина. Воспалительная нейтрофильно-лимфоцитарная реакция приводит к продукции активных форм кислорода, повреждению эндотелия сосудов и нарушениям микроциркуляции в слизистой оболочке с повреждением ДНК клеток и к канцерогенезу. Главной детерминантой выраженной степени воспаления является содержание фактора вирулентности CagA. В частности, значительная часть штаммов *H. pylori* содержит CagA-ген, являющийся маркером цитотоксичности и отвечающий за выработку так называемого CagA-белка. Мета-анализ 16 исследований по принципу «случай-контроль» показал, что среди *H. pylori*-инфицированных пациентов инфицирование CagA-положительными (CagA⁺) штаммами в 1,64 раза увеличивает риск возникновения рака желудка. Такие бактериальные факторы вирулентности, как CagA-формы с множественными EPIYA-C сегментами и штаммы с harbor VacA сигнальной областью типа s1 и mid-region m1, также связаны с повышенным риском рака желудка. Другие цитотоксин-ассоциированные гены (Cag), островки патогенности (PAI) — факторы вирулентности, включают также вакуолизирующий токсин (VacA), антиген-связывающий адгезин группы крови (BabA) и внешний воспалительный белок (OipA). Эти белки кодируются в 40-килобазном сегменте ДНК, который включает группу примерно из 30 генов, в том числе компоненты системы секреции IV типа. Канцерогенез обусловлен не только генетическими аномалиями (изменениями последовательности ДНК), но и эпигенетическими изменениями (нарушение метилирования ДНК часто наблюдают

в эпителиоцитах желудка при хроническом атрофическом гастрите). Выявлена роль и генетического полиморфизма интерлейкинов (IL) в иммунопатогенезе рака желудка. Прежде всего, описаны IL-1 β , антагонист рецептора IL-1 (IL-1RA), IL8, IL10 и TNF- α , играющие важную роль в воспалительной реакции на инфицированность *H. pylori* и воспаление СОЖ, что приводит к атрофии слизистой оболочки и прогрессированию рака желудка. Подтверждена ассоциация риска развития рака желудка с генотипами IL-1 (IL-1B-511 T, IL-1B-31 T, и генотипом *2/*2), антагониста рецептора IL-1 с отношением шансов 2,5; 2,6 и 3,7 для развития рака желудка у гомозиготных носителей этих аллелей по сравнению с не носителями. Также доказано, что функциональные полиморфизмы Toll-like рецепторов IV типа (TLR4), участвующих в распознавании *H. pylori*, лежат в основе избыточного иммунного ответа хозяина и связаны с повреждением слизистой оболочки у *H. pylori*-инфицированных лиц. В частности, носители TLR4+896A>G полиморфизма имеют более тяжелую атрофию желудка и степень воспаления, а также повышенный риск некардиального рака желудка.

Таким образом, иммунопатогенез рака желудка носит сложный характер. Среди его основных звеньев необходимо выделить носительство ульцерогенных штаммов *H. pylori*, генетическую предрасположенность, которые обеспечивают развитие гипериммуновоспалительной реакции, приводящей к повреждению эпителиоцитов.

Динамика уровня иммунорегуляторных Т-клеток при химиолучевом лечении лимфопролиферативных заболеваний

Т.Ю. Мушкарина, Е.Г. Кузьмина, Т.В. Константинова, Г.С. Неприна

Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, г. Обнинск

Dynamics of immunoregulatory T-cells level on chemoradiation treatment of lymphoproliferative disorders

T. Yu. Mushkarina, E. G. Kuzmina, T. V. Konstantinova, G. S. Neprina
Medical Radiological Research Center n.a. A. F. Tsyb — a branch of Federal Medical and Biological Centre 'National Medical Research Center for Radiology', Obninsk

Введение. К достижениям последних десятилетий относится открытие малой популяции Т-лимфоцитов, получившей название регуляторных Т-клеток (Treg). Охарактеризован ее фенотип и функции. Выяснено, что Treg-клетки поддерживают стабильность функционального состояния иммунной системы. Повышение их количества супрессирует функции эффекторных клеток, что снижает противоопухолевый и противоинфекционный иммунитет. Уменьшение же их числа приводит к потере контроля сохранности нормального уровня активации, влечет гиперактивацию иммунокомпетентных клеток, что способствует развитию аутоиммунной патологии и аллергии.

В некоторых исследованиях отмечено повышение уровня регуляторных Т-клеток при лейкозах и лимфомах. Возможно, что эффективность лечения онкологических заболеваний может быть обусловлена нормализацией относительного и абсолютного содержания регуляторных Т-лимфоцитов

с последующим восстановлением иммунореактивности. В случае сохранения высокого количества регуляторных клеток предполагается большая частота развития рецидивов и прогрессирования заболевания. Поэтому актуальной и приоритетной задачей научно-прикладных исследований становится изучение исходного уровня регуляторных клеток при лимфопролиферативных заболеваниях и их чувствительности к методам химиолучевого лечения.

Цель. Изучить уровень регуляторных Т-лимфоцитов при лимфопролиферативных заболеваниях и оценить их реакцию на химиолучевую терапию.

Для достижения этой цели были решены следующие задачи. 1. Сопоставлен уровень Трег-клеток в дебюте больных лимфомой Ходжкина (ЛХ), в дебюте и рецидиве неходжкинских лимфом (НХЛ), В-клеточного хронического лимфолейкоза (В-ХЛЛ) с их уровнем у практически здоровых людей. 2. Выявлена возможность участия Трег-клеток в локальном распространении НХЛ и при выходе аберрантных клеток в циркуляцию крови. 3. Оценена реакция Трег-клеток на химиолучевую терапию при ЛХ, НХЛ и В-ХЛЛ.

Материалы и методы. Выполнены 134 исследования периферической крови больных с ЛХ (общее число исследований — 29, первичных — 19, после лечения — 10), НХЛ (общее число исследований — 59, локальных форм — 28, с выходом клона клеток в кровь — 6, после лечения — 12, рецидив — 13) и В-ХЛЛ (общее число исследований — 46, до лечения — 40, после лечения — 6). Фенотип Трег-клеток определен с использованием четырехцветной флуоресцентной метки методом проточной цитофлуориметрии как CD45⁺CD4⁺CD25⁺CD127⁻ на приборе BD FACSCanto II.

Фенотип клональной популяции при В-ХЛЛ и распространенной форме НХЛ определен с помощью панели моноклональных антител, разработанной для этих целей и рекомендованной Международной ассоциацией гематологов. Контрольной группой служили данные периферической крови 40 практически здоровых людей. Проводилось 6–8 курсов химиотерапии НХЛ по схемам R-СНОР, R-В, включающих при необходимости консолидирующее облучение очагов поражения в СОД 30 Гр. Лечение В-ХЛЛ осуществлялось в режиме 6–8 циклов R-СНОР, RFC. Химиолучевое лечение ЛХ включало 6–8 циклов химиотерапии в основном по схемам ABVD, BEACOPP с добавлением 1–2 курсов CVPP или COPP с последующей лучевой терапией в СОД 20–24 Гр. Сравнение групповых данных проведено с помощью параметрического t-критерия Стьюдента и непараметрического критерия Манна-Уитни.

Результаты. В дебюте ЛХ, НХЛ и ХЛЛ уровень Трег-клеток по сравнению с нормой ($3,69\% / 0,031 \times 10^9$ кл/л) составил соответственно $4,94\% / 0,032 \times 10^9$ кл/л; $7,09\% / 0,051 \times 10^9$ кл/л и $7,75\% / 0,208 \times 10^9$ кл/л. При локальной и при лейкемических формах НХЛ процент и количество Трег-клеток превышают контрольные значения в среднем в 1,5–2,0 раза. При В-ХЛЛ относительный уровень Трег-клеток сопоставим с лейкемической формой НХЛ. При рецидивах НХЛ относительное и абсолютное число Т-регуляторов сопоставимо с их уровнем в дебюте заболевания ($7,83\% / 0,069 \times 10^9$ кл/л, $p > 0,05$). После лечения НХЛ процент регуляторных Т-клеток возрастал до $10,9\%$

($p < 0,05$), количество снижалось в два раза (до $0,026 \times 10^9$ кл/л), у всех пациентов отмечалась частичная ремиссия. После терапевтических мероприятий В-ХЛЛ процент регуляторных Т-клеток оставался на прежнем уровне, без статистически значимой динамики ($8,0\%$), количество же клеток снижалось в 12 раз ($0,018 \times 10^9$ кл/л), у большинства была достигнута ремиссия. После лечения ЛХ процент Трег-клеток увеличивался до $9,1\%$, почти в два раза, абсолютное количество, наоборот, снижалось почти в два раза ($0,019 \times 10^9$ кл/л), при этом разницы относительного и абсолютного уровня клеток в зависимости от полноты ответа не наблюдалось. Меньшая убыль Трег-клеток по сравнению с другими типами Т-лимфоцитов и В-клеток, выявленная нами после лечения ЛХ, НХЛ и ХЛЛ в предыдущих исследованиях, свидетельствует об их относительной резистентности к использованным методам химиолучевого лечения. Полученные результаты обосновывают необходимость разработки и внедрения в клиническую практику стратегии, направленной на прицельную элиминацию численности Трег-клеток для модуляции их супрессирующей функции при лимфопролиферативных заболеваниях.

Выводы. При лимфопролиферативных заболеваниях (НХЛ и В-ХЛЛ) значимо повышено относительное и абсолютное количество Трег-клеток, при ЛХ повышен только процент Трег-клеток. При рецидивах НХЛ относительное и абсолютное число Т-регуляторов сопоставимо с их уровнем в дебюте заболевания.

При локальной и при лейкемических формах НХЛ процент и количество Трег-клеток превышает контрольные значения в среднем в 1,5–2,0 раза. При В-ХЛЛ относительный уровень Трег-клеток сопоставим с лейкемической формой НХЛ.

Регуляторные Т-клетки проявляют относительную резистентность к компонентам химиолучевого лечения по сравнению с другими Т-клетками и В-лимфоцитами. После лечения процент регуляторных Т-клеток как при НХЛ, так и при ЛХ возрастал, при В-ХЛЛ оставался повышенным. После лечения НХЛ, ЛХ количество Трег-клеток снижалось в два раза, В-ХЛЛ — в 12 раз.

Относительная резистентность регуляторных Т-клеток к химиолучевому лечению предполагает внедрение дополнительных подходов к терапии этих заболеваний.

Интерлейкин-6 в диагностике железодефицитного состояния у онкологических больных

Ю. А. Нестерова, Г. Н. Зубрихина, В. Н. Блиндарь,
И. И. Матвеева

ФГБУ «Российский онкологический научный центр имени
Н. Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва

Interleukin-6 in diagnostic of systemic iron homeostasis in oncological patients

Yu. F. Nesterova, G. N. Zubrikhina, V. N. Blindar', I. I. Matveeva
Russian Oncological Scientific Centre n.a. N. N. Blokhin, Moscow, Russia

Наиболее общим звеном патогенеза анемического синдрома (АС) у онкологических больных является участие провоспалительных цитокинов, в частности, ин-

терлейкина-6 (ИЛ-6), который стимулирует образование гепсидина — универсального регулятора метаболизма железа.

Цель исследования. Определение содержания ИЛ-6 у онкологических больных с железодефицитной анемией (ЖДА) и АХЗ до лечения.

Материалы и методы. Исследование проведено у 25 онкологических больных с анемическим синдромом (АС): гемоглобин (HGB) менее 130 г/л у мужчин и 120 г/л у женщин. 20 онкологических больных были без АС. В качестве контрольной группы определение аналогичных показателей крови проведено у 20 здоровых лиц. Клинический анализ крови исследовали по 47 показателям на гематологическом анализаторе Sysmex ХЕ-2100-1, в том числе и ретикулоцитарные индексы. ИЛ-6 определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью наборов Bender MedSystem (Австрия). Для диагностики железодефицитного состояния определяли содержание ферритина (ФР), растворимых рецепторов трансферрина (рРТФ), гепсидина 25 (ГП25) методом ИФА.

Результаты. На основании показателей ФР, рРТФ и ГП25 больные были разделены на две группы: первая (11 человек) — с истинной ЖДА, при которой отмечено снижение ФР ($14,9 \pm 2,2$ нг/мл), повышение уровня рРТФ ($3,1 \pm 0,5$ мкг/мл) и снижение ГП 25 ($1,9 \pm 0,84$ нг/мл) и вторая (14 человек) — с анемией хронических заболеваний (АХЗ): с высоким ФР ($532,6 \pm 122,6$ нг/мл), с относительно невысоким уровнем рРТФ ($1,7 \pm 0,4$ мкг/мл), высоким содержанием ГП25 ($15,2 \pm 3,1$ нг/мл). Среди больных с АХЗ была выделена группа с функциональным дефицитом железа, которая характеризовалась высоким содержанием ФР ($478,6$ нг/мл), высоким уровнем рРТФ ($2,9 \pm 0,7$ мкг/мл) и низким содержанием гемоглобина в ретикулоцитах ($24,2 \pm 1,5$ пг), тогда как в группе без функционального дефицита железа рРТФ составили $0,7 \pm 0,2$ мкг/мл и содержание гемоглобина в ретикулоцитах было в пределах нормы ($33,6 \pm 1,6$ пг). В контрольной группе содержание ФР было равно $98,3 \pm 16,1$ нг/мл, рРТФ менее 1,2 мкг/мл и ГП25 с колебаниями от 0,8 до 7,5 нг/мл ($4,1 \pm 0,8$ нг/мл). Содержание ИЛ-6 в контрольной группе было $2,2 \pm 0,3$ нг/мл. При истинной ЖДА уровень ИЛ-6 колебался от 0 до 4,1 нг/мл ($0,8 \pm 0,4$ нг/мл), что достоверно ниже, чем при АХЗ ($17,0 \pm 10,5$ нг/мл). У больных без АС отмечался высокий уровень ФР (473 ± 176 нг/мл). ИЛ6 был ниже, чем у больных с АХЗ ($3,4 \pm 0,4$ нг/мл), колебался от 2,3 до 5,3 нг/мл, медиана 2,9 нг/мл.

Выводы. Исследование показало, что определение интерлейкина-6 в комплексе с другими методами, объективно отражающими метаболизм железа, можно использовать как в качестве дополнительного метода в дифференциальной диагностике железодефицитного состояния при анемиях, так и для понимания патогенеза феррокинетики железодефицитной анемии и анемии хронических заболеваний, что, в свою очередь, будет способствовать адекватному назначению препаратов железа.

Связь полиморфизма C 677T гена MTHFR (ALA222VAL) с уровнем гомоцистеина в крови женщин Самарской области

Г. В. Нижарадзе, Н. А. Колотьева, О. А. Балдина, О. В. Арчибасова

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Самара

Study of C 677T polymorphism effect of MTHFR gene (ALA222VAL) on homocysteine level in blood of Samara Region women

G. V. Nizharadze, N. A. Kolotyeva O. A., Baldina, O. V. Archibasova
Samara State Medical University, Samara, Russia

Введение. Ген MTHFR является генетическим маркером риска нарушений фолатного обмена и кодирует аминокислотную последовательность фермента метилентетрагидрофолатредуктазы (К.Ф.1.5.1.20). Этот фермент катализирует превращение 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат, являющийся активной формой фолиевой кислоты, участвующей в переходе гомоцистеина в метионин и далее в S-аденозилметионин, участвующего в метилировании ДНК. Полиморфизм C 665T связан с заменой цитозина на тимин в 665 позиции нуклеотида, что в свою очередь вызывает замену аминокислотного остатка аланина на валин в позиции 222 — участка фермента, отвечающего за связывание фолиевой кислоты, что в дальнейшем может приводить к гипергомоцистеинемии.

Цель. Целью данного исследования является определение содержания гомоцистеина у групп людей с разными типами полиморфизма C 665T MTHFR (C/C, C/T, T/T), а также определение частоты встречаемости T-аллеля данной мутации среди женщин с невынашиванием беременности в Самарской области.

Материалы и методы. Исследовалась плазма, взятая натощак у женщин 20–35 лет с невынашиванием беременности. Взятие крови производилось с помощью вакуумной системы в пробирку с наполнителем этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА). Измерение уровня гомоцистеина проводилось на иммунохимическом анализаторе Abbott Architect plus i1000sr.

Идентификация полиморфизма MTHFR проводилось методом полимеразной цепной реакции real-time на амплификаторе Bio-Rad CFX96.

Результаты. В исследовании принимали участие 48 человек. У 10 человек был обнаружен полиморфизм гетерозиготного типа C/T и 3 человек оказались гомозиготными по типу T/T. У остальных 35 человек данная мутация не обнаружена. Исходя из этого, выяснилось, что частота встречаемости минорного T-аллеля равна 25%, что соответствует средней частоте встречаемости в Европейской части континента (20–30%).

Разброс уровня гомоцистеина в разных группах наблюдаемых имеет широкие пределы. Так для гомозиготной группы по нормальному аллелю уровни аминокислоты находились в границах 4,32–9,81 мкмоль/л и в среднем составляли 6,63 мкмоль/л. Гетерозиготная группа по содержанию гомоцистеина находилась в границах 7,68–17,93 мкмоль/л и составляла в среднем 11,24 мкмоль/л. Гомо-

зиготная группа по мутантному Т-аллелю имела уровни искомого анализата 11,06–24,16 мкмоль/л и со средним значением 18,17 мкмоль/л.

Выводы. Гетерозиготная группа (С/Т) исследуемых людей показала усредненное значение гомоцистеина на 69% выше среднего значения контрольной С/С-группы (гомозиготной по нормальной аллели), а гомозиготная группа по мутантному аллелю Т/Т показала среднюю величину гомоцистеина на 182% выше по отношению к контролю. В данном исследовании показана прямая связь наличия полиморфизма, связанного с дефицитом фермента метилентетрагидрофолатредуктазы, с высоким уровнем гомоцистеина.

Лабораторные биомаркеры ревматоидного артрита: прошлое, настоящее и будущее

А. А. Новиков, Е. Н. Александрова, М. В. Черкасова

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В. А. Насоновой», г. Москва

Laboratory biomarkers of rheumatoid arthritis: past, present and future

A. A. Novikov, E. N. Aleksandrova, M. V. Cherkasova
Scientific and Research Institute for Rheumatology n.a. V. A. Nasonova,
Moscow, Russia

Стандартными иммунологическими маркерами ревматоидного артрита (РА) являются IgM ревматоидный фактор (РФ) — чувствительный, но недостаточно специфичный показатель, и обладающие большей диагностической специфичностью антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП). В настоящее время активно изучаются новые, потенциально более диагностически информативные маркеры данного заболевания, в частности, белок 14–3–3η.

Цель. Изучить диагностическое значение белка 14–3–3η при РА.

Материалы и методы. В исследование вошли 44 больных РА, (5 мужчин, 39 женщины; медиана [25–75-й перцентиль] возраста составила 45 (33–59) лет; активность заболевания по DAS 28 5,2 (4,4–6,2). Группу сравнения составили 5 пациентов с системной красной волчанкой, 4 — с анкилозирующим спондилитом, 5 — с OVERLAP синдромом, 4 — с псориатическим артритом. Концентрации белка 14–3–3η и АЦЦП в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом, с использованием коммерческих тест-систем JOINTstat (Augurex Life Sciences Corporation, Канада) и Anti-CCP ELISA (Axis-Shield Diagnostics Ltd., Великобритания); IgM ревматоидный фактор (IgM РФ) методом иммунонефелометрии на анализаторе BN ProSpec (Siemens Healthineers, ФРГ).

Результаты. Диагностическая чувствительность белка 14–3–3η при диагностике РА составила 70,5%, специфичность — 83,7%; отношение правдоподобия положительного результата — 4,33, негативного — 0,35; предсказательная ценность положительного результата — 81,6%, отрицательного — 73,5%; диагностическая эффективность теста (площадь под характеристической кривой) — 0,78 (ДИ 0,68–0,88). При РА значения концентрации белка

14–3–3η, превышающие верхнюю границу нормы (0,19 нг/мл), определялись одновременно с таковыми для IgM РФ и АЦЦП в 68 и 73 % соответственно. Обнаружена корреляция концентраций белка 14–3–3η и IgM РФ ($r = 0,7$; $p < 0,05$).

Выводы. Определение сывороточной концентрации белка 14–3–3η может являться дополнительным тестом для диагностики РА.

Информационные технологии в оценке липидного обмена у детей и подростков с сахарным диабетом I типа

А. И. Пиянзин^{1,2,3}, Д. Ю. Сидун¹, О. М. Назаркина³,
Л. А. Хворова¹, Т. И. Малахова³, Е. А. Шарлаева¹, К. А. Левич¹,
М. Р. Сапкина³, О. В. Назаровская³

¹ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», г. Барнаул

²ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул

³КГБУЗ «Алтайская краевая клиническая детская больница», г. Барнаул

Information technologies for lipid metabolism assessment in children and adolescents with type 1 diabetes

A. I. Piyanzin, D. Y. Sidun, O. M. Nazarkina, L. A. Khvorova, T. I. Malakhova,
E. A. Sharlaeva, K. A. Levich, M. R. Sapkina, O. V. Nazarovskaya
Altai State University, Altai State Medical University, Altai Region Children's
Clinical Hospital; Barnaul, Russia

Цель. Разработка информационной системы для комплексной оценки липидного обмена у детей и подростков с сахарным диабетом I типа.

Пациенты и методы. При сборе информации были рассмотрены истории болезней пациентов Алтайской краевой клинической детской больницы, в которых содержалась подробная информация о результатах медицинского обследования и протоколы лечения. В рамках информационной системы для оценки липидного обмена у детей и подростков с сахарным диабетом I типа была спроектирована база данных «Медицинская карта пациента» в свободной реляционной системе управления базами данных MySQL, программный интерфейс информационной системы реализован на языках PHP и HTML. Для оценки липидного обмена использовались следующие показатели: уровень общего холестерина, холестерин липопротеинов высокой плотности, холестерин липопротеинов низкой плотности, триглицериды. На основании данных липидограммы рассчитывали коэффициент атерогенности.

Результаты. Анализ липидного обмена по полу показал, что уровень холестерина липопротеинов низкой плотности в обеих группах находился в пределах нормы (1,55–5,57 ммоль/л), но у девочек содержание данной фракции липопротеинов оказалось выше, чем у мальчиков ($p < 0,05$). Среднее содержание холестерина липопротеинов низкой плотности в сыворотке крови девочек составляло $3,01 \pm 0,12$ ммоль/л, тогда, как у мальчиков — $2,61 \pm 0,13$ ммоль/л. Индекс атерогенности был у девочек существенно выше, чем у мальчиков. По остальным анализируемым показателям статистически значимых различий не выявлено. Липидный обмен в разных возраст-

ных группах характеризуется тем, что независимо от возраста у мальчиков уровень холестерина липопротеинов низкой плотности ниже, чем у девочек, все полученные данные находятся в пределах нормы. Статистически значимые различия имеются только в группе 12–18 лет. Так, у мальчиков в данной возрастной группе уровень холестерина липопротеинов низкой плотности составляет 2,54 ммоль/л, у девочек — 3,19 ммоль/л ($p < 0,05$). Аналогичные изменения выявлены по индексу атерогенности. Статистически значимых различий между мальчиками и девочками разных возрастных групп по содержанию уровня общего холестерина, холестерина липопротеинов высокой плотности не обнаружено. Наблюдаются существенные изменения липидного обмена в зависимости от стажа заболевания. У девочек максимальные значения уровня общего холестерина, холестерина липопротеинов низкой плотности, триглицеридов и индекса атерогенности выявлены при наличии болезни от 73 до 108 месяцев ($p < 0,05$).

