

Серии научно-практических рецензируемых журналов



Медицинский АЛФАВИТ № 30 / 2021



Modern
LABORATORY

MEDICAL ALPHABET
Russian Professional Medical Journal

Современная ЛАБОРАТОРИЯ (2)



- Фундаментальные основы лабораторной медицины
- Разработка, производство, технологии
- Лабораторное оборудование
- Реагенты
- Новые методы
- Практика
- Экспресс-диагностика
- Организация лабораторной службы
- Конгрессы и конференции

www.medalfavit.ru
www.med-alphabet.com

Новая высота ваших возможностей

Модульные платформы cobas®

Концепция гибких и индивидуальных решений

Высокая эффективность – консолидация более чем 90% рутинных параметров

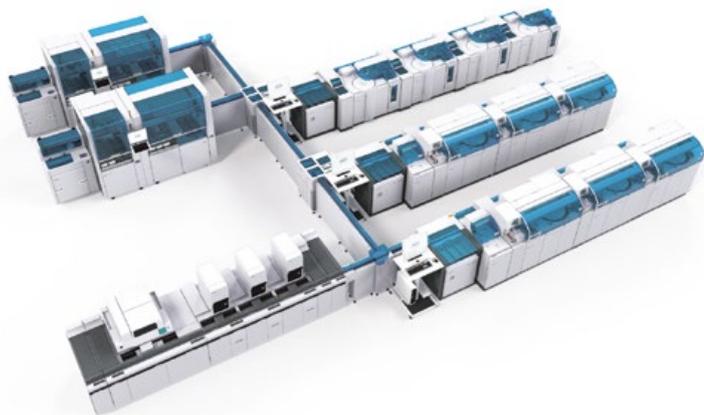
Легкость – единая концепция реагентов значительно облегчает их логистику

Сопоставимость результатов – благодаря единой реагентной концепции

Уверенность в будущем – благодаря модульной концепции системы легко наращиваются



Для разработки эффективных стратегий тестирования на всех этапах оказания медицинской помощи Рош предлагает постоянно расширяющийся перечень лабораторных параметров. Технологические решения Рош позволяют достигать высокой точности и надежности результатов исследований при оптимизации затрат независимо от масштаба вашей лаборатории или сети лабораторий.



Благодаря возможности персонализации и стандартизации процессов в лаборатории Рош помогает вам быстро получать надёжные результаты на всей линейке анализаторов cobas®.

Все товарные знаки, использованные в данном материале, принадлежат их законным владельцам. COBAS и ELECSYS являются товарными знаками Рош.

ООО «Рош Диагностика Рус»
Россия, 115114, г. Москва, ул. Летниковская, д. 2, стр. 3, Бизнес-центр «Вивальди Плаза»
Тел.: +7 495 229-69-99, Факс: +7 495 229-62-64

Медицинские изделия, используемые в данном материале, имеют регистрационные удостоверения Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения: <https://www.roszdravnadzor.ru/services/misearch>

Научный сайт журнала
www.med-alphabet.com

Медицинский портал
издательства
www.medalfavit.ru

Издательство медицинской
литературы

ООО «Альфмед»
+7 (495) 616-48-00
+7 (495) 116-17-70
medalfavit@mail.ru
Россия, 129515, Москва, а/я 94

Учредитель и главный редактор
издательства

Татьяна Владимировна Сеница

Адрес редакции

Москва, ул. Академика
Королева, 13, стр. 1, оф. 720

Главный редактор журнала

Александр Сергеевич Ермолов
д.м.н., проф., член-корр. РАН,
заслуженный деятель науки РФ

Руководитель проекта

«Современная лаборатория»
Татьяна Евгеньевна Чикмарева
medalfavit@bk.ru

Технический редактор

Александр Сергеевич Савельев

Руководитель отдела

продвижения, распространения
и выставочной деятельности
Борис Борисович Будович
medalfavit_pr@mail.ru

Журнал включен в перечень ВАК.
Публикуемые материалы могут
не отражать точку зрения редакции.
Исключительные (имущественные)
права с момента получения
материалов принадлежат редакции
журнала «Медицинский алфавит».
Любое воспроизведение материалов
и иллюстраций допускается
с письменного разрешения издателя
и указанием ссылки на журнал.
Редакция не несет ответственности
за содержание рекламных
материалов. К публикации
принимаются статьи, подготовленные
в соответствии с правилами редакции.
За точность сведений
об авторах, правильность цитат
и библиографических данных
ответственность несут авторы.
В научной электронной библиотеке
elibrary.ru доступны полные тексты
статей. Каждой статье присвоен
идентификатор цифрового
объекта DOI.

Журнал зарегистрирован
Министерством РФ по делам
печати, теле-, радиовещания
и средств массовых коммуникаций.
Свидетельство о регистрации
средства массовой информации
ПИ № 77-11514 от 04.01.2002.

Подписка: через редакцию (podpiska.
ma@mail.ru), на портале medalfavit.ru
и по почтовым каталогам,
«Почта России» и «Урал-Пресс».

Периодичность: 38 номеров в год.

Подписано в печать 12.10.2021.

Формат А4. Цена договорная.

© Медицинский алфавит, 2021

Содержание

- 7 **Динамика уровня антител класса G к SARS-CoV-2 после перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19**
С. С. Алексанин, Н. А. Алхутова, Н. А. Ковязина, В. Ю. Рыбников
- 12 **Диагностическая значимость новых гематологических показателей при коронавирусной инфекции**
И. Б. Барановская, И. П. Сысоева
- 19 **Лекарственно-индуцированный агранулоцитоз (клиническое наблюдение)**
Н. А. Соколова, Л. В. Позднякова, И. С. Татаринова
- 24 **Возможности экспертно-аналитического подхода к оценке влияния витамина D на метаболизм костной ткани на основании определения витамина D – ассоциированных связей с показателями водно-электролитного обмена**
А. В. Соломенников, С. Л. Богданова, А. И. Тюкавин, Н. А. Арсениев
- 30 **Алгоритм диагностики метаболического синдрома у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС с использованием новых медицинских технологий**
Л. Б. Дрыгина, А. О. Пятибрат, О. М. Астафьев, И. И. Шантырь, Г. Г. Родионов
- 38 **Взаимосвязи структурно-функциональных показателей миокарда с уровнем биомаркеров апоптоза у пациентов с кардиомиопатией ишемического генеза**
Г. Н. Мухамбетова, О. С. Полунина, Л. П. Воронина, Н. Б. Гринберг, Е. А. Полунина, Т. В. Прокофьева
- 43 **Клинико-лабораторные маркеры кальцифицирующего атеросклероза**
Л. Б. Дрыгина, В. Н. Хирманов
- 48 **Значение определения генотипов Gardnerella vaginalis в диагностике рецидивирующего бактериального вагиноза**
А. А. Крысанова, А. Е. Гуцин, А. М. Савичева
- 53 **Способ диагностики неалкогольного стеатоза печени**
И. А. Булатова, А. М. Мифтахова, И. Л. Гуляева
- 57 **Носительство Streptococcus pneumoniae у детей школьного возраста**
И. Н. Протасова, Н. В. Бахарева, Н. А. Ильенкова, Е. С. Соколовская, Т. А. Елистратова, А. Г. Сульдина
- 61 **Роль нерезидентных субпопуляций мукозальной и адаптивной иммунной системы у больных с хроническим пародонтитом**
В. П. Мудров, Н. В. Давыдова, С. П. Казаков, Т. Е. Мишина
- 70 **Подписка**

Журнал «Медицинский алфавит» включен в перечень научных рецензируемых изданий, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук по специальностям:

- 14.01.01. Акушерство и гинекология (медицинские науки);
- 14.01.04. Внутренние болезни (медицинские науки);
- 14.01.05. Кардиология (медицинские науки);
- 14.01.06. Психиатрия (медицинские науки);
- 14.01.10. Кожные и венерические болезни (медицинские науки);
- 14.01.11. Нервные болезни (медицинские науки);
- 14.01.12. Онкология (медицинские науки);
- 14.01.13. Лучевая диагностика, лучевая терапия (медицинские науки);
- 14.01.14. Стоматология (медицинские науки);
- 14.01.17. Хирургия (медицинские науки);
- 14.01.22. Ревматология (медицинские науки);
- 14.01.25. Пульмонология (медицинские науки);
- 14.01.28. Гастроэнтерология (медицинские науки);

- 14.02.01. Гигиена (медицинские науки);
- 14.02.02. Эпидемиология (медицинские науки);
- 14.03.09. Клиническая иммунология, аллергология (медицинские науки);
- 14.03.10. Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки).

В связи с продвижением контента журнала в международном научном сообществе и расширением его индексирования в наукометрических базах данных Scopus, Research4Life, WorldCat, Crossref и т.п., просим оформлять ссылки для цитирования строго по образцу.

Образец для цитирования: Пименов М. С., Васильев А. В., Садовников П. С., Ляшенко О. В., Севрук З. В., Копеева А. Б., Скибо И. И., Вавилова Т. В. Определение порогового значения (cut-off) нормализованного отношения для определения волчаночного антикоагулянта на нормальной плазме доноров – здоровых добровольцев (результат исследования крупной сетевой лаборатории). *Медицинский алфавит*. 2020; (5): 34–37. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-5-34-37>

Journal's Website

www.med-alphabet.com

Publishing House's Website

www.medalfavit.ru

Founder and Editor-in-Chief

Tatiana Siniitska

Alfmed Publishing

+7 (495) 616-4800

+7 (495) 116-1770

medalfavit@mail.ru

Box 94, Moscow, 129515, Russia

Editorial Office

Office 720, Bldg. 1, 13

Academician Korolev Str.,

Moscow, Russia

Editor-in-Chief

Alexander Ermolov

Corr. Member of RAS, Doctor

of Medical Sciences., Prof.

'Modern Laboratory' Project**Manager**

Tatyana Chikmar'yova

medalfavit@bk.ru

Technical Editor

Alexander Savelyev

Promotion and Distribution

Boris Budovich

medalfavit_pr@mail.ru

The Medical Alphabet is included into the list of scientific peer-reviewed periodicals recommended by the Higher Attestation Commission of the Ministry of Education and Science of Russia for publishing scientific results of dissertations for the degree of PhD and Doctor of Sciences.

Authors' materials do not necessarily reflect the opinion of the Editorial Office.

All exclusive (property) rights on materials printed belong to the Editorial Office from the time of their receipt. Any reproduction of materials is allowed with a reference to the Medical Alphabet after a written permission of the publisher.

The Editorial Office is not responsible for the content of ads.

Only articles prepared in accordance with the Editorial Office's rules are accepted for publication. Authors are responsible for the accuracy of information, the correctness of citations and bibliographic data.

The full texts of our articles are available at elibrary.ru. DOI is assigned to each article.

Registered at the Federal Service for Supervision of Mass Media, Telecommunications, and Protection of Cultural Heritage. Registration ПИ № 77-11514 of 04.01.2002.

Frequency of publication: 38 issues per year.

Subscription: podpiska.ma@mail.ru
Free price.

Signed for press: 12 October 2021.

© 2021 Medical Alphabet

Contents

- 7 Dynamics of level of class G antibodies to SARS-CoV-2 after new coronavirus infection COVID-19**
S. S. Aleksanin, N. A. Alkhutova, N. A. Kovyazina, V. Yu. Rybnikov
- 12 Diagnostic significance of new hematological parameters in coronavirus infection**
I. B. Baranovskaya, I. P. Sysoeva
- 19 Drug-induced agranulocytosis (clinical observation)**
N. A. Sokolova, L. V. Pozdnyakova, I. S. Tatarinova
- 24 Expert-analytical approach to assessing activity of vitamin D based on determination of vitamin D associated links by indicators of water-electrolyte metabolism**
A. V. Solomennikov, S. L. Bogdanova, A. I. Tyukavin, N. A. Arsenyev
- 30 Clinical and laboratory algorithm for diagnosis of metabolic syndrome with use of new medical technologies in liquidators of Chernobyl accident**
L. B. Drygina, A. O. Pyatibrat, O. M. Astafiev, I. I. Shantyr, G. G. Rodionov
- 38 Relationships between values of myocardial remodeling parameters and level of apoptosis biomarkers in patients with ischemic cardiomyopathy**
G. N. Mukhambetova, O. S. Polunina, L. P. Voronina, N. B. Greenberg, E. A. Polunina, T. V. Prokofieva
- 43 Clinical and laboratory markers of calcifying atherosclerosis**
L. B. Drygina, V. N. Khirmanov
- 48 Significance of Gardnerella vaginalis genotyping in diagnosis of recurrent bacterial vaginosis**
A. A. Krysanova, A. E. Guschin, A. M. Savicheva
- 53 Method for diagnosing non-alcoholic liver steatosis**
I. A. Bulatova, A. M. Miftakhova, I. L. Gulyaeva
- 57 Streptococcus pneumoniae carriage in school children**
I. N. Protasova, N. V. Bakhareva, N. A. Ilenkova, Y. S. Sokolovskaya, T. A. Yelistratova, A. G. Suldina
- 61 Role of non-resident subpopulations of mucosal and adaptive immune systems in patients with chronic periodontitis**
V. P. Mudrov, N. V. Davidova, S. P. Kazakov, T. V. Mishina
- 70 Subscription**

The Medical Alphabet is included into the list of scientific peer-reviewed periodicals recommended by the Higher Attestation Commission of the Ministry of Education and Science of Russia for publishing scientific results of dissertations for the degree of Candidate and Doctor of Sciences in the following specialties:

- 14.01.01. Obstetrics and Gynecology (Medical Sciences);
14.01.04. Internal Diseases (Medical Sciences);
14.01.05. Cardiology (Medical Sciences);
14.01.06. Psychiatry (Medical Sciences);
14.01.10. Skin and Venereal Diseases (Medical Sciences);
14.01.11. Nervous Diseases (Medical Sciences);
14.01.12. Oncology (Medical Sciences);
14.01.13. X-Ray Diagnostics, Radiation Therapy (Medical Sciences);
14.01.14. Dentistry (medical sciences);
14.01.17. Surgery (Medical Sciences);
14.01.22. Rheumatology (Medical Sciences);

- 14.01.25. Pulmonology (Medical Sciences);
14.01.28. Gastroenterology (Medical Sciences);
14.02.01. Hygiene (Medical Sciences);
14.02.02. Epidemiology (Medical Sciences);
14.03.09. Clinical Immunology, Allergology (Medical Sciences);
14.03.10. Clinical Laboratory Diagnostics (Medical Sciences).

Due to promotion of the journal's content in the international scientific community and indexing it in scientific databases i.e., Scopus, Research4Life, WorldCat, Crossref, etc., we ask authors to provide links for citations according to the sample.

Citation sample: Pimenov M. S., Vasilyev A. V., Sadovnikov P. S., Lyashenko O. V., Sevruk Z. V., Kopaeva L. B., Skibo I. I., Vavilova T. V. Determination of cut-off threshold of normalized ratio for determining lupus anticoagulant in normal plasma of donors – healthy volunteers (large network laboratory study results). *Medical alphabet*. 2020; (5): 34–37. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-5-34-37>

Главный редактор журнала

Ермолов Александр Сергеевич д.м.н., проф., член-корр. РАН, заслуженный деятель науки РФ, ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ» (Москва)

Редакционный совет журнала

Акимкин Василий Геннадьевич («Эпидемиология и гигиена»), д.м.н., проф., acad. РАН, директор ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора (Москва)

Артамонова Елена Владимировна («Диагностика и онкотерапия»), д.м.н., проф., НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ (Москва)

Бабаева Аида Руфатовна («Ревматология»), д.м.н., проф., кафедра факультетской терапии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ (Волгоград)

Балан Вера Ефимовна («Современная гинекология»), д.м.н., проф., вице-президент Российской ассоциации по менопаузе, ГБУЗ МО «Московский областной НИИ акушерства и гинекологии» (Москва)

Барбараш Ольга Леонидовна («Коморбидные состояния»), д.м.н., проф., ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (г. Кемерово)

Берестень Наталья Федоровна («Современная функциональная диагностика»), д.м.н., проф., кафедра клинической физиологии и функциональной диагностики Академического образовательного центра фундаментальной и трансляционной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава РФ (Москва)

Голубев Валерий Леонидович («Неврология и психиатрия»), д.м.н., проф., кафедра нервных болезней ФППОВ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ (Москва)

Евдокимов Евгений Александрович («Неотложная медицина»), д.м.н., проф., заслуженный врач РФ, советник ректора, зав. кафедрой анестезиологии и неотложной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (Москва)

Круглова Лариса Сергеевна («Дерматология»), д.м.н., проф., ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ (Москва)

Кузнецова Ирина Всеволодовна («Современная гинекология»), д.м.н., проф., советник директора ФГБУ «Научный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В.И. Кулакова» Минздрава РФ (Москва)

Кулаков Анатолий Алексеевич («Стоматология»), д.м.н., проф., acad. РАН, отделение клинической и экспериментальной имплантологии ФГБУ НМИЦ «ЦНИИ стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Минздрава РФ (Москва)

Минушкин Олег Николаевич («Практическая гастроэнтерология»), д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии и гастроэнтерологии ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента России (Москва)

Оганов Рафаэль Гегамович («Кардиология»), д.м.н., проф., acad. РАН, отдел профилактики коморбидных состояний ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава РФ (Москва)

Орлова Наталья Васильевна («Современная поликлиника»), д.м.н., проф., кафедра поликлинической терапии лечебного факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ (Москва)

Остроумова Ольга Дмитриевна, д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии и полиморбидной патологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава РФ (Москва)

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

Сандриков Валерий Александрович, acad. РАН, ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. acad. Б.В. Петровского» (Москва)

Щербо Сергей Николаевич («Современная лаборатория»), д.м.н., проф., ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва)

Редакционная коллегия серии « Современная лаборатория»

Главный редактор серии «Современная лаборатория»

Щербо Сергей Николаевич, д.м.н., проф., гл. ученый секретарь ассоциации «Федерация лабораторной медицины», зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Вавилова Татьяна Владимировна, д.м.н., проф., гл. внештатный специалист по клинической лабораторной диагностике Минздрава России, зав. кафедрой лабораторной медицины и генетики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

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

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

Долгих Татьяна Ивановна, д.м.н., проф., секретарь профильной комиссии по клинической лабораторной диагностике Минздрава России, Омск

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

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

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

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

Терёхина Наталья Александровна, д.м.н., проф., зав. кафедрой биохимии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. acad. Е.А. Вагнера» Минздрава России, г. Пермь

Шипулин Герман Александрович, к.м.н., зам. директора ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровья» ФМБА России, Москва

Эмануэль Владимир Леонидович, д.м.н., проф., директор Научно-методического центра молекулярной медицины Минздрава России, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины ФГБОУ ВО «Первый СПб ГМУ им. acad. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Editor-in-Chief

Ermolov A. S. DM Sci, prof., Research Institute of Emergency Care n.a. N.V. Sklifosovsky (Moscow, Russia)

Editorial Board

Akimkin V. G. (*Epidemiology and Hygiene*), DM Sci, prof., RAS acad., Central Research Institute of Epidemiology (Moscow, Russia)

Artamonova E. V. (*Diagnostics and Oncotherapy*), DM Sci, prof., National Medical Research Centre of Oncology n.a. N.N. Blokhin (Moscow, Russia)

Babaeva A. R. (*Rheumatology*), DM Sci, prof., Volgograd State Medical University (Volgograd, Russia)

Balan V. E. (*Modern Gynecology*), DM Sci, prof., vice president of the Russian Menopause Association, Moscow Regional Research Institute for Obstetrics and Gynecology (Moscow, Russia)

Barbarash O. L. (*Comorbid Conditions*), DM Sci, prof., Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases (Kemerovo, Russia)

Beresten N. F. (*Modern Functional Diagnostics*), DM Sci, prof., Russian Medical Academy for Continuing Professional Education (Moscow, Russia)

Golubev V. L. (*Neurology and Psychiatry*), DM Sci, prof., First Moscow State Medical University n.a. I.M. Sechenov (Moscow, Russia)

Evdokimov E. A. (*Emergency Medicine*), DM Sci, prof., Russian Medical Academy for Continuing Professional Education (Moscow, Russia)

Kruglova L. S. (*Dermatology*), DM Sci, prof., Central State Medical Academy of the Administrative Department of the President of Russia (Moscow, Russia)

Kuznetsova I. V. (*Modern Gynecology*), DM Sci, prof., Scientific Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology n.a. V. I. Kulakov (Moscow, Russia)

Kulakov A. A. (*Dentistry*), DM Sci, prof., RAS corr. member, Central Research Institute of Dental and Maxillofacial Surgery (Moscow, Russia)

Minushkin O. N. (*Practical Gastroenterology*), DM Sci, prof., Central State Medical Academy of the Administrative Department of the President of Russia (Moscow, Russia)

Oganov R. G. (*Cardiology*), DM Sci, prof., RAS acad., National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine (Moscow, Russia)

Orlova N. V. (*Modern Polyclinic*), DM Sci, prof., Russian National Research Medical University n.a. N.I. Pirogov (Moscow, Russia)

Ostroumova O. D., DM Sci, prof., Russian Medical Academy for Continuing Professional Education (Moscow, Russia)

Padyukov L. N., prof., Karolinska Institute (Stockholm, Sweden)

Sandrikov V. A., RAS acad., Russian Scientific Centre for Surgery n.a. acad. B. V. Petrovsky (Moscow, Russia)

Scherbo S. N. (*Modern Laboratory*), DM Sci, prof., Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

Editorial Board of 'Modern Laboratory' series

Editor-in-Chief of 'Modern Laboratory' series

Shcherbo S. N., DM, Sci, prof., chief scientific secretary of the Association 'Federation of Laboratory Medicine', head of Dept of Clinical Laboratory Diagnostics of Russian National Research Medical University n.a. N.I. Pirogov, Moscow

Vavilova T. V., DM Sci, prof., chief freelance specialist in clinical laboratory diagnostics of the Ministry of Health of Russia, head of Dept of Laboratory Medicine and Genetics of North-Western State Medical University n.a. I. I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

Gilmanov A. Zh., DM Sci, prof., vice-president of the Russian Association for Medical Laboratory Diagnostics, head of Dept of Biochemistry and Laboratory Diagnostics Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

Godkov M. A., DM Sci, MD of the highest category, president of the Association 'Federation of Laboratory Medicine', head of Dept of Laboratory Diagnostics of Research Institute of Emergency Medicine n.a. N. V. Sklifosovsky, Moscow, Russia

Dolgikh T. I., DM Sci, prof., secretary of the Profile Commission for Clinical Laboratory Diagnostics of the Ministry of Health of Russia, Omsk, Russia

Kosyrev A. B., PhD Med, associate prof. at Dept of Biochemistry of Russian Medical Academy of Postgraduate Education, CEO of Mediolab Co., Moscow, Russia

Padyukov L. N., prof. at Karolinska Institute, Stockholm, Sweden

Pervushin Yu. N., PhD Med, prof. at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics with a course of bacteriology of Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

Rysuly M. R., DM Sci, prof., president of the Kazakh Medical Laboratory Diagnostics Association, prof. at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics of Kazakh National Medical University, Almaty, Kazakhstan

Terekhina N. A., DM Sci, prof., head of Biochemistry Dept of Perm State Medical Academy n.a. acad. E. A. Wagner, Perm, Russia

Shipulin G. A., PhD Med, Deputy Director of the Federal State Budgetary Institution Center for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, FMBA of Russia, Moscow, Russia

Emanuel V. L., DM Sci, prof., director of the Scientific and Methodological Centre for Molecular Medicine of the Ministry of Health of Russia, head of Dept of Clinical Laboratory Diagnostics with a course of molecular medicine of First State Medical University of St. Petersburg n.a. I. P. Pavlov, St. Petersburg, Russia

Динамика уровня антител класса G к SARS-CoV-2 после перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19

С. С. Алексанин, Н. А. Алхутова, Н. А. Ковязина, В. Ю. Рыбников

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

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты лабораторного динамического мониторинга уровня антител класса G к SARS-CoV-2 у 160 пациентов в течение 3–10 месяцев после перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19. Выявлено отсутствие снижения уровня антител класса G к SARS-CoV-2 до пороговых значений и ниже у 91,2% обследованных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: новая коронавирусная инфекция, антитела к SARS-CoV-2, IgG, COVID-19.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ФИНАНСИРОВАНИЕ. Авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов и финансовой поддержки.