Выводы. Созданная информационная система позволяет оперативно осуществлять визуализацию и интерпретацию отклонений показателей липидного обмена для отдельного пациента с учетом данных в различных группах.

Корреляционные связи лабораторных показателей у детей с заболеваниями почек

А. И. Пиянзин^{1,2,3}, Д. П. Налимов¹, Л. М. Новикова³,
Е. А. Мошкина³, М. И. Громова³, Е. Н. Жукова³

¹ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», г. Барнаул

²ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул

³КГБУЗ «Алтайская краевая клиническая детская больница», г. Барнаул

Correlation relationship of laboratory values in children with kidney disease

A. I. Piyanzin, D. P. Nalimov, L. M. Novikova, E. A. Moshkina,
M. I. Gromova, E. N. Zhukova

Altai State University, Altai State Medical University, Altai Region Children's Clinical Hospital; Barnaul, Russia

Цель. Оценить корреляционные связи лабораторных показателей у детей с заболеваниями почек.

Пациенты и методы. Анализировались данные истории болезней детей, проходивших лечение в Алтайской краевой клинической детской больнице в связи с заболеваниями почек. Согласно Международной классификации болезней 10-го пересмотра были выбраны три основных заболевания: гломерулонефрит, пиелонефрит, тубулоинтерстициальный нефрит. Для анализа использовались основные клинические и биохимические показатели и мочи.

Результаты. Корреляционный анализ для трех вышеуказанных заболеваний выявил следующие значимые зависимости: гематокрит — количество эритроцитов — 0,6; концентрация гемоглобина — количество эритроцитов — 0,54; гематокрит — концентрация гемоглобина — 0,87; содержание в крови альбумина — скорость оседания эритроцитов — 0,51 (отрицательная корреляция); концентрация в крови кальция — количество тромбоцитов — 0,54; концентрация в крови кальция —

альбумин — 0,59; содержание белка в моче — мочевины крови — 0,5; содержание белка в моче — концентрация креатинина в крови — 0,59; количество тромбоцитов в крови — содержание альбумина крови 0,78 (цифрой обозначен коэффициент корреляции). Сравнительный анализ по отдельным лабораторным показателям показал, что у детей с почечной патологией статистически значимые различия не имеют совпадений с выявленными высокими корреляционными зависимостями лабораторных показателей крови и мочи.

Выводы. Комплексная оценка патологических механизмов развития заболеваний почек у детей с помощью различных математических методов позволяет более точно проводить дифференциальную диагностику. Это имеет большое значение для рационального выбора тактики лечения и прогнозирования дальнейшего развития заболевания.

Возможности отдельных серологических тестов в диагностике нейросифилиса

Е. В. Пронькина¹, Ю. А. Иванова¹, И. В. Казанцев¹,
А. Р. Эйрих², Г. М. Подгурский³

¹КГБУЗ «Краевой кожно-венерологический диспансер», г. Барнаул

²КГБУЗ «Краевая клиническая больница», г. Барнаул

³ООО «Ниармедик плюс», г. Москва

Capabilities of individual serological tests in diagnosis of neurosyphilis

Pronkina E. V., Ivanova Y. A., Kazantsev I. V., Eyrih A. R., Podgursky G. M.
Regional Dermatovenereologic Dispensary, Regional Clinical Hospital,
Barnaul; Niarmedic Plus, Moscow; Russia

Актуальность. Уровень заболеваемости сифилисом в Алтайском крае в 2016 году в сравнении с 2013 годом снизился на 48 %. Несмотря на общее снижение уровня заболеваемости сифилисом, отмечается рост поздних форм, в том числе нейросифилиса, с 0,3 случая в 2013 году до 1,9 случая в 2016 году на 100 тысяч человек. Серодиагностика нейросифилиса в этой ситуации требует комплексного подхода, использования различных трепонемных и нетрепонемных тестов.

Цель. Оценить клиническую эффективность, чувствительность и специфичность различных трепонемных и нетрепонемных тестов у пациентов с предполагаемым нейросифилисом.

Материалы и методы. Были исследованы 90 образцов ликвора пациентов. Все образцы разделены на две группы. Исследуемая группа — 26 образцов ликвора пациентов с диагнозом «сифилис» различной формы (12 образцов ликвора пациентов с диагнозом «нейросифилис», 14 образцов ликвора пациентов с клиническими и серологическими показаниями для ликвородиагностики сифилиса). Контрольная группа — 64 образца ликвора пациентов из неврологических отделений с отрицательными серологическими тестами на сифилис в сыворотке крови. Исследования всех образцов ликвора были выполнены девятью серологическими методами, из которых семь трепонемных тестов, два нетрепонемных теста: 1. методом ИФА с выявлением суммарных антител («Инвитро-Лоджик Сиф-АТ», Медико-биологический союз,

Россия); 2. методом ИФА с выявлением антител класса G («Мелиса Сиф-IgG-ДС-стрип», Медико-биологический союз, Россия); 3. методом ИФА с выявлением антител класса M («Инвитролоджик Сиф-IgM», Медико-биологический союз, Россия); 4. в реакции пассивной гемагглютинации РПГА («Люис РПГА-тест», Ниармедик плюс, Россия); 5. в реакции пассивной агглютинации частиц РПАЧ (SERODIA TP-PA, Фуджиребио, Япония); 6. в реакции иммунофлуоресценции с цельным ликвором РИФц («ЛюмиБест Антипаллидум», Вектор-Бест, Россия); 7. в реакции линейного иммуноблота ИБ (INNO-LIA Syphilis Score, Фуджиребио, Бельгия); 8. в реакции микропреципитации РМП («Сифилис-АгКл-РМП», Эколаб, Россия); 9. В реакции быстрых плазменных реагинов РПР («Люис RPR тест», Ниармедик плюс, Россия).

Результаты. В контрольной группе (из 64 пациентов) нетрепонемные тесты РМП и РПР были отрицательны в 63 образцах (клиническая специфичность методов составила 98,4 %). Из трепонемных тестов в РПАЧ отрицательны 59 образцов (клиническая специфичность метода составила 92 %), в РПГА, РИФц, ИФА суммарные антитела, ИФА IgG отрицательны 62 образца (клиническая специфичность методов составила 97 %). В реакции линейного иммуноблота при выборке сомнительных результатов из контрольной группы (три пробы) отрицательными оказались два образца, один результат неопределенный. ИФА IgM оказались отрицательными у всей контрольной группы. В исследуемой группе (из 26 образцов ликвора пациентов) нетрепонемный тест РМП положительный у трех пациентов (клиническая чувствительность метода 12 %), нетрепонемный тест РПР положительный у двух пациентов (клиническая чувствительность метода 8 %). Из трепонемных тестов положительна РПАЧ у 25 пациентов (клиническая чувствительность метода составила 96 %), РИФц положительная у 23 пациентов (клиническая чувствительность 88 %), ИФА суммарные антитела позитивны у 14 пациентов (клиническая чувствительность метода составила 54 %), РПГА положительна в 21 случае (клиническая чувствительность составила 81 %), ИФА IgG положительна у 12 пациентов (клиническая чувствительность метода составила 46 %). Один образец ликвора из исследуемой группы дал отрицательный результат во всех исследуемых диагностических тестах. ИФА IgM оказались отрицательными у всей исследуемой группы. В реакции линейного иммуноблота при выборке сомнительных результатов из исследуемой группы (шесть образцов), отрицательными оказались два образца, четыре образца получили неопределенный результат.

Выводы. Высокие показатели выявляемости положительных результатов в ликвородиагностике методом РПАЧ (клиническая чувствительность метода 96 %, специфичность 92 %) позволяют использовать данный метод в качестве референсного в диагностике нейросифилиса наряду с РИФц (клиническая чувствительность метода 88 %, специфичность 97 %), который регламентирован нормативными документами по ведению больных сифилисом. Положительная корреляция диагностических трепонемных тестов реакции пассивной агглютинации ча-

стиц (РПАЧ) и реакции иммунофлуоресценции с цельным ликвором (РИФц) позволяет использовать данные методы в диагностике нейросифилиса в комбинации с другими трепонемными и нетрепонемными тестами в различных вариациях: РПАЧ + ИФА + РМП (РПР), РИФц + РПГА + РМП (РПР), РИФц + ИФА + РМП (РПР), РПАЧ + РИФц + РМП (РПР). Возможность использования в ликвородиагностике сифилиса методов ИФА IgM и ИБ требует дополнительных клинических испытаний.

Дифференциальная диагностика новообразований костей и содержание некоторых сывороточных цитокинов

Д. М. Пучиньян, Н. Н. Павленко, Г. В. Коршунов,
Е. А. Галашина, Е. В. Гладкова

НИИТОН ФГБОУ ВО «Саратовский государственный
медицинский университет имени В. И. Разумовского»
Минздрава России, г. Саратов

Differential diagnostics of bone tumors and levels of some serum cytokines

D. M. Puchinyan, N. N. Pavlenko, G. V. Korshunov, E. A. Galashina,
E. V. Gladkova
Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Saratov, Russia

Цель. Оценить целесообразность определения содержания MMP-9, TNF- α и IL-6 в сыворотке крови пациентов для дифференциальной диагностики характера неопластического процесса при новообразовании костей.

Материалы и методы. У 64 пациентов с новообразованиями костной ткани в возрасте от 14 до 65 лет, проходивших лечение в Саратовском НИИ травматологии и ортопедии с 2013 по 2016 г. (мужчин было 31, женщин — 33), в том числе 28 — с костной кистой, 9 — фиброзной дисплазией, 7 — гигантоклеточной опухолью, 4 — остеосаркомой, 6 — хондросаркомой, 6 — метастазами в кость, 4 — миеломной болезнью, были определены уровни матричной металлопротеиназы-9 (MMP-9), альфа-фактора некроза опухоли (TNF- α) и интерлейкина-6 (IL-6) в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием ридера ANTOS 2020 (Австрия) и тест-систем для определения содержания человеческой металлопротеиназы-9 (фирмы Bender MedSystems, Австрия), фактора некроза опухоли (ЗАО «Вектор-БЕСТ», Россия) и интерлейкина-6 (ЗАО «Вектор-БЕСТ», Россия). В контрольную группу вошли 10 практически здоровых лиц в возрасте 24–60 лет. Статистическая обработка полученных результатов осуществлена с применением пакета стандартных программ Statistica (версия 12) фирмы StatSoft (США). Проверка вариационных рядов на характер распределения выполнена по Shapiro-Wilk. Большинство вариационных рядов по видам опухолей костей не подчиняются нормальному закону распределения, в то время как большинство выборок по характеру патологического процесса соответствуют таковому. Поэтому в первом случае статистическую обработку численного материала проводили непараметрическим методом Kruskal-Wallis, а во втором — параметрическим t-тестом для двух независимых выборок с вычислением средней арифметической, ее среднеквадратичного отклонения ($M \pm SD$) и t-критерия Стьюдента и непараметрическим тестом

Kruskal-Wallis с определением медианы и квартилей — Me (25%; 75%). Различия между вариационными рядами считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты. У здоровых людей концентрация матричной металлопротеиназы-9 (ММР-9) составила $3,30 \pm 1,13$ нг/мл; Me — $3,08$ (2,44; 3,89); фактора некроза опухоли (TNF- α) — $1,86 \pm 1,08$ пг/мл; 1,90 (1,16; 2,47); интерлейкина-6 (IL-6) — $2,18 \pm 0,86$ пг/мл; 2,12 (1,58; 2,71). При опухолеподобных поражениях костной ткани в виде солитарных и аневризмальных костных кист содержание в сыворотке крови ММР-9 было $7,15$ нг/мл (2,37; 13,03), $p = 0,11$; TNF- α — $1,06$ пг/мл (0,16; 2,6), $p = 0,33$; IL-6 — $2,06$ пг/мл (0,88; 7,11), $p = 0,89$; фиброзной дисплазии — ММР-9 [2,57 (1,84; 6,91), $p = 0,93$]; TNF- α [1,91 (1,38; 3,82), $p = 0,33$]; IL-6 [0,83 (0,56; 2,17), $p = 0,1$] и гигантоклеточной опухоли — ММР-9 [4,20 (0,56; 15,0), $p = 0,77$]; TNF- α [2,23 (0,74; 5,16), $p = 0,84$]; IL-6 [2,38 (1,10; 3,24), $p = 0,96$], что соответствовало их уровню у здоровых людей.

При злокачественных новообразованиях кости — хондросаркоме [6,55 (5,38; 15,0), $p = 0,0392$] и миеломной болезни [14,08 (10,25; 15,0), $p = 0,0046$] сывороточная концентрация ММР-9 существенно превышает нормальные величины. У пациентов с метастазами в кость повышены уровни TNF- α [3,51 (2,02; 4,25), $p = 0,039$] и IL-6 в сыворотке крови [11,56 (9,61; 14,37), $p = 0,0011$].

Выявлена зависимость содержания ММР-9, TNF- α и IL-6 в сыворотке крови от характера патологического процесса. Так, у пациентов с доброкачественными новообразованиями костной ткани обнаружено увеличенное содержание ММР-9 в сыворотке крови ($6,88 \pm 5,56$, $p = 0,049$) по сравнению с нормальными величинами, у больных со злокачественным патологическим процессом выявлены высокие концентрации ММР-9 ($9,86 \pm 5,64$, $p = 0,0012$) и IL-6 ($6,33 \pm 5,62$). При злокачественных опухолях костей уровни ММР-9 ($p = 0,03$) и IL-6 ($p = 0,034$) значимо отличались от таковых при доброкачественных новообразованиях. В отношении содержания TNF- α при доброкачественных и злокачественных новообразованиях выявлена тенденция к усилению экспрессии этого провоспалительного цитокина.

Выводы. ММР-9, TNF- α и IL-6 принимают непосредственное участие в патогенезе неопластического процесса в костной ткани. Ограниченное количество наблюдений в представленном исследовании и тот факт, что практически все полученные значения изучаемых показателей оказываются в рамках референсных величин, указанных в наборах тест-систем, не позволяют говорить о диагностической ценности абсолютных значений исследованных цитокинов для дифференциации костных опухолей на доброкачественные и злокачественные и тем более на отдельные нозологические виды. По мере совершенствования тест-систем для количественного определения цитокинов высока вероятность использования их в качестве биомаркеров доброкачественности и злокачественности неопластического процесса. Однако в настоящее время мониторинг содержания ММР-9, TNF- α и IL-6 в сыворотке крови может, на наш взгляд, представлять практическую ценность для оценки эффективности лечения пациентов и выяснения вероятностного прогноза течения опухолевого процесса в костной ткани.

Кристаллоскопический мониторинг эффективности комплексной реабилитации пациентов с острыми нарушениями мозгового кровообращения в условиях регионального сосудистого центра

А. В. Разумовский, А. К. Мартусевич, М. М. Вереш, А. В. Дмитроченко

ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России, г. Нижний Новгород

ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, г. Нижний Новгород

Crystalloscopic monitoring of complex rehabilitation efficiency at patients with acute violation of cerebral circulation in regional vascular center

A. V. Razumovsky, A. K. Martusevich, M. M. Veresh, A. V. Dmitrochenkov
Nizhny Novgorod State Medical Academy, Privolzhsky Federal Medical Research Centre; Nizhny Novgorod, Russia

Несмотря на предпринимаемые усилия, частота развития острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК) и инсультов сохраняется на высоких значениях. В связи с этим для оптимизации помощи данному контингенту пациентов в Российской Федерации создана многоуровневая сеть сосудистых центров, задачей которых является этапное квалифицированное и максимально быстрое лечение больных с ОНМК. На уровне области либо республики ядром данной системы служат региональные сосудистые центры (РСЦ).

В Нижегородской области в настоящее время функционируют два РСЦ, первым среди которых является РСЦ на базе городской клинической больницы № 13 Автозаводского района г. Нижнего Новгорода, существующий более пяти лет. За это время в данном сосудистом центре были сформированы комплексные алгоритмы неврологической и метаболической ранней реабилитации больных с ОНМК и инсультом. В предшествующих исследованиях была продемонстрирована эффективность созданного лечебного алгоритма по неврологическим показателям, тогда как метаболическая составляющая ранее не изучалась.

С учетом того, что рядом исследователей продемонстрирована информативность применения методов биокристалломики в изучении метаболического статуса организма пациентов с неврологической патологией, в том числе с инсультом, целью настоящего исследования служила оценка динамики кристаллогенных свойств сыворотки крови больных, которым проводили комплексную раннюю реабилитацию в условиях Нижегородского РСЦ.

Материалы и методы. В исследование были включены 46 пациентов в возрасте 45–60 лет, поступивших в РСЦ в первые сутки развития ОНМК. Обследуемые больные были рандомизированы на две равные по численности группы, сопоставимые по возрастно-половой структуре и наличию сопутствующей патологии. Пациенты первой группы получали лечение по стандартному протоколу ведения, а больные второй группы — по алгоритму, сформированному в Нижегородском РСЦ.

У представителей обеих групп при поступлении в стационар РСЦ и на пятые сутки после эпизода ОНМК получали образцы крови, из которых по стандартной методике

(методом центрифугирования) выделяли сыворотку крови. В отношении последней исследовали кристаллогенную активность методом классической кристаллоскопии (Мартусевич А. К., Гришина А. А., 2009). Анализ результата кристаллоскопического теста осуществляли с использованием собственной системы полуколичественных параметров, выраженных в прямых четырехбалльных шкалах. В число основных показателей включены: индекс структурности, указывающий на сложность структуропостроения элементов фации; кристаллизуемость, являющаяся количественной характеристикой кристаллизации биосубстрата; степень деструкции фации, описывающая разрушенность кристаллов в микропрепарате; а также выраженность краевой зоны, свидетельствующая о количестве белков нативного строения и конформации.

Данные, полученные у пациентов сформированных групп, сопоставляли с ранее полученными нами «паттернами» дегидратационной структуризации сыворотки крови практически здоровых людей.

Полученные данные были обработаны статистически в программном пакете Statistica 6.1 для Windows. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка.

Результаты. На основании изучения кристаллогенных свойств сыворотки крови пациентов обеих выделенных групп было показано, что на первые сутки после развития острого нарушения мозгового кровообращения по рассматриваемым показателям группы практически не отличались друг от друга, что свидетельствует об адекватности выполненной рандомизации. С другой стороны, они существенно от кристаллоскопического «паттерна», характерного для практически здоровых людей, что проявляется как в морфоструктурных изменениях, так и в сдвигах уровня оценочных параметров. Так, для микропрепаратов сыворотки крови пациентов с ОНМК свойственно угнетение кристаллогенеза, включающее как уменьшение линейных размеров, так и плотности кристаллических элементов. Кроме того, обнаруживали выраженное усиление процесса разрушения кристаллов, а также умеренное сужение краевой зоны фаций. Это нашло отражение и в динамике визуаметрических параметров: у больных с ОНМК на первые сутки регистрировали снижение значений индекса структурности и кристаллизуемости на 39 и 52 % соответственно относительно физиологического уровня ($p < 0,05$ для обоих показателей) в сочетании с нарастанием степени деструкции фации (в 2,18 раза; $p < 0,05$) и уменьшением выраженности краевой зоны микропрепаратов сыворотки крови (на 43 %; $p < 0,05$). Эти сдвиги свидетельствуют о формирующихся у пациентов с ОНМК метаболических перестройках, отражающихся на компонентном составе и физико-химических свойствах изучаемой биожидкости.

Изучение особенностей кристаллогенной активности сыворотки крови на пятые сутки постишемического периода (по завершении 3–4 дней интенсивного лечения) позволило верифицировать неодинаковость динамики оцениваемых показателей у представителей сформированных групп. В частности, несмотря на общую для всех больных с ОНМК тенденцию к активации кристаллогенной активности биологического субстрата, выражающуюся

в статистических значимом увеличении индекса структурности и кристаллизуемости по отношению к первой контрольной точке ($p < 0,05$ для обоих параметров), у пациентов, дополнительно получавших реабилитационные мероприятия в рамках алгоритма Нижегородского РСЦ, фиксировали ускорение темпов нормализации кристаллизуемости, в связи с чем на пятые сутки после эпизода ОНМК она была обнаружена на более высоком уровне по сравнению с больными, лечение которых производили по стандартной схеме.

Аналогичная закономерность выявлена и по степени деструкции фации, которая снижалась у представителей обеих групп, но в большей степени — у пациентов основной группы ($p < 0,05$), а также по выраженности краевой белковой зоны, демонстрировавшей обратную тенденцию. Установленные закономерности, по нашему мнению, могут свидетельствовать об ускорении восстановления метаболического статуса, имеющем место при использовании нового алгоритма ранней реабилитации больных с ОНМК, характеризующемся более быстрой нормализацией компонентного состава сыворотки крови в этом случае.

Выводы. Таким образом, проведенное исследование верифицировало наличие сдвигов физико-химического гомеостаза сыворотки крови у пациентов в остром периоде острого нарушения мозгового кровообращения, а модификация стандартного алгоритма ведения данного контингента больных позволяет ускорить и оптимизировать темпы нормализации кристаллогенных свойств сыворотки крови уже к пятым суткам после развития эпизода ишемии головного мозга.

Использование показателей минерального обмена слезной и ротовой жидкостей детей для оценки эффективности лечения герпетической инфекции

С. Э. Реук, Н. А. Терехина

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Минздрава России, г. Пермь

Use of indices of mineral metabolism of lacrimal and oral fluids of children for evaluation of effectiveness of herpetic infection treatment

S. E. Reuk, N. A. Teryokhina

Perm State Medical University n.a. E. A. Wagner, Perm, Russia

Изменения состава слезы и слюны тесно связаны с метаболическими процессами, происходящими в тканях глаза и слизистой оболочке полости рта. Использование анализа ротовой жидкости и слезы вместо крови особенно актуально в педиатрической практике.

Цель. Изучить показатели минерального обмена в слезе, ротовой жидкости и плазме крови детей для оценки эффективности лечения офтальмогерпеса и герпетического стоматита.

Материалы и методы. В слезе, ротовой жидкости, плазме крови 27 детей при офтальмогерпесе, а также в ротовой жидкости и плазме крови 28 детей при остром

герпетическом стоматите спектрофотометрически определяли содержание меди по Landers J. W., Zak B. (1958), цинка по Homsher R., Zak B. (1985), кальция по Barnett R. N. (1973) и магния по Mann C. K., Yoe J. H. (1956). Слезную жидкость собирали по методу Н. А. Терехиной (1989), ротовую жидкость по методу Ю. А. Петровича (1976). Контролем служили слеза, ротовая жидкость и плазма крови 58 здоровых детей.

Результаты. В слезе здоровых детей содержание кальция ($1,16 \pm 0,04$ ммоль/л) и магния ($0,37 \pm 0,03$ ммоль/л) ниже, чем в плазме крови. Уровень магния в ротовой жидкости здоровых детей в 2,0–2,5 раза ($0,16 \pm 0,04$ ммоль/л), а кальция в 4–5 раза ($0,25 \pm 0,04$ ммоль/л) меньше, чем в слезе. В слезе здоровых детей содержание меди ($38,72 \pm 4,50$ мкмоль/л) и цинка ($21,59 \pm 3,56$ мкмоль/л) значительно выше, чем в ротовой жидкости ($19,45 \pm 2,06$ и $4,15 \pm 0,28$ мкмоль/л соответственно). С возрастом содержание изученных минеральных веществ в ротовой жидкости увеличивается у шестилетних детей в 2–3 раза, подростков — в 3–4 раза по сравнению с детьми трехлетнего возраста. Возрастная динамика увеличения содержания изученных минеральных веществ в ротовой жидкости коррелирует со сроками прорезывания молочных и постоянных зубов, периодами активного формирования и роста костного скелета. В слезной жидкости при офтальмогерпесе содержание кальция не изменяется, а содержание магния увеличивается в 1,5 раза в слезе герпесинфицированного глаза только при метагерпетическом кератоиридоциклите с изъязвлением. Наиболее существенно в слезе при офтальмогерпесе изменяется содержание цинка и меди. При герпетическом кератите в слезе детей содержание меди снижается, особенно интенсивно — почти в три раза — при метагерпетическом кератоиридоциклите с изъязвлением. Выявлено увеличение содержания меди в плазме крови ($33,94 \pm 3,48$ мкмоль/л) и ротовой жидкости ($37,02 \pm 3,76$ мкмоль/л) при офтальмогерпесе. При герпетическом кератите в слезе контрлатерального глаза снижается содержание цинка в 4–5 раза, а в слезной жидкости инфицированного глаза цинк не определяется вовсе. Установлено снижение содержания цинка в ротовой жидкости и плазме крови детей при офтальмогерпесе в 1,5–2,0 раза по сравнению с контролем. Полученные результаты позволяют рекомендовать включение антиоксиданта цинка в комплексное лечение детей больных герпетическим кератитом. После лечения офтальмогерпеса содержание кальция и магния во всех исследованных биологических жидкостях не отличается от показателей здоровых детей. Содержание меди в слезе герпесинфицированного глаза, ротовой жидкости и плазме крови детей при выписке из стационара нормализуется только при древовидном герпетическом кератите. На фоне лечения офтальмогерпеса цинк остается сниженным в слезной жидкости инфицированного глаза у 90–95 % детей и в слезе контрлатерального глаза 70 % детей, отсутствует нормализация этого микроэлемента в ротовой жидкости и плазме крови при глубоких формах герпетического кератита.

В ротовой жидкости детей при остром герпетическом стоматите статистически значимо увеличивается содер-

жание цинка, кальция, почти на порядок повышается уровень магния по сравнению со здоровыми детьми. Содержание меди в плазме крови и ротовой жидкости при средней степени тяжести и легкой форме стоматита увеличивается почти в 2–3 раза, тогда как при тяжелом остром герпетическом стоматите достоверно снижается. Наблюдается нормализация содержания всех изученных минеральных веществ в ротовой жидкости детей, перенесших герпетический стоматит в легкой форме. После лечения тяжелого и средней степени тяжести острого герпетического стоматита почти у половины детей минеральный состав ротовой жидкости не нормализуется. Для оценки эффективности лечения острого герпетического стоматита у детей нами был предложен коэффициент, представляющий собой соотношение содержания меди к кальцию (Cu/Ca) в ротовой жидкости. Значение этого показателя в ротовой жидкости здоровых детей составляет 94–104. При средней степени тяжести острого герпетического стоматита коэффициент Cu/Ca составляет 10–30, а при тяжелом стоматите — меньше 10. Содержание меди в ротовой жидкости нормализуется, а уровень кальция остается повышенным после лечения тяжелого и средней степени тяжести острого герпетического стоматита. Полученные результаты позволили разработать способ объективной оценки эффективности лечения острого герпетического стоматита по биохимическому анализу ротовой жидкости (патент на изобретение № 2566070 от 23.09.2015). О неэффективности терапии острого герпетического стоматита свидетельствует коэффициент соотношения уровня Cu/Ca ротовой жидкости, равный или ниже 45.

Выводы. При герпетической инфекции степень изменений изученных показателей минерального обмена в слезе детей зависит от клинической формы, коррелирует с тяжестью заболевания и эффективностью лечения. Предложен способ оценки эффективности лечения детей при остром герпетическом стоматите по биохимическому анализу ротовой жидкости.

Будущее диагностики *in vitro*: приложения для смартфонов для количественного определения заданных параметров в кале и цельной крови у лежащих больных или в домашних условиях

Анжелика Роот

Immundiagnostik AG, Бенсхайм, Германия

Future of diagnostics: smartphone applications for quantitative determination of established parameters in stool and whole blood at patient's bedside or in patient's home

Angelika Roth

Immundiagnostik AG, Bensheim, Germany

Цель. Сделать лабораторные анализы доступными для всех: повышение легкости выполнения анализа, сокращение времени готовности результатов, исключение дополнительных поездок в лечебное учреждение, затрат времени на транспортирование образцов.

Метод. Технология QuantOn® позволяет применить возможности современных смартфонов для количественных иммунохимических экспресс-тестов. Высокоточный алгоритм использует камеру смартфона для анализа интенсивности цвета полосок на экспресс-тесте, которая является индикатором концентрации соответствующего аналит-вещества, содержащегося в образце. Количественные результаты готовы в течение нескольких минут, и никаких дополнительных устройств для считывания не требуется. Все тесты QuantOn® могут использоваться в условиях РОСТ (Point-of-Care-Testing — непосредственно у постели больного), а некоторые тесты QuantOn® могут использоваться для самоконтроля, и пациенты могут выполнять тест у себя дома в комфортных условиях.

Результаты. Технология QuantOn® — определение кальпротектина. В настоящее время определение биомаркера — фекального кальпротектина — является золотым неинвазивным стандартом для контроля заболеваемости ВЗК (воспалительное заболевание кишечника). Повышенные уровни фекального кальпротектина указывают на неизбежное воспаление или рецидив у пациентов с ВЗК, поэтому раннее выявление повышенного уровня кальпротектина способствует быстрому медицинскому вмешательству. QuantOn Cal® может использоваться пациентом для самоконтроля, чтобы постоянно контролировать свое заболевание.

Технология QuantOn® — определение гемоглобина. QuantOn Hem® является FIT-анализом (FIT, Fecal Immunochemical Test — иммунохимический анализ кала) для определения скрытой крови в кале. В сочетании с применением для смартфонов QuantOn Hem® данный экспресс-тест обеспечивает количественные результаты в течение нескольких минут. QuantOn Hem® полностью отвечает всем национальным и международным директивам по проведению экспресс-тестов на выявление рака толстой и прямой кишки. Его можно выполнять в любом врачебном кабинете и даже в домашних условиях, исключив длительное ожидание, характерное для лабораторного тестирования, при котором происходит большая затрата времени на пересылку образцов. Кроме того, для него не требуется ограничение в питании для подготовки к проведению теста.

Технология QuantOn® — Preventis SmarTest на определение витамина D. Основываясь на богатом опыте тестирования на витамин D, а также учитывая большой рыночный спрос на тестирование витамина D, был разработан цифровой экспресс-тест на определение витамина D. Из-за быстро растущей осведомленности об эпидемическом масштабе дефицита витамина D во всем мире диагностика дефицита витамина D и контроль за осуществлением заместительной терапии становятся все более необходимыми. Для анализа на витамин D QuantOn® необходимо крошечное количество капиллярной крови, взятой из кончика пальца при помощи откалиброванной пипетки. Кровь должна быть собрана в пробирку с буферным раствором, а дальнейшие действия аналогичны тем, которые выполняются при проведении других тестов QuantOn®. Результаты испытаний готовы в течение нескольких минут, что характерно для всех экспресс-тестов QuantOn®.

Вывод. Тесты QuantOn® совместимы с различными приложениями для смартфонов. В настоящее время нашей целью являются: контроль активности заболевания, скрининг в целях профилактики и контроль уровня витамина. Технология QuantOn® помогает как пациентам, так и специалистам здравоохранения, значительно сокращая время между тестированием и готовностью результатов. Врачам намного проще сделать какое-либо назначение, если результаты теста находятся под рукой. Таким образом, технология QuantOn® улучшает качество жизни пациентов и повышает терапевтическую безопасность.

Анализ аллерген-специфических иммуноглобулинов классов E и G4 на биологическом микрочипе

А. Ю. Рубина¹, Г. У. Фейзханова¹, О. В. Смолдовская¹, С. А. Волошин¹, А. С. Арефьева¹, Л. В. Павлушкина², Т. А. Филатова², Щербо С. Н.³

¹ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В. А. Энгельгардта» Российской академии наук, г. Москва

²ГБУЗ г. Москвы «Городская детская клиническая больница № 13 имени Н. Ф. Филатова» Департамента здравоохранения г. Москвы

³ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

Microarray analysis of allergen-specific IgE and IgG4

Rubina A. Yu., Feyzkhanova G. U., Smoldovskaya O. V., Voloshin S. A., Arefieva A. S., Pavlushkina L. V., Filatova T. A., Shcherbo S. N.
Institute of Molecular Biology n.a. V. A. Engelhardt, City Children's Clinical Hospital No. 13 n.a. N. F. Filatov, Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov; Moscow, Russia

Введение. Аллерген-специфические иммуноглобулины класса E (sIgE) играют важную роль в развитии реакции гиперчувствительности I типа. При этом sIgE не является безусловным маркером наличия клинических проявлений. Развитию реакции гиперчувствительности могут препятствовать аллерген-специфические иммуноглобулины класса G (sIgG), в частности, G4 (sIgG4), которые некоторыми авторами ассоциируется с наличием толерантности к тому или иному аллергену.

Цель. Разработать метод одновременного количественного анализа аллерген-специфических иммуноглобулинов классов E и G4 в образцах сывороток крови для диагностики аллергических заболеваний.

Материалы и методы. Вышеуказанный метод был разработан с использованием созданной в ИМБ РАН технологии 3D-гидрогелевых биологических микрочипов (биочипов). В ячейках биочипа иммобилизованы экстракты аллергенов различных групп, в том числе групп пыльцевых, пищевых аллергенов, а также аллергенов домашней пыли. Выбор экстрактов для формирования панели был осуществлен с учетом частоты встречаемости сенсибилизации к соответствующим аллергенам у пациентов европейской части России. Для реализации одновременного анализа использовалась смесь конъюгатов вторичных проявляющих антител против IgE и IgG4 человека с флуоресцентными красителями Cy5 и Cy3 (GE Healthcare).

В процессе инкубации образцов на биочипе образуются специфические комплексы sIgE и sIgG4 с соответствующими аллергенами, которые визуализируются после обработки вторичными флуоресцентно мечеными антителами. После завершения анализа проводят регистрацию и обсчет флуоресцентных сигналов от каждой ячейки биочипа и с помощью специально разработанного программного обеспечения определяют концентрации sIgE и sIgG4 по калибровочным кривым.

Результаты. Для разработанного метода были определены основные аналитические характеристики: пороги детекции (LOD) для sIgE и sIgG4, а также чувствительность и специфичность анализа. Показано, что использование различных флуоресцентных красителей для одновременного выявления различных классов антител не ухудшает аналитические характеристики метода.

Диапазон измерения составляет 0,35–100,00 МЕ/мл для sIgE и 100–2500 нг/мл для sIgG4. Проведено тестирование метода на образцах сывороток крови пациентов с аллергическими заболеваниями и здоровых доноров. По результатам тестирования показана эффективность применения алерго-биочипа для выявления гиперчувствительности I типа.

Выводы. Формат биочипа позволяет проводить одновременный анализ специфических иммуноглобулинов к панели аллергенов, используя сравнительно небольшой объем образца, что особенно важно для применения данного метода в педиатрии.

Разработанный метод позволит проводить первичное обследование пациентов для выявления сенсибилизации, а также получать дополнительную информацию, необходимую для оценки течения заболевания и выбора адекватной терапии.

Риск развития инфекционных осложнений, вызванных пневмоцистами, у реципиентов донорского сердца

Т. Н. Рыбалкина, Н. В. Каражас, Р. Е. Бошнян, П. А. Веселовский, Е. М. Бурмистров, Т. В. Крупенио, Н. И. Габриэлян

ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, г. Москва

ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В. И. Шумакова» Минздрава России, г. Москва

Risk of developing infectious complications caused by pneumocysts in recipients of donor heart

T. N. Rybalkina, N. V. Karazhas, R. E. Boshyan, P. A. Veselovsky, E. M. Burmistrov, T. V. Krupenyo, V. M. Zakharevich, R. S. Saifgareev, N. I. Gabrielyan

Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology n.a. honorary academician N. F. Gamalei, Federal Research Centre for Transplantation and Artificial Organs n.a. academician V. I. Shumakov; Moscow, Russia

Трансплантация является единственным способом спасения человеческих жизней в условиях некурабельности жизненно важных органов. За последние пять лет в России отмечается значительный рост всех видов трансплантаций.

К настоящему времени по количеству операций, выполняемых по пересадке сердца и доли родственной печени детям, Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В. И. Шумакова Минздрава России занимает лидирующее место среди ведущих трансплантационных центров Европы и США, а отдаленные результаты трансплантации сердца соответствуют мировому уровню. Успехи, достигнутые в клинической трансплантологии, связаны не только с улучшением подбора донорского органа и методов иммуносупрессивной терапии, но и с совершенствованием схем и технологий послеоперационного ведения реципиентов. Тем не менее ведение этих больных сопряжено с рядом проблем, одна из которых — осложнения, вызванные различными инфекционными заболеваниями, в том числе и оппортунистическими инфекциями, включая и пневмоцистоз. Частота инфекционных осложнений с летальным исходом в течение первых двенадцати месяцев после пересадки колеблется по данным разных авторов от 2,6 до 51,7%. Поэтому огромное значение имеет своевременная диагностика, лечение, а главное профилактика этих инфекций.

Цель этого исследования — в изучении этиологической роли пневмоцист в развитии послеоперационных инфекционных осложнений, в частности, бронхолегочных, у пациентов, перенесших пересадку сердца.

Материалы и методы. Проведено клиничко-лабораторное обследование 53 пациентов после трансплантации сердца, находящихся на стандартной иммуносупрессивной терапии. Длительность послеоперационного периода составляла от нескольких суток до одного месяца. Исследования на маркеры пневмоцистоза проводили на наборах реагентов «ПневмоцистоСтрип» для выявления антител к *Pneumocystis jiroveci* классов IgM и IgG методом иммуноферментного анализа (ИФА) и «ПневмоцистоФлюо АГ диагностика» — для обнаружения пневмоцист и их антигенов в непрямой реакции иммунофлюоресценции (НРИФ).

Результаты. Обследование первых 30 пациентов позволило диагностировать активную пневмоцистную инфекцию у 46,7% больных. Время прошедшее после пересадки сердца составляло от нескольких суток до одного месяца. Следует отметить, что в 43,3% случаев имела место острая инфекция и только в 3,3% — ее реактивация. Также у 3,3% пациентов этой группы установлена стадия реконвалесценции, а у 13,3% — латентное течение инфекции. Таким образом, согласно полученным данным, общее число инфицированных *Pneumocystis jiroveci* достигало 63,3%. На основании результатов лабораторных исследований проведена неспецифическая медикаментозная терапия ко-тримоксазолом, которая сопровождалась положительной динамикой клинических и лабораторных показателей. Внедрение профилактики пневмоцистоза позволило сократить число инфицированных *Pneumocystis jiroveci* почти в четыре раза, с 63,3 до 17,3%. Острую пневмоцистную инфекцию диагностировали в пять раз реже, всего у 8,7% обследованных, тогда как до проведения профилактики этот показатель превышал 43%. Число пациентов с латентно протекающим пневмоцистозом также уменьшилось в три раза и составило 4,3%. Случаев реактивации инфекции у больных, получающих бисептол 480 (ко-тримоксазол) отмечено не было.

Выводы. Таким образом, в проведенном исследовании установлена весомая роль пневмоцист в развитии инфекционных, в частности, бронхолегочных осложнений, у пациентов после пересадки сердца. Не вызывает сомнения необходимость внедрения обязательной лабораторной диагностики пневмоцистоза в ранние сроки после трансплантации которая обеспечит как своевременное назначение этиотропной терапии, так и повышение качества и результативности проведенных операций. В работе также показана эффективность неспецифической медикаментозной профилактики этого заболевания с первых суток, прошедших после проведенной трансплантации.

Изучение острофазных показателей у больных острым бруцеллезом

Н. С. Саркисян¹, Н. И. Ковалевич¹, И. В. Санникова², О. В. Махиня²

¹ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь

²ГБОУ ВПО «Ставропольский медицинский университет» Минздрава РФ, г. Ставрополь

Study of acute phase indicators in patients with acute brucellosis

N. S. Sarkisyan, N. I. Kovalevich, I. V. Sannikova, O. V. Makhinya
Stavropol Scientific Research Anti-Plague Institute, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

Неоптерин в мировой научной литературе рассматривается как маркер активации клеточного иммунитета. Основным действующим началом, ответственным за стимуляцию продукции неоптерина макрофагами, является интерферон-гамма. Повышение уровня данного показателя — прогностически неблагоприятный признак при ряде инфекционных, онкологических заболеваний, отражающий тяжесть клинического течения [1].

Биологическая роль неоптерина до сих пор остается не до конца выясненной, известно, что неоптерин играет определенную функцию в реализации механизма цитотоксического действия активированных макрофагов [2]. Патогены, персистирующие внутри клеток (риккетсии, хламидии, шигеллы, бруцеллы, микобактерии), в острую фазу индуцируют клеточно-опосредованный иммунный ответ, в последующем на более поздних сроках инфекционного процесса вовлекаются гуморальные иммунные реакции. При бактериальных инфекциях регистрируют низкое или незначительное повышение концентрации неоптерина в биологических жидкостях организма. Мониторинг уровня неоптерина в крови у больных может быть полезным для оценки степени тяжести и активности туберкулеза [3] и бруцеллеза [4, 5].

На сегодняшний день нет полного понимания клинической значимости липополисахарид-связывающего белка. Ключевая функция липополисахарид-связывающего белка состоит в распознавании, связывании и последовательной презентации бактериального эндотоксина наследственно закодированным рецепторам (Toll-рецепторы), присутствующим на лейкоцитах, что обеспечивает повышение чувствительности рецепторов к патогену и усиление сигнала опасности инфицирования. Липополисахарид-связываю-

щий белок способен распознавать молекулярные структуры грамотрицательных, грамположительных микроорганизмов и возбудителей грибковых инфекций. Современные литературные данные свидетельствуют о возможности использования липополисахарид-связывающего белка в качестве диагностического биомаркера эндотоксемии. Липополисахарид — один из самых известных и изучаемых патоген-ассоциированных молекулярных паттернов почти всех грамотрицательных микроорганизмов [6].

Собственно изучение уровня острофазовых белков в сыворотке крови у больных бруцеллезом в условиях этиопатогенетической терапии позволит определить возможность использования этих маркеров для прогноза болезни и оценки эффективности лечения.

В связи с этим целью исследования явилось определение уровня неоптерина и липополисахарид-связывающего белка в сыворотке крови больных острым бруцеллезом до и после специфического лечения.

Объект исследования — 80 человек с лабораторно подтвержденным диагнозом «острый бруцеллез» (условно опытная группа), проходивших лечение в отделении по диагностике, лечению и экспертизе профпатологии бруцеллеза ГБУЗ СК «Городская клиническая больница № 2». Группу сравнения (условно контрольная группа) составили здоровые люди ($n = 32$), не переболевшие бруцеллезом и не вакцинированные против этой инфекции, которые были сопоставимы по полу и возрасту.

Клинический материал (сыворотка крови) от больных острым бруцеллезом ($n = 62$) исследовали до и после проведения курса антибиотикотерапии (доксциклин и рифампицин, курс шесть недель). У 18 больных острым бруцеллезом определение изучаемых показателей проводили также после проведения приема иммуномодулятора (ликопида). Методом твердофазного иммуноферментного анализа был установлен уровень неоптерина, липополисахарид-связывающего белка в сыворотке крови. Больные острым бруцеллезом принимали липопид курсом 21 день с перерывом 10 дней в дозе 10 мг сублингвально один раз в день (утром). Для статистического анализа использовали t -критерий Стьюдента, уровень достоверности принимали равным при $p \leq 0,05$.

В ходе проведенного исследования установлено, что у обследуемых до начала специфического лечения уровень липополисахарид-связывающего белка (ЛПС-белок) составил $52,2 \pm 0,77$ пг/мл ($p < 0,05$), что значительно выше в сравнении со значением в контрольной группе $6,98 \pm 0,76$ пг/мл, после курса антибиотикотерапии уровень ЛПС-белка составил $(50,79 \pm 0,78$ пг/мл). Прием иммуномодулятора (ликопида) способствовал снижению ЛПС-белка — $34,17 \pm 0,63$ пг/мл ($p < 0,001$).

Уровень неоптерина в сыворотке крови людей из опытной группы до начала специфической терапии составил $21,01 \pm 3,60$ нмоль/л, что значительно выше в сравнении с группой контроля ($5,70 \pm 0,54$ нмоль/л; $p < 0,05$). После окончания курса антибиотикотерапии уровень неоптерина снизился до $13,69 \pm 3,39$ нмоль/л, после курса приема липоида уровень неоптерина снизился до $13,59 \pm 1,80$ нмоль/л, что ниже в сравнении с его уровнем до лечения ($p < 0,05$), но выше чем в контрольной группе ($p < 0,05$).

В ходе проведенной комплексной терапии показатели уровня липополисахарид-связывающего белка и неоптерина в сыворотке больных острым бруцеллезом снизились. Данные показатели следует рассматривать как прогностический индикатор активности воспалительного процесса и предиктор исхода острого бруцеллеза.

Таким образом, мониторинг уровня неоптерина и липополисахарид-связывающего белка у больных острым бруцеллезом позволяет оценить степень тяжести течения болезни, а также проводить контроль эффективности этиопатогенетической терапии.

Иммунологические изменения, выявляемые у пациентов с IgG4-связанным заболеванием

Е. В. Сокол, В. И. Васильев, Е. Н. Александрова

ФГБНЗУ «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В. А. Насоновой», г. Москва

Immunological changes detected in patients with IgG4-related disease

E. V. Sokol, V. I. Vasilyev, E. N. Aleksandrova

Scientific and Research Institute for Rheumatology n.a. V. A. Nasonova, Moscow, Russia

Введение. IgG4-связанное заболевание — хроническое иммуноопосредованное фибровоспалительное заболевание, склонное к системному течению, проявляющееся одновременным или метакронным возникновением опухолеподобных очагов в различных органах и тканях, часто сопровождается гиперсекрецией IgG4 в сыворотке крови. Патогенез заболевания не ясен, специфических аутоантител и антигенов не выявлено, роль IgG4, основного маркера, в патогенезе точно не установлена.