Dynamics of level of class G antibodies to SARS-CoV-2 after new coronavirus infection COVID-19

S. S. Aleksanin, N. A. Alkhutova, N. A. Kovyazina, V. Yu. Rybnikov

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

SUMMARY

The article presents the results of laboratory dynamic monitoring of the level of class G antibodies to SARS-CoV-2 in 160 patients within 3–10 months after the new coronavirus infection COVID-19. There was no decrease in the level of class G antibodies to SARS-CoV-2 to the threshold values and below in 91.2% of the examined patients.

KEY WORDS: new coronavirus infection, antibodies SARS-CoV-2, IgG, COVID-19.

CONFLICT OF INTEREST AND FUNDING. The authors declare no conflict of interest or any financial support.

Вопросы популяционного иммунитета к COVID-19 вызывают большой интерес и имеют важное научное и практическое значение. Результаты исследования о состоянии коллективного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 необходимы для разработки прогноза развития эпидемиологической ситуации, а также для планирования мероприятий по профилактике COVID-19. В дополнение к мерам по борьбе с пандемией коронавирусной инфекции COVID-19, которые принимаются на национальном, региональном и местном уровнях, наличие широкой иммунной прослойки в 60–70%, а по последним данным и до 40%, позволит снизить темпы распространения возбудителя [1].

Известно, что иммунный ответ при COVID-19 формируется преимущественно по клеточному типу. Продукция цитокинов обуславливает общую адаптивную реакцию, а активация цитотоксических Т-клеток приводит к элиминации вируса из организма человека [3, 5]. Гуморальный иммунный ответ, обусловленный продукцией специфических антител класса G, а также вируснейтрализующих антител, обеспечивает защиту организма от повторного заражения [4]. Однако сведений о длительности и напряженности постинфекционного иммунитета в отношении SARS-CoV-2 недостаточно. Есть данные, что более тяжелое течение COVID-19 сопровождается более интенсивной продукцией антител [9]. Однако более высокие уровни антител не всегда коррелируют с клиническим улучшением [6, 7]. По данным литературы, после заражения вирусом

SARS-CoV-1 количество антител оставалось высоким в течение 4–5 месяцев, а затем постепенно, медленно снижалось в течение следующих 2–3 лет [8]. Известно, что после заражения MERS-CoV нейтрализующие антитела сохранялись до полутора лет. Период персистенции нейтрализующих антител против SARS-CoV-2 не определен; есть данные, что они сохраняются до 40 дней с момента появления симптомов COVID-19 [9].

В научной литературе отсутствуют сведения о том, что наличие антител к вирусу SARS-CoV-2 гарантирует защиту от повторного заражения. Однако имеющиеся ограниченные данные о гуморальном ответе против вируса SARS-CoV-2, а также данные небольшого исследования на модели животных [2] позволяют предположить, что выздоровление от COVID-19 может обеспечивать иммунитет против повторного заражения, по крайней мере, временно. В условиях такой неопределенности тщательное изучение данных о динамике антител у реконвалесцентов COVID-19 будет иметь важное значение.

Цель исследования: ретроспективно оценить динамику антител класса G у реконвалесцентов COVID-19.

Материалы и методы

Представленные результаты получены в лаборатории серологических исследований и аллергодиагностики ФГБУ «ВЦЭРМ имени А. М. Никифорова» МЧС России. Нами

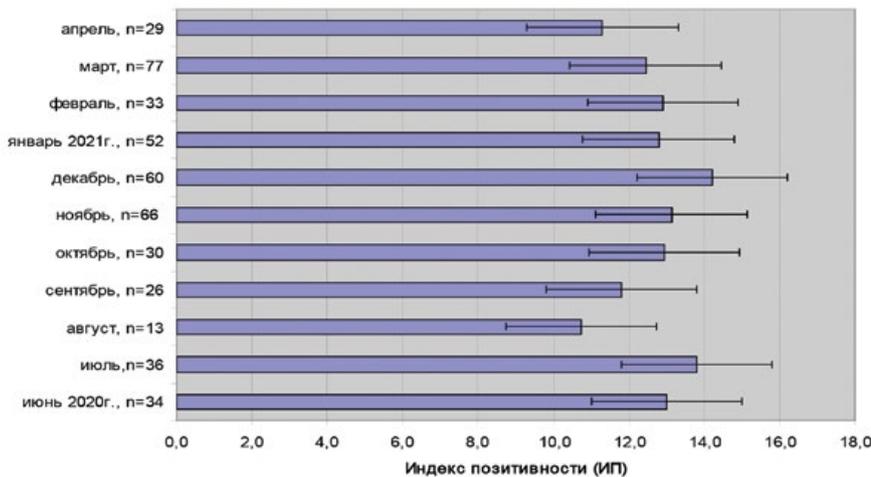


Рисунок 1. Количество обследованных пациентов и средние индексы позитивности SARS-CoV-2-IgG с июня 2020 по апрель 2021 года у пациентов, перенесших новую корона-вирусную инфекцию.

проведен ретроспективный анализ результатов обследования на наличие антител класса G к SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2-IgG) в динамике у 160 человек, перенесших новую коронавирусную инфекцию COVID-19 с июня по декабрь 2020 года (47 мужчин и 113 женщин, средний возраст пациентов $48,40 \pm 1,08$ года). Были определены группы пациентов, в которых динамическое определение антител проводилось через 3–4, 5–6, 7–8, 9–10 месяцев с момента получения первого положительного результата на наличие SARS-CoV-2-IgG. Количество обследованных пациентов и средние индексы позитивности (ИП) SARS-CoV-2-IgG по месяцам представлены на рисунке 1. Всего было выполнено и проанализировано 456 исследований.

Определение антител проводили с помощью наборов реагентов «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия). Производитель используемых нами систем реагентов сообщил, что в системе реагентов «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» используется рекомбинантный полноразмерный тримеризованный поверхностный гликопротеин S (Spike) вируса SARS-CoV-2, который позволяет выявлять пул иммуноглобулинов класса G, синтезированных ко всем антигенным детерминантам белка S, включая RBD-домен, что обуславливает специфичность этого метода для оценки протективного иммунного ответа. Система реагентов «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» была протестирована на панели Anti-SARS-CoV-2 Национального института биологических стандартов и контроля (NIBSC, Великобритания, 2020), предназначенной для верификации серологических анализов на COVID-19. Она была охарактеризована 13 ведущими производителями средств медицинской диагностики *in vitro*. Специалисты АО «Вектор-Бест» провели оценку качества наборов реагентов «SARS-CoV-2-

IgG-ИФА-БЕСТ» с помощью верификационной панели Anti-SARS-CoV-2 Verification panel for Serologi Assay (NIBSC code: 20/B770) и получили 100-процентное совпадение трактовок положительных и отрицательных образцов плазмы [3].

Материалом для исследования служила сыворотка крови. Подготовка биоматериала проводилась в соответствии с инструкцией к системе реагентов.

Оценка результатов проводилась полуколичественным методом с использованием индекса позитивности (ИП). Для этого сначала вычисляли критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит.}$) по формуле $ОП_{крит.} = ОП_{ср.} \cdot K + 0,2$, затем вычисляли индекс позитивности (ИП) по формуле $ИП = ОП_{обр.} / ОП_{крит.}$, где $ОП_{обр.}$ – значение оптической плотности в лунке с контролем или анализируемым образцом. Результат анализа считали положительным, если $ИП_{обр.} \geq 1,1$; отрицательным, если $ИП_{обр.} < 0,8$; результат признавался сомнительным, если $0,8 \leq ИП_{обр.} < 1,1$.

Диагностическая чувствительность выявления IgG к SARS-CoV-2–100% (интервал: 95,7–100,0%, доверительная вероятность 95%), диагностическая специфичность теста – 100% (интервал: 98,5–100,0%, доверительная вероятность 95%).

Обработку результатов проводили при помощи лабораторной информационной системы qLIS «СПАРМ». Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ Excel 2000 и Statistica 7.0. Данные в тексте и таблицах представлены в виде: $M \pm m$, Me (где M – средняя

Таблица 1
Динамика определения SARS-CoV-2-IgG у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию, через 3–4, 5–6, 7–8, 9–10 месяцев с момента получения первого положительного результата

Показатель	Количество антител снизилось			Количество антител не изменилось			Количество антител повысилось		
	ИП первичный	ИП через 3–4 мес.	Процент снижения	ИП, первичный	ИП через 3–4 мес.	Процент снижения	ИП первичный	ИП через 3–4 мес.	Процент повышения
n		38 (36,2%)			48 (45,7%)			19 (18,1%)	
M	12,86*	8,03*	40,50	15,33	14,78	–1,20	6,70**	11,77**	135,02
m	0,71	0,74	3,47	0,52	0,59	0,87	1,17	1,26	40,04
Me	15,40	7,50	39,36	16,58	16,56	–0,68	4,10	15,05	76,90
1q	9,40	4,10	23,90	15,00	15,49	–4,78	3,04	6,40	125,39
3q	16,61	11,57	52,80	17,24	16,85	3,53	11,90	16,65	35,10
SD	4,38	4,55	21,36	3,63	4,06	6,01	5,10	5,49	174,18
Пол, человек		Мужчины, 11 Женщины, 27			Мужчины, 13 Женщины, 35			Мужчины, 4 Женщины, 15	

Динамика ИП антител у пациентов через 5–6 месяцев									
Показатель	Количество антител снизилось			Количество антител не изменилось			Количество антител повысилось		
	ИП первичный	ИП через 5–6 мес.	Процент снижения	ИП первичный	ИП через 5–6 мес.	Процент снижения	ИП первичный	ИП через 5–6 мес.	Процент повышения
<i>n</i>		23 (34,9%)			25 (37,9%)			18 (27,2%)	
<i>M</i>	11,71*	7,62*	42,08	16,54	16,43	0,64	11,34	15,83	96,30
<i>m</i>	1,22	1,13	5,07	0,40	0,39	0,42	1,25	0,75	32,40
<i>Me</i>	15,90	6,84	42,69	16,98	16,84	1,07	14,10	17,02	17,07
<i>1q</i>	5,95	3,01	23,34	16,51	16,51	-0,53	7,28	16,28	122,93
<i>3q</i>	16,70	13,28	59,92	17,14	17,13	1,83	15,64	17,52	11,69
<i>SD</i>	5,84	5,42	24,28	2,00	1,96	2,09	5,30	3,18	137,37
Пол, человек		Мужчины, 6 Женщины, 17			Мужчины, 6 Женщины, 19			Мужчины, 4 Женщины, 14	
Динамика ИП антител у пациентов через 7–8 месяцев									
Показатель	Количество антител снизилось			Количество антител не изменилось			Количество антител повысилось		
	ИП первичный	ИП через 7–8 мес.	Процент снижения	ИП, первичный	ИП через 7–8 мес.	Процент снижения	ИП первичный	ИП через 7–8 мес.	Процент повышения
<i>n</i>		14 (35,9%)			16 (41,0%)			9 (23,1%)	
<i>M</i>	14,84*	8,83*	42,65	16,16	16,62	-3,17	9,26**	15,28**	121,72
<i>m</i>	1,02	1,16	5,54	0,40	0,36	1,25	1,88	1,15	44,66
<i>Me</i>	16,00	8,46	44,20	16,40	16,81	-2,71	10,86	17,03	40,42
<i>1q</i>	14,52	5,04	26,03	15,96	16,54	-7,59	3,80	16,36	215,84
<i>3q</i>	17,12	12,87	50,56	17,07	17,18	-1,44	14,80	17,23	15,42
<i>SD</i>	3,82	4,35	20,74	1,59	1,43	4,99	5,63	3,46	133,97
Пол, человек		Мужчины, 4 Женщины, 10			Мужчины, 3 Женщины, 16			Мужчины, 2 Женщины, 7	
Динамика ИП антител у пациентов через 9–10 месяцев									
Показатель	Количество антител снизилось			Количество антител не изменилось			Количество антител повысилось		
	ИП первичный	ИП через 9–10 мес.	Процент снижения	ИП, первичный	ИП через 9–10 мес.	Процент снижения	ИП первичный	ИП через 9–10 мес.	Процент повышения
<i>n</i>		7 (36,8%)			7 (36,8%)			5 (26,4%)	
<i>M</i>	9,98	6,84	48,47	15,86	16,38	-3,68	5,62	11,63	127,91
<i>m</i>	2,04	2,36	11,07	0,43	0,27	2,36	1,44	2,09	30,01
<i>Me</i>	11,24	6,66	41,47	15,67	16,44	-3,74	4,95	14,61	168,34
<i>1q</i>	6,54	2,31	25,30	15,46	16,04	-9,66	2,95	6,95	169,61
<i>3q</i>	16,97	14,08	76,51	16,86	17,03	0,83	6,12	15,04	70,85
<i>SD</i>	5,39	6,27	29,33	1,14	0,70	6,26	3,22	4,68	67,22
Пол, человек		Мужчины, 2 Женщины, 5			Мужчины, 1 Женщины, 6			Мужчины, 1 Женщины, 4	

Примечание: P*, ** < 0,05

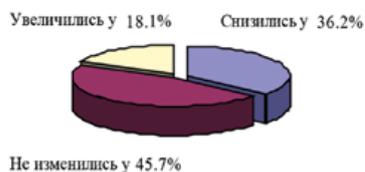
арифметическая, *m* – стандартная ошибка среднего, *Me* – медиана). Значимость различий при парных сравнениях оценивали с помощью U-критерия Манна – Уитни и T-критерия Вилкоксона. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Связи между исследованными показателями определяли с использованием коэффициента корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

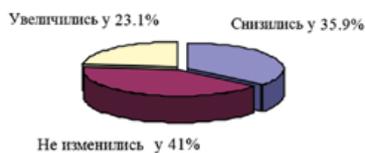
Были сформированы группы реконвалесцентов с динамическим определением SARS-CoV-2-IgG через 3–4, 5–6, 7–8, 9–10 месяцев с момента получения первого положительного результата (табл. 1).

Группа реконвалесцентов с динамическим определением SARS-CoV-2-IgG через 3–4 месяца состояла

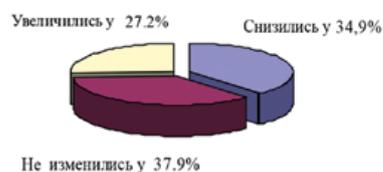
Динамика антител к SARS-CoV-2-IgG у реконвалесцентов через 3–4 месяца после COVID-19



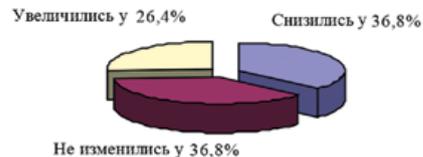
Динамика антител к SARS-CoV-2-IgG у переболевших COVID-19 через 7–8 месяцев после заболевания



Динамика антител к SARS-CoV-2-IgG через 5–6 месяцев после COVID-19



Динамика антител к SARS-CoV-2-IgG через 9–10 месяцев после COVID-19



из 105 пациентов (женщин – 77, мужчин – 28; средний возраст – $47,90 \pm 2,38$ года). Обращает на себя внимание, что через 3–4 месяца у 36,2% переболевших COVID-19 среднее значение ИП антител снизилось в среднем на 40,5% (с 12,86 до 8,03; $p < 0,01$). При этом у 63,8% пациентов (суммарно 45,7 + 18,1%) ИП остался без изменений или повысился в среднем на 135% ($p < 0,01$) от исходного уровня (табл. 1). Таким образом, через 3–4 месяца

Таблица 2
Динамика антител к SARS-CoV-2-IgG
в группе пациентов с низким индексом позитивности

Пациенты, №	Динамика, месяц	ИП SARS-CoV-2-IgG, исходный	ИП SARS-CoV-2-IgG, в динамике
1	3	2,00	1,10
2		1,68	0,95
3		3,66	0,05
4		2,66	0,66
5		1,01	0,63
6	4	1,21	0,38
7		3,57	0,61
8		3,85	0,09
9	5	2,10	0,93
10		3,50	1,07
11		1,80	0,87
12	6	2,56	1,31
13	8	1,13	1,00
14	10	5,54	0,84
M		2,59	0,75
m		0,33	0,10
SD		1,25	0,36
Me		2,33	0,86
1q		1,71	0,62
3q		3,55	0,99

после перенесенной новой коронавирусной инфекции, несмотря на достоверное снижение антител у 36,2% обследованных, ИП у них после снижения оставался достаточно высоким и составлял $8,03 \pm 0,74$. По рекомендациям ВОЗ (2020), реконвалесцентам COVID-19 рекомендуется проводить вакцинацию только в случае снижения ИП SARS-CoV-2-IgG до пороговых значений и ниже. При использовании системы реагентов «SARS-CoV-2-IgG ИФА-БЕСТ» пороговое значение составляет 0,8–1,1. У 7,6% ($n = 8$) реконвалесцентов через 3–4 месяца уровень антител снизился до пороговых значений и ниже, максимальное исходное значение ИП антител в этой группе обследуемых не превышало 3,85.

Группа, сформированная с динамикой определения антител через 5–6 месяцев с момента получения первого положительного результата на наличие SARS-CoV-2-IgG, состояла из 66 пациентов (женщин – 50, мужчин – 16; средний возраст – $47,90 \pm 2,77$ года). Динамика ИП антител у пациентов через 5–6 месяцев представлена в табл. 1. Так, через 6 месяцев у 25 человек отмечали снижение ИП антител в среднем на 42,08% ($p < 0,01$). Однако при этом увеличение количества антител ($p < 0,01$) в этой группе обнаружили у 27,2% пациентов, а у 37,9% антитела остались на первоначальном уровне. А. В. Ершов и соавт. (2020) при использовании системы реагентов Anti-SARS-CoV-2-IgG, (ELISA, Euroimmun, Германия) отмечали, что у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию, начиная с 4-го месяца снижение уровня антител происходило кратно по отношению

к максимальным значениям, а к 6-му месяцу опускалось до значений в контрольной группе. В нашем исследовании мы не обнаружили снижения среднего значения ИП антител до критических пороговых значений в группе пациентов с динамикой антител через 5–6 месяцев после перенесенного заболевания COVID-19. Однако необходимо отметить, что у 7,5% ($n = 5$) обследуемых уровень антител все же снизился до пороговых значений и ниже, при этом максимальное исходное значение ИП антител у этих пациентов составило 3,5.

Далее была сформирована группа пациентов, перенесших COVID-19, с динамикой определения антител через 7–8 месяцев после получения первого положительного результата на SARS-CoV-2-IgG. Динамика ИП антител у реконвалесцентов через 7–8 месяцев представлена в табл. 1. В данную группу вошли 39 человек, из них женщин – 33, мужчин – 9; средний возраст составил $47,88 \pm 3,45$ года. В этой группе пациентов мы обнаружили достоверное снижение ИП антител ($c17,84$ до $8,83$; $p < 0,01$) у 14 человек. При этом у 41% пациентов количество антител не изменилось, а у 23,1% повысилось на 121,72% ($p < 0,01$). Таким образом, через 7–8 месяцев мы также не наблюдали значительного снижения антител у обследованных, перенесших COVID-19. Однако в этой группе у 1 (2,6%) пациента уровень антител снизился до порогового значения (1,0), при этом исходное значение ИП антител составило 1,13.

Группа пациентов с динамикой антител через 9–11 месяцев была самой малочисленной ($n = 19$). В ней мы также не наблюдали снижения среднего ИП антител до пороговых значений. Возможно, это объясняется малочисленностью группы ($n = 7$). В этой группе у 1 (5,3%) пациента уровень антител снизился до порогового значения (0,84), а исходное значение ИП антител составило 5,54.

Тем не менее из 160 человек была выделена небольшая группа пациентов ($n = 14$) 8,75%, у которых в динамике (от 3 до 10 месяцев) ИП снизился до пороговых или отрицательных значений (табл. 2). У шести из них имелся положительный результат ПЦР-теста.

Таким образом, во всех группах, сформированных в зависимости от сроков, прошедших после определения первого положительного результата на наличие SARS-CoV-2-IgG (через 3–4, 5–6, 7–8, 9–10 месяцев), нами не было обнаружено снижения ИП антител до пороговых значений в 91,25% случаев. При этом у более чем половины пациентов во всех описанных группах количество антител (суммарно) не изменялось или достоверно повышалось.