Цель исследования. Изучить основные иммунологические изменения, встречающиеся у пациентов с IgG4-C3.

Материал исследования. В исследование включены 52 пациента с IgG4-C3, последовательно поступивших на амбулаторное и (или) стационарное обследование и лечение в НИИР имени В. А. Насоновой в период с января 2011-го по декабрь 2016 года. Диагноз IgG4-C3 устанавливался на основании универсальных диагностических критериев Н. Umehara и соавт. [1]. Статистический анализ данных выполнен с помощью программы R 3.2.2 и MS Excel 2013 с использованием методов параметрического и непараметрического анализа.

Результаты исследования. В исследуемой группе 57,7% составляли женщины. Средний возраст на момент постановки диагноза составил $47,4 \pm 15,9$ года (от 19 до 78 лет), средний возраст дебюта заболевания составил $43,9 \pm 16,0$ года (от 18 до 77 лет). Медиана времени с момента дебюта заболевания до постановки диагноза IgG4-C3 составила 24 месяца (6–60 месяцев). Диагноз достоверного (definite) IgG4-C3 был установлен 33 пациентам (63,5%), предполагаемого (probable) — 9 (17,3%), вероятного (possible) — 10 (19,2%). У большинства пациентов в исследуемой группе было поражение двух и более органов (39 из 52, 75% пациентов). Среднее число пораженных органов составило 2 на одного пациента (от одного до шести). Наиболее часто поражались слезные (63,5%) и слюнные (46,2%) железы, легкие (48%), лимфатические узлы (34,6%) и забрюшинное пространство (17,3%).

Наиболее частыми иммунологическими отклонениями у пациентов с IgG4-C3 в нашей когорте пациентов были: гипергаммаглобулинемия (25,6%), повышение в сыворотке уровня общего IgG (43,9%, Ме 20,65 г/л [18,7; 35,6]) и IgG4 (88%, Ме 3,45 г/л [2,1; 11,4]), повышение IgE (61%), а также выявление ANA в титре 1/320 и более (22,4%), РФ (15,7%) и снижения уровня компонентов комплемента (18,8%). Повышение СРБ выявлено у 39,2% пациентов. Для пациентов с повышением СРБ более 5 г/л Ме составила 13,3 г/л [6,5; 42,7]. Повышенный уровень СРБ значимо чаще встречался у пациентов с лихорадкой (70 против 32%, $p = 0,0358$, точный критерий Фишера) и у пациентов с похуданием (88 против 30% случаев, $p = 0,004$, точный критерий Фишера).

Уровень IgG4 в сыворотке положительно коррелировал с числом пораженных органов (коэффициент корреляции Спирмена 0,39, $p = 0,0056$, критерий Стьюдента), не коррелировал с уровнем IgE ($p = 0,7357$, критерий Стьюдента для корреляции Спирмена), а среднее значение IgG4 сыворотки статистически значимо не отличалось у пациентов с лихорадкой ($p = 0,6146$, критерий Манна-Уитни), пациентов, получавших глюкокортикоидную терапию до включения в исследование ($p = 0,7913$, критерий Манна-Уитни), и пациентов, страдающих аллергическими заболеваниями ($p = 0,8228$, критерий Манна-Уитни). Однако получено статистически значимое различие в уровне сывороточного IgG4 между пациентами с БА и пациентами без БА.

При сравнении медиан IgG4-сыворотки в подгруппах с различными локализациями IgG4-C3 значения достоверно отличались ($p = 0,0086$, критерий Краскела-Уоллиса), однако при проведении попарных сравнений подгрупп значимое отличие в среднем уровне сывороточного IgG4 получено только между пациентами с изолированным поражением орбит и с сочетанным поражением слюнных и слезных желез ($p = 0,009$, критерий Неменъи).

Выводы. Основными лабораторными (иммунологическими) проявлениями IgG4-C3 является повышение уровня IgG4 сыворотки выше 1,35 г/л (у 88% пациентов) и уровня IgE (у 61%). Уровень IgG4 сыворотки ассоциирован с числом пораженных органов ($p = 0,056$). Другие иммунологические изменения (повышение общего IgG сыворотки крови, гипергаммаглобулинемия, выявление ANA в титре более 1/320, РФ, снижением компонентов комплемента) встречаются у 15–40% пациентов.

Дифференциальная диагностика тромбоцитозов

Н. А. Соколова, М. И. Савина

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

Differential diagnostics of thrombocytosis

N. A. Sokolova, M. I. Savina

Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov, Moscow, Russia

Цель. Представить алгоритм диагностики тромбоцитозов. Тромбоцитоз — это увеличение числа тромбоцитов в периферической крови свыше 450×10^9 /л или, согласно другим авторам, более 320×10^9 /л. Тромбоцитозы можно

разделить на первичные и вторичные. Первичные тромбоцитозы связаны с гематологическими заболеваниями, при которых наблюдается усиленная пролиферация мегакариоцитарного ростка вследствие различных мутаций (достаточно редкие патологии). Вторичный или реактивный тромбоцитоз широко распространен. Наиболее частой причиной реактивного тромбоцитоза являются инфекции, как бактериальные, так и вирусные, острые и хронические. Механизм вторичного тромбоцитоза на фоне воспалительных, инфекционных заболеваний связывают с увеличением продукции тромбопоэтина. Увеличение концентрации интерлейкина-6, уровень которого растет при любом характере воспалительного процесса, ведет к повышению концентрации тромбопоэтина в плазме крови. Также наблюдается положительная корреляция между уровнями тромбопоэтина в плазме крови и концентрацией С-реактивного белка.

Часто наблюдается тромбоцитоз после проведения различных оперативных вмешательств, например, после коронарного шунтирования, больших операций в брюшной полости или ортопедических операций на крупных суставах. Выраженное увеличение числа тромбоцитов после оперативных вмешательств чаще всего встречается в промежутке между 9-м и 22-м днями (14 ± 3 дня). Тромбоцитоз после оперативных вмешательств более характерен для пациентов молодого и среднего возраста. В исследованиях не было получено данных о наличии положительной корреляции между тромбоцитозом и увеличением риска развития тромбоза глубоких вен и тромбозомобилий в послеоперационном периоде.

Если у пациента обнаруживается число тромбоцитов свыше $450 \times 10^9/\text{л}$, то рекомендуется в первую очередь исключить наличие воспалительного процесса в организме, то есть определить уровни С-реактивного белка, фибриногена и других острофазовых маркеров. Также важно на первом этапе исследовать обмен железа, например, выполнить следующие биохимические тесты: концентрация ферритина, общая или латентная железосвязывающая способность сыворотки и другие показатели), поскольку при дефиците железа может наблюдаться тромбоцитоз.

При подтверждении воспалительного процесса уровень тромбоцитов определяют через 3–4 недели после клинического выздоровления пациента. Если был обнаружен дефицит железа, то повторное исследование числа тромбоцитов проводят только после восполнения дефицита железа. Если у больного нет инфекционно-воспалительных заболеваний, нормально протекает обмен железа, то повторное определение уровня тромбоцитов также рекомендуется проводить через 3–4 недели. При повторном обнаружении тромбоцитоза (причины вторичного тромбоцитоза отсутствуют), рекомендуется поиск мутаций, характерных для миелопролиферативных опухолей (BCR-ABL, JAK2V617F, MPLW515K/L) и исследование трепанобиоптата. На основании данных полученных в ходе вышеуказанных исследований и применении диагностических критериев (2016), рекомендованных ВОЗ для диагностики онкогематологических заболеваний, устанавливается конкретная форма гемобластоза (эссенциальная тромбоцитемия, эритремия, хронический миелолейкоз и др.).

Биохимические показатели крови при эндогенной интоксикации в ранний период после термической травмы

А. Г. Соловьева, Н. В. Диденко, П. В. Перетягин

ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, г. Нижний Новгород

Biochemical parameters of blood during endogenous intoxication in early period after thermal injury

A. G. Solovyova, N. V. Didenko, P. V. Peretyagin

Privolzhsky Federal Medical Research Centre, Nizhny Novgorod, Russia

Термическая травма — одна из важных проблем медицины, что обусловлено частотой ее возникновения, трудностью лечения, нередкими неблагоприятными исходами (Грибань П. А., 2011). Ведущим звеном в патогенезе ожоговой болезни является эндогенная интоксикация, которая развивается с первых часов после термической травмы и сопровождает все без исключения стадии и периоды заболевания, во многом определяя его тяжесть и исход (Козинец Г. П. и др., 2004). Поэтому оценка биохимических показателей эндогенной интоксикации позволит оценить ранние нарушения метаболического статуса и окислительно-энергетических реакций при термической травме, что позволит внести коррективы в детоксикационную терапию.

Целью работы явилась оценка биохимических показателей эндогенной интоксикации крови в ранний период после термической травмы.

Материалы и методы. Для исследований использовали кровь 30 больных с ожогом более 20 % поверхности тела (II–III степеней, 1–3-и сутки после поражения). В качестве контроля брали кровь практически здоровых людей ($n = 15$). В эритроцитах и плазме крови определяли уровень малонового диальдегида (МДА) по методу В. Г. Сидоркина, И. А. Чулошниковой (1993) на спектрофотометре Power Wave XS. Концентрацию билирубина, мочевины, креатинина исследовали в сыворотке крови с помощью автоматического анализатора ILAB 650 (Италия, США, Япония). В эритроцитах определяли активность глутатионредуктазы (ГР) и каталазы по Г. В. Сибгатуллиной с соавт. (2011), альдегиддегидрогеназы (АлДГ) по Б. М. Кершенгольц, Л. П. Ильиной (1998). В плазме крови оценивали уровень молекул средней массы (МСМ) с помощью скринингового метода по поглощению в монокромотическом световом потоке при длинах волн 254 и 280 нм (Нагоев Б. С., Габрилович М. И., 2000). Концентрацию лактата измеряли на приборе марки Super GL ambulance. Результаты исследований обрабатывали с использованием программы Statistica 6.0. Значимость различий между показателями определялась с помощью *t*-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты. Показано, что уже с первых суток после ожога возросла концентрация МДА в плазме и эритроцитах в 1,9 раза ($p = 0,021$) и 1,6 раза ($p = 0,033$) соответственно. Альдегиды в повышенных концентрациях обладают выраженными токсическими свойствами, нарушая структуру и функции плазматических и внутриклеточных мембран, выступают в качестве ингибиторов активности многих ферментов мембран и сыворотки крови, в результате пря-

мого взаимодействия модифицируют белки крови и тканей. При термической травме отмечено повышение билирубина, мочевины и креатинина в 1,7 раза ($p = 0,041$), 2,1 раза ($p = 0,012$), 1,4 раза ($p = 0,037$) соответственно. Повышенный уровень билирубина вызывает выраженный мембранотоксический эффект. Встраиваясь в мембраны и проникая в клетку, билирубин повреждает митохондрии, вызывая их необратимое набухание, ингибирует утилизацию глюкозы, нарушает ионную клеточную проницаемость. При эндогенной интоксикации билирубин плохо связывается с белками вследствие как гипоальбуминемии, так и вытеснения его из комплекса с альбумином лекарственными препаратами. Увеличение уровня мочевины и креатинина также указывает на наличие эндогенной интоксикации и сопровождается нарушением нейрогуморального контроля ЦНС.

Выявлено резкое возрастание концентрации лактата в четыре раза по сравнению с усредненным показателем практически здоровых людей ($p = 0,023$), что характеризует выраженность анаэробного гликолиза, т.е. недостаточности поступления кислорода и также является доказательством развития эндогенной интоксикации. В условиях гипоксии клетка поддерживает энергетические потребности за счет активации процессов анаэробного гликолиза, но быстро вызывает накопление лактата. У всех пациентов отмечена высокая степень положительной корреляции между содержанием МДА и лактата ($r = 0,85$, $p = 0,031$), лактата и МСМ ($r = 0,77$, $p = 0,027$). Ранний период после термической травмы характеризовался повышением МСМ.

Накопление в крови токсичных биологически активных компонентов происходит в результате усиления катаболических процессов при снижении эндогенной детоксикации (Копытова и др., 1991). Выявлено статистически значимое уменьшение активности АлДГ в 4,3 раза ($p = 0,001$), что может привести к увеличению альдегидов. Кроме того, у пациентов с ожогами отмечено падение активности ГР в 3,5 раза ($p = 0,009$). Снижение каталитических свойств АлДГ и ГР в эритроцитах может рассматриваться как токсическая энзимопатия, которая имеет прогностическое значение, так как может привести к срыву всей системы детоксикации в органах и тканях, приводя к уменьшению защиты эритроцитов от действия эндотоксинов. В ранние сроки после ожога выявлено повышение активности каталазы в 1,35 раза ($p = 0,012$), что обеспечивает компенсаторную защиту клеточных структур от разрушения под действием перекиси водорода, но может привести к накоплению высокотоксичных метаболитов.

Заключение. Таким образом, для интегральной оценки эндогенной интоксикации в ранний период после термической травмы представляется необходимым определение концентрации МДА, лактата, МСМ, общего билирубина, мочевины, креатинина наряду с оценкой детоксикационных систем крови, включающей исследование активности антиоксидантных ферментов и АлДГ, дающих представление о состоянии системы биотрансформации, что позволит в ранние сроки выявить возможные осложнения у больных с термической травмой.

О модели реализации основных принципов непрерывного медицинского образования в существующей системе повышения квалификации врачей клинической лабораторной диагностики

С. Н. Суплютов, И. В. Пашкина

ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Тюмень

On a model of implementation of the basic principles of continuing medical education in the existing system of advanced training of doctors of clinical laboratory diagnostics

S. N. Suplotov, I. V. Pashkina

Tyumen State Medical University, Tyumen, Russia

В настоящий период руководители медицинских лечебно-профилактических учреждений все большее внимание уделяют вопросам последиplomного образования специалистов в системе непрерывного медицинского образования (НМО). В то же время сохраняется система повышения квалификации врачей (до 2021 г.), в основе которой прохождение одного цикла обучения (144 часа) в течение пяти лет.

Целью настоящей работы явилась разработка и апробация переходной модели цикла повышения квалификации врачей клинической лабораторной диагностики (144 часа), предназначенной для отработки основных принципов обучения в системе НМО.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели сотрудниками кафедры клинической лабораторной диагностики Тюменского государственного медицинского университета разработана и апробирована модель нового цикла усовершенствования для врачей клинко-диагностических лабораторий медицинских организаций. Особенностью программы обучения являлось использование образовательных технологий системы НМО, а также создание возможности прохождения обучения без существенного отрыва от производства. Это достигалось посредством удлинения срока прохождения цикла обучения до 3,5 месяца, в течение которых курсанты должны были выработать 144 часа. При этом общее количество академических часов распределялось следующим образом: 108 часов реализовались через обучение на кафедре с учетом того, что 50 % времени отводилось для образования с использованием дистанционных технологий; 16 часов курсанты набирали посредством участия в аудиторных (конференции, семинары, мастер-классы) или учебных мероприятиях онлайн (вебинары, интернет-конференции сайта sovetnmo.ru); 20 часов было отведено для самостоятельного изучения электронных учебных модулей, предлагаемых кафедрой и ассоциацией «Тюменское региональное медицинское объединение».

Рабочая программа цикла была согласована с координационным советом по развитию непрерывного медицинского и фармацевтического образования МЗ РФ.

Результаты. С 05.09 по 24.12.2016 года в Тюменском госмедуниверситете согласно новой программе был проведен учебный цикл повышения квалификации для врачей клинической лабораторной диагностики медицинских ор-

ганизаций. Общее количество курсантов — 11 человек, все специалисты работают в городе Тюмени. Оценка исходного уровня знаний — 4,2 балла, средний балл по результатам сдачи экзамена — 4,85. По окончании цикла проведено анонимное анкетирование по оценке обучения. Курсантами дана положительная оценка проведенного цикла повышения квалификации. Отмечены такие преимущества, как возможность прохождения обучения без существенного отрыва от работы и семьи, знакомство и работа с образовательными технологиями системы НМО.

Роль рутинных показателей коагуляционного гемостаза в стадировании рака шейки матки

Т. В. Сушинская^{1,2}, Н. И. Стуков^{1,3}, Ю. Э. Доброхотова², Р. М. Фрейтас Норона³, А. А. Петренко³

¹Московский научно-исследовательский институт имени П. А. Герцена — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Минздрава России, г. Москва

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

³ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва

Role of routine indicators of coagulation hemostasis in staging of cervical cancer

T. V. Sushinskaya, N. I. Stuklov, Y. E. Dobrokhotova, R. M. Freitas Noronha, A. A. Petrenko

Moscow Research Institute n.a. P. A. Herzen — a Branch of the National Medical Radiological Research Centre, Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov, People's Friendship University of Russia; Moscow, Russia

В последние годы отмечено увеличение количества больных раком шейки матки (РШМ), особенно в молодом возрасте. Несмотря на доступность локализации, 38,5 % случаев РШМ диагностируются в III–IV стадиях. Злокачественная опухоль способствует активации процесса свертывания крови с появлением состояния гиперкоагуляции (повышение концентрации фибриногена, РФМК и Д-димера, укорочение тромбинового времени (ТВ). Аномалии в одном или нескольких тестах коагуляции являются общими для онкологических больных даже без явных тромботических и (или) геморрагических проявлений. Процесс образования фибрина и фибринолиза параллелен развитию злокачественной опухоли, причем чаще у больных с метастазами. С повышением стадии заболевания происходит активация факторов риска развития тромботических осложнений. Высокая частота венозной тромбоэмболии (ВТЭ), которая при РШМ составляет 8–12 %, требует создания нового диагностического подхода для прогнозирования тромботических осложнений, позволяющего на этапе первичного обращения достоверно установить степень распространенности опухолевого процесса и определить группу больных с высокой предрасположенностью к тромбообразованию.

Цель. Определить закономерности изменения коагуляционного гемостаза с использованием рутинных лабораторных методов у больных РШМ в зависимости от степени распространенности опухолевого процесса.

Материалы и методы. Проведено сравнение показателей коагулограммы [тромбиновое время (ТВ), фибриноген, растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК)] у 130 больных, поделенных на группы в зависимости от стадии заболевания и гистологического подтипа, в возрасте от 24 до 82 лет (средний возраст $45,72 \pm 11,13$ года) с диагнозом РШМ на этапе первичного обследования и после проведения хирургического этапа лечения и хирургического стадирования.

Результаты. Установлено, что гиперкоагуляция, проявляющаяся биохимическими аномалиями в параметрах гемостаза, характерна для больных РШМ. У каждой второй больной с первично выявленным опухолевым процессом повышены маркеры тромбообразования — РФМК и фибриноген. Средние значения фибриногена и РФМК достоверно возрастают с повышением стадии заболевания ($2,45 \pm 1,62$ и $4,9 \pm 3,27$ мг/мкл при I стадии до $4,47 \pm 1,24$ и $10,38 \pm 5,20$ мг/мкл при IV стадии соответственно; $p \leq 0,05$). Гистологический подтип опухоли определяет ее влияние на гемостаз. При аденокарциноме и железисто-плоскоклеточном раке определяются более высокие значения фибриногена и РФМК ($3,67 \pm 1,59$ г/л, $12,75 \pm 9,06$ мг/мкл и $3,09 \pm 1,02$ г/л, $11,00 \pm 5,07$ мг/мкл соответственно) в сравнении с плоскоклеточным раком шейки матки ($2,76 \pm 0,71$ г/л, $10,79 \pm 2,45$ мг/мкл) ($p \leq 0,05$). Статистически достоверным ($p < 0,01$) оказалось и уменьшение ТВ в группе больных железисто-плоскоклеточным раком шейки матки ($16,56 \pm 2,32$ с) при сравнении с плоскоклеточным ($19,04 \pm 2,94$ с). 74 % обследованных больных ($n = 96$) проведены хирургическое лечение и соответствующее хирургическое стадирование. Изменение клинической стадии заболевания после хирургического этапа лечения произошло у 75 % больных ($n = 72$), причем у 16,7 % стадия была изменена в сторону уменьшения ($n = 12$), а у 83,3 % из них ($n = 60$) произошло повышение стадии заболевания, связанное в 30 % случаев ($n = 18$) с местным, а в 70 % ($n = 42$) с метастатическим вариантом распространения опухолевого процесса. Отмечено, что средние значения фибриногена и РФМК у больных РШМ, у которых хирургическая стадия болезни стала ниже клинической или осталась прежней, составили $2,70 \pm 0,66$ г/л и $6,50 \pm 2,04$ мг/мкл, а у больных с повышением стадии заболевания после хирургического стадирования (метастатический вариант) — $3,20 \pm 1,27$ г/л и $11,80 \pm 1,12$ мг/мкл соответственно ($p \leq 0,05$).

Выводы. Рутинные лабораторные методы допустимы для прогнозирования тромботических осложнений и оценки степени распространенности опухолевого процесса у больных РШМ. Наиболее важными являются РФМК, фибриноген ($p \leq 0,05$) для стадии заболевания, РФМК, фибриноген, тромбиновое время ($p \leq 0,05$) для гистологического подтипа. Процесс образования фибрина и РФМК зависит от степени распространенности опухолевого процесса; одновременное повышение их уровня выше определенных значений (фибриногена выше 3,0 г/л и РФМК выше 11 мг/мкл), возможно, говорит о высокой вероятности метастазов в регионарные лимфоузлы, что требует дальнейшего изучения. На всех этапах ведения пациенток с РШМ необходимо проводить контроль показателей гемостаза и дифференцированную профилактику тромботических осложнений.

Комплексный подход к выявлению карбапенемаз грамотрицательных бактерий с применением новых методов

О. Г. Тимофеева, С. В. Поликарпова, Н. В. Пивкина,
В. В. Балина, Н. А. Бондаренко, В. И. Вечорко

ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 15
имени О. М. Филатова» Департамента здравоохранения
г. Москвы

Complex approach to detection of carbapenemases in Gram-negative bacteria with new methods

O. G. Timofeeva, S. V. Polikarpova, N. V. Pivkina, V. V. Balina,
N. A. Bondarenko, V. I. Vechorko
City Clinical Hospital No. 15 n.a. O. M. Filatov, Moscow, Russia

Цель. Повышение эффективности выявления приобретенных карбапенемаз грамотрицательных бактерий в условиях роста резистентности нозокомиальных штаммов.

Материалы и методы. В исследование были включены штаммы грамотрицательных бактерий, выделенные в стационаре из клинического материала (кровь, раневое отделяемое, бронхоальвеолярный лаваж, моча) в период с 17 февраля по 27 апреля 2017 года. Исследование проходило в три этапа. На первом этапе проводился скрининг нечувствительных к карбапенемам грамотрицательных микроорганизмов с помощью рутинных методов: диско-диффузионного метода с использованием дисков с антибиотиками BIO-RAD (Франция) и метода определения пограничных концентраций антибиотиков на тест-системах SENSILATEST (Erba Lachema, Чехия). Интерпретацию результатов определения чувствительности проводили по критериям, установленным клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» 2015 года. Повторно выделяющиеся микроорганизмы с одинаковым профилем антибиотикорезистентности, выделенные от одного пациента, в исследование не включались. На втором этапе штаммы, нечувствительные к карбапенемам (устойчивые или с промежуточной чувствительностью), исследовались на продукцию карбапенемаз с помощью фенотипического метода инактивации карбапенемов (Carbapenem inactivation method, CIM). На третьем этапе штаммы, демонстрирующие продукцию карбапенемаз в CIM-тесте (CIM-положительные), исследовались молекулярно-генетическим методом с целью подтверждения продукции карбапенемаз и выявления генов приобретенных карбапенемаз основных групп. Данное исследование проводилось методом ПЦР в реальном времени с использованием наборов ИнтерЛабСервис (Россия): «АмплиСенс MDR MLB-FL» для выявления генов металло-β-лактамаз групп VIM, IMP, NDM и «АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL» для выявления генов карбапенемаз групп KPC и OXA-48.

Результаты. На первом этапе по результатам скрининга отобрано 154 штамма микроорганизмов: 116 штаммов *Enterobacteriaceae* (106 штаммов *Klebsiella pneumoniae*, 6 — *Escherichia coli*, 4 — *Proteus mirabilis*), 26 штаммов *Pseudomonas aeruginosa* и 12 штаммов *Acinetobacter baumannii*, нечувствительных (устойчивых или с промежуточной устойчивостью) к одному или нескольким карбапенемам — меропенему, имипенему и эртапенему для *Enterobacteriaceae*, меропенему и имипенему для *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*.

На втором этапе по результатам фенотипического CIM теста обнаружено, что из 154 протестированных штаммов 92 штамма (59,7%) продуцируют карбапенемазы. Из 106 штаммов *Klebsiella pneumoniae* — 72 (67,9%), из 6 штаммов *Escherichia coli* — 4 (66,7%), из 4 штаммов *Proteus mirabilis* — 4 (100%). Из 26 штаммов *Pseudomonas aeruginosa* — 4 (15,4%), из 12 штаммов *Acinetobacter baumannii* — 8 (66,7%) оказались продуцентами карбапенемаз.

На третьем этапе методом ПЦР исследованы 36 штаммов из числа CIM-положительных: 32 штамма *Klebsiella pneumoniae*, 4 штамма *Proteus mirabilis*. У 100% штаммов подтверждена продукция карбапенемаз. Из 32 штаммов *Klebsiella pneumoniae* у 18 штаммов обнаружены гены карбапенемаз группы OXA-48, у 6 штаммов — гены металло-β-лактамаз группы NDM, у 8 штаммов обнаружены гены групп OXA-48 и NDM. У 4 штаммов *Proteus mirabilis* обнаружены гены металло-β-лактамаз группы NDM.

Выводы. 1. У всех штаммов, демонстрирующих продукцию карбапенемаз в фенотипическом методе инактивации карбапенемов (Carbapenem inactivation method, CIM), выявлены гены приобретенных карбапенемаз. 2. У 56,2% штаммов *Klebsiella pneumoniae* обнаружены гены приобретенных карбапенемаз группы OXA-48, у 18,7% штаммов — гены металло-β-лактамаз группы NDM, у 25,1% штаммов обнаружены как гены карбапенемаз группы OXA-48, так и металло-β-лактамаз группы NDM. У 100% штаммов *Proteus mirabilis* обнаружены гены металло-β-лактамаз группы NDM. 3. Предложенный нами комплексный подход, сочетающий фенотипический и молекулярно-генетический методы, позволяет повысить эффективность выявления приобретенных карбапенемаз грамотрицательных бактерий.

Молекулярные мишени и лечение немелкоклеточного рака легкого

Н. Е. Торопова, Е. В. Закамова

ГБУЗ «Самарский областной клинический онкологический диспансер», г. Самара

Molecular targets and treatment of non-small cell lung cancer

N. E. Toropova, E. V. Zakamova
Samara Regional Clinical Cancer Centre, Samara, Russia

Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) — гетерогенная группа опухолей, составляет 80% злокачественных новообразований (ЗНО) данной локализации. К этой группе относятся аденокарцинома, плоскоклеточный рак, крупноклеточный рак и их подтипы. Аденокарцинома — самый частый гистологический тип рака легкого. Классификация ВОЗ опухолей легкого, плевры, тимуса и сердца, изданная под редакцией проф. Уильяма Трэвиса в 2015 году, объединила в себе множество открытий в области изучения рака легкого. Доктор Трэвис комментирует, что в предыдущем издании не уделялось должного внимания диагностике на основании пункционной биопсии и цитологических исследований. В новой классификации этому аспекту отведена чуть ли не самая важная роль. Главные аспекты новой классификации — диагностические критерии и термины

для определения подтипов РЛ по результатам пункционной биопсии, цитологических и молекулярно-генетических исследований. Данные цитологии, трансторакальной аспирационной биопсии (ТАБ) и молекулярно-генетический анализ становятся важным этапом диагностики и последующего лечения пациентов. Развитие НМРЛ ассоциировано с драйверными мутациями генов сигнальных каскадов, частота встречаемости которых неодинакова. Гены сигнальных каскадов — ключевые гены, мутации в которых индуцируют канцерогенез. Мутации гена EGFR, детерминирующего рецептор эпидермального фактора роста семейства ErbB, у больных НМРЛ встречаются довольно часто (до 20%). Активирующие мутации этого гена приводят к бесконтрольной передаче активирующего сигнала по сигнальному пути и, следовательно, к пролиферации опухолевых клеток, повышению их миграционной и адгезионной активности; часто связано с более поздними стадиями заболевания. Мутации гена EGFR встречаются при ЗНО других локализаций, но наиболее часто мутации выявляются при НМРЛ. С точки зрения генетической структуры опухоли, выделяют две группы НМРЛ: I группа — неплоскоклеточный (аденокарцинома некурящих), с аномалиями генов EGFR, ALK, RAS, RAF, ROS 1, RET и др.; II группа — плоскоклеточный рак, ассоциирована с курением и хромосомной нестабильностью. Основная идея при создании таргетных препаратов для лечения НМРЛ заключается в блокировании рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) как одного из инициаторов сигнального каскада. Мутации, ассоциированные с НМРЛ, обнаруживают в экзонах 18–21 7-й хромосомы. 90% обнаруженных мутаций EGFR в НМРЛ — это делеции в 19-м экзоне и точечные замены в 21-м экзоне. Современные таргетные препараты для лечения НМРЛ с мутациями EGFR селективно блокируют тирозинкиназный домен EGFR/ErbB 1. Гефитиниб, эрлотиниб — ингибиторы тирозинкиназы (ИТК) EGFR, зарегистрированы в РФ и используются в клинической практике. Исследование LUX–Lung 3, LUX–Lung 4, LUX–Lung 6, LUX–Lung 7 показали, что не менее эффективным оказался селективный блокатор ТК-рецепторов семейства ErbB (EGFR/ErbB 1, HER2/ErbB2 и ErbB4) — афатиниб, который в России зарегистрирован в 2013 году. От 50 до 90% больных аденокарциномой легкого с мутацией EGFR хорошо отвечают на терапию ИТК EGFR и получают больше пользы, чем от химиотерапии. Последнее время исследователи проявляют интерес к изолированной или второй мутации этого гена в 20-м экзоне T790M с заменой тирозина на метионин. Этот интерес не случаен, поскольку эта мутация приводит к развитию резистентности к известным ИТК EGFR. Некоторые авторы считают, что при мутации T790M чувствительность к афатинибу сохраняется. В настоящее время разработан новый препарат, проявляющий высокую эффективность у больных НМРЛ с мутацией T790M, осимертиниб — необратимый ИТК EGFR. Вместе с тем 70–80% больных НМРЛ имеют «дикий тип» EGFR, поэтому ИТК EGFR таким пациентов не показаны. В этом случае по рекомендациям ESMO, ASCO, RUSSCO, NCCN необходимо образец опухоли исследовать на наличие инверсии ALK и ROS 1. ALK — это рецепторная тирозинкиназа из семейства ин-

сулинзависимых рецепторов. Основные сигнальные пути те же, что участвуют в передаче сигнала от EGFR. Ген ALK локализован на коротком плече 2-й хромосомы. После инверсии ALK переходит в активное состояние, инициируя бесконтрольную пролиферацию опухолевых клеток. ROS 1 — рецептор тирозинкиназы, также относящийся к категории рецепторов инсулина. Ген ROS 1 локализован на длинном плече 6-й хромосомы. Транслокации между генами ROS 1 и CD 74, FIG или SLC 24A2 представляют собой драйверные мутации, встречающиеся примерно у 1–2% людей с НМРЛ. Для выключения активированной тирозинкиназы ALK разработан кризотиниб, активность которого в группе больных НМРЛ с инверсией ALK и, как оказалось, с реаранжировками генов ROS 1 и MET сопоставима с активностью гефитиниба, эрлотиниба и афатиниба у больных с мутациями EGFR. Если же у пациента выявлен «дикий» тип EGFR, ALK, ROS 1, необходимо исключить конкурирующие мутации BRAF. Ген BRAF локализован на длинном плече хромосомы 7. Активирующие мутации BRAF встречаются примерно в 2–5% НМРЛ, связаны с плохим прогнозом и рассматриваются как прогностический фактор неэффективности стандартной терапии. Мутации обнаруживаются в основном у пациентов с аденокарциномой, чаще всего в 600-м кодоне с заменой валина на глутаминовую кислоту. Опухоли с мутациями V600E, как правило, имеют микропапиллярный тип строения — признак агрессивного течения болезни. BRAF-мутированные опухоли резистентны к блокаторам EGFR. В настоящее время активно изучается эффективность ингибиторов BRAF-киназ (дабрафениба) при диссеминированном НМРЛ. Итак, при диком типе EGFR необходимо исследовать опухоль на наличие инверсии ALK и мутации BRAF. Инверсия обнаружена — больному может помочь кризотиниб, мутация BRAF — дабрафениб. При отсутствии мутаций EGFR, BRAF и инверсии ALK, ROS 1 показана химиотерапия с подключением бевацизумаба или без него. Для 15% НМРЛ характерны также мутации HER2, PI3K, MEK1, транслокации с участием генов RET и др. Стратегия блокирования «иммунных контрольных точек» базируется на природном феномене взаимодействия рецептора PD-1 на Т-лимфоцитах и соответствующих лигандах PD-L1 опухолевых клеток, который снижает активность цитотоксических лимфоцитов. Опухолевые клетки, в т.ч. НМРЛ, характеризуются гиперэкспрессией PD-L1 при этом чем выше экспрессия, тем хуже прогноз. Искусственное блокирование этого механизма может защитить лимфоциты от подавляющего действия опухолевых клеток и реактивировать цитотоксические Т-лимфоциты. Применение терапевтических анти-PD 1 и анти-PD-L1 моноклональных антител приводит к реактивации специфического противоопухолевого иммунного ответа у больных, получающих иммунотерапию блокаторами PD-1 и PD-L1. Молекула PD-L1 рассматривается как потенциальный биомаркер прогноза эффективности и продолжительности лечения злокачественных новообразований, а также как предиктор ответа на анти-PD 1/PD-L1 иммунотерапию. В настоящее время разработаны ингибиторы PD 1/PD-L1: ингибиторы PD-1 — пембролизумаб и ниволумаб, которые эффективны у больных НМРЛ с подтвержденной

экспрессией PD-L1 опухолевыми клетками, у которых наблюдается прогрессирование заболевания во время или после терапии препаратами платины; ингибиторы PD-L1 — атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб. Недавно ASCO объявило иммунотерапию, основанную на блокировании «иммунных контрольных точек», достижением 2017 года.

Анализ результатов определения мутаций в генах EGFR и BRAF у больных немелкоклеточным раком легкого в Самарской области

Н. Е. Торопова, Е. В. Закамова

ГБУЗ «Самарский областной клинический онкологический диспансер», г. Самара

Analysis of results of mutations' determination in EGFR and BRAF genes in patients with small cell lung cancer in Samara region

N. E. Toropova, E. V. Zakamova

Samara Regional Clinical Cancer Centre, Samara, Russia

Определение мутационного статуса гена EGFR у больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) является необходимой диагностической процедурой для назначения таргетных препаратов — ингибиторов тирозинкиназ EGFR. Поскольку в последнее время изучается эффективность ингибиторов BRAF-киназ при диссеминированном НМРЛ, исследование мутаций в гене BRAF у больных с «диким типом» EGFR является актуальным в плане выбора альтернативного таргетного препарата.

Цель. Проанализировать частоту драйверных мутаций в генах EGFR и BRAF у больных немелкоклеточным раком легкого в Самарской области. Сравнить возможности выделения ДНК и определения мутаций в генах EGFR и BRAF из ткани опухоли НМРЛ с высоким содержанием опухолевых клеток и малого биопсийного материала с низкой клеточностью.

Материалы и методы. Молекулярно-генетическое исследование проводили методом аллельспецифичной ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе Rotor-Gene (Qiagen, Германия) наборами Real-time-PCR-EGFR-2M и Real-time-PCR-BRAF-V600E производства «Биолинк» (г. Новосибирск, Россия), а также наборами Therascreen EGFR RGQ PCR Kit производства Qiagen (Германия). Наборы включали праймеры для определения мутации Leu858Arg в 21-м экзоне и группы делеций в 19-м экзоне: Del 746E-750A, Del 746E-754K, Del 747L-750A, Del 747L-751T, Del 747L-752S, Del (746E-750A) insQ, Del (746E-751T) insA, Del (746E-752S) insV, Del (747L-751T) insA, Del (747L-752S) insA, Del 750A-756N, Del 751T-755A, Del 753P-757K, Dupl 740I-745. Микродиссекцию цитологических образцов производили при помощи системы лазерной микродиссекции и бесконтактного катапультирования Combi System Zeiss. Исследовали образцы 172 больных НМРЛ. Среди обследованных больных 54 женщины и 118 мужчин. В качестве исследуемого материала использовали операционный материал (парафиновые блоки тканей первичной опухоли) — 111 образцов и материал тонкоигольной аспирационной биопсии (ТАБ), и тран-

сторакальной биопсии (ТТБ): цитологические препараты первичной и метастатической опухоли, плевральная жидкость — 61 образец.

Результаты. Все образцы НМРЛ (172 образца) по гистологическому типу включали 166 образцов аденокарцином и 6 образцов плоскоклеточного рака легкого. В 24 образцах из 172 выявлены del в 19-м экзоне и mut в 21-м экзоне гена EGFR. Выявленные мутации в гене EGFR обнаружены у больных только с гистологическим типом аденокарцинома. В образцах плоскоклеточного рака мутации в гене EGFR обнаружены не были. Таким образом, частота драйверных мутаций гена EGFR у больных НМРЛ (аденокарцинома), получавших лечение в Самарском онкодиспансере, составила 14,5 %, что соответствует общемировым статистическим данным для европейской популяции. Несмотря на то что количество образцов опухолевого материала для исследования, полученного у мужчин, значительно превышало количество образцов, полученного у женщин, частота драйверных мутаций гена EGFR была выше в группе больных женщин: 35 % у женщин и 4 % у мужчин. Полученные данные также соответствуют общемировым статистическим данным для европейской популяции. Из 172 образцов исследовали 61 образец цитологического материала, из которых 58 образцов, полученных ТАБ и ТТБ. Из 30 цитологических образцов первичной опухоли мутации EGFR были обнаружены в трех образцах (10 %). Во всех случаях это были делеции в 19-м экзоне. Из 28 цитологических образцов метастатической опухоли (пунктаты лимфоузлов) мутации EGFR были обнаружены в двух образцах (7 %). В одном из трех образцов опухолевых клеток плевральной жидкости с крайне скудным клеточным материалом была обнаружена del19ex EGFR. Для получения клеточного материала и выделения ДНК в необходимой концентрации из образцов плевральной жидкости использовали лазерную микродиссекцию. Предварительно были приготовлены цитологические препараты с использованием технологии Cytospin для получения монослоя клеток на предметном стекле со специальной мембраной. Далее препараты окрашивали азури-эозином. Все комплексы аденокарциномы вырезали с предметного стекла с помощью лазерного микродиссектора. Технология микродиссекции позволяет концентрировать опухолевые клетки и устранять клетки мезотелия, макрофаги, лейкоциты, способные потенциально повлиять на результаты анализа.

Мутации в гене BRAF в 600-м кодоне с заменой валина на глутаминовую кислоту (V600E) определяли для исключения конкурирующей драйверной мутации у больных НМРЛ с «диким типом» гена EGF и как потенциальную мишень для применения ингибиторов BRAF-киназ (дабрафениба). Дело в том, что активирующие мутации BRAF встречаются примерно у 2–5 % больных НМРЛ и связаны с плохим прогнозом. Опухоли с мутациями V600E, как правило, имеют микропапиллярный тип строения — признак агрессивного течения болезни. Наличие мутаций в гене BRAF рассматривается в настоящее время как прогностический фактор неэффективности стандартной терапии, в том числе, терапии ингибиторами тирозинкиназ EGFR эрлотиниба, gefитиниба, афатиниба, зарегистрированных

в Российской Федерации и используемых в клинической практике. Обнаружение драйверной мутации в гене BRAF может дать шанс больному НМРЛ в плане лечения с использованием ингибиторов BRAF-киназ. В лабораторию был направлен 21 образец опухолей (парафиновые блоки с высоким содержанием опухолевых клеток) больных аденокарциномой легкого с диким типом EGFR, из них 10 образцов, полученных у женщин и 11, полученных у мужчин. Мутация в гене BRAF V600E была обнаружена в одном из 21 образцов (4,8%). Мутация была выявлена в образце, полученном у женщины. Из 24 выявленных перестроек EGFR у 5 были инсерции L858R в 21-м экзоне и 19 — делеции в 19-м экзоне гена EGFR (79%).

Выводы. 1. ДНК опухолевых клеток для исследования может быть выделена в достаточной концентрации не только из срезов парафиновых блоков, но и из цитологических препаратов, в том числе со скудным количеством опухолевых клеток метастазов лимфоузлов и плевральной жидкости. 2. В образцах цитологического материала мутации гена EGFR обнаруживаются с частотой, сопоставимой с частотой их выявления в образцах ткани. 3. Частота мутаций гена EGFR у больных аденокарциномой (неплюскоклеточный НМРЛ) в Самарской области составляет 14,5%, чаще встречается у женщин (35%), среди выявленных мутаций преобладают делеции в 19-м экзоне (79%).

Ненасыщенность липидов плазмы крови у детей, больных муковисцидозом

Т. И. Туркина, С. Н. Щербо, Е. В. Киселева

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

ФГБУН «Институт химической физики имени Н.Н. Семёнова» РАН, г. Москва

Unsaturated lipids of blood plasma in children with cystic fibrosis

T.I. Turkina, S.N. Shcherbo, E.V. Kiselyova

Russian National Research Medical University n.a. N.I. Pirogov, Institute of Chemical Physics n.a. N.N. Semyonov; Moscow, Russia

Целью исследования явилось определение ненасыщенности липидов сыворотки крови (двойные связи — ДС) методом озонирования у детей, больных муковисцидозом (МВ). Под наблюдением находились 36 детей в возрасте 7–15 лет, больных МВ. По оценке по шкале Швахмана-Брасфилда в модификации С. В. Рачинского и Н. И. Капранова средне-тяжелое течение МВ диагностировано у 36,1% больных (1-я группа); преобладало тяжелое течение заболевания с ранней манифестацией кишечного и респираторного синдрома у 63,8% больных (2-я группа). У многих пациентов тяжесть заболевания усугублялась присоединением осложнений МВ: билиарный цирроз печени у 30,5% (3-я группа), желчно-каменная болезнь (ЖКБ) — 19,7% (4-я группа). Определение ненасыщенности липидов проводили экспресс-методом озонирования на анализаторе двойных связей. Метод озонирования основан на взаимодействии озона со связью C=C ненасыщенных жирных кислот в эквимольном соотношении. Расход озона на химическую реакцию ре-

гистрировался спектрофотометрически. Метод обладает высокой чувствительностью, точностью, селективностью и экспрессностью (1–3 минуты на одно определение).

Определены нормативные значения ненасыщенности у 20 здоровых детей (группа сравнения) того же возраста: ДС = $26,0 \pm 2,0$ ммоль/л. Первая группа больных характеризовалась достоверным снижением ненасыщенности липидов: уровень ДС = $19,08 \pm 2,49$ ммоль/л. Во 2-й и 4-й группах больных показатель ДС был значительно ниже нормы ($12,89 \pm 1,52$ ммоль/л; $13,71 \pm 1,85$ ммоль/л; $P < 0,001$; $< 0,01$ соответственно). У больных 3-й группы (тяжелое течение МВ, осложненное циррозом печени) отмечалось самое низкое значение показателя ДС = $7,80 \pm 2,03$ ммоль/л ($P < 0,001$).

Сравнительный анализ уровня ДС в этих группах в зависимости от компенсации метаболических нарушений показал, что у больных 1-й группы комплекс терапевтических мероприятий (базисная терапия) оказывался весьма эффективным, отмечались более быстрая компенсация и улучшение их клинического состояния, а во 2-й, 3-й, 4-й группах нарушения обменных процессов и клиническая симптоматика более пролонгированы.

Показатель ДС можно использовать в качестве дополнительного критерия в лабораторной диагностике и мониторинга, для объективизации формирования адекватной тактики лечения (введение антиоксидантной терапии, гиполипидемических и мембраностабилизирующих препаратов), а также с целью прогнозирования осложнений.

Резервный потенциал калликреин-кининовой системы крови и степень эндотелиальной дисфункции у больных гипертонической болезнью I и II стадий в зависимости от длительности заболевания

А. В. Удуг¹, Г. Т. Каиров², Л. Ю. Котловская¹, В. В. Удуг¹

¹НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е. Д. Гольдберга ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр» РАН, г. Томск

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск

Reserve potential of kallikrein-kinin system of blood and degree of endothelial-term dysfunction in patients with hypertensive disease stage I and II depending on duration of disease

A. V. Udut, G. T. Kairov, L. U. Kotlovskaya, V. V. Udut

Research Institute for Pharmacology and Regenerative Medicine n.a. E. D. Goldberg of Tomsk National Research Medical Centre, Siberian State Medical University; Tomsk, Russia

Цель исследования. В условиях пробы с двукратной локальной гипоксии верхнюю оценить резервный потенциал калликреин-кининовой системы (ККС) крови и вазодилатирующую способность сосудов плечевой артерии у больных гипертонической болезнью (ГБ) I и II стадий в зависимости от длительности заболевания.

Материал и методы. Исследования выполнены у 80 больных ГБ I стадии и 80 пациентов с ГБ II стадии. Резервный потенциал ККС крови изучен по уровню пре-калликреина, калликреина, α_1 -протеиназного ингибитора

и α_2 -макроглобулина до и после пробы. Эндотелий-зависимая вазодилатация (ЭВД) сосудов плечевой артерии исследована методом эходоплерографии. По длительности заболевания больные ГБ I и II стадии разделены на три группы: с анамнезом до 5 лет, 6–10 лет и свыше 10 лет.