Выводы

При динамическом определении в течение 3–10 месяцев после перенесенной новой коронавирусной инфекции в 91,2% случаев не было обнаружено снижения индекса позитивности SARS-CoV-2-IgG до пороговых значений и ниже.

В группе пациентов, у которых, начиная с 3-го месяца, уровень SARS-CoV-2-IgG снизился до пороговых значений и ниже, исходный ИП составил $2,95 \pm 0,33$.

Список литературы / References

1. Попова А. Ю. Популяционный иммунитет к вирусу SARS-CoV-2 среди населения Санкт-Петербурга в активную фазу эпидемии COVID-19. А. Ю. Попова [и др.]. Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 3. С. 124–130. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130.
Popova A. Yu. Population immunity to the SARS-CoV-2 virus among the population of St. Petersburg in the active phase of the COVID-19 epidemic. A. Yu. Popova [and others]. Problems of especially dangerous infections. 2020. No. 3. P. 124–130. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130.
2. Bao L, Deng W, Gao H, et al. Lack of reinfection in rhesus macaques infected with SARS-CoV-2. bioRxiv. Preprint posted May 1, 2020. DOI: 10.1101/2020.03.13.00-226.
3. Garcia LF. Immune response, inflammation, and the clinical spectrum of COVID-19. Front Immunol. 2020; 11: 1441. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01441.
4. Liu J, Guo J, Xu Q, Cai G, Chen D, Shen Y. Detection of IgG antibody during the follow-up in patients with COVID-19 infection. Crit Care. 2020; 24(1): 448. DOI: 10.1186/s13054-020-03138-4.
5. Maggi E, Canonica GW, Moretta L. Covid-19: Unanswered questions on immune response and pathogenesis. J Allergy Clin Immunol. 2020; 146 (1): 18–22. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.05.001.
6. To KK, Tsang OT, Leung WS, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. Lancet Infect Dis. 2020; 20 (5): 565–574. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1PubMedGoogleScholarCrossref.
7. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. Nature. Published online April 1, 2020 DOI: 10.1038/s41586-020-2196-xPubMedGoogle Scholar.
8. Wu L-P, Wang N-C, Chang Y-H, et al. Duration of antibody responses after severe acute respiratory syndrome. Emerg Infect Dis. 2007; 13 (10): 1562–1564. DOI: 10.3201/eid1310.070576PubMedGoogleScholarCrossref.
9. Zhao J, Yuan Q, Wang H, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019 Clin Infect Dis. Published online March 28, 2020. DOI: 10.1093/cid/ciaa344PubMedGoogle Scholar.

Статья поступила / Received 10.06.21

Получена после рецензирования / Revised 17.06.21

Принята в печать / Accepted 18.06.21

Сведения об авторах

Сергей Сергеевич, д.м.н., проф., член-корр. РАН, директор.
E-mail: medicine@nrccm.ru

Алхутова Наталья Александровна, к.б.н., с.н.с. лаборатории серологических исследований и аллергодиагностики отдела лабораторной диагностики.
E-mail: nalhutova@yandex.ru

Ковязина Надежда Алексеевна, к.м.н., зав. лабораторией серологических исследований и аллергодиагностики отдела лабораторной диагностики.
E-mail: nakovzn@gmail.com

Рыбников Виктор Юрьевич, д.лсх.н., д.б.н., проф., зам. директора по научной и учебной работе

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

Автор для переписки: Алхутова Наталья Александровна.
E-mail: nalhutova@yandex.ru

About authors

Aleksanin Sergey S., DM Sci (habil.), professor, corresponding member of RAS, director. E-mail: medicine@nrccm.ru

Alkhutova Natalia A., PhD Bio, senior researcher of Laboratory of Serological Research and Allergy Diagnostics of the Laboratory Diagnostics Dept. E-mail: nalhutova@yandex.ru

Kovyazina Nadezhda A., PhD Med, head of Laboratory of Serological Research and Allergy Diagnostics of the Laboratory Diagnostics Dept. E-mail: nakovzn@gmail.com

Rybnikov Viktor Yu., Dr. of Psychology (habil.), Dr. of Physical Sciences, professor, deputy director for research and academic affairs

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

Corresponding author: Alkhutova Natalia A. E-mail: nalhutova@yandex.ru

Для цитирования: Алексанин С. С., Алхутова Н. А., Ковязина Н. А., Рыбников В. Ю. Динамика уровня антител класса G к SARS-CoV-2 после перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19. Медицинский алфавит. 2021; (30): 7–11. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-7-11>

For citation: Aleksanin S. S., Alkhutova N. A., Kovyazina N. A., Rybnikov V. Yu. Dynamics of level of class G antibodies to SARS-CoV-2 after new coronavirus infection COVID-19. Medical alphabet. 2021; (30): 7–11. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-7-11>



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ



Эффективность лабораторной медицины: новации, совершенствование традиционных лабораторных технологий, вклад в клиническую практику

Российская ассоциация медицинской лабораторной диагностики проводит для специалистов клинической лабораторной диагностики и врачей смежных клинических специальностей 02 ноября 2021 года научно-практическую онлайн-конференцию «Эффективность лабораторной медицины: новации, совершенствование традиционных лабораторных технологий, вклад в клиническую практику»

Основные темы конференции

- Фундаментальные основы и трансляция знаний по социально значимым и инфекционным особенностям патологий и возможности их использования для лабораторной медицины
- Иммунологические аспекты воспаления, цитокинового шторма в оценке динамики коронавирусной инфекции, длительности гуморального ответа и особенности поствакцинального периода
- Новые и усовершенствованные аналитические технологии
- Разработка и внедрение новых тестов и приборного обеспечения при диагностике и оценке социально значимых и коморбидных заболеваний
- Инновации в лабораторной медицине
- Новые тесты и современное приборное обеспечение в клинической биохимии, гематологическом анализе, иммунохимических и иммунологических исследованиях
- ЛИС в практике обеспечения качества лабораторного анализа и эффективного элемента информатизации в медицине
- Организационные мероприятия и управленческие решения, принимаемые для развития, сохранения и (или) формирования эффективных методических, экономических, технологических, инновационных подходов в клинических лабораториях

Для участников конференции будет проведена предварительная регистрация.

По окончании онлайн-трансляции материалы конференции будут размещены на ютуб-канале РАМЛД с предоставлением пароля доступа для зарегистрированных слушателей.

Научная программа будет представлена в координационный совет по развитию непрерывного медицинского и фармацевтического образования Минздрава России с начислением кредитов обучающимся.

Онлайн-конференция

02 ноября 2021 года

Диагностическая значимость новых гематологических показателей при коронавирусной инфекции

И. Б. Барановская, И. П. Сысоева

ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» Минздрава Краснодарского края, г. Краснодар

РЕЗЮМЕ

Бактериальное инфицирование и, как следствие, сепсис являются грозным осложнением у пациентов с новой коронавирусной инфекцией и одним из ведущих факторов летальности в стационаре. В условиях пандемии COVID-19 экономические затраты здравоохранения на биохимический мониторинг значительно возросли. Назрела необходимость нового подхода к анализу и, возможно, структурированию результатов рутинных исследований, получаемых посредством общего анализа крови. Цель работы: оценка диагностических возможностей новых гематологических показателей «NEUT-RI – реактивность нейтрофилов» и «NEUT-GI – гранулярность нейтрофилов», получаемых при помощи гематологического анализатора Sysmex XN, с позиций диагностики сепсиса. Были проанализированы лабораторные данные выборки пациентов с коронавирусной инфекцией ($n = 449$). В дальнейшем генеральную статистическую совокупность разделили на две группы по уровню прокальцитонина – PCT ($\text{cut off} = 0,5 \text{ нг/мл}$). При PCT ниже $0,5 \text{ нг/мл}$ считали наличие сепсиса маловероятным, при PCT более $0,5 \text{ нг/мл}$ – высоковероятным событием. Для математической обработки данных использовали традиционный статистический анализ, ROC-анализ и авторский вероятностный подход. Согласно полученным данным, при PCT ниже $0,5 \text{ нг/мл}$ имеет место корреляция средней силы между C-реактивным белком и прокальцитонином ($r = 0,49$, $p < 0,05$). В диапазоне высоких концентраций прокальцитонина (PCT выше $0,5 \text{ нг/мл}$) математическая связь между аналогичными биохимическими маркерами утрачивается. Установлено отсутствие информативной ценности лактатдегидрогеназы в плане диагностики сепсиса. В соответствии с результатами исследований значение показателя NEUT-RI $\geq 56,9 \text{ Fl}$ с вероятностью 72% (специфичность 62,0%, чувствительность 83,5%) свидетельствует о наличии сепсиса. Рассчитана вероятность альтернативного прогноза (наличия и отсутствия сепсиса) в том или ином интервале значения показателей NEUT-RI и NEUT-GI. Выделены узкие количественные диапазоны параметра NEUT-RI, в которых вероятность сепсиса отсутствует – 0% (35–45 Fl) и очень высока – 77% (65–75 Fl).

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: коронавирусная инфекция, сепсис, гематологические показатели, реактивность нейтрофилов, гранулярность нейтрофилов, прокальцитонин, C-реактивный белок.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Diagnostic significance of new hematological parameters in coronavirus infection

I. B. Baranovskaya, I. P. Sysoeva

Regional Clinical Hospital No. 2, Krasnodar, Russia

SUMMARY

Bacterial infection, and as a result, sepsis is a formidable complication in patients with new coronavirus infection, and one of the leading factors in hospital mortality. In the context of the COVID-19 pandemic, the economic costs of health care for biochemical monitoring have increased significantly. There is a need for a new approach to the analysis and, possibly, structuring of the results of routine studies obtained through a general blood test. The aim of the work is to assess the diagnostic capabilities of the new hematological parameters NEUT-RI – neutrophil reactivity and NEUT-GI – neutrophil granularity obtained using the Sysmex XN hematological analyzer from the standpoint of sepsis diagnostics. We analyzed laboratory data from a sample of patients with coronavirus infection ($n = 449$). Subsequently, the general statistical population was divided into two groups according to the level of procalcitonin – PCT ($\text{cut off} = 0.5 \text{ ng/ml}$). With PCT $< 0.5 \text{ ng/ml}$, the presence of sepsis was considered as 'unlikely', with PCT $> 0.5 \text{ ng/ml}$ as 'highly likely' event. For mathematical data processing, traditional statistical analysis, ROC analysis and the author's 'probabilistic approach' were used. According to the data obtained, at PCT $< 0.5 \text{ ng/ml}$, there is a correlation of average strength between C-reactive protein and procalcitonin ($r = 0.49$, $p < 0.05$). In the range of high concentrations of procalcitonin (PCT $> 0.5 \text{ ng/ml}$), the mathematical relationship between similar biochemical markers is lost. The absence of the informative value of lactate dehydrogenase in terms of the diagnosis of sepsis has been established. According to the research results, NEUT-RI $\geq 56.9 \text{ Fl}$ with a probability of 72% (specificity 62.0%, sensitivity 83.5%) indicates the presence of sepsis. The probability of an alternative prognosis (presence or absence of sepsis) in one or another interval of the NEUT-RI and NEUT-GI values was calculated. The narrow quantitative ranges of the NEUT-RI parameter were identified, in which the probability of sepsis is absent – 0% (35–45 Fl) and very high – 77% (65–75 Fl).

KEY WORDS: coronavirus infection, sepsis, hematological parameters, neutrophil reactivity, neutrophil granularity, procalcitonin, C-reactive protein.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Введение

В 2020 году Россию, как и весь мир, поразила пандемия коронавирусной инфекции. Экстренно многие стационары перепрофилировались в ковидные госпитали. Естественно, спектр лабораторных тестов претерпел значительные изменения. Для динамического мониторинга за пациентами в условиях пандемии наиболее востребованными оказались гематологические иссле-

дования и коагулограмма. Что касается биохимического анализа, то здесь лидирующие позиции заняли ферритин, C-реактивный белок (CRP), прокальцитонин (PCT), лактатдегидрогеназа (LDG). Данное обстоятельство обусловлено тем, что бактериальное инфицирование и, как следствие, сепсис являются грозным осложнением у пациентов с новой коронавирусной инфекцией и од-

ним из ведущих фактором летальности в стационаре. Активность указанных выше биохимических метаболитов клиницисты традиционно связывают с системным ответом организма на воспаление.

Затраты отечественного здравоохранения в 2020–2021 годах на биохимический мониторинг пациентов с новой коронавирусной инфекцией многократно возросли. Впоследствии интерес к ферритину, как белку острой фазы, заметно поугас: при высокой реактивности в ответ на воспаление снижение концентрации белка в процессе лечения происходит крайне медленно. Динамика лактатдегидрогеназы недостаточно изучена в качестве маркера мониторинга пациентов в критическом состоянии. Что касается С-реактивного белка, то в недавнем исследовании [1] установлено, что уровень метаболита при поступлении выше 100 мг/л связан с повышенным риском 30-дневной летальности в отделениях реанимации. Однако сведения о прогностической ценности С-реактивного белка у пациентов в критическом состоянии оказались крайне противоречивы [2, 3]. По-прежнему врачи-клиницисты делают ставку на прокальцитонин как маркер сепсиса. Однако единичного мнения специалистов насчет критерия разделения (cut off), при котором наличие сепсиса наиболее вероятно, нет. В специальной литературе приводятся cut off 0,25, 0,50 и даже 1,00 нг/мл [4–6]. При этом очевидно, что динамический мониторинг уровня прокальцитонина проводится строго по показаниям и не может быть массовым из-за высокой себестоимости исследования.

Назрела необходимость нового подхода к анализу информации (и, возможно, ее структурированию), получаемой из рутинных исследований. И здесь специалисты обратили пристальное внимание на общий анализ крови (ОАК), который выполняется всем без исключения пациентам (с минимальными трудо- и экономическими затратами). Там, в частности, диагностические возможности параметров, получаемых при помощи гематологического анализатора Sysmex XN, гораздо шире, чем известно большинству врачей-клиницистов. Технология Sysmex-XN в режиме CBC + DIFF (дифференцировка лейкоцитарной формулы) воспроизводит показатели реакции иммунной системы, которые до настоящего времени носят статус исследовательских. Речь идет о параметрах реактивности (NEUT-RI) и гранулярности (NEUT-GI) нейтрофилов. Вышеуказанные показатели в данный момент времени не выгружаются в лабораторную систему и лечащий врач не знает об их существовании. Однако, чтобы внедрить новые гематологические маркеры в практику, нужно в первую очередь убедиться в их диагностических возможностях.

NEUT-RI – показатель интенсивности флуоресценции нейтрофилов, представляющий их метаболическую активность (единица измерения – интенсивность флуоресценции, FI). NEUT-GI – показатель цитоплазматической грануляции нейтрофилов, представляющий их реакцию на воспалительные процессы (единица измерения – интенсивность рассеяния, SI). В ранней работе 2015 года указывались следующие референтные ориентиры: NEUT-RI – 36,0–62,4 FI и NEUT-GI – 134,0–163,2 SI [7]. Согласно

данному исследованию [8], при сепсисе значения NEUT-RI связаны высокой корреляцией с С-реактивным белком ($\rho = 0,774, p < 0,001$), а также с уровнем прокальцитонина ($\rho = 0,642, p = 0,005$). Начиная с 2020 года в специальной литературе появились публикации о значениях новых параметров воспаления в условиях коронавирусной инфекции. Так, в исследовании [9] приводятся сравнительные данные, касающиеся NEUT-RI и NEUT-GI в норме (первая группа) и у пациентов в критическом состоянии (вторая группа), составляющие соответственно в норме 46,1 FI [41,9–50,6] и 149 SI [142–157]; у пациентов в критическом состоянии – 50,6 FI [44,2–59,2] и 153 SI [141–163]. Данные литературных источников свидетельствуют о том, что параметры метаболической активности и гранулярности нейтрофилов, воспроизводимые в режиме CBC + DIFF общего анализа крови, хорошо зарекомендовали себя в условиях мониторинга системной воспалительной реакции.

Цель работы: оценка диагностических возможностей новых гематологических показателей (и отдельных биохимических маркеров) в плане классификации наличия (отсутствия) сепсиса при мониторинге пациентов с коронавирусной инфекцией.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» Минздрава Краснодарского края (г. Краснодар).

Методом случайного отбора была сформирована выборка из 449 пациентов с коронавирусной инфекцией, находящихся на лечении в стационаре 1–6 июля 2021 года (обязательным критерием отбора служило наличие результатов исследования активности С-реактивного белка). Выборка включала 202 мужчин и 239 женщин возрастом $59,7 \pm 0,74$ года.

В дальнейшем на основе генеральной выборки были сформированы две группы пациентов с известным уровнем прокальцитонина ($n = 113$). За точку отсечения (cut off) была принята концентрация прокальцитонина (PCT), равная 0,5 нг/мл, ниже которой наличие сепсиса считалось маловероятным (группа № 1), выше – высоковероятным (группа № 2). Группа № 1 (PCT ниже 0,5 нг/мл) была представлена 79 пациентами (31 мужчина и 48 женщин, средний возраст – $64,9 \pm 3,0$ года). Группа № 2 (PCT выше 0,5 нг/мл) состояла из 34 пациентов (20 мужчин и 14 женщин, средний возраст – $57,3 \pm 1,9$ года).

Кроме того, проанализированы аналогичные лабораторные данные контрольной выборки (группа № 3). В контрольную группу сравнения ($n = 65$) включены пациенты без признаков коронавирусной инфекции (20 мужчин и 45 женщин, средний возраст – $52,6 \pm 2,9$ года), относящиеся к поликлиническому звену учреждения (преимущественно неврологического, гастроэнтерологического и эндокринологического профиля).

С помощью гематологического анализатора Sysmex XN исследовались следующие параметры: NEUT-RI – реактивность нейтрофилов (FI); NEUT-GI – гранулярность нейтрофилов (SI).

С помощью биохимических анализаторов Cobas и Architect получены значения следующих метаболитов: активность С-реактивного белка (мг/л), уровень лактатдегидрогеназы (Ед/л), концентрация ферритина (мкг/л) и прокальцитонина (нг/мл).

Статистическая обработка данных производилась с помощью программ Statistica 7 и Excell 2003. Использовались следующие статистические параметры: М – среднее значение, Sd – стандартное отклонение, Sd er – стандартная ошибка. Определялся коэффициент корреляции (r). Достоверность различий между сравниваемыми показателями (p) устанавливали по непараметрическому критерию U Манна – Уитни. Статистическая значимость различий считалась при $p < 0,05$.

Для определения информативной ценности анализируемых показателей в плане прогнозов классификации, а также для установления наиболее корректной точки разделения использовали ROC-анализ (построение характеристических графиков). Площадь под графиком (ROC_{AREA}) считалась интегральным критерием, оценивающим прогностические свойства диагностической шкалы. Приближение значения ROC_{AREA} к 1,0 соответствовало более значимым классификационным свойствам шкалы. Для подтверждения информативности ROC-кривой применяли показатель стандартной ошибки диагностической шкалы (SE_{AREA}). Если на основании ROC-анализа показатель оценивался как диагностически ценный, определяли оптимальное пороговое значение диагностической шкалы (cut off point), которое делило ее на две части, соответствующие альтернативным прогнозам. Кроме того, результатом анализа являлось установление чувствительности (Se) и специфичности (Sp) анализируемого показателя (в отношении альтернативных прогнозов).

Для анализа распределения значений показателей рассматривались кривые, отображающие плотность вероятности $p(x)$ (отношение вероятности к длине интервала) и представляющие собой теоретический аналог гистограммы.

Вероятностный анализ осуществлялся на основе алгоритма, представленного в работе [10]. Суть данной методики состоит в том, что на основе частотного анализа (абсолютных частот значения показателя в том или ином диапазоне значений параметра – классификатора)

рассчитывается вероятность любого значения показателя. Вероятности одноименных показателей двух выборок суммируются и нормируются до 100%.

Результаты и обсуждение

Согласно данным корреляционного анализа, между NEUT-RI и прокальцитонином имеет место более тесная прямая статистически значимая зависимость – $r = 0,38$ ($p < 0,05$), чем между NEUT-RI и С-реактивным белком – $r = 0,24$ ($p > 0,05$). Нужно иметь в виду, что анализ произведен на большой выборке ($n = 449$) и коэффициент корреляции не может быть высоким. Но даже в рамках заданных условий прокальцитонин зарекомендовал себя достаточно надежным маркером системного воспалительного процесса. Уровень прокальцитонина (PCT = 0,5 нг/мл) был избран дискриминационной точкой: нет сепсиса (группа № 1) / есть сепсис (группа № 2).

Интересно, что, в свою очередь, в группе № 1 (нет сепсиса) установлено наличие тесной прямой зависимости между PCT и С-реактивным белком – $r = 0,49$ ($p < 0,05$). При этом математическая взаимосвязь (между С-реактивным белком и PCT) утрачивалась при PCT более 0,5 нг/мл (группа № 2; $r = 0,24$; $p > 0,05$). То есть фактически в условиях сепсиса концентрация С-реактивного белка может быть любой, что отражает разбалансировку систем организма, уровень хаоса. И действительно, индивидуальный анализ показал, что в 20% случаев сепсиса (группа № 2; PCT выше 0,5 нг/мл) уровень С-реактивного белка ниже 100 мг/л.

В «оправдание» С-реактивного белка, информативная ценность которого оказалась под вопросом, заметим, что нужно учитывать разноплановую функцию метаболита. Всем известна роль С-реактивного белка в качестве компонента неспецифического иммунного ответа, стимулирующего фагоцитоз. Но другое важное свойство С-реактивного белка способствовать удалению эндогенных веществ, образующихся в результате деструкции клеток остается в тени. Кроме того, синтез С-реактивного белка происходит только в печени, в то время как PCT (при инфекционных процессах) синтезируется в печени, почках, мышцах, жировой ткани (а в норме – в щитовидной железе). Возможно, подобная «диверсификация» производства PCT в условиях

Таблица 1
Результаты статистического анализа

Показатель	PCT < 0,5 нг/мл (группа № 1)	PCT > 0,5 нг/мл (группа № 2)	Контрольная группа (группа № 3)	p (№ 1 и № 2)
	Mean ± Sd (St.err)			
NEUT-RI, FI	53,60 ± 5,76 (0,65)	59,10 ± 7,40 (1,26)	49,50 ± 2,60 (0,38)	0,000
NEUT-GI, SI	153,10 ± 6,57 (0,74)	156,20 ± 6,03 (1,00)	155,10 ± 4,55(0,66)	0,026
С-реактивный белок, мг/л	74,20 ± 76,50 (8,66)	214,40 ± 101,50 (17,40)	7,70 ± 13,17(2,44)	0,000
Ферритин, мкг/л	618 ± 487 (63)	970 ± 521 (139)	–	0,027
Лактатдегидрогеназа, Ед/л	449 ± 225 (32)	390 ± 203 (46)	–	0,327

Примечание: что касается контрольной выборки (группа № 3), то межгрупповые различия статистически значимы, за исключением NEUT-GI (с группой № 2).

«метаболического коллапса» и относительная независимость параметра от «белок-синтезирующей» функции печени обуславливают более высокие прогностические возможности PCT по сравнению с С-реактивным белком в плане альтернативного прогноза (нет сепсиса / есть сепсис).

Далее мы проанализировали лабораторные данные при PCT ниже 0,5 нг/мл (группа № 1), PCT выше 0,5 нг/мл (группа № 2), а также контрольной группы (группа № 3). В *таблице 1* представлены результаты статистического анализа.

Согласно полученным данным, у лиц контрольной группы (группа № 3), значения показателей NEUT-RI и С-реактивного белка статистически значимо меньше ($p < 0,05$), чем у пациентов с коронавирусной инфекцией (группы № 1 и 2). По параметру NEUT-GI контрольная выборка достоверно не различается только от пациентов группы № 1 (PCT ниже 0,5 нг/мл) ($p > 0,05$). По сравнению с больными с сепсисом (PCT выше 0,5 нг/мл) гранулярность нейтрофилов в группе сравнения статистически значимо меньше ($p < 0,05$).

Относительно результатов статистического анализа пациентов с коронавирусной инфекцией (*табл. 1*) установлено отсутствие достоверности различий активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ). То есть, согласно нашим данным, ЛДГ неинформативно при лабораторного мониторинге. В группе № 1 (PCT выше 0,5 нг/мл – вероятно, сепсис) по сравнению с группой № 1 (PCT ниже 0,5 нг/мл – вероятно, нет сепсиса) достоверно выше ($p < 0,05$) показатели реактивности ($59,10 \pm 1,26$ FI) и гранулярности нейтрофилов ($156,2 \pm 1,0$ SI), а также уровни С-реактивного белка ($214,4 \pm 17,4$ мг/мл) и ферритина (970 ± 139 мкг/л).

В подтверждение к вышесказанному *рисунок 1* демонстрирует плотности вероятности показателя NEUT-RI в трех анализируемых группах: 1) PCT ниже 0,5 нг/мл; 2) PCT выше 0,5 нг/мл; 3) контрольная группа. Из рисунка мы видим, что купола аппроксимирующих функций разошлись. Наиболее вероятное значение NEUT-RI в контрольной

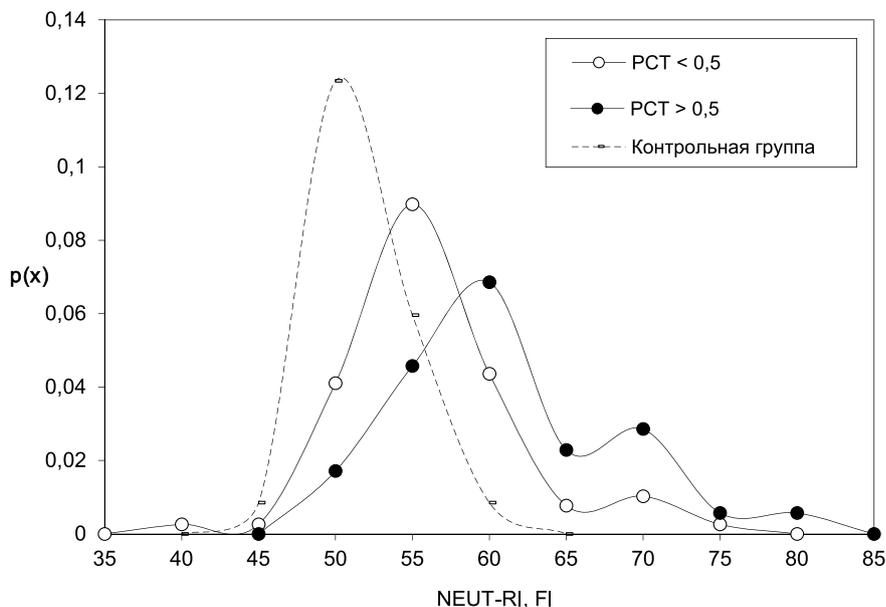


Рисунок 1. Функции плотности вероятности показателя NEUT-RI.

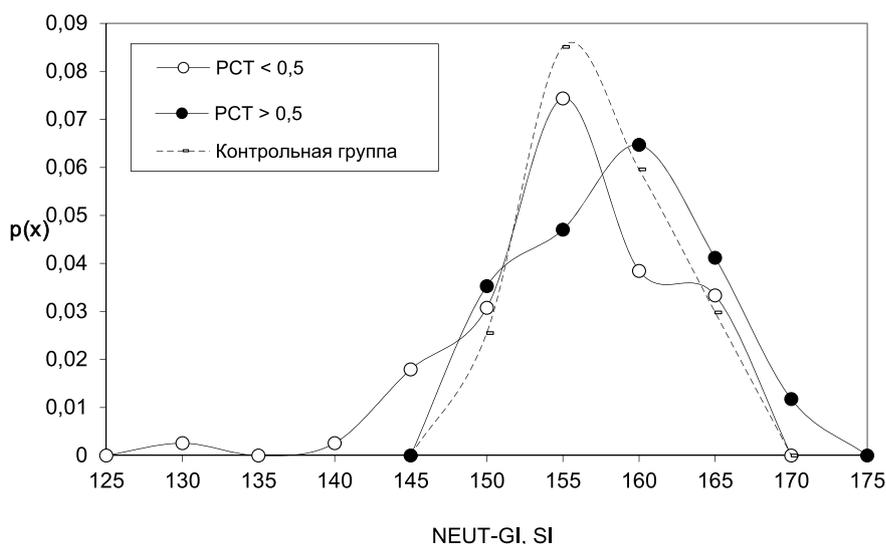


Рисунок 2. Функции плотности вероятности показателя NEUT-GI.

группе – около 50 FI, у пациентов с коронавирусом (PCT ниже 0,5 нг/мл – «нет сепсиса») – 55 FI, у больных с сепсисом (PCT выше 0,5 нг/мл, группа № 2) – 60–70 FI.

Что касается функций плотности вероятности NEUT-GI, то здесь, в соответствии с *рисунок 2*, в диапазоне значения показателя 145–170 FI исключена возможность однозначной классификации. В группе № 1 (PCT ниже 0,5 нг/мл) и контрольной выборке (группа № 3) – наиболее вероятное значение показателя 153 SI; в группе № 2 (PCT выше 0,5 нг/мл) – 163 SI. При этом в соответствии с *рисунок 2* вероятность значения NEUT-GI < 145 SI при коронавирусной инфекции равна нулю, а диапазон значений NEUT-GI > 165 SI соотносится с наличием сепсиса с вероятностью 100%.

Полученные выше данные дополнили результаты ROC-анализа (*табл. 2*). Установлено, что показатель реактивности нейтрофилов (NEUT-RI) обладает удовлетворительными классифицирующими свойствами при заданном условии (уровень прокальцитонина 0,5 нг/мл – дискриминационная точка, cut off). Согласно полученным данным, при cut off NEUT-RI = 56,9 FI наличие (отсутствие) сепсиса диагностируется с вероятностью 72%.

Таблица 2
Результаты Roc-анализа

Показатели	ROC _{AREA}	SE _{AREA}	SP, %	SE, %	Cut-off
NEUT-RI	0,72	0,05	62	83,5	56,9
NEUT-GI	0,63	0,06	73	52,0	156,3

Таблица 3
Вероятностный анализ по показателю NEUT-RI (наличие/отсутствие сепсиса) у пациентов с коронавирусной инфекцией

NEUT-RI (диапазон значений)	Процент пациентов	PCT < 0,5 (группа № 1), %	PCT > 0,5 (группа № 2), %
35–45	1,8	100,0	0,0
45–55	49,5	68,0	32,0
55–60	31,9	53,8	46,2
60–65	6,2	34,0	66,0
65–75	10,6	23,0	77,0

Таблица 4
Вероятностный анализ по показателю NEUT-GI (наличие/отсутствие сепсиса) у пациентов с коронавирусной инфекцией

NEUT-GI (диапазон значений)	Процент пациентов	PCT < 0,5 (группа № 1), %	PCT > 0,5 (группа № 2), %
Менее 145	5,9	100,0	0,0
145–150	15,9	65,6	34,4
150–155	32,7	48,7	51,3
155–160	23,0	42,1	57,9
Более 165	22,5	44,5	55,4

Показатель NEUT-RI показал себя как высокочувствительный (SE = 83,5%), но низкоспецифичный (SP = 62,0%) маркер системного воспаления. Иными словами, значение NEUT-RI $\geq 56,9$ Fl редко пропускает сепсис (в 16,5% случаев), но в то же время с 38%-ной вероятностью соотносится с септическим состоянием пациентов без бактериемии. Последнее обстоятельство объясняется весьма просто. Увеличение NEUT-RI может быть обусловлено применением гормонов в условиях цитокинового шторма и, как следствием, стимуляцией гранулоцитарного роста эритропоэза. На фоне пульс-терапии стероидными гормонами продукция нейтрофилов костным мозгом резко возрастает и в периферическое кровяное русло поступают в том числе незрелые формы, характеризующиеся высокой метаболической активностью.

Относительно NEUT-GI, результаты ROC-анализа трудно назвать высокорезультативными. Несмотря на то что специфичность показателя гранулярности нейтрофилов на 11% выше, чем показателя реактивности (73%), итоговая результирующая нивелируется недостаточно высокой площадью под кривой ROC_{AREA} 0,63 (что означает 63% верно классифицированных случаев). С позиций ROC-анализа, значения параметра NEUT-GI не информативны для принятия клинического решения.

В целом полученные посредством ROC-анализа результаты чувствительности и специфичности, касающиеся показателей NEUT-RI и NEUT-GI, далеки от 100-процентных. Они и не могут быть иными. Ведь процессы в организме нелинейны. Например, согласно данным индивидуального анализа, у 20% пациентов с уровнем прокальцитонина выше 0,5 нг/мл (среднее значение $3,80 \pm 1,84$ нг/мл) зарегистрирована активность С-реактивного белка меньше 100 мг/л ($67,9 \pm 10,8$ мг/л) при уровне ферритина 766 ± 199 мкг/л. У одного пациента и вовсе концентрация ферритина была в границах общепринятых нормативов

(168 мкг/л) при уровне прокальцитонина 1,63 нг/мл. Вероятно, здесь и в других подобных случаях речь идет о аферментемии (как результате эндогенного голодания?).

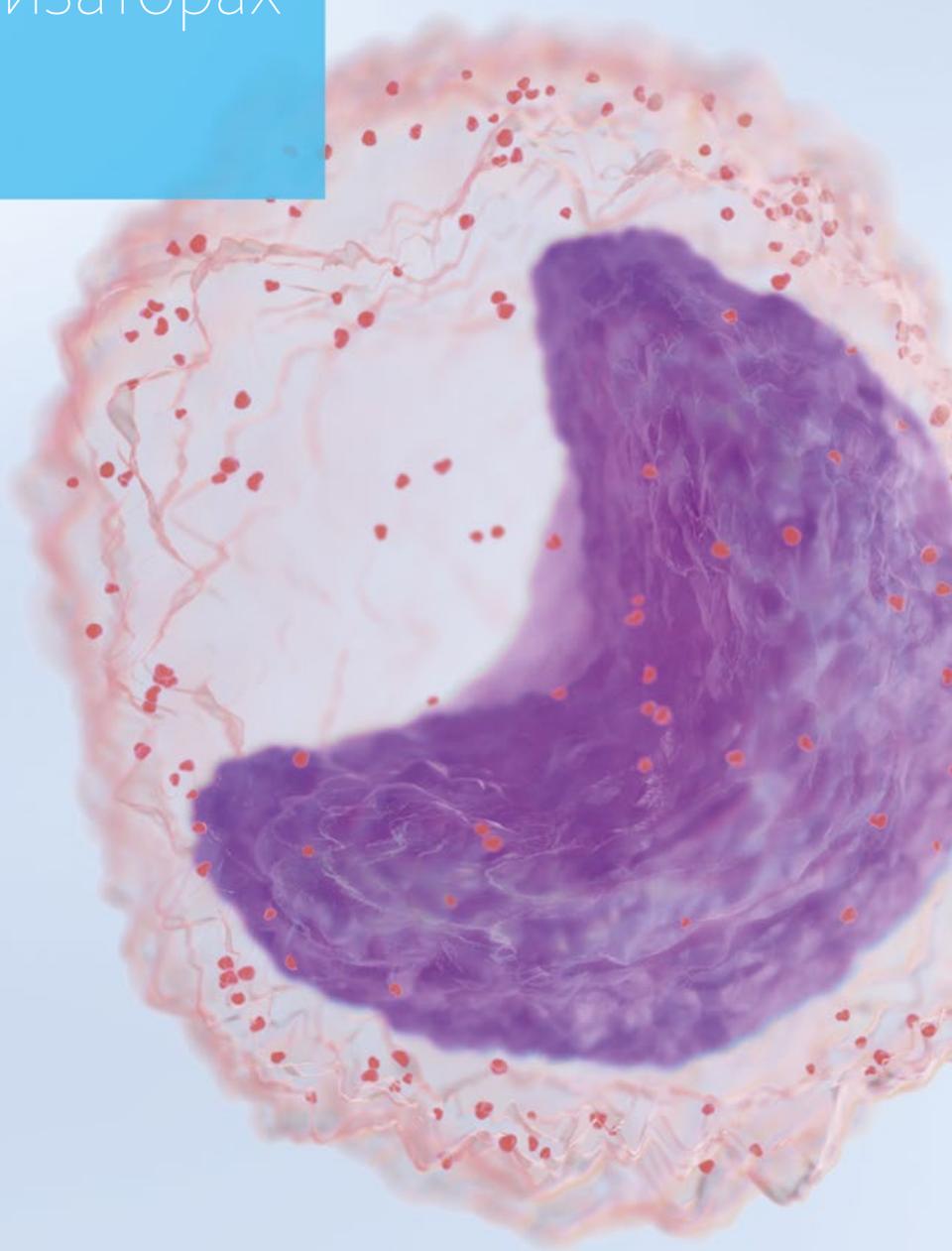
Врачи-реаниматологи знают, что летальные исходы зачастую регистрируются на приемлемом метаболическом фоне пациента (по крайней мере по традиционным показателям). Поэтому, анализируя лабораторные данные, врач имеет дело, по сути, с вероятностью наличия или отсутствия того или иного состояния.

Именно на вероятностном подходе хотелось бы акцентировать дальнейшее внимание. Мы рассчитали количественные диапазоны NEUT-RI и NEUT-GI при наличии/отсутствии сепсиса (PCT < 0,5 / PCT > 0,5). Данные представлены в *таблицах 3 и 4*.

Установлено (*табл. 3*), что диапазон NEUT-RI 35–45 Fl соотносится только с пациентами без бактериемии (100%). В количественном интервале NEUT-RI 45–55 Fl вероятность отсутствия сепсиса равна 68%. В диапазоне значений показателя NEUT-RI 60–75 Fl вероятность сепсиса высока: 66–77%. На основании только значения гематологического параметра NEUT-RI, анализируя процент пациентов с тем или иным значением показателя (столбец 2, *табл. 3*), мы можем с достаточной долей уверенности предполагать отсутствие системного воспалительного процесса у 51,3% пациентов и наличие сепсиса у 16,8% больных. Таким образом, динамический мониторинг показателя NEUT-RI, который выполняется в рутинном режиме анализатора Sysmex XN (всем без исключения пациентам), дает дополнительную информацию врачу-клиницисту, дополняющую, а порой заменяющую комплекс биохимических исследований. На основании значения NEUT-RI (столбец 2, *табл. 3*) можно классифицировать 12,4% (1,8 + 10,6%) пациентов по наличию отсутствию сепсиса с вероятностью более чем 77%. Еще у 55,7% пациентов (49,5 + 6,2%) альтернативные прогнозы можно предположить с вероятностью 66% и более. Диапазон значений NEUT-RI 55–60 Fl является серой зоной, в которой как наличие сепсиса, так и его отсутствие равновероятны.

Точная оценка левого сдвига на анализаторах XN и XN-L

- Высококочувствительное флагирование для выявления образцов с повышенным содержанием палочкоядерных нейтрофилов.
- Подсчёт абсолютного и относительного количества незрелых гранулоцитов в каждом образце без необходимости пересчёта.
- Инновационные биомаркеры бактериальной инфекции и сепсиса, оценивающие внутриклеточную структуру нейтрофилов.



Что касается NEUT-GI, то здесь результаты менее оптимистичны. При NEUT-GI < 145 SI в 100% случаев сепсиса нет. В диапазоне 145–150 SI вероятность отсутствия сепсиса в два раза выше (65,6%), чем его наличия (34,4%). В интервале значений NEUT-GI > 150 SI как наличие сепсиса, так и его отсутствие практически равновероятны. Таким образом, в соответствии с полученными данными, в рамках вероятностного анализа, диагностически значим только интервал значений NEUT-GI < 150 SI (21,8% пациентов). Именно в нем с вероятностью 65,6% можно предполагать отсутствие сепсиса. Очевидно, вероятность ниже 70,0% не удовлетворяет врача-клинициста. Поэтому из двух проанализированных гематологических маркеров (NEUT-RI и NEUT-GI) большая и даже высокая информативную ценность связана с параметром метаболической активности нейтрофилов NEUT-RI. При решении чисто технического вопроса выгрузки показателя в информационную лабораторную систему лечащий врач в режиме общего анализа крови (CBC + Diff) получил бы в руки маркер дополняющий, а порой заменяющий исследование уровня прокальцитонина (актуально в свете жестких экономических реалий).

Выводы

1. У пациентов с коронавирусной инфекцией при низких значениях прокальцитонина (PCT ниже 0,5 нг/мл – вероятно, нет сепсиса) регистрируется корреляция средней силы между СРБ и прокальцитонином. При PCT более 0,5 нг/мл (вероятно, сепсис) статистически значимая математическая взаимосвязь между аналогичными биохимическими маркерами утрачивается.
2. Определение активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) неинформативно в аспекте выявления инфекционного процесса у пациентов с коронавирусной инфекцией.
3. В плане классификации пациентов с коронавирусной инфекцией на наличие или отсутствие сепсиса (cut off по PCT = 0,5 нг/мл) установлены более высокие диагностические возможности гематологического показателя реактивности нейтрофилов (NEUT-RI) по сравнению с параметром гранулярности нейтрофилов (NEUT-GI). В соответствии с результатами Рос-анализа значение параметра NEUT-RI = 56,9 FI является дискриминационной точкой, выше которой сепсис диагностируется с 72,0%-ной вероятностью (специфичность 62,0%, чувствительность 83,5%).
4. В соответствии с итогами вероятностного анализа (дискриминационная точка PCT = 0,5 нг/мл) и на основании значений гематологических маркеров NEUT-RI

и NEUT-GI установлены интервалы значений показателей, в которых альтернативные прогнозы (наличие или отсутствие сепсиса) высоковероятны.

5. В рутинном режиме работы гематологического анализатора на основании значения параметра NEUT-RI, получаемом с помощью гематологического анализатора Sysmex XN, у 12,4% пациентов с высокой вероятностью (77%) можно констатировать наличие или отсутствие сепсиса. Таким образом, у части больных с коронавирусной инфекцией показатель реактивности нейтрофилов (NEUT-RI) может дополнить, а возможно, и заменить измерение уровня прокальцитонина.
6. Наличие или отсутствие бактериального инфицирования (альтернативные прогнозы) у пациентов с коронавирусной инфекцией носит вероятностный характер. Чем выше вероятность, тем больше оснований у врача для принятия клинического решения.

Список литературы / References

1. Koozia H., Lengquistab M., Frigyesi A. C-reactive protein as a prognostic factor in intensive care admissions for sepsis: A Swedish multicenter study. *Journal of Critical Care*. 2019; (56): 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2019.12.0095>
2. Lelubre C., Anselin S., Zouaoui Boudjeltila K. et al. Interpretation of C-reactive protein concentrations in critically ill patients. *Biomed Res Int* 2013; (7): 124021. <https://doi.org/10.1155/2013/124021>
3. Biller K., Fae P., Germann R. et al. Cholesterol rather than procalcitonin or C-reactive protein predicts mortality in patients with infection. *Shock*. 2014; (42): 129–32. <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000187>
4. Schuetz P., Albrich W., Mueller B. Procalcitonin For Diagnosis of Infection and Guide. *BMC Medicine*. 2011; (9): 107. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-107>
5. Schuetz P., Chiappa V., Briel et al. Procalcitonin algorithms for antibiotic therapy decisions: a systematic review of randomized controlled trials and recommendations for clinical algorithms. *Archives of Internal Medicine*. 2011; 171 (15): 1322–1331. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2011.318>
6. Волкова И. А. Лабораторные маркеры сепсиса. Справочник заведующего КДЛ. 2020; (11): 38–47.
Volkova I. A. Laboratory markers of sepsis. *Handbook of the head of the CDL*. 2020; (11): 38–47.
7. Comet E., Boubaya M., Troussard X. Contribution of the new XN-1000 parameters NEUT-RI and NEUT-WY for managing patients with immature granulocytes. *Int J Lab Hematol*. 2015; 37 (5): e123–6. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12372>
8. Устьянцева И. М., Хохлова О. И., Голошумов Н. П., Агаджанян В. В. Инновационные лабораторные технологии в диагностике сепсиса. *Политравма*. 2018; (1): 52–59.
Ustyantseva I. M., Khokhlova O. I., Goloshumov N. P., Agadzhanyan V. V. Innovative laboratory technologies in the diagnosis of sepsis. *Polytrauma*. 2018; (1): 52–59.
9. Linssen J., Anthony Ermens A., Marvin Berrevoets M. et al. A novel haemocytometric COVID-19 prognostic score developed and validated in an observational multicentre European hospital-based study. *Elife*. 2020; 26 (9): e63195. <https://doi.org/10.7554/eLife.63195>
10. Барановская И. Б., Онищук С. А. Использование вероятностного подхода для скрининговой диагностики анемических состояний. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2008 (№ 3–4): 82–86.
Baranovskaya I. B., Onischuk S. A. Using a probabilistic approach for screening diagnostics of anemic conditions. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2008 (No. 3–4): 82–86.