Результаты исследования. У больных ГБ выявлены реакции ККС: адаптивный тип (А) характеризовался усилением кининогеназной и ингибиторной активности крови; кининогеназный (К) — увеличение активности кининопродуцирующего звена ККС и снижение ингибиторной активности; ингибиторный (И) — снижение кининопродукции и повышение активности ингибиторного звена. В ответ на тестовую нагрузку установлены два типа реакции ЭВД: увеличение диаметра и линейной скорости кровотока в плечевой артерии (ЭВД+) и снижение этих показателей (ЭВД-). У больных ГБ I стадии регистрировали тип А в 50% случаев, К — в 22,5%, И — 27,5%. При ГБ II стадии регистрировали тип А в 12,5% случаев, тип К у 15% больных, тип И в 72,5% наблюдений. У больных ГБ I стадии с анамнезом до 5 лет тип А регистрировали у 20 пациентов; с длительностью заболевания 6–10 лет — у 15 больных; с анамнезом заболевания более 10 лет — у 5 больных. Тип К выявлен у 16 больных с анамнезом до 5 лет; у 4 пациентов с анамнезом 6–10 лет; у больных с анамнезом более 10 лет тип К отсутствовал. Ингибиторный тип реакции ККС регистрировали у 4 больных с анамнезом 6–10 лет и у 18 пациентов с анамнезом до 5 лет тип И отсутствовал. У больных ГБ II стадии с анамнезом до 5 лет А-тип реакции ККС выявлен у 8 пациентов; с анамнезом 6–10 лет — у 1 больного; с анамнезом более 10 лет — у 1 больного. К-тип реакции выявлен у 10 больных с длительностью заболевания до 5 лет; у 2 пациентов с анамнезом 6–10 лет; у больных с анамнезом более 10 лет тип К отсутствовал. Ингибиторный тип реакции ККС регистрировали у 23 больных с анамнезом до 5 лет; у 10 обследованных с анамнезом 6–10 лет и у 35 пациентов с анамнезом свыше 10 лет. ЭВД+ регистрировали у больных с типами А и К ККС крови вне зависимости от стадии заболевания. Достоверное снижение диаметра и линейной скорости кровотока в плечевой артерии (ЭВД-), свидетельствующие об эндотелиальной дисфункции, выявлены у всех больных с И-типом реакции ККС крови.

Выводы. 1. Выраженность рассогласования функционального взаимодействия кининопродуцирующего и ингибиторного звеньев ККС крови, выявленного у больных ГБ I и II стадий в условиях тест-нагрузки, не зависит от длительности заболевания. 2. У больных с типами А и К реакции ККС крови ультразвуковые признаки эндотелиальной дисфункции отсутствовали. 3. У обследованных с ингибиторным типом реакции ККС крови эндотелиальная дисфункция регистрируется у всех больных ГБ вне зависимости от длительности заболевания. 4. Деадаптивные нарушения в ККС крови у больных ГБ не обеспечивают вазодепрессивный механизм в условиях тестовой нагрузки. 5. Полученные результаты могут служить теоретической платформой для создания новых персонализированных средств диагностики, лечения и мониторинга эндотелиальной дисфункции — универсального неспецифического патофизиологического феномена, лежащего в основе патогенеза широкого спектра нозологий сердечно-сосудистого континуума.

Клинико-прогностическая значимость уровней липополисахаридсвязывающего протеина и лактата в крови пациентов с политравмой

И. М. Устьянцева, О. И. Хохлова, О. В. Петухова, Ю. А. Жевлакова

ГАУЗ КО «Областной клинический центр охраны здоровья шахтеров», г. Ленинск-Кузнецкий

Clinical and prognostic significance of lipopolysaccharide-binding protein and lactate levels in blood samples of patients with polytrauma

I. M. Ustyantseva, O. I. Khokhova, O. V. Petukhova, Y. A. Zhevlakova
Regional Clinical Center for Miners' Health Protection, Leninsk-Kuznetsk

Цель исследования. Оценить клиническую и прогностическую значимость уровней липополисахаридсвязывающего протеина (ЛПС–СП) и лактата в крови пациентов с политравмой в критическом состоянии.

Материал и методы. Проведен анализ результатов обследования пострадавших с политравмой в критическом состоянии, которые ретроспективно были классифицированы в соответствии с критериями ACCP/SCCM (1992 г.): SIRS (n = 18), локальная инфекция (n = 36), сепсис (n = 27), тяжелый сепсис (n = 12) и септический шок (n = 6). Случай считали инфекцией при установлении источника инфекции и его микробиологическом подтверждении. Содержание ЛПС–СП в сыворотке крови определяли на иммунохемилюминесцентном анализаторе IMMULITE ONE (США), лактата в цельной венозной крови на анализаторе Roche Omni S (Германия).

Результаты. Ранее установлено, что у пострадавших с политравмой в критическом состоянии с первых суток отмечается гиперпродукция ЛПС–СП, выраженность которой соответствует тяжести развивающегося «синдрома сепсиса». Максимальное увеличение концентрации ЛПС–СП в сыворотке крови у пострадавших септических групп наблюдалось на 1–3-и и 5–7-е сутки после травмы, в то время как первые положительные результаты микробиологических исследований различных биоматериалов были получены лишь на 5–7-е сутки у 58% явно инфицированных пациентов. При исследовании лактата в крови пострадавших с политравмой при поступлении в стационар статистически значимых различий между группами не выявлено. В дальнейшем уровень лактата в крови пациентов групп SIRS и с локальной инфекцией снижался, в то время как в септических группах нарастал и достигал значений «лактат-ацидоза» (более 4,0 ммоль/л) у пациентов с септическим шоком. Полученные данные отражают выраженность тканевой гипоперфузии и тяжелых расстройств энергопродукции. При этом была установлена сильная прямая корреляционная связь между уровнями лактата и ЛПС–СП (коэффициент корреляции рангов Спирмена $\rho = 0,76$; $p < 0,001$), что свидетельствует о возможности использования данного теста для оценки тяжести синдрома системного воспалительного ответа у пациентов с политравмой.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования ЛПС–СП и лактата в качестве ранних маркеров гнойно-септических осложнений.

Цель, задачи и перспективы информатизации лабораторной службы (на примере многопрофильного центра)

И. М. Устьянцева, О. И. Хохлова

ГАУЗ КО «Областной клинический центр охраны здоровья шахтеров», г. Ленинск-Кузнецкий

Aim, issues and perspectives of informatization of laboratory service (in terms of multi-field centre)

I. M. Ustyantseva, O. I. Khokhova

Regional Clinical Centre for Miners' Health Protection, Leninsk-Kuznetsk, Russia

Наличие лабораторной информационной системы (ЛИС) в современной лаборатории — это актуальное требование сегодняшнего дня. Современная ЛИС должна соответствовать тенденциям развития программных средств автоматизированного лабораторного оборудования, высоких технологий, используемых в деятельности лаборатории, а также обеспечивать адекватное планирование, управление и контроль лабораторных процессов.

Отвечая потребностям времени, в ГАУЗ КО «ОК-ЦОЗШ» внедрен инновационный проект комплексной автоматизации клиничко-диагностической лаборатории с помощью программного комплекса — лабораторной информационной системы и системы оперативного управления лабораторией, который обеспечивает использование современных технологий штрих-кодовой идентификации образцов биоматериала, ввода данных с помощью оптических считывателей бланков с целью эффективной автоматизации процедур заказа и выполнения лабораторных исследований.

Реализация проекта позволила обеспечить: снижение себестоимости выполнения исследований за счет сокращения непроизводительных затрат и экономии рабочего времени персонала ЛПУ; сокращение времени выполнения исследований за счет оптимизации схемы движения образцов и контроля выполнения анализов; сокращение времени обращения к результатам исследований, хранящимся в базе данных комплекса, возможность их быстрого поиска и печати необходимых отчетов; существенное снижение числа преаналитических ошибок; сокращение времени выдачи результата клиницистам оперативных подразделений.

Таким образом, интеграция и автоматизация КДЛ с помощью ЛИС обеспечивают преемственность диагностического процесса и сокращают время обследования пациентов, повышают производительность и экономическую эффективность лаборатории. И как результат — повышение качества и эффективности работы всего ЛПУ. А прогресс в области телекоммуникационных технологий позволяет интегрировать ЛИС не только с медицинскими информационными системами ЛПУ, но и с Единой государственной информационной системой в сфере здравоохранения, обеспечивая преемственность в оказании медицинской помощи.

Роль вариабельности генов минеральной плотности костной ткани в развитии пролапса тазовых органов у женщин

М. Б. Хаджиева^{1,2}, С. В. Камоева³, Л. Е. Сальникова^{1,2}

¹ФГБУН «Институт общей генетики имени Н. И. Вавилова» Российской академии наук, г. Москва

²ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России, г. Москва

³ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

Variability of bone mineral density genes and pelvic organ prolapse development among women

M. B. Khadzhieva, S. V. Kamoeva, L. E. Salnikova

Institute for General Genetics n.a. N. I. Vavilov, Federal Research and Clinical Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology n.a. D. Rogachyov, Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov; Moscow, Russia

Пролапс тазовых органов (ПТО) — заболевание, характерное преимущественно для женщин постменопаузального возраста и представляющее собой смещение тазовых органов из их физиологического положения во влагалище или через влагалище наружу. Основной причиной развития ПТО является ослабление, перерастяжение или повреждение тканей связочного аппарата тазовых органов, спровоцированное старением и родами через естественные родовые пути, в особенности осложненных родовыми травмами, макросомией плода, оперативными вмешательствами и неоднократными родами.

Зарубежными коллегами доказана сопряженность ПТО с остеопорозом среди женщин постменопаузального возраста, что, по мнению исследователей, может быть обусловлено нарушением структуры соединительной ткани, в частности, нарушением метаболизма коллагена (PMID: 25325183). Ранее с использованием каталога PheWAS (Phenome-Wide Association Study), содержащего результаты полногеномных исследований пациентов-европеоидов с доступными электронными историями болезней, нами было выявлено, что генетические варианты, контролируемые по результатам полногеномных исследований в каталоге GWAS (Genome-Wide Association Studies) минеральную плотность костной ткани (МПКТ), ассоциированы с ПТО (PMID: 27126235).

Цель. Изучение роли вариабельности генов, контролируемых минеральную плотность костной ткани (по каталогу GWAS), в генезе пролапса тазовых органов посредством валидации на российской выборке связи полиморфных вариантов rs2016266 (*SP7*), rs10506701 (*LOC100507377*), rs1471403 (*MEPE*), rs11898505 (*SPTBN1*), rs2566755 (*WLS*), rs3130340 (*LOC101929163*), rs4870044 (*CCDC170*) с развитием ПТО.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 605 пациенток, проходивших лечение на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета РНИМУ имени Н. И. Пирогова. Основную группу составили 248 женщин с ПТО II–IV стадий по системе POP-Q (основная группа) и 357 без генитального пролапса (контрольная группа); средний возраст в группах 57,78 ±

8,77 и $55,99 \pm 10,44$ года соответственно. ДНК из цельной крови выделяли с помощью наборов Diatom DNA Prep 200 (Изоген, Россия). Генотипирование проводилось методом тетра-праймерной аллель-специфической ПЦР (наборы GenPak PCR Core, Изоген, Россия). Подбор праймеров выполнялся в программе Primer3web 4.0.0 (<http://primer3.ut.ee>) с последующей оптимизацией условий ПЦР. Оценка частот генотипов и их эффектов оценивалась методом логистического регрессионного анализа с помощью компьютерной программы SNPStats.

Результаты. Все изученные сайты, кроме rs1471403 (MEPE), находились в состоянии равновесия по Харди-Вайнбергу, в связи с чем данный вариант был исключен из статистической обработки результатов. В общей выборке с учетом клинических факторов риска (возраста, индекса массы тела, количества родов и наличия/отсутствия родовых травм) был выявлен протективный аллель rs4870044-T гена *CCDC170* (доминантная модель; $P = 0,025$, OR = 0,65, 95 % ДИ: 0,45–0,95), достоверно чаще встречающийся среди женщин без ПТО. Аналогичный эффект аллеля rs4870044-T также был зарегистрирован в группе с индексом массы тела (ИМТ) от 25 и выше (аддитивная модель; $P = 0,015$, OR = 0,64, 95 % ДИ: 0,45–0,92), в группе с недержанием мочи (доминантная модель; $P = 0,0028$, OR = 0,42, 95 % ДИ: 0,23–0,75) и неоднократными родами (доминантная модель; $P = 0,029$, OR = 0,56, 95 % ДИ: 0,34–0,95). Функция гена *CCDC170* (coiled-coil domain containing 170) не известна, однако по результатам GWAS, данный ген связан с развитием рака молочной железы и МПКТ. Пороговую значимость в общей выборке без учета клинических факторов риска показал протективный аллель rs2016266-G гена *SP7* (рецессивная модель; $P = 0,058$, OR = 0,54, 95 % ДИ: 0,28–1,04), зарегистрированный также в стартах с травмами мягких родовых путей (рецессивная модель; $P = 0,005$, OR = 0,20, 95 % ДИ: 0,06–0,68), цистоцеле (аддитивная модель; $P = 0,013$, OR = 0,65, 95 % ДИ: 0,46–0,92) и в группе с ИМТ от 25 и выше (рецессивная модель; $P = 0,036$, OR = 0,37, 95 % ДИ: 0,14–0,97). По данным каталога GWAS, сайт rs2016266-G гена *SP7* также является протективным в отношении низкой МПКТ. *Sp7* — транскрипционный фактор с доменами типа «цинковые пальцы», связывающийся с богатыми G/C-последовательностями, отвечает за дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток и остификацию костной ткани. По литературным данным, *SP7* связан с развитием несовершенного остеогенеза XII и IV типов. На мышинных преостеобластах показано, что взаимодействуя с G/C-богатыми проксимальными промоторными участками генов *Col1a2* (альфа-2 цепь коллагена I типа) и *Col5a1* (альфа-1 цепь коллагена V типа), *SP7* повышает уровень экспрессии данных генов (PMID: 25172663; PMID: 20888414). Таким образом, *SP7* может играть важную роль в развитии пролапса тазовых органов, опосредованно влияя на прочность поддерживающего аппарата за счет взаимодействия с проколлагенами различных типов.

Выводы. Вариабельность генов, отвечающих за МПКТ, в частности, *SP7* (rs2016266) и *CCDC170* (rs4870044), связана с развитием пролапса тазовых органов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 15–04–02378).

Ингибирование адгезии *Corynebacterium diphtheriae* к клеткам фарингеального эпителия HEp-2 при помощи иммуномодулятора полиоксидония

Г.Г. Харсеева, А.А. Алиева, Э.Л. Алутина, А.В. Лабушкина
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

Adhesion inhibition of *Corynebacterium diphtheriae* to epithelial cells laryngeal HEp-2 with immunomodulator polyoxidonium

G. G. Kharseeva, A. A. Alieva, E. L. Alutina, A. V. Labushkina
Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Цель. Изучение воздействия полиоксидония на адгезивность *C. diphtheriae* по отношению к клеткам карциномы фарингеального эпителия человека HEp-2.

Материалы и методы. Исследованы штаммы *C. diphtheriae gravis tox⁺* № 665, *C. diphtheriae gravis tox⁺* № 6765, *C. diphtheriae mitis tox⁺* № 269, *C. diphtheriae gravis tox⁺*, выделенный от больного с диагнозом «локализованная форма дифтерии»; *C. diphtheriae gravis* с «молчащим» *tox*-геном, выделенный при профилактическом осмотре населения. Адгезивность коринебактерий исследовали на культуре клеток карциномы фарингеального эпителия HEp-2 в течение 2, 8, 18 часов.

Результаты. Воздействие ПО в концентрации 300 мкг/мл в течение 2 часов не влияло на адгезивность коринебактерий, через 8 часов их адгезивность снижалась в десятки, через 18 часов — в сотни раз. В концентрации 600 мкг/мл ПО снижал адгезивные свойства коринебактерий в сотни (8 часов) и тысячи (18 часов) раз. В дозе 1200 мкг/мл под влиянием ПО адгезивность всех исследованных штаммов коринебактерий блокировалась полностью.

Обсуждение. Способность ПО блокировать адгезию возбудителя дифтерии на клетках фарингеального эпителия в низких, по сравнению с терапевтическими, дозах обусловлена его химической структурой и высокой адсорбционной активностью. Пролонгированное (18-часовое) воздействие ПО более эффективно, чем кратковременное (2- и 8-часовое), что необходимо учитывать при возможном назначении этого препарата для лечения и профилактики дифтерии.

Заключение. ПО эффективно блокирует адгезию коринебактерий на клетках фарингеального эпителия, что позволяет рассматривать его как препарат для лечения и неспецифической профилактики дифтерии.

Состояние иммунитета к дифтерии жителей Ростовской области на современном этапе

Г.Г. Харсеева, А.М. Рябова, Э.Л. Алутина
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

Condition of immunity to diphtheria among residents of Rostov Region at present

G. G. Kharseeva, A. M. Ryabova, E. L. Alutina
Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Цель работы — оценка показателей напряженности противодифтерийного антитоксического иммунитета жителей Ростовской области.

Материалы и методы. В 2016 году были обследованы 903 человека: 300 детей (3–4 лет), 300 подростков (16–17 лет), 303 взрослых (18 лет и старше). Уровень противодифтерийных антитоксических антител определяли с помощью реакции пассивной гемагглютинации с эритроцитарным диагностикумом ОАО «Биомед имени И. И. Мечникова» (г. Москва).

Результаты. Полученные данные при изучении напряженности противодифтерийного антитоксического иммунитета у населения свидетельствовали о высоком уровне защиты против дифтерийной инфекции. Так, доля серопозитивных к дифтерии лиц в исследованный период составила $96,2 \pm 0,6\%$ (869 человек). Низкий уровень напряженности противодифтерийного антитоксического иммунитета был обусловлен в основном удельным весом лиц возрастных категорий с низкими титрами антитоксинов среди детей ($2,7 \pm 0,9\%$) и взрослых ($7,5 \pm 1,5\%$). Полученные данные коррелировали и со значениями СГТ противодифтерийных антитоксических антител среди данных возрастных групп (1: 562,3 и 1: 407,4 соответственно). Высокие титры антител (1: 320 и выше) обнаруживали чаще у подростков (16–17 лет) по сравнению с другими возрастными категориями ($91,7 \pm 1,6\%$), что соответствовало значению СГТ противодифтерийных антитоксинов — 1: 1333,5.

Выводы. Учитывая, что в соответствии с СП «Профилактика дифтерии» число защищенных против дифтерии не должно быть ниже 90%, полученные данные свидетельствуют о высоком уровне напряженности противодифтерийного иммунитета у населения Ростовской области. Группами риска развития дифтерийной инфекции по-прежнему остаются дети и взрослые.

Молекулярные маркеры контроля болевого синдрома при терапии больных остеоартрозом

Е. В. Четина, Г. А. Маркова, Е. А. Таскина, Е. П. Шарапова, Н. Г. Кашеварова, Л. И. Алексеева, С. А. Макаров

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В. А. Насоновой», г. Москва

Molecular markers of pain control associated with therapy of osteoarthritis patients

E. V. Chetina, G. A. Markova, E. A. Taskina, E. P. Sharapova, N. G. Kashevarova, L. I. Alekseeva, S. A. Makarov
Scientific and Research Institute for Rheumatology n.a. V. A. Nasonova, Moscow, Russia

Остеоартроз (ОА) является распространенным заболеванием соединительной ткани, сопровождающимся разрушением суставного хряща и болью — основным клиническим симптомом, ограничивающим трудоспособность. На молекулярном уровне болевой синдром при ОА тесно связан с нарушениями функционирования сигнальных путей, регулируемых mTOR (mammalian target of rapamycin) — главного регулятора центральной и периферической чувствительности к боли.

Цель исследования. Изучение механизмов, определяющих уровень боли на основании анализа профилей экспрессии генов, участвующих в деструкции суставного хряща, воспалении, а также факторов роста в крови больных ОА с разными уровнями экспрессии гена mTOR и на разных стадиях заболевания.

Материалы и методы. Работа проведена на образцах периферической крови 47 амбулаторных больных ОА ($60,0 \pm 7,1$ года) и 27 здоровых людей в контроле ($58,6 \pm 8,3$ года). Состояние больных оценивали на основании показаний клинических, рентгенологических, ультразвукового и денситометрического методов. Уровни боли оценивали по визуальной аналоговой шкале (ВАШ). При расчете индекса WOMAC учитывали боль при спуске, подъеме, в начале движения, в покое, при ходьбе, стоя и ночью. Общую РНК выделяли из крови и после обратной транскрипции использовали для определения уровня экспрессии генов в полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты и обсуждение. У больных ОА с низкой экспрессией (НЭ) гена mTOR отмечалась значительно более сильная боль при ходьбе и стоя по сравнению с больными ОА с высокой экспрессией (ВЭ) гена mTOR. При этом в подгруппе больных ОА с низкой экспрессией гена mTOR экспрессия катепсина К и тканевого ингибитора металлопротеиназ (TIMP)1 не превышала экспрессию этих генов у здоровых людей. Напротив, экспрессия металлопротеиназы-9 (MMP) оказалась значительно ($p < 0,05$) выше контроля. В случае больных с высокой экспрессией гена mTOR экспрессия протеаз и TIMP1 значительно ($p < 0,05$) повышена.

Экспрессия провоспалительного цитокина интерлейкина (IL)-1 β и циклооксигеназы-2 (COX) также незначительно отличалась от нормы в подгруппе больных с НЭ гена mTOR, а у амбулаторных больных с ВЭ гена mTOR экспрессия COX2 значительно превышала норму. Экспрессия трансформирующего фактора роста (TGF) β 1 и сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) в подгруппе больных с НЭ гена mTOR не превышала норму, а у амбулаторных больных с ВЭ гена mTOR экспрессия данных факторов роста значительно превышала его уровни у здоровых лиц.

Выводы. Разные уровни болевого синдрома у больных ОА, различающихся по экспрессии гена mTOR, могут быть связаны с соотношением экспрессии генов MMP9 и TIMP1. Кроме того, боль может зависеть от метаболических процессов, регулируемых геном mTOR, избыточная или недостаточная активность которого связана с усилением боли. Напротив, активация процессов, связанных с регенерацией тканей, обусловленная экспрессией TGF β 1 и VEGF, может способствовать уменьшению боли.

Работа осуществлена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 12–04–00038а).

Иммунофенотипическая характеристика субклона циркулирующих опухолевых плазматических клеток у больных с плазмодисплазией при множественной миеломе

Ю. Ю. Чуксина, К. А. Белоусов, Т. А. Митина, А. К. Голеньков

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М. Ф. Владимирского», г. Москва

Immunophenotypic characterization of subclone circulating neoplastic plasma cells in patients with plasmacytoma and multiple myeloma

Yu. Yu. Chuksina, K. A. Belousov, T. A. Mitina, A. K. Golenkov

Moscow Regional Research Clinical Institute n.a. M. F. Vladimirovsky, Moscow, Russia

Введение. Изменение парадигмы лечения множественной миеломы (ММ) и появление новых таргетных препаратов на основе моноклональных антител (к CD 20, CD 38, CD 138 и др.) диктует необходимость подробного изучения иммунофенотипических особенностей не только клональных плазматических клеток костного мозга (ПК ММ), но и субклона циркулирующих опухолевых клеток множественной миеломы (ЦОК ММ) для более полного понимания патогенетических аспектов течения заболевания и индивидуализации терапии.