Статья поступила / Received 01.10.2021
Получена после рецензирования / Revised 05.10.2021
Принята в печать / Accepted 05.10.2021

Сведения об авторах

Барановская Ирина Борисовна, к. б. н., биолог.
E-mail: irina.baranovskaya@yandex.ru. ORCID 0000-0002-6188-1548
Сысоева Ирина Петровна, биолог, зав. клинико-диагностической лабораторией. E-mail: sysoeva_ip@mail.tu. ORCID 0000-0002-0430-0241

ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» Минздрава Краснодарского края, г. Краснодар

Corresponding author: Барановская И. Б., E-mail: irina.baranovskaya@yandex.ru

About authors

Baranovskaya Irina B., PhD Bio Sci, biologist. E-mail: irina.baranovskaya@yandex.ru. ORCID 0000-0002-6188-1548
Sysoeva Irina P., biologist, head of Clinical Diagnostic Laboratory. E-mail: sysoeva_ip@mail.tu. ORCID 0000-0002-0430-0241

Regional Clinical Hospital No. 2, Krasnodar, Russia

Corresponding author: Baranovskaya I. B. E-mail: irina.baranovskaya@yandex.ru

Для цитирования: Барановская И. Б., Сысоева И. П. Диагностическая значимость новых гематологических показателей при коронавирусной инфекции. *Медицинский алфавит*. 2021; (30): 12–18. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-12-18>

For citation: Baranovskaya I. B., Sysoeva I. P. Diagnostic significance of new hematological parameters in coronavirus infection. *Medical alphabet*. 2021; (30): 12–18. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-12-18>



Лекарственно-индуцированный агранулоцитоз (клиническое наблюдение)

Н. А. Соколова¹, Л. В. Позднякова², И. С. Татарина²

¹ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва

²ФГБУЗ «Медико-санитарная часть № 152 Федерального медико-биологического агентства», Московская обл., г. Дзержинский

РЕЗЮМЕ

Большинство нейтропений у взрослых и детей старшего возраста связано с приемом лекарственных препаратов, например нестероидных противовоспалительных или антирейдных средств, антибиотиков и др. В статье представлено клиническое наблюдение: развитие агранулоцитоза у 67-летней пациентки, лечившейся комбинацией нестероидных противовоспалительных препаратов (метамизол натрия и нимесулид). Агранулоцитоз успешно удалась купировать применением рекомбинантного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора. Метамизол натрия используется в клинической практике с 1922 года как анальгезирующее и антипиретическое средство, однако редкие случаи агранулоцитоза продолжают регистрироваться, и при назначении данного лекарства следует помнить об этом серьезном побочном эффекте метамизола натрия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нейтропения, лекарственно-индуцированный агранулоцитоз, агранулоцитоз, метамизол натрия, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, побочные эффекты лекарств.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Drug-induced agranulocytosis (clinical observation)

N. A. Sokolova¹, L. V. Pozdnyakova², I. S. Tatarinova²

¹Russian National Research Medical University n.a. N.I. Pirogov, Moscow, Russia

²Medical and Sanitary Unit No. 152 of the Federal Medical and Biological Agency, Moscow Region, Dzerzhinsky, Russia

SUMMARY

The majority of agranulocytosis cases are caused by drugs, including nonsteroidal anti-inflammatory drugs, antibiotics, antithyroid agents, etc. Here, we report a case of severe agranulocytosis in a 67-year-old woman following nonsteroidal anti-inflammatory therapy which was successfully managed using recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. Although metamizole, has been in use since 1922 in the management of postoperative pain, colic pain, cancer pain and migraine, agranulocytosis as a direct side effect of metamizole therapy has been rarely reported. It is important to keep in mind this rare but potentially life-threatening adverse effect of metamizole, when initiating therapy.

KEY WORDS: neutropenia, agranulocytosis, drug-induced agranulocytosis, neutropenia non-chemotherapy drugs, granulocyte colony-stimulating factor, metamizole, adverse drug reaction.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Введение

Агранулоцитоз, или тяжелая нейтропения, – это жизнеугрожающее состояние, при котором концентрация нейтрофилов в периферической крови снижается менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$ [1]. Механизмы развития приобретенной нейтропении (в том числе и крайнего ее варианта – агранулоцитоза) включают нарушение продукции гранулоцитов или их разрушение. Приобретенная нейтропения, индуцированная лекарственными средствами (химиопрепараты мы в данной публикации рассматривать не будем), встречается весьма часто в педиатрической и терапевтической практике [2]. Многие лекарственные препараты или их метаболиты, выступая в роли гаптен, опосредуют разрушение нейтрофилов или их предшественников иммунной системой [2]. Точная частота встречаемости агранулоцитоза лекарственного генеза неизвестна [1], приблизительно оценивается на уровне 1,1–4,9 новых случаев на 1 миллион человек в год [3].

Наибольший риск развития данного тяжелого осложнения у лиц пожилого возраста, что нередко связано с полипрагматией в этом возрастном периоде.

Клиническое наблюдение

Пациентка Ц., 67 лет, пенсионерка, поступила в июле 2020 года в гематологическое отделение ФГБУЗ «МСЧ № 152 ФМБА» с жалобами на слабость, боли в суставах кистей и стоп, а также коленных и локтевых. Больная была направлена в гематологическое отделение в связи с ухудшением самочувствия, панцитопенией на амбулаторном этапе для проведения обследования и верификации диагноза. На момент поступления у больной температура тела нормальная, вечером в день поступления начало лихорадки – подъем температуры до $37,5^\circ\text{C}$, далее несколько дней температура тела пациентки держалась на уровне $37,8\text{--}38,2^\circ\text{C}$.

Пациентка Ц. страдает ревматоидным артритом с 2011 года, с 2015 года – гипертоническая болезнь II стадии, хронический хеликобактерассоциированный гастродуоденит. В 2017 году в течение 3 месяцев принимала метотрексат с положительным клиническим эффектом, но в дальнейшем прекратила его прием по собственной инициативе. Боли в суставах возобновились, больная лечилась самостоятельно, используя для купирования

приступов комбинацию препаратов: метилпреднизолон в дозе 4 мг в сутки, нимесулид, метамизол натрия. В марте 2020 года у больной – ухудшение состояния (выросли интенсивность болей и скованность суставов), что заставило ее обратиться за медицинской помощью. В этот же период впервые было выявлено снижение уровня лейкоцитов до $2 \times 10^9/\text{л}$. В мае 2020 года было отмечено дальнейшее падение числа лейкоцитов до $1,2 \times 10^9/\text{л}$, а также уменьшение количества тромбоцитов до $164 \times 10^9/\text{л}$ относительно индивидуальной нормы. В июне 2020 года пациентка была проконсультирована гематологом, в ходе дополнительного лабораторного обследования был выявлен только незначительный дефицит фолиевой кислоты. Дальнейшее резкое ухудшение показателей периферической крови (лейкоциты – $0,6 \times 10^9/\text{л}$, тромбоциты – $121 \times 10^9/\text{л}$, гемоглобин – 108 г/л) потребовало в первую очередь исключения у пациентки онкогематологической патологии, что и привело к госпитализации.

Данные общего анализа крови (ОАК) при поступлении в стационар (исследование было выполнено с помощью 5-diff-гематологического анализатора Sysmex XN-L и методом световой микроскопии окрашенных мазков периферической крови): гемоглобин – 100,0 г/л; эритроциты – $3,62 \times 10^{12}/\text{л}$; МСН = 27,6 пг; MCV – 82,6 фл, RDW – 14,2%; лейкоциты – $1,0 \times 10^9/\text{л}$; тромбоциты – $178 \times 10^9/\text{л}$; ретикулоциты – 0,6%; СОЭ – 35 мм/ч (выполнено микрометодом Панченкова).

Лейкоцитарная формула: палочкоядерные нейтрофилы составили 6%; сегментоядерные нейтрофилы – 17%; эозинофилы – 0%; базофилы – 0%; лимфоциты – 67%; моноциты – 10%. Абсолютное число нейтрофилов – $0,17 \times 10^9/\text{л}$, а лимфоцитов – $0,67 \times 10^9/\text{л}$, что соответствует состоянию агранулоцитоза и наличию абсолютной лимфопении.

Было выполнено ультразвуковое исследование органов брюшной полости и различных групп лимфатических узлов. Были выявлены: умеренное увеличение селезенки – $13,2 \times 4,9$ см; признаки хронического калькулезного холецистита; диффузные признаки изменения паренхимы поджелудочной железы.

Сразу же при поступлении пациентке была выполнена пункция костного мозга. Заключение по данным миелограммы: пунктат нормоклеточный (число миелокариоты – $58,6 \times 10^9/\text{л}$); состав – полиморфный; бластные

клетки составили 2%, гранулоцитарный росток сохранен, созревание нейтрофилов резко задержано (индекс созревания нейтрофилов равен 7,6), нейтрофильный росток был представлен в основном нейтрофильными миелоцитами; эритроидный росток сохранен; эритропоэз нормобластический; задержка созревания эритрокариоты на полихроматофильных формах; мегакариоты – достаточное количество ($20 \times 10^6/\text{л}$), функциональная активность сохранена; клетки злокачественных новообразований не обнаружены.

У пациентки Ц. также было обнаружено повышение концентрации С-реактивного белка (30 мг/л) и уровня ревматоидного фактора (43 МЕ/мл), а также гамма-глутамилтранспептидазы до 456 Ед/л.

У больной Ц. выявлена нормохромная нормоцитарная анемия. На основании результатов исследования обмена железа, наличия у пациентки аутоиммунной патологии в активной фазе длительное время, повышения уровня воспалительных маркеров, было сделано заключение о развитии у нее анемии хронических заболеваний.

Были выполнены неоднократные посевы крови и мочи больной Ц., но результаты микробиологических исследований были отрицательными.

Наиболее вероятно, у пациентки Ц. развился лекарственно-индуцированный агранулоцитоз, вызванный длительным приемом метамизола натрия.

Больной была проведена антибактериальная и противогрибковая терапия (цефтриаксон 2 г в сутки в течение недели, далее ципрофлоксацин 1 г в сутки в течение недели, флуконазол 150 мг в сутки в течение 10 дней), на 5-й день госпитализации начата стероидная терапия (преднизолон в дозе 60 мг в сутки в течение 10 дней, затем дексаметазон в дозе 16 мг в сутки в течение 3 дней). Несмотря на проводимую терапию, в течение 7 дней не было положительной динамики, было принято решение о присоединении к лечебной схеме рекомбинантного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (pГ-КСФ, филграстима). Данный препарат вводился подкожно в дозе 600 мг в сутки в течение 3 дней, затем в дозе 300 мг в сутки в течение 7 дней. Отчетливый положительный результат был получен через 10 дней лечения pГ-КСФ (табл. 1): максимальный подъем концентрации лейкоцитов был зарегистрирован 24.07.2020 – $9,4 \times 10^9/\text{л}$, а 27.07.2020 наблюдался кратковременный подъем уровня

Таблица 1
Динамика изменений ряда гематологических показателей в ходе лечения пациентки Ц.

Дата	Гематологические показатели						
	WBC, $\times 10^9/\text{л}$	NEU, $\times 10^9/\text{л}$	LYM, $\times 10^9/\text{л}$	MON, $\times 10^9/\text{л}$	PLT, $\times 10^9/\text{л}$	HGB, г/л	СОЭ, мм/ч
10.07.20	1,0	0,18	0,67	0,1	178	100	35
17.07.20	2,0	1,64	0,28	0,08	232	101	38
27.07.20	9,4	7,89	1,22	0,28	105	102	10
03.08.20	8,54	7,56	0,67	0,17	173	100	11

Примечание: 10.07.2020 – поступление в стационар, 17.07.2020 – начало терапии pГ-КСФ, 27.07.20 – 10-й день терапии pГ-КСФ, 03.08.2020 – выписка из стационара; WBC – концентрация лейкоцитов, NEU – концентрация нейтрофилов, LYM – концентрация лимфоцитов, MON – концентрация моноцитов, PLT – концентрация тромбоцитов, HGB – концентрация гемоглобина, СОЭ – скорость оседания эритроцитов.

лимфоцитов до $1,22 \times 10^9/\text{л}$, однако впоследствии их количество вновь снизилось. На фоне подобранной терапии, включая рГ-КСФ, состояние больной улучшилось: нормализовалась температура, значительно регрессировали боли в суставах. Значительное уменьшение интенсивности воспалительного процесса подтверждено падением концентрации маркеров острой фазы воспаления (табл. 2) и уровня ревматоидного фактора.

На 18-й день лечения показатели периферической крови стабилизировались, но сохранились анемия легкой степени тяжести и лимфопения, и пациентка Ц. была выписана из стационара с рекомендацией контролировать параметры ОАК раз в неделю, продолжать лечение по предложенной схеме под контролем ревматолога и гематолога в амбулаторных условиях, избегать приема препаратов, которые могут индуцировать развитие цитопений.

Обсуждение

Пожилые пациенты, нередко одновременно получающие пять и более лекарственных препаратов, представляют собой группу риска в плане развития лекарственно-индуцированного агранулоцитоза [3]. Дополнительным фактором, увеличивающим опасность неблагоприятных побочных реакций лекарств, является распространенное в настоящее время самолечение пациентов. Отмена назначенных специалистами препаратов, произвольная их замена, введение дополнительно других препаратов, в том числе витаминов, биологически активных добавок, может привести к развитию тяжелых осложнений, в частности со стороны системы кроветворения.

- 72% всех нейтропений у взрослых и детей старшего возраста связаны с приемом лекарственных средств [4]. Основные причины развития лекарственной нейтропении:
- прямое цитотоксическое действие препарата на клетки-предшественники в костном мозге и вследствие этого задержка вызревания клеток в значительной степени нейтрофильного ряда в костном мозге, уменьшение образования нейтрофилов;
- повышение деструкции нейтрофилов либо их клеток-предшественников, наиболее часто это происходит с включением иммунного механизма – образуются антитела к лекарственным препаратам, которые имеют перекрестную специфичность к некоторым антигенам на поверхности нейтрофилов, а также лекарство или его метаболиты может выступать в роли гаптена [5, 6].

Препараты многих групп могут приводить к развитию нейтропении, а некоторые лекарства обуславливают развитие гипо- или апластической анемии (табл. 3). Это следует учитывать при введении в схему лечения пациентов новых препаратов, для которых известен такой побочный эффект, контролируя состояние системы кроветворения с помощью ОАК. Нейтропения развивается в среднем на 15-е сутки от момента начала приема медикамента [6]. Согласно другим данным, нейтропения, связанная с приемом лекарств, непредсказуема и чаще

Таблица 2
Динамика изменения ряда лабораторных показателей у пациентки Ц. в ходе лечения

Дата	СОЭ, мм/ч	СРБ, мг/л	РФ, МЕ/мл
10.07.2020	35	30	43
16.07.2020	38	28	40
24.07.2020	18	20	18
03.08.2020	11	1,82	18

Примечание: СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СРБ – С-реактивный белок, РФ – ревматоидный фактор.

Таблица 3
Лекарственные средства, вызывающие нейтропению [1, 2, 5, 6, 7, 8]

Группы лекарственных средств	Пример
Нестероидные противовоспалительные средства	Метамизол натрия, ибупрофен, индометацин, сулиндак, ацетилсалициловая кислота, амидопирин, сульфасалазин, фенилбутазон
Противосудорожные препараты	Производные вальпроевой кислоты, карбамазепин, диазепам, фенитоин, клоназепам, этосуксимид
Антибиотики	Сульфаниламиды, пенициллины, цефалоспорины, линкозамиды, этамбутол, макролиды, хлорамфеникол, сульфаметоксазол + триметоприм, ванкомицин, дапсон
Противовирусные препараты	Зидовудин, ацикловир
Противогельминтные средства	Мебендазол, левamisол
Противогрибковые средства	Гризеофульвин, амфотерецин В, флуцитозин
Психотропные средства, нейролептики	Клозапин, галоперидол, фенотиазин, трициклические и тетрациклические антидепрессанты, мепробамат, кокаин, героин
Антиревматоидные препараты	Тиамазол, пропилютиоурацил
Сердечно-сосудистые средства	Прокаинамид, токаирид, флекаинамид, каптоприл, эналаприл, пропранолол, дипиридамола, дигоксин, гидралазин, метилдопа, нифедипин, пропafenон
Антигистаминные средства	Пипольфен, ранитидин
Средства, влияющие на обмен мочевой кислоты	Аллопуринол
Противоопухолевые гормональные средства	Тамоксифен
Диуретики	Спиронолактон, фуросемид, ацетазоламид
Дофаминомиметики	Леводопа
Фибраты	Базафибрат
Гипогликемические средства	Толбутамид
Хелаторы железа	Деферипрон
Противомаларийные препараты	Хлорохин, хинин, амодиахин

проявляется через 7–40 дней после отмены препарата [7]. Механизмы действия препаратов на систему кроветворения продолжают изучаться, например установлено, что нестероидные противовоспалительные средства вызывают супрессию клеток-предшественников в костном мозге, а также опосредуют иммунную деструкцию нейтрофилов [7]. Сульфаниламиды и пенициллины оказывают также ингибирующее воздействие на клетки костного мозга [7]. Воспроизведение эффектов действия препаратов в эксперименте затруднено, поскольку, вероятно, негативное воздействие оказывает не само лекарственное вещество, а один из его метаболитов, титр образующихся антител может быть очень низким, не определяющимся стандартными методами [1].

Для лечения пациентов с самыми разными заболеваниями широко используются противовоспалительные средства (аминофеназон, фенилбутазон, бутадиион, ацетилсалициловая кислота, индометацин и др.). К сожалению, препараты данной группы нередко применяются бесконтрольно, в рамках самолечения пациентами. На фоне их приема нередко развивается не только изолированная нейтропения, но и гипо- или апластическая анемия. Например, при приеме бутадииона частота возникновения лейкопении составляет 0,6%. Ацетилсалициловая кислота в высоких дозах также может вызвать нейтропению. В условиях *in vitro* показано, что ацетилсалициловая кислота угнетает образование гранулоцитарных колоний дозозависимым способом [5]. В данном случае, наиболее вероятно, причиной развития у пациентки Ц. агранулоцитоза стал прием метамизола натрия. Комбинация метамизола натрия с нимесулидом является небезопасной, поскольку известно, что токсичные свойства метамизола усиливаются в комбинации с другими нестероидными противовоспалительными средствами. При применении нимесулида также могут наблюдаться в очень редких случаях агранулоцитоз, тромбоцитопения, панцитопения. Механизм развития нейтропении, наиболее вероятно, иммунный в данном случае: гетероиммунные или перекрестной специфичности антитела разрушали циркулирующие нейтрофилы, поскольку клеточность костного мозга у пациентки Ц. была нормальной, гранулоцитарный росток сохранен и представлен преимущественно нейтрофильными миелоцитами, что подтверждает задержку созревания нейтрофилов и выход их в периферическую кровь (количество нейтрофилов в периферической крови было крайне мало). Такая картина костного мозга обычна у пожилых лиц с лекарственно-индуцированным агранулоцитозом – клеточность костного мозга чаще всего в пределах референтных интервалов или несколько снижена, нередко наблюдается блок созревания нейтрофилов на уровне миелоцитов [1]. Метамизол натрия используется в качестве анальгетика и антипиретика с начала 30-х годов XX века. Профиль безопасности у данного препарата хороший, но в то же время существует риск развития тяжелой нейтропении, в том числе с фатальными последствиями для пациента [8]. Риск развития метамизол-индуцированного агранулоцитоза

оценивается, согласно данным исследования в Швеции, как 1 к 1500 пролеченных метамизолом пациентов [8]. Механизм токсичности метамизола натрия изучен недостаточно. В работе D. Rudin с соавт. на клеточной линии HL60 (клетки-предшественники гранулоцитов) было установлено, что один из основных метаболитов метамизола натрия (N-метил-4-аминоантипирин) увеличивает цитотоксичность в отношении этих клеток продуктов деградации гемоглобина, содержащих Fe^{3+} . Фактически N-метил-4-аминоантипирин участвует в реакции, в ходе которой Fe^{3+} в продуктах деградации гемоглобина превращается в Fe^{2+} , а образующиеся промежуточные соединения повреждают клетки линии HL60 [9]. Существенным недостатком данного препарата является то, что поскольку он был внедрен в клиническую практику давно, то изучение его действия в рандомизированных плацебо-контролируемых слепых исследованиях не проводилось. Было выполнено исследование по оценке безопасности применения метамизола натрия по сравнению с плацебо и другими анальгетиками, но применялся препарат в условиях стационара и коротким курсом [10]. Безопасность препарата при длительном его применении в амбулаторных условиях не изучалась в клинических исследованиях, которые удовлетворяли бы современным требованиям [10].

Антибиотики применяются очень широко, используются врачами многих специальностей, поэтому клиницистам следует обратить внимание, что практически все группы этих лекарств (пенициллины, цефалоспорины, аминогликозиды, сульфаниламиды и др.) могут оказывать негативное действие на систему кроветворения. Назначение цефалоспоринов, особенно на длительный срок в высоких дозах, может вызвать нейтропению у 15% больных [5]. Левомецетин угнетает костномозговое кроветворение в дозозависимой степени [5]. Левамизол (антигельминтный препарат) вызывает нейтропению примерно у 10% пациентов [5]. Карбенициллин угнетает клетки-предшественницы гранулоцитопоэза.

При использовании в терапии противосудорожных препаратов в качестве побочного эффекта у пациентов также нередко развивается нейтропения [5].

Многие сердечно-сосудистые средства (каптоприл, метилдопа, хинидин, пропранолол, гипотиазид, диакарб и пр.), которые принимаются длительно или пожизненно, могут оказывать неблагоприятное воздействие на систему кроветворения. Например, при приеме каптоприла, оказывающего угнетающее воздействие на систему кроветворения, нейтропения наблюдается у 0,3% пациентов [5]. При лечении новокаиномидом у большинства пациентов образуются ядерно-специфические антитела, но тяжелые нейтропении возникают редко. Флекаинид (противоаритмический препарат) выступает в роли гаптена, связываясь с мембраной нейтрофилов, что обуславливает развитие гаптеноопосредованной нейтропении [5].

Препараты – производные фетотиазина (аминазин, тиоридазин, метеразин) могут вызвать развитие агранулоцитоза через 3–6 недель от начала приема [5].

Для устранения лекарственной нейтропении достаточно исключить препарат или уменьшить его дозу, в случае развития агранулоцитоза и высокого риска появления инфекционных осложнений рекомендуется использовать рГ-КСФ.

Заключение

Лекарственно-индуцированный агранулоцитоз является редким жизнеугрожающим заболеванием. Механизмы его развития остаются изученными недостаточно, но в то же время схемы лечения разработаны эффективные, которые привели к значительному снижению летальности в настоящее время. Порядка 30 лет назад летальность была от 10 до 30%, согласно данным различных европейских исследований, тогда как сейчас достигла уровня менее 5–10% [1]. Данная патология всегда требует мультидисциплинарного подхода, особенно у пожилых коморбидных пациентов, с обязательным привлечением к лечебному процессу гематолога, клинического фармаколога, гериатра и врача клинической лабораторной диагностики. Именно врач лабораторной диагностики должен оптимизировать план лабораторного обследования таких пациентов, поскольку проведение дифференциальной диагностики – сложная задача в данном случае и требуется проведение большого числа лабораторных исследований, из которых нужно выбрать те, которые будут наиболее информативны у конкретного больного.

Список литературы / References

1. Lorenzo-Villalba N., Alonso-Ortiz M.B., Maouche Y., Zulfiqar A.-A., and Andrés E. Idiosyncratic Drug-Induced Neutropenia and Agranulocytosis in Elderly Patients. *J. Clin. Med.* 2020; (9): 1808. <https://doi.org/10.3390/jcm9061808>
2. Клинические рекомендации по диагностике и лечению приобретенных нейтропений. Год утверждения 2018. <https://legalacts.ru/doc/klinicheskie-rekomendatsii-priobretennyye-neitropenii-utv-minzdravom-rossii/>
Clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of acquired neutropenia. Year of approval 2018. <https://legalacts.ru/doc/klinicheskie-rekomendatsii-priobretennyye-neitropenii-utv-minzdravom-rossii/>
3. Kubota Y., Wong T. Y. E. Severe drug-induced agranulocytosis successfully treated with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Case Rep. Med.* 2018; pp. 10–12. <https://doi.org/10.1155/2018/8439791>
4. Гематология / онкология детского возраста (под ред. Румянцевой А. Г. и Самочатовой Е. В.). М.: ИД МЕДПРАКТИКА-М. 2004; 792 с.
Pediatric Hematology / Oncology (ed. by Rumyantsev A. G. and Samochatova E. V.). M.: MEDPRACTICA-M. 2004; 792 p.
5. Алексеев Н. А. Клинические аспекты лейкопений, нейтропений и функциональных нарушений нейтрофилов. СПб.: Фолиант. 2002; 416 с.
Alekseev N. A. Clinical aspects of leukopenia, neutropenia and functional disorders of neutrophils. SPb.: Folio. 2002; 416 p.
6. Деордиева Е. А., Щербина А. Ю. Нейтропении в практике детского гематолога / онколога. *Онкогематология.* 2015; (1): 47–52.
Deordieva E. A., Shcherbina A. Yu. Neutropenia in the practice of a pediatric hematologist / oncologist. *Oncohematology.* 2015; (1): 47–52.
7. Юдина Н. Б., Брежнева Н. В. Изолированная нейтропения у детей: от педиатра к гематологу (обзор литературы). *Российский журнал детской гематологии и онкологии.* 2015; (1): 75–80.
Yudina N. B., Brezhneva N. V. Isolated neutropenia in children: from pediatrician to hematologist (literature review). *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology.* 2015; (1): 75–80.
8. Cismaru A. L., Grimm L., Rudin D., Ibañez L., Liakoni E., Bonadies N., Kreutz R., Hallberg P., Wadelius M.; EuDAC Collaborators, Haschke M., Largiadèr C. R., Amstutz U. High-Throughput Sequencing to Investigate Associations Between HLA Genes and Metamizole-Induced Agranulocytosis. *Front Genet.* 2020 Aug 21; (11): 951. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00951>
9. Rudin D., Lanzilotto A., Bachmann F., Housecroft C. E., Constable E. C., Drewe J., Haschke M., Krähenbühl S. Non-immunological toxicological mechanisms of metamizole-associated neutropenia in HL60 cells. *Biochem Pharmacol.* 2019; (163): 345–356. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2019.01.011>

Статья поступила / Received 04.03.21

Получена после рецензирования / Revised 18.03.21

Принята в печать / Accepted 25.03.21

Сведения об авторах

Соколова Наталья Александровна, к.м.н, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики факультета дополнительного постдипломного образования¹. E-mail: sokolova.naf@mail.ru. Scopus Author ID: 56523449300. ORCID: 000-0002-0323-086X.

Позднякова Людмила Васильевна, к.м.н, врач высшей категории, зав. гематологическим отделением². E-mail: polyuva1606@gmail.com

Татаринова Инна Степановна, зав. клинико-диагностической лабораторией². E-mail: kd1152@mail.ru

¹ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

²ФГБУЗ «Медико-санитарная часть № 152 Федерального медико-биологического агентства», Московская обл., г. Дзержинский

Автор для переписки: Соколова Наталья Александровна. E-mail: sokolova.naf@mail.ru

About authors

Sokolova Natalia A., PhD Med, associate professor at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics, Faculty of Additional Postgraduate Education¹. E-mail: sokolova.naf@mail.ru. Scopus Author ID: 56523449300. ORCID: 000-0002-0323-086X.

Pozdnyakova Lyudmila V., PhD Med, physician of superior expert category, head of Hematology Dept². E-mail: polyuva1606@gmail.com

Tatarinova Inna S., head of Clinical Diagnostic Laboratory². E-mail: kd1152@mail.ru

¹Russian National Research Medical University n.a. N.I. Pirogov, Moscow, Russia

²Medical and Sanitary Unit No. 152 of the Federal Medical and Biological Agency, Moscow Region, Dzerzhinsky, Russia

Corresponding author: Sokolova Natalia A. E-mail: sokolova.naf@mail.ru

Для цитирования: Соколова Н. А., Позднякова Л. В., Татаринова И. С. Лекарственно-индуцированный агранулоцитоз (клиническое наблюдение). *Медицинский алфавит.* 2021; (30): 19–23. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-19-23>

For citation: Sokolova N. A., Pozdnyakova L. V., Tatarinova I. S. Drug-Induced Agranulocytosis (clinical observation). *Medical alphabet.* 2021; (30): 19–23. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-19-23>



Возможности экспертно-аналитического подхода к оценке влияния витамина D на метаболизм костной ткани на основании определения витамин D – ассоциированных связей с показателями водно-электролитного обмена

А. В. Соломенников¹, С. Л. Богданова², А. И. Тюкавин¹, Н. А. Арсениев¹

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской травматологии и ортопедии имени Г. И. Турнера» Минздрава России, Санкт-Петербург

РЕЗЮМЕ

С использованием предложенного авторами метода математической и статистической обработки архивных данных результатов лабораторных исследований показателей электролитного обмена и остеомаркеров 82 пациентов в возрасте $9,90 \pm 0,55$ года с различной патологией костной системы определяли структурные изменения панели соотношений показателей электролитов (ПСЭ), связанных с динамикой значений витамина D. Полученные результаты сопоставляли с влиянием на ПСЭ динамики других определявшихся показателей. На основе полученных значений совпадения (ККр) структурных изменений в ПСЭ, соответствующих росту активности витамина D и ее изменений, характерных для роста других показателей, формировали комплекс связей факторов, ассоциированных с влиянием витамина D на ПСЭ в персонализированных данных. При этом установлено, что комплекс выявляемых витамин D – ассоциированных связей может существенно отличаться в отдельных случаях друг от друга. Эти отличия заключались в существовании различных проявлений активности витамина D в различных комбинациях с определявшимися аналитами, в том числе отражающими активность остеосинтеза и остеолитизиса и находящими свое описание в современной литературе. На основании этого авторы делают заключение, что использованный ими метод (экспертно-аналитическая система) позволяет выявлять отличающиеся функциональные связи динамики показателя витамина D в индивидуальных случаях с динамикой других показателей обмена костной ткани, что существенно расширяет информативность результатов лабораторного обследования пациента в определении ведущих комплексов реализации функциональной активности витамина. Представленные результаты обосновывают возможность создания и описания отличающихся образов витамин D – связанных изменений по лабораторным данным с последующим их использованием в дифференцированном опознании тех или иных расстройств костного обмена и (или) оценке эффективности применяемой терапии в каждом индивидуальном случае.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: витамин D, обмен костной ткани, экспертный анализ.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ФИНАНСИРОВАНИЕ. Конфликт интересов и источники финансирования отсутствуют.

Авторы подтверждают, что статья или ее части ранее не были опубликованы.

Expert-analytical approach to assessing activity of vitamin D based on determination of vitamin D associated links by indicators of water-electrolyte metabolism

A. V. Solomennikov¹, S. L. Bogdanova², A. I. Tyukavin¹, N. A. Arsenyev¹

¹Saint Petersburg State University of Chemistry and Pharmacy, Saint Petersburg, Russia

²National Medical Research Centre of Pediatric Traumatology and Orthopedics n.a. G.I. Turner, Saint Petersburg, Russia

SUMMARY

The authors used the proposed method of mathematical and statistical processing of laboratory data (indicators of electrolyte metabolism and osteomarkers) of archived data of 82 patients with various bone diseases aged 9.90 ± 0.55 years compared the structural changes in the panel of ratios of individual electrolytes and the influence of individual indicators on them in personalized data, on the basis of which a conclusion was made about a single mechanism of coinciding influences in the exchange of bone tissue. At the same time, it was found that the complex of associated links detected by the vitamin influence on the panel of electrolyte ratios may differ significantly in some cases from each other. These differences consisted in highly pronounced differences in the activity of vitamin D in relation to various components of osteosynthesis and osteolysis, which are described in the modern literature. On this basis, the authors conclude that the used method (analytical system) allows to identify the functional connections of the dynamics of the indicator of vitamin D in individual cases with the dynamics of other indicators of bone, which significantly expands the informativeness of the results of laboratory examination of the patient in determining the leading systems the implementation of functional activity of the vitamin. The presented results justify the possibility of creating and describing different images of vitamin D-related changes in the plasma electrolyte composition, followed by their use in the identification of certain disorders of calcium metabolism and/or evaluating the effectiveness of the therapy used in each individual case.

KEY WORDS: vitamin D, bone metabolism, expert analysis.

CONFLICT OF INTEREST AND FUNDING. The authors declare no conflict of interest or any financial support.

The authors confirm that the article or parts of it have not been previously published.

Введение

Прием различных фармакологических препаратов, включающих в свой состав различные формы витамина D, как вспомогательного средства в лечении и профилактике различной патологии опорно-двигательного аппарата, остается важным компонентом терапии этих заболеваний. Однако эффективность и безопасность лечения витамином D в индивидуальных случаях остается предметом научных дискуссий [1].

Это может быть связано с отсутствием у значительной части населения признаков клинических проявлений недостаточности витамина D, но появляющихся в результатах их обследования. Вместе с тем метод денситометрии, широко используемый специалистами в оценке обмена костной ткани, способный определять динамику ее плотности, с одной стороны, регистрирует отличия изменений в кости не ранее 3 месяцев, с другой – неспособен определить ведущие факторы, определяющие интенсивность синтеза / резорбции кости [2].

В то же время результаты клинико-лабораторного обследования не во всех случаях могут быть четко интерпретированы, поскольку динамика отдельных показателей маркеров костного метаболизма может однотипно меняться при отличающихся нарушениях в процессах остеогенеза [3].

Все вышеуказанное обосновывает актуальность продолжения совершенствования методов индивидуальной лабораторной диагностики нарушений обмена костной ткани и оценки эффективности проводимой терапии, в том числе с применением препаратов витамина D.

Целью настоящего исследования являлась оценка информативности персонифицированного определения витамин D – ассоциированных связей в комплексе определявшихся лабораторных показателей водно-электролитного обмена с использованием экспертно-аналитической системы как метода дифференциальной диагностики отличающихся механизмов реализации функциональной активности витамина D.

Материалы и методы исследования

Материал настоящего исследования основан на результатах обследования 82 пациентов (№ 1–82) с различной патологией опорно-двигательной системы, лечившихся в НИИ имени Г. И. Турнера (Санкт-Петербург) и имевших в истории болезни необходимый для анализа набор лабораторных показателей, отвечающих требованиям создания предлагаемой экспертно-аналитической системы.

Учитывая факт, что один и тот же патоген может при индивидуальных, отличающихся как внешних, так и внутренних, условиях приводить к различным по своему патогенезу патологическим процессам, и наоборот, при воздействии различных патогенов в конечном счете завершаться формированием близких функциональных расстройств, настоящая работа была посвящена возможности определения значимо отличающихся вариантов витамин D – ассоциированных комплексных связей при различных формах нозологии и проводимой терапии. Поэтому предлагаемый

анализ не предполагал распределения пациентов по нозологическим формам, так как выполнение последнего условия могло бы избирательно сужать число возможных отличающихся вариантов комплексных связей.

Сбор информации осуществлялся по архивным данным на основе случайной выборки. Средний возраст пациентов составил $9,90 \pm 0,55$ года. В основной массив включались пациенты, имевшие в истории болезни результаты исследования гемограммы (на аппарате XN 1000 Sysmex), электролитного состава плазмы: Na, K, CaO (Ca общего), Ca_i (Ca ионизированного), F (фосфатов), K_r (креатинина), Ur (мочевины) (определялись с использованием анализатора AVL9180 и AU 480 Beckman Coulter). Значения витамина D, паратиреоидного гормона (ПТГ), TP1NP, B-crossLaps и остеокальцина (ОК) определялись на анализаторе cobas e411 (Roche Diagnostics) с использованием реактивов производителя.

Статистическая обработка полученных материалов

Алгоритм математического метода, использованного в обработке и анализе индивидуальных лабораторных данных, предполагает установление статистически значимого совпадения между отличительными особенностями деформации панели соотношений электролитов (ПСЭ; по ПСЭ) при росте/снижении значений отдельных определявшихся показателей [4].

В настоящей работе для проведения анализа использовали построение двухслойного уровня ПСЭ. Так, после преобразования (унифицирования) исходных данных (для построения ПСЭ в настоящей работе использовали показатели НСТ, МСНС, Na, K, CaO, Cl, F, K_r, Ur) последовательно рассчитывали значения их соотношений (НСТ/МСНС; НСТ/Na; НСТ/K и т.д. ... K_r/Ur), которые в представляемой работе были обозначены как первый уровень опорных точек [4]. Далее действие повторяли, но уже сопоставляли полученные ранее значения соотношений между собой: (НСТ/МСНС) / (НСТ/Na); (НСТ/МСНС) / (НСТ/K); (НСТ/МСНС) / (НСТ/CaO) и т.д.; число опорных точек второго уровня уже достигало $n > 350$. Эти действия (расчет значений опорных точек) осуществляли для каждого пациента всего массива ($n = 82$).

Для персонифицированной оценки выбранного для анализа наблюдения его предварительно рассчитанный индивидуальный ряд опорных точек (ПСЭ) последовательно сопоставляли с соответствующим рядом каждого пациента всего массива, после чего выделяли случаи совпадения (ККр) более +0,3, остальные отбрасывались и более не использовались.

Таким образом, появлялась возможность последующего сопоставления динамики (ККр) значения каждой опорной точки в выделенной группе (кластере) с динамикой увеличения ККр всего ряда от минимального (+0,3) до максимального (+1,0), т.е. анализируемого наблюдения, по возрастающей от наблюдения к наблюдению, тем самым выявляя их значение в формировании конечной структуры ПСЭ в каждом анализируемом случае. Таким же образом рассчитывали и связь изменений

каждой опорной точки с динамикой абсолютных значений каждого определявшегося аналита в выделенном кластере.

В конечном счете, ряды, сформировавшиеся после сделанных выше расчетов и отражающие степень сопряжения отдельных опорных точек с динамикой определявшихся для каждого из показателей, сопоставляли с индивидуальной интегральной ПСЭ (динамика значений отдельных опорных точек с увеличением ККр от наблюдения к наблюдению в выделенном кластере), тем самым определяя силу их участия (совпадения) в формировании конечной структуры ПСЭ. Одновременно с этим сопоставление рядов динамики опорных точек, соответствующих динамике отдельных показателей между собой, позволяло устанавливать степень их взаимовлияния.

Таким образом, формировалась возможность определения степени совпадения изменений структуры интегральной ПСЭ и ее изменений на фоне динамики того или иного показателя. Предполагалось, что наличие статистически значимого совпадения между сопоставляемыми панелями ПСЭ в индивидуальной матричной таблице могло свидетельствовать об их содружественном участии в формировании структуры ПСЭ, т.е. косвенно свидетельствуя о взаимодействии в едином механизме формирования конечного комплекса ПСЭ [4]. По М. Б. Славину (1989), для подтверждения знака коэффициента корреляции при $n > 350$ (число опорных точек в ПСЭ второго слоя) достоверным значением ККр для $p < 0,01$ является значение ККр $> [0,14]$. Однако, учитывая тот факт, что все физиологические и патологические процессы в едином организме в той или иной степени взаимосвязаны и значения ККр $> [0,14]$ могут встречаться часто, нами в качестве значимых рассматривались только значения ККр $> [0,70]$ при котором (степень совпадения) между сравниваемыми ПСЭ превышает 50% (коэффициент сопряженности $(r = \text{ККр}^2 \times 100\%)$).

Помимо ККр по ПСЭ, нами рассчитывался ККр совпадения отличительных особенностей структуры комплексных связей динамики биохимических показателей (СДБП) между индивидуальными данными выделенных пациентов с целью определения соответствия между ними. В этом случае опорными точками (ряда СДБП) являлись полученные персонализированные ККр для отдельных биохимических показателей с влиянием витамина D по ПСЭ, что позволяло определять достоверность и выраженность их совпадения между различными наблюдениями ($n = 29$; $p < 0,01$ при ККр $> [0,5]$).

Полученные результаты

Предварительный анализ полученных результатов свидетельствовал, что в 31 наблюдении из 82 (37,8% массива обследованных) влияние витамина D на ПСЭ достоверно значимо (ККр $> [0,5]$) проявлялось в их интегральной ПСЭ, т.е. в этих случаях витамин D значимо проявлял свои биологические свойства (коэффициент сопряжения более 25%). Из них 15 имели положительное значение,

а 16 – отрицательное. Это могло характеризовать баланс соотношения функциональной активности витамина D и влияния альтернативных факторов в формировании результирующей интегральной структуры ПСЭ того или иного анализируемого наблюдения.

Также следует отметить, что высокие абсолютные значения витамина D, выходящие за пределы сигмы (G) ($> M$ [среднее в массиве] + G, при $M \pm G$ во всем массиве: $M = 22,7$; $G = 15,6$ ng/mL) не гарантировали его выраженного влияния на интегральную ПСЭ. Только в двух случаях из пяти влияние высоких абсолютных значений витамина D высоко сочеталось со значимыми изменениями в интегральной ПСЭ (см. табл.).

Вместе с тем в наблюдениях со значениями витамина D, не выходящими за рамки пределов $M \pm G$, могли фиксировать исключительно высокое влияние витамина на интегральную ПСЭ (см. табл.). На основании этого было сделано заключение, что получаемые путем расчетов в наших исследованиях связи динамики абсолютных показателей витамина D по совпадению особенностей деформации сравниваемых ПСЭ интегральной и на фоне роста значения витамина отражают прежде всего не только количественную, а функциональную активность выбранного аналита.

В целом по всему массиву данных в 15 (18,3%) случаях комплекс витамин D – ассоциированных связей отражался в общей ПСЭ с ККр $> [0,8]$, т.е. фактически являлся определяющим (коэффициент сопряжения более 64%). Из них 10 имели положительное значение.

Исходя из указанного выше, именно эти положительные наблюдения могли наиболее избирательно отражать особенности формирования D-ассоциированных комплексов в том или ином случае, что явилось обоснованием к их последовательному персональному анализу в рамках настоящей статьи.

С наибольшей силой D-ассоциированный комплекс проявлялся в наблюдении № 30 (ККр: +0,98; витамин D = 28,4 ng/mL). При этом влияние роста активности витамина D на структуру ПСЭ совпадало с влиянием на нее роста CaO (ККр: +0,97), CaI (ККр: +0,93), TP1NP (ККр: +0,75) и являлось противоположным росту F (ККр: –0,95), ЩФ (ККр: –0,96), B-crossLaps (ККр: –0,98), ПТГ (ККр: –0,97) и ОК (ККр: –0,95), CaM (ККр: –0,88). С ним (наблюдение № 30) из выбранного ряда наблюдений практически полностью по СДБП совпадали наблюдения № 14, 27, 28, 66 (ККр $> +0,98$) (см. табл.), что позволяло их объединить в одну группу.