Цель исследования. Изучение иммунофенотипического профиля опухолевых плазматических клеток костного мозга (КМ) и периферической крови (ПК) (ЦОК ММ) у больных ММ с наличием плазмодисплазии различных локализаций.

Материалы и методы. Параллельное иммунофенотипическое исследование проб костного мозга и ПК проведено 56 пациентам ММ методом четырехцветной лазерной проточной цитометрии (двухлазерный проточный цитофлуориметр FACSCalibur [Becton Dickinson, США]) с использованием программного обеспечения CellQuest.

У 16 пациентов ММ были выявлены плазмодисплазии различных локализаций: грудной стенки, угла нижней челюсти, костей черепа, грудного и поясничного отделов позвоночника, грудной железы, яичек, орбиты. Семь пациентов имели впервые диагностированную ММ, девять пациентов были выявлены ранее и оказались резистентны к предшествующим режимам терапии. Возраст пациентов варьировал от 30 до 80 лет. 100% пациентов имели III стадию заболевания. Протеинурия Бенс-Джонса выявлена у 58% больных. Деструкция костной системы, переломы — у 32% пациентов. Миеломная нефропатия — у 16% больных.

Выделение опухолевых ПК проводилось из гейта CD38⁺bright/SSC и CD38⁺bright/CD138⁺, в анализ включались не менее 500000 событий. Содержание опухолевых ПК (CD38⁺bright) в костном мозге и периферической крови оценивалось в пересчете на количество ядросодержащих клеток.

Определялась экспрессия CD45, CD56, CD19, CD20, CD79b, CD81, CD11c, CD33, CD28, CD27, CD117. Выбор исследуемых антигенов в гейте плазматических клеток определялся их известной патогенетической ролью: так, адгезия ПК ММ к внеклеточному матриксу костного мозга с помощью адгезивных молекул (CD11c, CD56, CD138, CD33) локализует опухолевые клетки в костномозговом окружении.

Синдекан-1 (CD138) регулирует рост и выживаемость опухолевых клеток, адгезия миеломных клеток через син-

декан-1 к коллагену активирует матриксную металлопротеиназу-1, способствуя резорбции костей и инвазии опухоли.

Критерием позитивности считали наличие экспрессии антигена на поверхности более чем 20% опухолевых клеток. Оценка интенсивности экспрессии антигенов проводилась по параметру средней интенсивности флуоресценции Mean Fluorescence Intensity (MFI), выраженной в условных единицах (у.е.).

Результаты. У всей исследуемой группы пациентов была выявлена наиболее высокая частота встречаемости позитивных (т.е. более 20%) клеток по экспрессии молекул CD56, CD11c, CD27, CD81 в гейте опухолевых ПК как костного мозга, так и периферической крови, что может свидетельствовать об интенсивном выходе в циркуляцию опухолевых плазматических клеток с повышенной экспрессией молекул интегрина и высокой пролиферативной активностью. В отличие от клональных плазматических клеток КМ, ЦОК ММ у данных пациентов характеризовались достоверно сниженной ($p = 0,00048$) экспрессией молекул синдекана-1 (CD138⁺), достоверно большим числом ($p = 0,050$) CD138-негативных ПК.

У первых выявленных пациентов ММ с наличием плазмодисплазии содержание CD38⁺bright/CD138⁺ ПК составило $3,7 \pm 1,9\%$ от всех ЯСК в костном мозге и $1,5 \pm 0,9\%$ в ПК. Иммунофенотипический профиль ЦОК ММ у данных пациентов характеризовался достоверным ($p = 0,0139$) снижением экспрессии молекулы синдекана-1 (CD138⁺), увеличением числа ПК, экспрессирующих CD33 ($p = 0,0264$) и статистически значимым ($p = 0,0022$) снижением экспрессии CD28 по сравнению с опухолевыми клетками костного мозга.

Иммунофенотипический профиль ЦОК ММ у предлеченных и (или) резистентных пациентов с ММ и плазмодисплазией характеризовался достоверным снижением ($p = 0,0003$) экспрессии молекулы синдекана-1 (CD138⁺), увеличением ($p = 0,0004$) содержания популяции CD38⁺/CD138⁺-ПК, значительно сниженным уровнем экспрессии CD56 ($p = 0,0385$) и увеличением уровня экспрессии CD28 ($p = 0,0249$) по сравнению с опухолевыми клетками костного мозга.

Выявлена гетерогенная экспрессия панлейкоцитарного антигена CD45 на ПК костного мозга: часть пациентов демонстрировали отсутствие / слабую экспрессию, часть пациентов — позитивную экспрессию данного маркера. Плотность молекулы CD45 на поверхности ПК свидетельствует о разной степени зрелости данной популяции. Нами обнаружено преобладание негативной / слабой экспрессии CD45 (neg/dim) на ПК КМ и преобладание позитивной яркой (bright) экспрессии данного маркера на ЦОК ММ, что было характерно как для первичных, так и для предлеченных/резистентных пациентов ММ с наличием плазмодисплазии.

Этот факт свидетельствует о том, что в циркуляцию из костного мозга выходят менее «зрелые» опухолевые плазматические клетки.

Не было выявлено достоверных различий в экспрессии других маркеров, связанных с созреванием, таких как CD19, CD20, CD27 и CD79b.

Уровень экспрессии тетраспонина (CD81), который ассоциируется с повышением индекса пролиферации при ММ (Paiva B., Perez-Andres M., Vidriales M. B. et al., Leukemia, 2011) был одинаково высоким как на ПК КМ, так и на ЦОК ММ у впервые выявленных и резистентных пациентов.

Позитивная экспрессия рецептора фактора стволовых клеток CD 117 отмечалась в двух наблюдениях: в дебюте на ПК КМ у пациентки с плазмоцитомой угла нижней челюсти, у которой в процессе терапии зафиксировано прогрессирование заболевания в виде локального роста опухоли (увеличения плазмоцитомы), а также у одного пациента при развитии рецидива ММ в виде появления плазмоцитомы. На ЦОК ММ позитивная экспрессия CD 117 отмечалась в пяти случаях.

Выводы. Новые подходы к изучению особенностей течения ММ с наличием плазмоцитом позволили показать, что ЦОК ММ имеют уникальный иммунофенотипический профиль экспрессии белков. Субклон ЦОК ММ имеет менее «зрелый» фенотип, характеризующийся более низким уровнем экспрессии синдекана-1 (CD 138), более яркой экспрессией CD 45, снижением экспрессии молекул адгезии CD 56, что повышает их способность выходить в периферическую кровь и вызывать экстрамедуллярные поражения.

Особенности изменения С-реактивного белка в крови при сепсисе у детей с ожогами

Н. П. Шень¹, Д. В. Сучков², С. Н. Суплотов¹, С. Ю. Мухачева¹

¹ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Тюмень

²ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница № 2», г. Тюмень

Peculiarities of C-reactive protein changes in blood in sepsis in children with burns

N. P. Shen, D. V. Suchkov, S. N. Suplotov, S. Yu. Mukhacheva

Tyumen State Medical University, Regional Clinical Hospital No. 2; Tyumen, Russia

Целью исследования являлось выявление особенностей изменения С-реактивного белка (СРБ) в крови при сепсисе у детей с ожогами.

Материал и методы. Было изучено течение ожоговой болезни у 78 детей в возрасте $4,55 \pm 1,1$ года, находившихся в отделении реанимации Областной клинической больницы № 2 г. Тюмени. Средняя площадь ожогового поражения кожных покровов у детей составляла $26,5 \pm 1,6\%$, у 34 больных проводилась искусственная вентиляция легких, средний койко-день в реанимационном отделении составил $11,6 \pm 1,5$ суток.

Результаты исследования показали, что у пострадавших уровень СРБ изменялся на протяжении всего реанимационного этапа. Так, в первые сутки лечения у всех пациентов его содержание в крови составляло менее 6 мг/л, к пятым — $46,4 \pm 2,3$ мг/л, на 6–7-е сутки отмечался максимальный уровень СРБ — $62,6 \pm 3,1$ мг/л. В случаях формирования септического состояния концентрация СРБ изменялась в зависимости от вида микроорганизма, вызвавшего сепсис. Так, при сепсисе, обусловленном инфицированием *Staphylococcus aureus*, показатели СРБ были максимальными (до 180 мг/л), а при инфицировании *Pseudomonas aeruginosae* — существенно ниже (в среднем $96,6 \pm 2,8$ мг/л). Следует отметить, что у 19,5% ожоговых больных такая особенность не была выявлена, что может быть обусловлено индивидуальными свойствами иммунологической реактивности организма детей.

Вспомогательными методами верификации генерализации инфекционного процесса было определение уровня лейкоцитов в периферической крови, оценка активности гамма-глутамилтранспептидазы, тяжести и интенсивности синдрома полиорганной дисфункции. Следует отметить, что при грамположительном сепсисе коэффициент корреляции количества лейкоцитов с длительностью искусственной вентиляции легких и проводимым лечением был положительным, а при грамотрицательном — отрицательным.

Заключение. Таким образом, исследование содержания СРБ в крови у детей с ожогами показало наличие зависимости его уровня от вида инфекции, вызвавшей сепсис. Концентрация СРБ при инфицировании *Staphylococcus aureus* у детей с ожогами является максимальной, тогда как при сепсисе, вызванном *Pseudomonas aeruginosae*, наблюдается более низкий уровень исследуемого белка. Данный факт, несомненно, требует дальнейшего изучения в аспекте оценки активности защитных иммунных механизмов у детей, имеющих ожоговую травму.

Инфекция, вызванная вирусом простого герпеса человека I типа, у больных туберкулезом органов дыхания

А. М. Шибанов, В. А. Стаханов, Н. В. Каражас, Т. Н. Рыбалкина
ГБУЗ г. Москвы «Туберкулезная клиническая больница № 3 имени профессора Г. А. Захарьина» Департамента здравоохранения г. Москвы

Кафедра фтизиатрии ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, г. Москва

Human herpes simplex type 1 infection in lungs of tuberculosis patients

A. M. Shibanov, V. A. Stakhanov, N. V. Karazhas, T. N. Rybalkina
Tubercular Clinical Hospital No. 3, Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov, Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology n.a. honorary academician N. F. Gamalei; Moscow, Russia

Введение. В патогенезе туберкулеза легких важную роль играет состояние иммунной системы организма. Герпесвирусы, в частности, вирус простого герпеса I типа (ВПГ-1), распространены повсеместно. Инфицированность герпесвирусами взрослого населения достигает 95% и может быть показателем степени тяжести иммунодефицита. У пациентов с иммуносупрессией ВПГ-1 может, являясь возбудителем-оппортунистом, вносить вклад в течение основного заболевания, приводя к формированию специфического воспалительного процесса и прогрессированию основного заболевания.

Цель работы. Оценить распространенности возможный вклад в течение основного заболевания инфекции, вызванной ВПГ-I у пациентов с активным распространенным туберкулезом легких.

Материалы и методы. В период с 2005-го по 2015 год проведено обследование 232 пациентов с распространенными деструктивными формами туберкулеза органов дыхания, находящихся на лечении в туберкулезном стационаре. В дополнение к стандартному обследованию с целью

выявления возможных факторов острого прогрессирования и распространенности туберкулезного процесса всем пациентам проводилось определение в сыворотке крови антител классов IgM и IgG к ВПГ-1 методом иммуноферментного анализа, а также клетки крови исследовали на наличие ВПГ-1 и его антигенов методом непрямой реакции иммунофлюоресценции. Для выявления репродукции вируса применяли быстрый культуральный метод (БКМ).

Результаты. При анализе полученных в результате обследования данные пациенты, прошедшие обследование, были разделены на две группы: первую группу составили 142 пациента с распространенным туберкулезом органов дыхания с коинфекцией ВИЧ. ВИЧ-инфекция у всех пациентов данной группы соответствовала стадиям 4Б и 4В заболевания. Медиана возраста пациентов, вошедших в группу, составила 31,1 года (верхний и нижний квартили 27,9–34,9). Среди обследованных в первой группе пациентов большинство составили лица мужского пола — 115 человек (81%). При анализе исходов в группе пациентов с туберкулезом органов дыхания и коинфекцией ВИЧ умерли 39 человек — смертность составила 27,5%. Во вторую группу наблюдения были включены 90 пациентов с распространенным деструктивным туберкулезом органов дыхания без ВИЧ-инфекции. Медиана возраста в данной группе составила 44,2 года (верхний и нижний квартили 33,8–58,9). Во второй группе также преобладали лица мужского пола — 81 человек (90%). Смертность во второй группе составила 13,3% (12 человек). В обеих группах у большинства пациентов форма туберкулезного процесса была расценена как диссеминированная. При анализе результатов иммунологической диагностики ВПГ-инфекции предположение об активности вирусной инфекции делалось на основании ранее разработанного алгоритма: основными показателями активной ВПГ-1 инфекции являлись присутствие антител острой фазы иммунного ответа — специфических IgM, диагностически значимых концентраций специфических IgG в сочетании с обнаружением антигенов вируса и репродукции вируса в культуре клеток. При наличии изолированного диагностически значимого повышения сывороточной концентрации IgG делалось предположение о наличии хронической (латентной) герпетической инфекции, вызванной ВПГ-1. В результате проведенного анализа иммунологические маркеры ВПГ-инфекции были выявлены у 226 из 232 пациентов — распространенность вируса простого герпеса I типа составила 97,4%. Активная ВПГ-инфекция была выявлена у 107 пациентов: у 70 пациентов в первой группе и у 37 пациентов во второй (49,3 и 41,1% соответственно). Несмотря на большую частоту встречаемости активной ВПГ-инфекции в первой группе, различия между группами недостоверны ($p > 0,05$; ОШ = 1,35; 95% ДИ = 0,89–1,62 по методу Фишера), что может говорить об отсутствии значимости ко-инфекции ВИЧ как фактора риска развития активной ВПГ-инфекции. Признаки латентной герпетической инфекции были выявлены у 103 пациентов — 53 пациентов в первой группе и 50 пациентов во второй (37,3 и 55,6% соответственно). При этом необходимо отметить, что частота выявления латентной ВПГ-инфекции оказалась достоверно выше ($p < 0,05$; ОШ = 0,48; 95% ДИ 0,27–0,84) в группе пациентов без коинфекции ВИЧ. При дальнейшем анализе пациентов с активной герпесвирусной

инфекцией было выявлено: в группе пациентов с коинфекцией туберкулеза ВИЧ и ВПГ-1 наиболее часто встречались пациенты с диссеминированной формой туберкулеза легких — 41 пациент (58,6%), тогда как в группе пациентов без ВИЧ-инфекции преобладали больные с диссеминированной и фиброзно-кавернозной формами туберкулеза легких (по 14 пациентов — 37,8%). Множественная лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза (МЛУ МБТ) была выявлена у 22 пациентов с коинфекцией туберкулеза: ВИЧ и ВПГ — 31,4% и у 20 пациентов (54,1%) без ВИЧ-инфекции. Частота выявления МЛУ МБТ была достоверно выше среди пациентов с активной ВПГ-1 без ВИЧ-инфекции ($p < 0,05$; ОШ = 0,39; 95% ДИ = 0,16–0,96). Всего среди всех пациентов с активной ВПГ-инфекцией умерли 19 пациентов, из них 15 с коинфекцией ВИЧ и 4 — в группе пациентов без ВИЧ-инфекции, смертность в группах составила 21,4 и 10,8% соответственно. Несмотря на отсутствие достоверных различий в уровне смертности в группах ($p = 0,132$), необходимо отметить высокую летальность в группе пациентов с коинфекцией туберкулеза: ВИЧ и ВПГ-1.

Выводы. 1. Распространенность инфекции, вызванной ВПГ-1, высока как у пациентов с туберкулезом легких в сочетании с ВИЧ-инфекцией, так и без коинфекции ВИЧ и достигает 49,3% для активной инфекции. 2. Частота встречаемости латентной ВПГ-инфекции, а, возможно, и риск реактивации герпетической инфекции, достоверно выше у пациентов без коинфекции ВИЧ (55,6 и 37,3% соответственно). 3. Активная ВПГ-инфекция распространена у больных с хроническими формами туберкулеза легких и можно предположить, что больные с фиброзно-кавернозной формой туберкулеза легких представляют собой группу риска по инфекции, вызываемой вирусом простого герпеса I типа. 4. Сочетание ВИЧ-инфекции, распространенного туберкулеза легких и ВПГ-1 может быть фактором риска неблагоприятного исхода течения сочетанного инфекционного заболевания.

Влияние плотности эритроцитов на частоту геморрагических эпизодов у больных гемофилией

Е. С. Шурхина, М. Д. Санатко, Е. П. Феоктистова, Н. И. Зозуля, В. Н. Двирный

ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Москва

Effect of erythrocyte density on hemorrhagic episode frequency in hemophilia patients

E. S. Shurkhina, M. D. Sanatko, E. P. Feoktistova, N. I. Zozulya, V. N. Dvirnyk
Research Centre for Hematology, Moscow, Russia

Цель. Известно, что эритроциты влияют на гемостаз. Они влияют на скорость движения тромбоцитов к поврежденному участку сосуда, меняют ультраструктуру и механические свойства фибринового сгустка, влияют на его стабильность, способность закупоривать сосуд. Ранее мы показали (Шурхина Е. С. и соавт., 2016), что увеличение плотности эритроцитов является фактором риска увеличенной интраоперационной кровопотери во время эндопротезирования коленного сустава у пациентов с гемо-

филий. Целью настоящего исследования является оценка влияния плотности эритроцитов на частоту возникновения геморрагических эпизодов у больных гемофилией.

Материалы и методы. Для регистрации кровотечений и учета введения гемостатических препаратов использовался специальный дневник, который предлагался всем пациентам, участвующим в настоящем исследовании. Кровь для исследований бралась из локтевой вены. В качестве антикоагулянта использовался гепарин. Распределение эритроцитов по плотности исследовали с помощью фталатного метода Данон-Мариковского. Метод заключается в гравитационном разделении эритроцитов по плотности с помощью смесей диметил- и дибутилфталатов известной плотности. Находили среднюю плотность эритроцитов. В норме при комнатной температуре средняя плотность эритроцитов 1,092–1,094 г/мл. Для обработки полученных результатов использовали пакет программ MicroCAL Origin.

Результаты. Распределение эритроцитов по плотности было исследовано у 33 больных с гемофилией в возрасте 18–59 лет (средний возраст 29 лет), из них 29 больных с тяжелой формой гемофилии А и 4 больных с тяжелой формой гемофилии В. У пациентов с гемофилией А гематокрит менялся от 34 до 54% (медиана 43%). Влияние возраста и гематокрита на частоту возникновения геморрагических эпизодов выявлено не было. По результатам исследования распределения эритроцитов по плотности больные с гемофилией А были разделены на три группы: В 1-й группе средняя плотность эритроцитов составляла $1,090 \pm 0,001$ г/мл ($n = 6$), количество кровотечений в год $13,7 \pm 7,7$. При отсутствии наследственных патологий эритроцитов снижение средней плотности эритроцитов наблюдается при ретикулоцитозе, при дефиците железа, при эритроцитозе. Во 2-й группе средняя плотность эритроцитов была в пределах нормы ($1,093 \pm 0,001$ г/мл, $n = 18$). Количество кровотечений в год было выше, чем в 1-й группе — $24,1 \pm 9,1$. В 3-й группе средняя плотность эритроцитов была выше нормы ($1,095 \pm 0,001$ г/мл, $n = 5$), количество кровотечений в год $42,4 \pm 5,2$. При гемофилии В средняя плотность эритроцитов и количество кровотечений в год сопоставимы с результатами, полученными при обследовании пациентов с гемофилией А. Причиной увеличения плотности эритроцитов является дегидратация. Дегидратация эритроцитов наблюдается при повышении уровня внутриклеточного ионизированного кальция в ответ на внутри- или внеклеточные сигналы. Одним из последствий увеличения уровня внутриклеточного ионизированного кальция является открытие кальций-зависимых калиевых каналов (Гардос-каналов), приводящее к потере клеткой ионов K^+ и воды. К настоящему времени описаны много факторов, провоцирующих увеличение концентрации ионов Ca^{2+} в цитоплазме. Это проницаемые для ионов Ca^{2+} механочувствительные каналы, которые открываются при растяжении клеточной мембраны под действием сдвиговой деформации, активные формы кислорода, которые приводят к снижению активности СаАТФазы, выкачивающей из клетки ионы Ca^{2+} , некоторые цитокины, активация системы комплемента с образованием мембранных пор и т.д. Причиной увеличения плотности эритроцитов в обследованной нами группе пациентов могут быть воспалительный процесс, стресс, перегрузка организма железом, изменение микроциркуляции в поврежденных тканях.

Выводы. Впервые выявлена взаимосвязь между плотностью эритроцитов и частотой кровотечений у больных гемофилией. Чем выше плотность эритроцитов, тем больше геморрагических эпизодов было зарегистрировано у пациентов в течение года. То есть увеличение средней плотности эритроцитов является фактором риска увеличенного количества кровоизлияний у больных гемофилией. Увеличение плотности эритроцитов может быть индикатором патологических процессов, включающих влияние на гемостаз. Можно также предположить, что обладающие увеличенной плотностью эритроциты изменяют характер движения потока крови, что оказывает влияние на скорость адгезии тромбоцитов к поврежденному эндотелию.

Медицина 5 «П» — основа новой национальной системы здравоохранения

С. Н. Щербо, Д. С. Щербо

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

5P-medicine as basis of new National Health System

S. N. Shcherbo, D. S. Shcherbo

Russian National Research Medical University n.a. N.I. Pirogov, Moscow, Russia

Предложенный нами в 2015 году термин «медицина 5 „П“» отражает основные тенденции развития здравоохранения в мире: предиктивная, превентивная, партисипативная, персонализированная и прецизионная медицина. Возникновение указанного направления обусловлено необходимостью обеспечить безопасность и экономическую эффективность национальной системы здравоохранения, вместе с тем выдвигает необходимость модернизировать представления о роли отдельных медицинских дисциплин и их взаимодействии, взаимоотношению врача и пациента, внедрению технологий мобильного и цифрового здравоохранения, телемедицины. Медицина 5 «П» имеет глубокие исторические корни: она стала логичным итогом развития представлений о развитии медицины, современных молекулярно-биологических, информационных, нано- и лабораторных технологий, материаловедения. Вместе с тем имеют место происходящие в настоящее время генетическая и коммуникативная революции, окончание эры патерналистской медицины и более тесное взаимодействие врача и пациента, который обладает возможностью получать самую современную информацию о новых медицинских технологиях и лекарственных средствах. Указанные разделы медицины 5 «П» взаимосвязаны: предиктивная медицина, основанная на выявлении ранних лабораторных биомаркеров, использует опрос пациентов о наследственных предрасположенностях, который используется и в партисипативной медицине. Также основой персонализированной и прецизионной медицины являются индивидуальный анализ клинических биомаркеров и сбор медицинской информации.