Также высокое значение в формировании интегральной ПСЭ роста витамина D зафиксировано в наблюдении № 82 (ККр: +0,94; витамин D = 19,5 ng/mL), при этом существенно отличаясь по своей структуре от предыдущего (пациент № 30) наблюдения (по СДБП ККр: –0,05). В этом случае витамин D – ассоциированный комплекс включал в себя высоко значимое совпадение с ростом влияния CaO (ККр: +0,96), CaI (ККр: +0,89), F (ККр: +0,92), B-crossLaps (ККр: +0,93), CaM (ККр: +0,89) и снижения ЩФ (ККр: –0,87), TP1NP (ККр: –0,86), ПТГ (ККр: –0,97)

Значения (ККр при $n = 350$) совпадения отличительных особенностей трансформации панели соотношений показателей водно-электролитного обмена (ПСЭ) в комплексе витамин D – ассоциированных связей в персонализированных наблюдениях общего массива ($n = 82$), демонстрировавших совпадения высокой силы

Номер пациента в массиве	№ 5	№ 14	№ 15	№ 20	№ 27	№ 28	№ 30	№ 66	№ 70	№ 82
Ca _i (M = 1,20; G = 0,06)	1,13	1,17	1,18	1,27	1,17	1,20	1,11	1,20	1,18	1,28
Вит. D, ng/mL	8,4	17,2	20,7	67,5	17,2	25,0	28,4	35,0	41,3	19,5
	ККр ПСЭ по вит. D									
Интегр.	0,80	0,93	0,90	0,82	0,93	0,96	0,98	0,87	0,89	0,94
Ca _i	-0,90	0,92	-0,03	0,82	0,92	0,91	0,93	0,92	0,16	0,89
CaO	-0,80	0,98	0,69	0,96	0,98	0,95	0,97	0,96	0,54	0,96
F	-0,70	-0,87	0,53	0,92	-0,87	-0,98	-0,95	-0,85	0,60	0,92
ЩФ	0,92	-0,95	-0,32	-0,87	-0,95	-0,96	-0,96	-0,88	0,85	-0,87
B-crossLaps	0,76	-0,92	0,32	0,93	-0,92	-0,94	-0,98	-0,97	0,65	0,93
TR1NP	0,86	0,94	0,23	-0,93	0,94	0,72	0,75	0,92	0,57	-0,86
ПТГ	-0,95	-0,91	-0,70	-0,95	-0,91	-0,97	-0,97	-0,94	-0,55	-0,97
ОК	0,89	-0,88	-0,31	-0,87	-0,88	-0,99	-0,95	-0,95	0,70	-0,89
CaM	0,86	-0,82	0,35	0,92	-0,82	-0,87	-0,88	-0,94	-0,24	0,89

Примечание: выделены значения ККр при сопряжении более 50%.

и ОК (ККр: -0,89) (см. табл.). Структурные изменения этого наблюдения (№ 82) высоко значимо по СДБП совпадали с аналогичными изменениями наблюдения № 20 (ККр: +0,98), т.е. проявления влияния витамина D в этих наблюдениях являлись идентичными.

В наблюдении № 70 структурные изменения ПСЭ на фоне роста витамина D проявлялись в интегральной ПСЭ с ККр: +0,89 (витамин D = 9,9 ng/mL), при этом не совпадая по конфигурации конечного комплекса D-ассоциированных связей с вышеописанными пациентами № 30 по СДБП (ККр: -0,32) и № 82 (ККр: +0,04), что свидетельствовало о существовании в этом наблюдении существенных отличий от предыдущих случаев. Так, D-ассоциированный комплекс пациента № 70 по ПСЭ включал в себя с положительным знаком влияния CaO (ККр: +0,54), F (ККр: +0,60), B-crossLaps (ККр: +0,65), TR1NP (ККр: +0,57), ЩФ (ККр: +0,85), ОК (ККр: +0,70) и отрицательным ПТГ (ККр: -0,55) при отсутствии значимой связи с Ca_i (ККр: +0,16) и CaM (ККр: -0,24) (см. табл.).

Следующим в анализируемом ряду оказалось наблюдение № 15, также демонстрирующее высокое влияние динамики витD на интегральную ПСЭ (ККр: +0,90; витамин D = 20,7 ng/mL), но слабо совпадающую с пациентами № 30 (ККр: +0,26), № 82 (ККр: +0,33) и № 70 (ККр: +0,14).

В этом случае D-ассоциированный комплекс включал в себя средней силы совпадение с CaO (ККр: +0,69), F (ККр: +0,53) и ПТГ (ККр: -0,70), но не совпадал (в отличие от предыдущих наблюдений) с влиянием Ca_i (ККр: -0,03), CaM (ККр: +0,35), B-crossLaps (ККр: +0,32), ЩФ (ККр: -0,32), TR1NP (ККр: +0,23) и ОК (ККр: -0,31) (см. табл.).

И последним в ряду наблюдений высоко значимого проявления D-ассоциированного комплекса в интегральной ПСЭ являлось наблюдение № 5 (ККр: +0,80; витамин D = 8,4 ng/mL), демонстрировавшее существенные отличия от предыдущих наблюдений (№ 30, 82, 15 и 70; ККр: +0,04, -0,03, +0,25 и +0,09 соответственно).

В этом случае рост показателя витамина D и его влияние на ПСЭ совпадали с ростом B-crossLaps (ККр: +0,76), TR1NP (ККр: +0,86), ЩФ (ККр: +0,92), ОК (ККр: +0,89), CaM (ККр: +0,86) и являлось противоположным CaO (ККр: -0,80), Ca_i (ККр: -0,90), F (ККр: -0,70) и ПТГ (ККр: -0,95) (см. табл.).

Таким образом, можно было сделать обобщающее заключение: используемый алгоритм обчета получаемых лабораторных данных существенно повышает их информативность и позволяет объективизировать отличительные признаки D-ассоциированных комплексов, отражающих особенности проявляющейся активности витамина D в индивидуальных наблюдениях.

Обсуждение полученных результатов

Витамину D отводится одна из ключевых ролей в гомеостазе кальция и минеральном обмене костной ткани. При этом витамин D координирует эндокринную ось «кальций – витамин D – паратиреоидный гормон». Известные биологические эффекты витамина, непосредственно или опосредованно оказывающие влияние на минерализацию костной ткани, включают в себя усиление всасывания Ca в кишечнике, активацию остеобластов и продукцию ими ОК и ЩФ. На этом фоне витамин D оказывает отрицательную обратную связь на секрецию ПТГ [5].

Вместе с тем среди выбранных и проанализированных нами наблюдений, отличавшихся высокой активностью витамина D, идеальной картины соответствия этим положениям не выявлено. При этом от наблюдения к наблюдению в полученных результатах, несмотря на ведущую роль витамина D в формировании интегральной ПСЭ, его влияние демонстрировало существование различных сочетаний по отдельным компонентам его известной биологической активности.

Так, в серии наблюдений (№ 14, 27, 28, 30 и 66) активность витамина D сочеталась с ростом TR1NP (остеосинтез), снижением B-crossLaps (остеолизис) и снижением активности ПТГ, что свидетельствовало о его (витамина) активном участии в процессах остеосинтеза. Однако отрицательная связь с ростом активности ОК и ЩФ могли свидетельствовать о втором этапе минерализации костной ткани, не требующей значимой активности остеобластов и обусловленной их созреванием до стадии остеоцитов [1]. Косвенно об этом также могла свидетельствовать и отрицательная связь с динамикой F (образование гидроксиапатитов), но реализующаяся на фоне нарастания Ca, что соответствовало усилению витамин D – зависимого транспорта иона из ЖКТ.

В противоположность этому ряду наблюдений в случае № 82 активность витамина D коррелировала с ростом B-crossLaps и торможением TR1NP, т.е. явными признаками остеолизиса. Причем в этом наблюдении витамин D – связанный остеолизис сочетался с торможением ПТГ и нарастанием F и Ca плазмы. По нашему мнению, это может соответствовать описанному в отдельных исследованиях процессам участия витамина D в поддержании уровня Ca, в том числе за счет деминерализации костного матрикса. В то же время отрицательная связь с активностью ПТГ свидетельствует о значимой активности обратной петли. Уровень кальцитриола в крови определяется большей частью активностью CYP27B1 в почках, находящейся под контролем ПТГ, и жестко регулируется отрицательной обратной связью, которая замыкается ингибированием CYP27B1 высокими концентрациями самого кальцитриола и фактора роста фибробластов 23 (FGF23) [5], что в конечном счете способствует росту значений Ca в крови на фоне торможения активности остеобластов (ОК и ЩФ). Этому наблюдению (структурным изменениям ПСЭ на фоне роста витамина D) по СДБП соответствовало и наблюдение № 20 (ККр: +0,98).

Наиболее значимо традиционным представлениям о проявлении известных биогенных свойств витамина D соответствовала структура сдвигов определявших показатели наблюдения № 5, соответствовавшая признакам ремоделирования костной ткани (значимая положительная связь с как с ростом TR1NP, так и B-crossLaps). Так, в этом наблюдении комплекс проявлений активности витамина D включал в себя снижение в плазме Ca, и F, и ПТГ на фоне роста влияния ЩФ и ОК. Следует заметить, что в этом наблюдении фиксировали низкие абсолютные показатели как Ca_i, так и витамина D. Высоко значимое положительное влия-

ние на ПСЭ витамина D при его низких фактических значениях в плазме может свидетельствовать об интенсивном связывании и поглощении витамина клетками организма с последующим проявлением результатов активации внутриклеточных витамин D – зависимых механизмов. Так, все компоненты метаболизма витамина D, а также тканевые ядерные рецепторы к 1 α ,25-дигидроксивитамину D₃ (D-гормону), получившие название «рецепторы к витамину D», объединяют в эндокринную систему витамин D, функции которой заключаются в способности генерировать биологические реакции в более чем 40 тканях-мишенях за счет регуляции транскрипции генов (геномный механизм) и быстрых внегеномных реакций, осуществляемых при взаимодействии с рецепторами, локализованными на поверхности ряда клеток [6]. Исходя из указанного можно прийти к выводу, что в данном случае общая картина может отражать выраженный дефицит витамина при его интенсивном потреблении на фоне высокой активности ремоделирования кости и значимых потерь Ca с мочой.

Также выраженным, но не являющимся доминирующим влиянием, проявлялось ремоделирование (достоверная положительная корреляция влияний по ПСЭ витамина D, B-crossLaps и TR1NP) костной ткани в наблюдении № 70. Однако в этом случае определяющим влиянием витамина D являлось совпадение с ростом активности ОК и ЩФ, что могло свидетельствовать о важной роли витамин D – зависимой активации остеобластов [7].

В наблюдении № 15, несмотря на высокую степень влияния витамина D на интегральную ПСЭ, комплекс витамин D – ассоциированных связей не включал в себя достоверные связи с динамикой остеомаркеров (B-crossLaps и TR1NP), тем самым указывая на его активность вне рамок костно-суставной системы [2] на фоне снижения активности ПТГ. Полагаем, что в этом наблюдении преобладает функция связывания Ca с белками при сравнительно низкой активности ремоделирования костной ткани. По-видимому, в этом наблюдении реализуются прежде всего гормональные свойства витамина D вне рамок костного аппарата. Так, отметим, что в показателях пациента № 15 в комплекс витамин D – ассоциированных связей включались совпадения с ростом лактата (ККр: +0,70), мочевины (ККр: +0,85), рост натрия в моче (ККр: +0,74), рост влияния Нейтр. (ККр: +0,89) и снижение влияния Эо% (ККр: –0,74). Однако анализ активности витамина D вне рамок обмена костной ткани не входил в задачи настоящего исследования.

Вновь возвращаясь к общему массиву ($n = 82$) и используя приведенные выше образы, структурные изменения СДБП, соответствующие структурным изменениям с ККр > +0,5 № 14 по витамину D, были установлены в 14 наблюдениях (2,6%; из них с ККр > +0,70 – в 6), № 5 соответственно 5 и 2 наблюдениях (0,9%), № 15 – в 31 и 6 (5,8%), № 70 – в 8 и 3 (1,5%), № 82 – 8 и 7 соответственно (1,5%).

Т.е. представленные образы влияния витамин D на обмен костной ткани с использованием предложенной методики могут выявляться и в наблюдениях без их

выраженного проявления в интегральной ПСЭ и средних значениях самого показателя витамина, тем самым существенно повышая информативность полученных лабораторных данных.

Высоко достоверные отрицательные значения ККр могли свидетельствовать о преобладании в системном ответе альтернативных витамин D – ассоциированных механизмов, при этом сохраняя общую структуру одного из выявленных образов, выявляя возможные ключевые точки торможения его активности.

Также установленные выше образы с высокой статистической достоверностью ($ККр > +0,70$) могут фиксироваться и при низких значениях витамина D, что способствует более детальному персонализированному экспертному анализу витамин D – ассоциированных связей в этих наблюдениях и выбору индивидуальной схемы коррекции возникших расстройств.

Заключение

Предлагаемый метод математической и статистической обработки лабораторных данных позволяет с высокой степенью достоверности выявлять функциональные связи динамики показателя витамина D в индивидуальных случаях с динамикой других показателей обмена костной ткани, что существенно расширяет информативность персонализированных результатов лабораторного обследования пациента и определяет ведущие комплексы реализации функциональной активности витамина. При этом установлено, что комплекс выявляемых витамин D – ассоциированных связей может существенно отличаться в отдельных случаях друг от друга, что обосновывает возможность создания и описания отличающихся образов витамин D – связанных изменений электролитного состава плазмы с последующим их использованием в опознании

тех или иных расстройств кальциевого обмена и (или) оценки эффективности применяемой терапии в каждом индивидуальном случае.

По нашему мнению, полученные результаты демонстрируют обоснованность использования предлагаемого метода в подходе к анализу получаемых персональных данных и перспективность таких исследований уже с учетом нозологий, а также в дифференцированной оценке эффективности проводимой терапии теми или иными фармакологическими препаратами.

Список литературы / References

1. Stefan Pilzetall. Vitamin D testing and treatment: a narrative review of current evidence. *Endocr Connect.* 2019 Feb; 8 (2): R27–R43. DOI: 10.1530/EC-18-0432.
2. Каргина И.Г., Щербак В.А. Современные представления о роли витамина D. *Российский педиатрический журнал.* 2016; 19 (2): 103–105. Kargina I.G., Shcherbak V.A. Modern ideas about the role of vitamin D. *Russian Pediatric Journal.* 2016; 19 (2): 103–105 (In Russ.). DOI: 10.18821/1560-9561-2016-19(2)-103-105.
3. Markus J Seibel *Biochemical Markers of Bone Turnover Part I: Biochemistry and Variability.* *Clin Biochem Rev.* 2005 Nov; 26 (4): 97–122.
4. Соломенников А.В., Тюкавин А.И., Арсениев Н.А. Новый подход к разработке методов персонализированного экспертного анализа лабораторных данных. *Медицинский совет.* 2019; 6: 164–168. Solomennikov A. V., Tyukavin A. I., Arseniev N. A. A new approach to the development of methods for personalized expert analysis of laboratory data. *Meditsinskiy sovet = Medical Council.* 2019; (6): 164–168. (In Russ.) DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-6-164-168>
5. Khundmiri S.J, Murray RD, Lederer E.PTH and Vitamin D. *Compr Physiol.* 2016 Mar 15; 6 (2): 561–601. DOI: 10.1002/cphy.c140071.
6. Машейко И.В. Биохимические маркеры в оценке процессов ремоделирования костной ткани при остеопении и остеопорозе. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета.* 2017. № 2. 149–151. Masheiko I.V. Biochemical markers for the evaluation of bone tissue remodeling osteopenia and osteoporosis. *State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine.* 2017. № 2., 149–151 (In Russ).
7. Francesca Posa Vitamin D Effects on Osteoblastic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells from Dental Tissues. *Stem Cells International.* January 2016 (6): 1–9. DOI: 10.1155/2016/9150819

Статья поступила / Received 23.08.21
Получена после рецензирования / Revised 01.09.21
Принята в печать / Accepted 03.09.21

Сведения об авторах

Соломенников Александр Васильевич, д.м.н., доцент кафедры физиологии и патологии¹. E-mail: solomen33@mail.ru. Author ID РИНЦ: 85403. Author ID Scopus: 6603645369. Researcher ID WOS: 6699-2017

Богданова Светлана Леонидовна, зав. клинической лабораторией². E-mail: svetlanabogdanova1969@mail.ru

Тюкавин Александр Иванович, д.м.н., проф., зав. кафедрой физиологии и патологии¹. E-mail: alexander.tukavin@pharminnotech.com

Арсениев Николай Анатольевич, к.б.н., доцент кафедры физиологии и патологии¹

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской травматологии и ортопедии имени Г. И. Турнера» Минздрава России, Санкт-Петербург

Автор для переписки: Соломенников Александр Васильевич. E-mail: solomen33@mail.ru

Для цитирования: Соломенников А.В., Богданова С.Л., Тюкавин А.И., Арсениев Н.А. Возможности экспертно-аналитического подхода к оценке влияния витамина D на метаболизм костной ткани на основании определения витамин D – ассоциированных связей с показателями водно-электролитного обмена. *Медицинский алфавит.* 2021; (30): 24–29. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-24-29>

About authors

Solomennikov Alexander V., DM Sci (habil.), associate professor at Dept of Physiology and Pathology¹. E-mail: solomen33@mail.ru. Author ID RSCI: 85403. Author ID Scopus: 6603645369. Researcher ID WOS: 6699-2017

Bogdanova Svetlana L., head of Clinical Laboratory². E-mail: svetlanabogdanova1969@mail.ru

Tyukavin Alexander I., DM Sci (habil.), professor, head of Dept of Physiology and Pathology¹. E-mail: alexander.tukavin@pharminnotech.com

Arseniev Nikolay A., PhD Bio, associate professor at Dept of Physiology and Pathology¹

¹Saint Petersburg State University of Chemistry and Pharmacy, Saint Petersburg, Russia

²National Medical Research Centre of Pediatric Traumatology and Orthopedics n.a. G. I. Turner, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author: Solomennikov Alexander V. E-mail: solomen33@mail.ru

For citation: Solomennikov A. V., Bogdanova S. L., Tyukavin A. I., Arseniev N. A. Expert-analytical approach to assessing activity of vitamin D based on determination of vitamin D associated links by indicators of water-electrolyte metabolism. *Medical alphabet.* 2021; (30): 24–29. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-24-29>



Алгоритм диагностики метаболического синдрома у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС с использованием новых медицинских технологий

Л. Б. Дрыгина, А. О. Пятибрат, О. М. Астафьев, И. И. Шантырь, Г. Г. Родионов

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

РЕЗЮМЕ

На основании многолетнего динамического изучения состояния здоровья ликвидаторов последствий аварии (ЛПА) на Чернобыльской АЭС установлено, что 75% пациентов имеют метаболический синдром, отягощенный сопутствующей соматической патологией. Представлены данные литературы о ключевой роли в развитии метаболического синдрома уровней адипокинов жировой ткани, гормональных показателей, витаминов и других нутриентов для определения которых необходимы современные методы лабораторной диагностики.

Цель исследования. Разработка клинико-лабораторного алгоритма диагностики метаболического синдрома у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС с использованием новых медицинских технологий.

Методики. Обследовано 122 ликвидатора последствий аварии на ЧАЭС с цереброваскулярными заболеваниями, болезнями системы пищеварения и патологией эндокринной системы. На основании международных рекомендаций 2009 года были сформированы две группы: с отсутствием ($n = 32$) и наличием ($n = 90$) метаболического синдрома (МС). Контрольную группу составили 30 человек с МС, прошедших обследование и лечение в клинике, но не имевших контакта с радиацией. Все пациенты были мужчины, средний возраст – 64–66 лет. Определялись основные биохимические показатели в сыворотке крови. Иммунохемилюминесцентным методом проводилось определение гормональных показателей. Методами масс-спектрометрии определяли показатели оксидативного стресса (МДА, жирорастворимые витамины А, Е, Д, полиненасыщенные жирные кислоты), микроэлементы.

Результаты и их анализ. Характерным признаком МС у ЛПА является достоверно ($p < 0,05$) низкий уровень общего тестостерона в сыворотке крови и расчетного соотношения тестостерона и эстрадиола. При увеличении количества компонентов МС достоверно ($p < 0,05$) повышается в сыворотке крови уровень базального инсулина и индекс НОМА IR, уровень лептина, понижается концентрация адипонектина. Анализ полученных результатов не выявил существенных различий в содержании основных маркеров МС у ЛПА и пациентов контрольной группы с МС. У 25% ЛПА с МС значения адипонектина определяются ниже нижней границы референтного интервала (менее 5,6 мкг/мл), а содержание лептина выше 21,0 нг/мл при верхней границе референтного интервала 5,6 нг/мл. Имеется устойчивая тенденция к снижению холестерина ЛПВП. При сравнении исследуемых показателей при МС у ЛПА на ЧАЭС с МС и лиц контрольной группой обнаруживалось статистически значимое увеличение концентрации витамина Е [9,7 [6,8–12,7] и 6,3 [5,3–7,7]; $p = 0,001$] на 54% и снижение уровня линолевой кислоты [230,9 [184,6–293,0] и 262,3 [214,1–426,3]; $p = 0,014$] на 12%. Выявлено снижение селена, цинка, меди и йода.

Заключение. Результаты проведенного исследования продемонстрировали, что у ЛПА на ЧАЭС с метаболическим синдромом возможно развитие различных патогенетических вариантов МС, уточнить которые позволяют предложенные дополнительные критерии диагностического алгоритма. Выявление патогенетического варианта МС открывает возможности персонализированного подхода к терапии МС и профилактике развития болезней системы кровообращения и сахарного диабета.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ликвидаторы, последствия аварии, ЧАЭС, метаболический синдром, ожирение, клинико-лабораторный алгоритм диагностики, новые медицинские технологии, лептинорезистентность, инсулинорезистентность, частичный андрогенный дефицит, микроэлементы.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Clinical and laboratory algorithm for diagnosis of metabolic syndrome with use of new medical technologies in liquidators of Chernobyl accident

L. B. Drygina, A. O. Pyatibrat, O. M. Astafiev, I. I. Shantyr, G. G. Rodionov

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

SUMMARY

Based on a long-term dynamic study of the state of health of liquidators of the consequences of the Chernobyl accident, it was found that 75% of patients have a metabolic syndrome, burdened with concomitant somatic pathology. The article presents literature data on the key role of adipokine levels in the development of the metabolic syndrome of adipose tissue, hormonal indicators, vitamins and other nutrients, which require modern methods of laboratory diagnostics to determine.

The aim. To develop a clinical and laboratory algorithm for diagnosing metabolic syndrome in liquidators of the consequences of the Chernobyl accident using new medical technologies.

Methods. 122 liquidators of the consequences of the Chernobyl accident with cerebrovascular diseases, diseases of the digestive system and endocrine system pathology were examined. Based on the International recommendations of 2009, two groups were formed: those with the absence ($n = 32$) and the presence ($n = 90$) of metabolic syndrome (MS). The control group consisted of 30 people with MS who were examined and treated at the clinic, but did not have contact with radiation. All patients were male, with an average age of 64–66 years. The main biochemical parameters in serum were determined. Immunochemiluminometric method was used to determine hormonal parameters. Mass spectrometry was used to determine the indicators of oxidative stress (MDA, fat-soluble vitamins A, E, D, polyunsaturated fatty acids), and trace elements.