Существенной модернизации требует в связи с указанным система медицинского образования. Современный научно-технологический уклад характеризуется тем, что будет происходить возникновение все новых общественных потребностей, и в течении жизни специалист с медицинским образованием может сменить несколько направлений

деятельности в области здравоохранения. По прогнозам специалистов Сколково, в начале нынешнего века в медицине могут возникнуть следующие профессии до 2020 года: клинический биоинформатик — в случае нестандартного течения заболевания строит компьютерную модель биохимических процессов, чтобы понять причину нарушений на клеточном и субклеточном уровнях для подбора средств лечения отдельных пациентов (профессия существует в западных странах уже не один год); генетический консультант — проводит первичный и плановый анализ в диагностических центрах, обрабатывает диагностические данные и дает рекомендации по дальнейшему лечению; ИТ медик — специалист с хорошим знанием информационных технологий, создание и управление базой физиологических знаний, программного обеспечения для лечебного и диагностического оборудования, управление Big Data; сетевой врач — высококвалифицированный диагност, владеющий информацией и коммуникационными технологиями и способный ставить диагноз в онлайн-режиме (массовая диспансеризация, обслуживание в центрах обработки данных персональных диагностических устройств и порталов здоровья); молекулярный диетолог — специалист, разрабатывающий индивидуальные схемы питания, основанные на данных о молекулярном составе пищевых продуктов с учетом результатов генетического анализа пациента. Еще большие изменения прогнозируются после 2020 года, появятся: эксперт персонализированной медицины, который проводит анализ генетической карты пациента, разрабатывает индивидуальные программы его сопровождения (диагностика, профилактика, лечение), прогноз предрасположенности к заболеваниям и подготовку персональной системы страхования; ИТ генетик — специалист, который занимается генотерапией (технология CRISPR) и оператор медицинских роботов — специалист по программированию диагностических, лечебных и хирургических роботов (типа Da Vinci).

Прецизионная медицина. Мобильное и цифровое здравоохранение

С. Н. Щербо¹, Д. С. Щербо¹, М. Ю. Кралин², В. А. Беспалова¹, М. И. Савина¹, Т. И. Туркина¹

¹ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва

Precision medicine. Mobile and digital healthcare

S. N. Shcherbo, D. S. Shcherbo, M. Yu. Kralin, V. A. Bespalova, M. I. Savina, T. I. Turkina

Russian National Research Medical University n.a. N.I. Pirogov, People's Friendship University of Russia; Moscow, Russia

Медицина «5П» будет иметь дело не только с болезнями, а с конкретными людьми, что является очень важным идеологическим переломом: анализ генома, других -омов, работа с массивом информации и электронными медицинскими картами или получение данных с датчиков в режиме 24 часа 7 дней в неделю. Развитие технологий измерения и анализа уже в ближайшем будущем может привести к тому, что традиционная диагностика и мониторинг здоровья, которые мы привычно ассоциируем с больницами и поликлиниками,

окажутся в руках самих пациентов. Мобильное здравоохранение (mHealth), активно используемое в прецизионной медицине, объединяет два параллельно развивающихся направления, которые в то же время оказывают значительное влияние друг на друга: технологии для лечения и ухода за больными и устройства для контроля здоровья человека. Основой мобильного здравоохранения несомненно могут стать устройства на основе интеграции диагностических приборов с мобильными телефонами. Четверть британских пользователей ни разу в неделю не эксплуатируют смартфон в режиме телефона, а приложения служат не только для развлечения или коммуникации, но и для просвещения, мониторинга здоровья, в том числе и диагностики. Одно из трех глобальных направлений в рамках цифровой медицины — это все то, что связано с биосенсорами, датчиками и гаджетами, позволяющими человеку контролировать состояние своего организма. Многочисленные гаджеты и сервисы меняют представление пациентов о принципах оказания медицинских услуг. Возник потребительский спрос, так как люди все более ответственно относятся к своему здоровью и ищут удобные способы его контролировать, что усиливается целенаправленной политикой многих государств на повышение здоровья нации, пропагандой правильного образа жизни, а главное, стремительным развитием новых технологий. Среди основных катализаторов — интернет и смартфоны. Интернет предоставил людям не доступную им ранее возможность обмениваться знаниями, уточнять диагноз и (или) искать эффективную терапию, не прибегая к помощи доктора. Возник спрос на медицинский контент и многочисленные сервисы, ориентированные на пациента (от электронной записи к врачу до дистанционной диагностики). Значение интернет-сообществ, объединяющих людей с одинаковыми проблемами со здоровьем (например, PatientsLikeMe), трудно переоценить. Всеобъемлющая медицинская информация о человеке будет доступной, анализируемой и передаваемой: от полученной с помощью датчиков, результатов ультразвукового и лабораторных исследований до геномного секвенирования. Многие терабайты данных человека за всю жизнь будут накапливаться в личном облачном хранилище.

Большой потенциал у гибридных систем на основе микрофлюидных (М) платформ и смартфонов (S) (платформы MS²) для диагностики заболеваний. Преимущества рассматриваемых приборов состоят в высокой скорости выполнения теста, низкой цене, мобильности и простоте в использовании, возможность применения в домашних условиях и небольших лабораториях. Микрофлюидные технологии в последнее время получили широкое развитие в различных областях науки, техники и медицины. Сначала микрофлюидные приборы производили из силикона (1988), стекла (1992) и полидиметилсилоксана (1998), затем и из термопластика и чиповой бумаги (2007). Указанные материалы в созданных микроканальцах под действием капиллярных сил обеспечивают движение растворов, реагентов и анализируемых клинических образцов. Микрофлюидные технологии оперируют микролитровыми объемами жидких реактивов и микрометровыми размерами каналов и реакторов. MS²-технологии нашли свое применение в охране окружающей среды: нитраты, тяжелые металлы, детекция патогенов (*E. coli*, *Salmonella*), в биомедицинских исследованиях и рутинных диагностических, например, иммунохроматографических тестах.



РОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ

11 -13 ОКТЯБРЯ | МОСКВА | ВДНХ | ПАВИЛЬОН 75

III Российский конгресс лабораторной медицины –
междисциплинарная площадка для общения
медицинского сообщества

www.congress.fedlab.ru

8000 СЛУШАТЕЛЕЙ

БОЛЕЕ 200 ДОКЛАДЧИКОВ
российских и иностранных

БОЛЕЕ 150 КОМПАНИЙ-УЧАСТНИКОВ –

ведущих российских и зарубежных производителей и поставщиков
лабораторного оборудования и расходных материалов

50 НАУЧНЫХ СЕКЦИЙ

КОНФЕРЕНЦИИ:

«День сепсиса»;
«Клиническая и санитарная микробиология»;
«Бактериофаги для дезинфекции»;
«Клиническая цитология»;
«Лабораторная диагностика в эндокринологии»;
«Гемостаз: вчера, сегодня, завтра»;
«Лабораторная служба в условиях реформирования».

ШКОЛА ПО ПРЕАНАЛИТИКЕ ДЛЯ СМП

II МЕЖДИСЦИПЛИНАРНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

«Аутоиммунные и иммунодефицитные заболевания»

III МЕЖДУНАРОДНАЯ ВЫСТАВКА «ЛАБОРАТОРНЫЙ ГОРОД»:

«Выставка достижений лабораторного хозяйства (ВДЛХ)»

ПОСТЕРНАЯ ЗОНА

ДЕНЬ КИТАЯ:

Секция «РОССИЯ – КИТАЙ:

обмен опытом организации лабораторного обследования»
и культурная программа «Китай – родина чая, цирка и пороха».

ПРЕМИЯ В ОБЛАСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ ИМ. В.В. МЕНЬШИКОВА

ГАЛЕРЕЯ ART LAB – специальные арт-зоны (музей, художественные выставки).

ФОТОВЫСТАВКА по номинациям: «Лабораторный город и его жители»,
«Китай глазами российских лабораторных работников», сэлфи.

МУЗЫКА И ИСКУССТВО – «Джаз в городе»

КОНКУРС ДЛЯ ЖУРНАЛИСТОВ «СПЕКТР»



ОРГКОМИТЕТ КОНГРЕССА

Тел.: +7 (499) 348-21-06, +7 (968) 086-95-53.

congress@fedlab.ru

www.congress.fedlab.ru



РОССИЙСКАЯ НЕДЕЛЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ RUSSIAN HEALTH CARE WEEK

4–8 декабря 2017



За здоровую жизнь

VIII Международный форум по профилактике
неинфекционных заболеваний и формированию
здорового образа жизни



Здравоохранение

27-я международная выставка
«Здравоохранение, медицинская техника
и лекарственные препараты»



Здоровый образ жизни

11-я международная выставка «Средства
реабилитации и профилактики, эстетическая
медицина, оздоровительные технологии
и товары для здорового образа жизни»



MedTravelExpo

Санатории. Курорты. Медицинские центры
1-я международная выставка медицинских
и оздоровительных услуг, технологий оздоровления
и лечения в России и за рубежом



www.rnz-expo.ru

www.zdravo-expo.ru

www.health-expo.ru

www.mte-expo.ru

Реклама 12+



Организаторы:

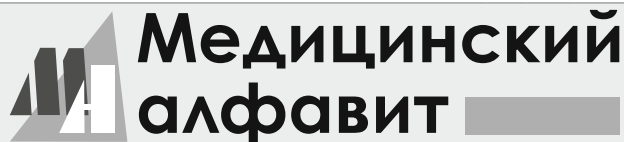
- Государственная Дума ФС РФ
- Министерство здравоохранения РФ
- АО «Экспоцентр»

При поддержке:

- Совета Федерации ФС РФ
- Министерства промышленности и торговли РФ
- Российской академии наук
- ТПП РФ
- Всемирной организации здравоохранения

 **ЭКСПОЦЕНТР**

БЛАНК-ЗАКАЗ на подписку на журнал 2017 год



Название организации (или Ф.И.О.) _____

Адрес (с почтовым индексом) _____

Телефон: _____ E-mail: _____ Контактное лицо: _____

- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Стоматология» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Современная лаборатория» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Эпидемиология и гигиена» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Больница — все для ЛПУ» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Неотложная медицина» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Диагностика и онкотерапия» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Современная поликлиника» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Кардиология» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Практическая гастроэнтерология» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Неврология и психиатрия» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Современная гинекология» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Современная функциональная диагностика» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Артериальная гипертензия» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)

Наш индекс в каталоге
«РОСПЕЧАТЬ» 36228

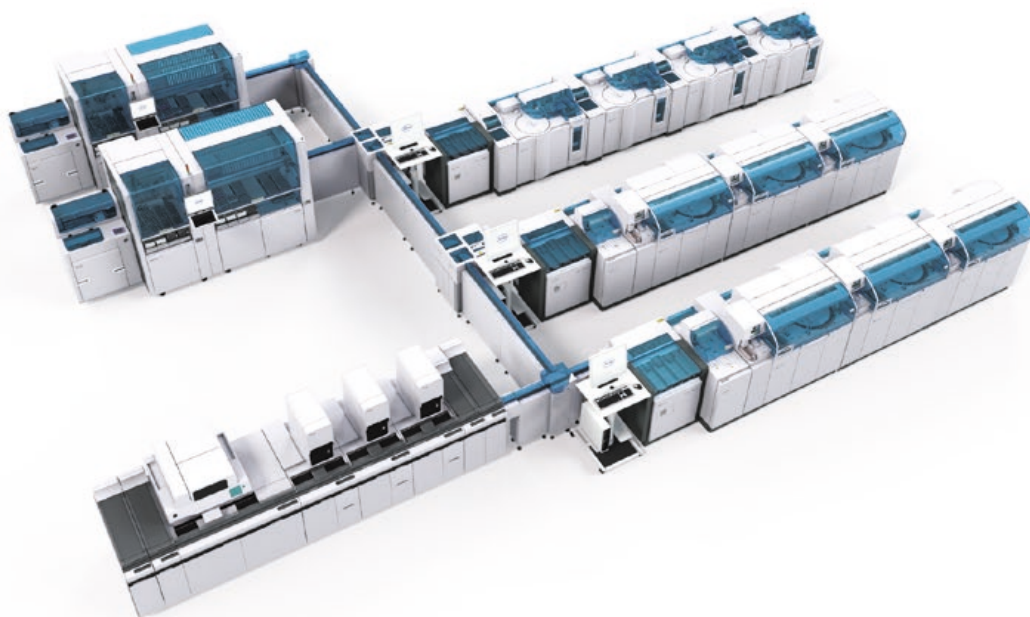
Извещение	ООО «Альфмед»
	(наименование получателя платежа) 7716213348
	(ИНН получателя платежа) Рс № 40702810738090108773
	(номер счета получателя платежа) ПАО «СБЕРБАНК РОССИИ» г. МОСКВА
Кассир	(наименование банка и банковские реквизиты) К/с 30101810400000000225 БИК 044525225
	Годовая подписка на журнал «Медицинский алфавит. _____» на 2017 год
	(наименование платежа) Дата _____ Сумма платежа _____
	Платательщик (подпись) _____ Адрес доставки: _____
Квитанция	ООО «Альфмед»
	(наименование получателя платежа) 7716213348
	(ИНН получателя платежа) Рс № 40702810738090108773
	(номер счета получателя платежа) ПАО «СБЕРБАНК РОССИИ» г. МОСКВА
Кассир	(наименование банка и банковские реквизиты) К/с 30101810400000000225 БИК 044525225
	Годовая подписка на журнал «Медицинский алфавит. _____» на 2017 год
	(наименование платежа) Дата _____ Сумма платежа _____
	Платательщик (подпись) _____ Адрес доставки: _____

Как подписаться

1. Заполнить прилагаемый бланк-заказ и квитанцию об оплате. 2. Оплатить квитанцию.
3. Отправить бланк-заказ и квитанцию (или их копии) по почте по адресу: 129344, Москва, ул. Верхоянская, д.18 к. 2; или по факсу: (495) 616-48-00, 221-76-48, или по e-mail: medalfavit@mail.ru

Модульные платформы cobas®

Концепция гибких и индивидуальных решений



Сегодня перед лабораториями стоит задача надежной и высококачественной аналитики и в то же время – обеспечения эффективного рабочего процесса. Для удовлетворения этих потребностей компания Рош разработала концепцию сывороточной рабочей зоны на основе модульной платформы **cobas**.

Сопоставимые результаты на всех системах благодаря единой реагентной концепции

Консолидация более чем 90% рутинных параметров

Благодаря модульной концепции системы легко наращиваются

Единая концепция реагентов значительно облегчает их логистику



МАТЕРИАЛ ПРЕДНАЗНАЧЕН ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ СПЕЦИАЛИСТОВ



COBAS и LIFE NEEDS ANSWERS являются товарными знаками компании Рош.
Россия, 115114, Москва, ул. Летниковская, д. 2, стр. 2,
Бизнес-центр «Вивальди Плаза»
Тел.: +7 495 229-69-99; факс: +7 495 229-62-64
www.rochediagnostics.ru

cobas®

Life needs answers

КОМПАНИЯ “БИОХИММАК”

ПЕРЕДОВЫЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ



КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- ИФА
- БИОХИМИЯ
- ГЕМОСТАЗ
- ГЕМАТОЛОГИЯ
- ИММУНОХИМИЯ
- МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА
- ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКА

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕТОДЫ

- ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ РАЗНЫХ ЗАДАЧ
- ГЕНЕТИКА
- ГЕНОМИКА
- HLA-ТИПИРОВАНИЕ
- КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

СЕРВИС

- ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ КОНСУЛЬТАЦИИ И ОБУЧЕНИЕ
- КОМПЛЕКСНЫЕ РЕШЕНИЯ В ОСНАЩЕНИИ ЛАБОРАТОРИЙ
- АВТОМАТИЗАЦИЯ И ЛИС
- ВВОД В ЭКСПЛУАТАЦИЮ И ОБСЛУЖИВАНИЕ ОБОРУДОВАНИЯ

КОАГУЛОМЕТРЫ ЭМКО



АПГ2-02 Двухканальный полуавтоматический анализатор показателей гемостаза.

АПГ2-02П Двухканальный полуавтоматический анализатор показателей гемостаза.
Встроенный принтер.

АПГ4-02П Четырехканальный полуавтоматический анализатор показателей гемостаза.
Встроенный принтер.

АПГ2-03П Двухканальный полуавтоматический анализатор показателей гемостаза.
Сенсорный экран, встроенный контроль качества (по приказу МЗ РФ №220), принтер.

АПГ2-03ПХ Двухканальный полуавтоматический анализатор показателей гемостаза.
Сенсорный экран, встроенный контроль качества (по приказу МЗ РФ №220), принтер,
возможность выполнения хромогенных тестов.

АПГ4-03П Четырехканальный полуавтоматический анализатор показателей гемостаза.
Сенсорный экран, встроенный контроль качества (по приказу МЗ РФ №220), принтер.

АПГ4-03ПХ Четырехканальный полуавтоматический анализатор показателей гемостаза.
Сенсорный экран, встроенный контроль качества (по приказу МЗ РФ №220), принтер,
возможность выполнения хромогенных тестов.

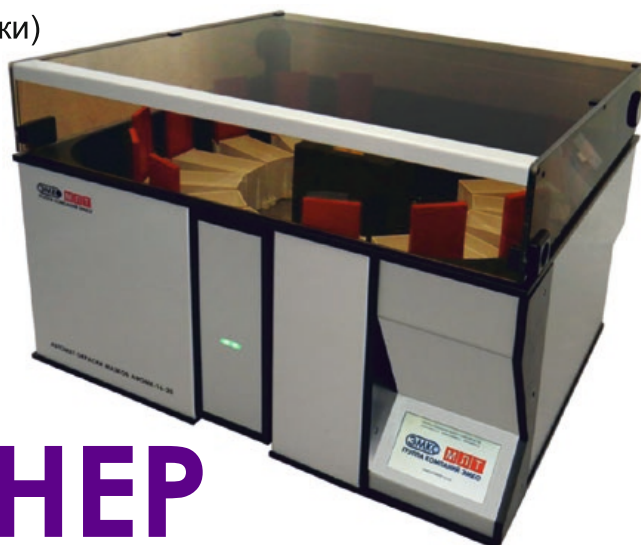


ГРУППА КОМПАНИЙ ЭМКО

129301, г. Москва, ул. Касаткина, д. 11, стр.1;
телефон/факс: +7 (495) 287-81-00, 287-84-00;
www.emco.ru, emco.sale@bk.ru, emco@bk.ru

АВТОМАТЫ ОКРАСКИ

- Открытая система (любые реагенты и методики)
- Высококачественная однотипная окраска
- Высокая производительность
- Реализация сложных методик (ПАП-тест, гистология)
- Безопасные условия труда
- Низкая себестоимость окраски
- Шесть приборов, 6-8-13-16 станций:
АФОМК-6, АФОМК8-Г-01, АФОМК8-В-01,
АФОМК-13-ПАП, АФОМК-16, АФОМК-16-25



ЭМКОСТЕЙНЕР

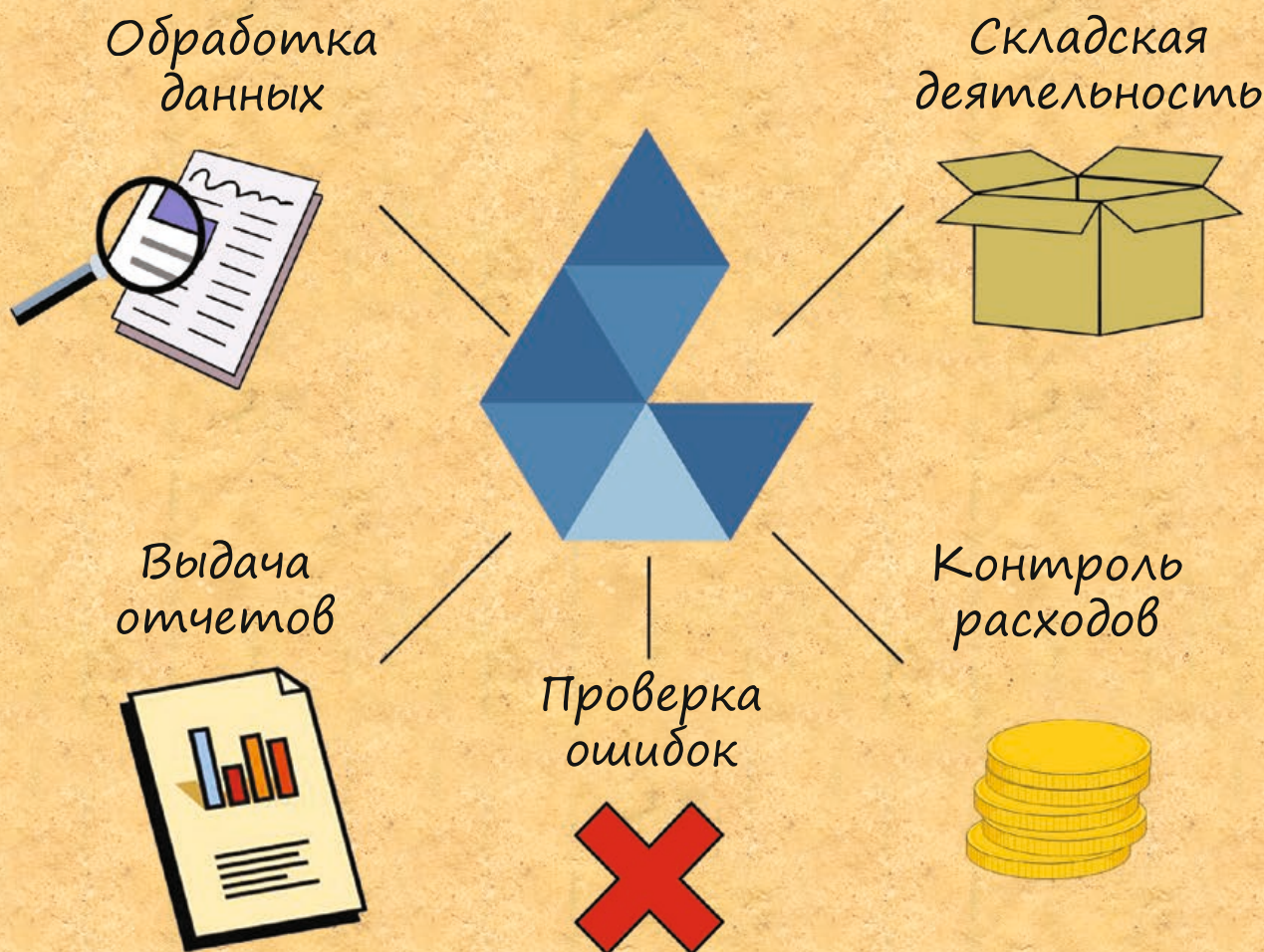
INNOVASYSTEM

ЛИМС – Лабораторная Информационная Медицинская Система

Вы берете материал



Мы берем на себя все остальное



121170, Москва, Кутузовский пр-т, д.36, стр.3, офис 102

info@innovasystem.pro

+7 (495) 984-96-74

innovasystem.pro