Results and analysis. A characteristic feature of MS in LPA is a significantly ($p < 0.05$) low level of total testosterone in the blood serum and the calculated ratio of testosterone/estradiol. With increasing number of MS components significantly ($p < 0.05$) increases in serum level of basal insulin and HOMA IR, leptin levels, decreases the concentration of adiponectin. The analysis of the obtained results did not reveal significant

differences in the content of the main markers of MS in LP and patients of the control group with MS. In 25% of LPA with MS, adiponectin values are determined below the lower limit of the reference range (less than 5.6 µg/ml), and the leptin content is higher than 21.0 ng/ml at the upper limit of the reference range of 5.6 ng/ml. there is a stable tendency to reduce HDL cholesterol. When comparing the studied indicators for MS in patients with MS at the Chernobyl NPP and the control group, a statistically significant increase in the concentration of vitamin E (9.7 [6.8–12.7] and 6.3 [5.3–7.7]; $p = 0.001$) was found by 54% and a decrease in the level of linoleic acid (230.9 [184.6–293.0] and 262.3 [214.1–426.3]; $p = 0.014$) by 12%. A decrease in selenium, zinc, copper and iodine was detected.

Conclusion. The results of the study demonstrated that liquidators of the consequences of the Chernobyl accident with metabolic syndrome may develop various pathogenetic variants of MS, which can be clarified by the proposed additional criteria of the diagnostic algorithm. Identifying the pathogenetic variant of MS opens up the possibility of a personalized approach to MS therapy and prevention of the development of circulatory diseases and diabetes.

KEY WORDS: liquidators, consequences, Chernobyl accident, metabolic syndrome, obesity, clinical and laboratory diagnostic algorithm, new medical technologies, leptin resistance, insulin resistance, partial androgen deficiency, trace elements.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Введение

В настоящее время исследователи многих стран особое внимание уделяют метаболическим нарушениям, которые сопровождаются определенным набором патологических симптомов. Ранее G. M. Reaven (1988–1993) доказал неслучайность и взаимообусловленность одновременного наличия нарушенной глюкозной толерантности, дислипидемии, повышения артериального давления и увеличения массы тела, в основе чего лежит нарушение взаимодействия инсулина с рецепторами на клеточной мембране. Биохимическим результатом этой ситуации становится существенное снижение продукции основного макроэрга – АТФ, что приводит к энергетическому голоданию различных органов и тканей, на фоне чего существенно снижается резистентность организма к действию патогенных и неблагоприятных факторов среды и деятельности.

Этот набор признаков называют метаболическим синдромом, и считается доказанным, что он является предиктором большинства заболеваний сердечно-сосудистой системы и обмена веществ. Поэтому в настоящее время прилагаются серьезные усилия для разработки методов коррекции метаболического синдрома, и необходимо отметить, что реальных успехов в этом направлении достигнуто не много.

В развитых странах, где большинство населения ведет малоподвижный образ жизни, 10–25% людей старше 30 лет страдают от данных нарушений. В старшей возрастной группе показатели возрастают до 40%. Так, в Европе количество больных превысило 50 миллионов человек. За ближайшие четверть века уровень заболеваемости повысится на 50%. За последние два десятилетия количество больных среди детей и подростков увеличилось до 6,5% (International Diabetes Federation, IDF, 2005). Эту тревожную статистику связывают с пристрастием к углеводной диете. Метаболический синдром поражает преимущественно мужчин [7, 9]. Женщинам эта болезнь грозит во время и после менопаузы

В развитии различных соматических заболеваний и хронизации патологических процессов различной природы важная роль принадлежит нарушениям обмена веществ, в первую очередь углеводов и липидов, субстраты которых являются энергетической основой саногенетических процессов. Известно, что очень многие заболевания ассоциируются с повышением уровня глюкозы, холестерина и триглицеридов в крови, однако их метаболизм протекает крайне неэффективно, что в конечном счете приводит, с од-

ной стороны, к активизации глюкозотоксических эффектов хронической гипергликемии, а с другой – к развитию агрессивной дислипидемии, патологическому увеличению массы тела, формированию гипертензии и атеросклеротических процессов, в итоге возникающий «метаболический хаос» приводит к сердечно-сосудистой катастрофе и другим проблемам (Всероссийское научное общество кардиологов [ВНОК], 2009). Поэтому разработка методов оценки нарушений липидного и углеводного обмена является актуальной проблемой современной медицины.

Предмет исследования – способы и методы диагностики метаболического синдрома, по данным клинико-лабораторного обследования, с использованием новых медицинских технологий (хромато-масс-спектрометрических, биохимических, иммунологических, оценки микроэлементов и микробиоты, молекулярно-генетических и др.).

Основной задачей данного вида диагностики является определение характеризующихся наибольшей информативностью маркеров в сочетании с иммунологическими показателями в биологических средах организма.

Традиционно клиническими критериями метаболического синдрома являются:

- повышение уровня триглицеридов (ТГ);
- снижение уровня холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП);
- повышение артериального давления (АД);
- повышение уровня глюкозы плазмы.

Для выявления метаболического синдрома необходимо применение разнообразных методов диагностики. Во многих случаях для дифференциальной диагностики необходимо провести несколько исследований, используя различные методы. При планировании исследования прежде всего необходимо учитывать индивидуальные особенности пациента и особенности течения заболевания, а также знать принципы, возможности и ограничения каждого из методов. Это становится особенно актуальным, когда речь идет о диагностике заболеваний на ранней стадии и в донозологическом периоде.

Для обеспечения достаточного уровня надежности диагностирования применяют комплексные методы клинико-лабораторных обследований, которые включают в себя в различных комбинациях следующие разновидности исследований: оценка микроэлементов, витаминов, основных параметров обменных процессов; анализ

популяции регуляторных Т- и В-клеток в периферической крови и состоянии антиоксидантной системы; определение состояния микробиоценоза толстого кишечника; оценка выраженности микрососудистого поражения головного мозга; выявление нарушений когнитивных, эмоционально-волевых функций и нарушений циркадианных ритмов, оценка гормонального статуса и адаптационных резервов организма.

Метаболический синдром (МС) представляет собой комплекс патогенетически взаимосвязанных метаболических и патологических нарушений, включающих инсулинорезистентность (ИР), абдоминальное ожирение (АО), атерогенную дислипидемию и артериальную гипертензию (АГ). Наличие МС повышает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета (СД) второго типа, заболеваний печени, щитовидной железы, которые становятся основной причиной инвалидизации и смертности. В настоящее время четвертая часть населения в мире соответствуют критериям МС [10]. В России распространенность МС варьирует, по разным оценкам, от 20 до 35 %, с возрастом число больных увеличивается, Распространенность МС в нашей стране соответствует общемировым тенденциям. Детальное изучение патогенеза и причин пандемии МС, разработка ранних критериев диагностики и методов профилактики и лечения являются важнейшей медико-социальной задачей.

Своевременное выявление пациентов с МС имеет большое значение, так как заболевание может быть обратимым, то есть при соответствующем лечении и коррекции образа жизни можно достичь исчезновения или снижения выраженности основных его проявлений, таких как атеросклероз и СД второго типа.

В ноябре 2009 года представителями международных ассоциаций IDF, NHLBI, АНА, WHF, IAS и IASO были разработаны унифицированные критерии диагностики МС. В результате выделены следующие критерии МС: АО (окружность талии [ОТ] более 80 см у женщин и 94 см у мужчин); уровень триглицеридов (ТГ) выше 1,7 ммоль/л (150 мг/дл) или медикаментозная терапия гипертриглицеридемии; снижение концентрации липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) ниже 1,0 ммоль/л (40 мг/дл) у мужчин и 1,3 ммоль/л (50 мг/дл) у женщин или медикаментозная терапия дислипидемии; повышенный уровень артериального давления – 130/85 мм рт. ст. или прием антигипертензивной терапии пациентом с артериальной гипертензией в анамнезе; повышенный уровень гликемии натощак – выше 5,6 ммоль/л (100 мг/дл) и выше 7,8 ммоль/л через 2 часа после перорального глюкозотолерантного теста или прием сахароснижающей терапии [11]. При наличии любых трех из перечисленных выше критериев диагностируется МС. Единая международная классификация прежде всего направлена на преодоление расхождений в оценке распространенности МС.

Понятие МС и его критерии были опубликованы позднее, чем была утверждена Международная классификация болезней 10-го пересмотра (ВОЗ, 1998), по этой причине диагноз «метаболический синдром» не входит в этот документ.

Прогрессивный рост частоты МС в основном связывают со снижением физической активности, неправильным и избыточным питанием с употреблением высококалорийной пищи с низким содержанием клетчатки. Согласно современным представлениям, все больше данных свидетельствуют о значительной роли десинхроноза в развитии МС [3]. Важным является не только количество употребленной пищи, но и время ее приема, так как синтез биологически активных веществ, регулирующих обмен глюкозы и липидов, имеет циркадианный ритм. Новыми являются представления о важной роли микробиоты кишечника и желудка в формировании МС. Здоровый микробиом способствует профилактике развития сердечно-сосудистых заболеваний, МС и СД, в связи с чем активно ведутся исследования, направленные на разработку методов диагностики нарушений и методик нормализации микробиома человека [2, 6]. Получены данные о положительной роли витамина Д в предотвращении развития МС [8]. В дополнение к этому исследуется значение многих витаминов и микроэлементов, которые могут влиять на развитие МС. Для определения многих из перечисленных показателей требуются инновационные клинико-лабораторные технологии.

Профилактика и лечение должны основываться на современных представлениях о патогенезе МС. В ВЦЭРМ имени А. М. Никифорова МЧС России активно изучается состояние здоровья такой категории, лиц как ликвидаторы последствий аварии (ЛПА) на Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС). При многолетнем динамическом обследовании ЛПА [1] было установлено, что 75 % пациентов с болезнями системы кровообращения (ведущим классом заболеваемости среди ЛПА) имеют МС, а среди жителей Санкт-Петербурга с болезнями кровообращения МС ниже в 6,3 раза, что определило **цель исследования** – разработку клинико-лабораторного алгоритма диагностики МС у ЛПА на ЧАЭС с использованием новых медицинских технологий.

Материалы и методы

Формирование группы ЛПА с метаболическим синдромом проводилось на основании международных рекомендаций 2009 года [11].

Основную группу пациентов составили 122 ЛПА с цереброваскулярными заболеваниями, болезнями системы пищеварения и патологией эндокринной системы, из которых у 90 человек был выявлен МС. Сахарный диабет второго типа был диагностирован у 58,0% обследованных пациентов, дисциркуляторная энцефалопатия – у 41,0%, артериальная гипертензия II–III стадии – у 77%, ишемическая болезнь сердца – у 60%. 15 человек из числа обследованных имели в анамнезе острые нарушения мозгового кровообращения, а 25 – инфаркт миокарда.

Контрольную группу составили 30 человек с МС, прошедших обследование и лечение во ВЦЭРМ, но не имевших контакта с радиацией.

Определение основных биохимических показателей выполнялось на биохимическом анализаторе UniCel DxC 600 Pro (Beckman Coulter, США). Определение

концентрации ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1), лептина, адипонектина и грелина в сыворотке крови проводили тест-системами PAI-1 Antigen Elisa (Technozym, Австрия), Leptin Elisa (Diagnostics Biochem, Канада), Human Adiponectin Elisa (Biovendor, Чехия) и Human GHRL Elisa (RayBiotech, США). Гормональные показатели определяли иммунохемилюминесцентным методом на анализаторах Immlyte XPi (Siemens, Германия) и ACCESS-2 (Beckman Coulter, США) в сыворотке крови, и рассчитывались гормональные индексы (ДГЭАС/кортизол, тестостерон/эстрадиол). Исследование в плазме крови конечного продукта окисления липидов малонового диальдегида (МДА) и естественных антиоксидантов, содержащихся в пищевых продуктах (жирорастворимых витаминов А, Е, 25[ОН]D₃) проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием на жидкостном хроматографе с диодной матрицей 1200 Series (Agilent Technologies, США). Определение ненасыщенных жирных кислот проводили методом хромато-масс-спектрометрии с помощью газового хроматографа с масс-селективным детектором Agilent 7890 (Agilent Technologies, США). Количественный анализ содержания биоэлементов в пробах волос ЛПА проводили на квадрупольном масс-спектрометре Agilent 7900 (Agilent Technologies, США).

При статистической обработке базы данных использовались программы статистического пакета Statistica 6.1 (лицензия ВЦЭРМ до 31.12.2037) и ресурсы электронных таблиц Excel. Для сравнения медиан (Me) непрерывных показателей в двух группах наблюдения применяли ранговый критерий Манна – Уитни. Уровень значимости для всех критериев выбран равным 0,05. Результаты представлены в виде Me и межквартильного интервала 25–75% – q₂₅; q₇₅.

Результаты и их анализ

Характеристика основной группы пациентов в соответствии с критериями МС представлена в *таблице 1*.

Данные, представленные в *таблице 1*, свидетельствуют о сопоставимости групп по возрасту и соответствии сформированной группы ЛПА критериям МС, ее существенном отличии от группы ЛПА без МС. У ЛПА с МС абдоминальное ожирение было в 100% случаев, средний показатель ОТ составляет 108 [100; 117] см, что косвенно указывает на наличие ИР.

У ЛПА с МС выявляются выраженные признаки дислипидемии с повышением уровня ТГ и холестерина и снижением ХС ЛПВП, так как именно эти признаки лежат в основе лабораторной диагностики МС.

Повышенные уровни глюкозы и базального инсулина отражают формирование ИР, которое находит подтверждение почти в трехкратном увеличении индекса НОМА IR – основного индикатора ИР (*табл. 2*).

ИР тесно связана с абдоминальным ожирением, играющим самостоятельную роль в патогенезе МС. Известно, что жировая ткань секретирует большое количество биологически активных пептидов (адипокинов), которые способствуют формированию МС. Исключительно адипоцитами жировой ткани экспрессируется лептин – белок, который участвует в процессах регуляции веса. Основная функция лептина заключается в обеспечении баланса между жировыми запасами, а именно их расходом и потреблением пищи. Уровень лептина отражает не только количество накопленного жира, но и изменение энергетического обмена. При голодании лептин снижается, что является сигналом для адаптации организма к изменившимся условиям, в частности происходит переключение с углеводного на липидный обмен. При МС у ЛПА достоверно повышен в сыворотке крови уровень лептина и снижено содержание адипонектина и, как следствие, соотношение адипонектина и лептина, что убедительно свидетельствует о нарушении обмена адипокинов и развитии лептинорезистентности – неспособности лептина проникать в спинномозговую жидкость и далее к участкам связывания в гипоталамусе, отвечающим за регуляцию аппетита. При нарушении восприятия лептиновых сигналов нарушается секреция многих нейропептидов, регулирующих пищевое поведение и расход энергии. Как следует из представленных в *таблицах 1 и 2* данных,

Таблица 1
Характеристика групп ЛПА с отсутствием и наличием метаболического синдрома, Me [q₂₅; q₇₅]

Показатель (критерии МС)	МС		p
	Нет (n = 32)	Есть (n = 90)	
Возраст, лет	64,0 [57,0; 68,0]	66,0 [59,0; 70,0]	0,157
ИМТ (< 25)	24,9 [23,3; 28,1]	29,9 [27,7; 32,8]	0,000
Окружность талии, см (< 94)	94,0 [83,0; 102,0]	108,0 [100,0; 117,0]	0,000
САД, мм рт. ст. (≥ 130)	132,0 [120,0; 140,0]	142,0 [130,0; 150,0]	0,012
ДАД, мм рт. ст. (≥ 85)	80,0 [80,0; 90,0]	80,0 [80,0; 90,0]	0,332
ХС ЛПВП, ммоль/л (< 1,0)	1,46 [1,23; 1,68]	1,15 [1,0; 1,35]	0,000
Триглицериды, ммоль/л (> 1,7)	1,1 [0,7; 1,4]	1,49 [0,92; 2,88]	0,000
Холестерин общий, 3,3–5,7 ммоль/л	4,9 [4,1; 5,6]	5,6 [5,2; 6,2]	0,001

Примечание: ИМТ – индекс массы тела, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности.

Основные биохимические маркеры метаболического синдрома у ЛПА на ЧАЭС с соматической патологией Me [q 25; q75]

Показатель	МС		p
	Нет (n = 90)	Есть (n = 32)	
Глюкоза, 3,5–5,8 ммоль/л	5,2 [4,8; 5,4]	6,2 [5,4; 7,0]	0,005
Инсулин, 6–29 мМЕ/л	5,4 [3,1; 8,2]	12,3 [6,3; 21,1]	0,000
Индекс НОМА IR	1,2 [0,7; 2,3]	3,6 [1,9; 5,7]	0,000
hsCRP, мг/л (< 2,5)	3,0 [1,0; 6,3]	2,0 [1,0; 4,6]	0,722
РАI-1, нг/мл (7–43)	12,5 [6,9; 50,9]	14,6 [10,7; 42,1]	0,833
Мочевая кислота, 140–420 мкмоль/л	360,0 [300,0; 410,0]	380,0 [320,0; 420,0]	0,533
Гомоцистеин, 5–12 мкмоль/л	12,7 [10,6; 15,0]	14,0 [11,9; 17,0]	0,738
Лептин, нг/мл (2,0–5,6)	4,9 [2,9; 8,7]	9,9 [5,1; 21,0]	0,006
Адипонектин, мкг/мл (5,6–13,4)	13,5 [6,3; 16,6]	8,9 [5,9; 12,0]	0,047
Адипонектин/лептин	2,7 [1,2; 4,7]	1,22 [0,56; 2,86]	0,020
Грелин, пг/мл	232,0 [105,0; 546,0]	182,0 [86,0; 290,0]	0,062
ТГ, 0,4–4,0 мМЕ/л	1,42 [0,95; 1,86]	1,59 [1,12; 2,27]	0,202
Тестостерон, 7–28 нмоль/л	12,4 [9,6; 15,5]	8,7 [6,8; 10,9]	0,004
Эстрадиол, менее 205 пмоль/л	159,0 [119,0; 242,0]	192,0 [133,0; 233,0]	0,377
Тестостерон/эстрадиол	7,1 [5,4; 9,9]	4,6 [3,4; 6,1]	0,007
Индекс свободных андрогенов (ИСА)	27,1 [23,0; 35,2]	27,8 [19,8; 35,2]	0,998
ДГАЭС, 2,2–15,0 мкмоль/л	1,7 [1,3; 3,6]	2,2 [1,6; 2,8]	0,536
ДГАЭС/кортизол	0,76 [0,45; 1,11]	0,78 [0,47; 1,39]	0,664

уровень лептина связан с ИМТ, уровнем артериального давления (САД), концентрацией атерогенных липопротеиновых частиц и индексом ИР, концентрация адипонектина имеет четкую отрицательную взаимосвязь с уровнем ТГ и положительную с ЛПВП. Развитие инсулино- и лептино-резистентности у ЛПА с МС сопровождается снижением грелина. Установлена тенденция к снижению грелина у ЛПА с МС (табл. 2). Грелин синтезируется эндокринными клетками желудка, клетками островков Лангенгарса, а также гипофизом и гипоталамусом, вызывает чувство голода и участвует в адаптивном ответе на потерю веса. Эффект грелина опосредуется через рецептор, стимулирующий секрецию гормона роста. Низкие уровни грелина ассоциируются с ИР, артериальной гипертензией и СД второго типа. Предполагается, что грелин может также влиять на показатели кровяного давления. Низкий уровень грелина рассматривается как фактор риска СД второго типа и АГ.

Важно отметить, что у всех ЛПА с МС наблюдается повышенный уровень гомоцистеина в сыворотке крови (выше 11 мкмоль/л), что в первую очередь можно связать с имеющейся у них цереброваскулярной патологией.

При анализе полученных данных следует обратить внимание на то, что обследуемые ЛПА на ЧАЭС находились под многолетним наблюдением, в том числе в стационаре в клинических отделениях ВЦЭРМ имени А. М. Никифорова МЧС России и проходили углубленное обследование с последующим фармакологическим лечением, что, вероятно, оказывало существенное влияние на полученные нами результаты. Вероятно, по этой при-

чине мы не смогли выявить воспалительную компоненту МС. Так, уровень высокочувствительного С-реактивного белка у ЛПА с МС и без него практически не отличается (2,0 [1,0; 4,6] и 3,0 [1,0; 6,3] мкг/л соответственно).

Характерным признаком МС у ЛПА является достоверно ($p < 0,05$) низкий уровень общего тестостерона в сыворотке крови и расчетного соотношения тестостерона и эстрадиола (табл. 2). В работе [4, 5] также установлено снижение концентрации тестостерона у пациентов с МС по сравнению с группой здоровых мужчин. Авторами высказывается точка зрения о необходимости включить исследование уровня тестостерона в перечень диагностических критериев МС не только с целью повышения надежности распознавания МС среди пациентов с ожирением, но и учитывая клиническую перспективу заместительной терапии андрогенного дефицита. В то же время мы показали, что индекс ИСА, у ЛПА с МС и без МС не отличается. Вероятно, это связано с тем, что обследованные нами ЛПА были старше 50 лет, имели МС, отягощенный соматической патологией. Выявленное нами частичное снижение общего тестостерона у ЛПА связано с влиянием возрастного фактора и сопутствующей соматической патологией. Выявленное нами достоверное ($p < 0,05$) снижение соотношения тестостерона и эстрадиола у ЛПА с МС, вероятно, происходит за счет нарушения ароматизации половых гормонов в жировой ткани. По данным ряда исследований, для мужчин с ИБС характерно снижение экскреции метаболитов тестостерона и понижение индекса тестостерон/эстрадиол [4].

Таблица 3
Основные биохимические маркеры метаболического синдрома у ЛПА на ЧАЭС с соматической патологией в зависимости от количества компонентов МС, Ме [q25; q75]

Показатель	Количество компонентов МС		Р
	Менее трех	Три и более	
Глюкоза, 3,5–5,8 ммоль/л	5,3 [5,0; 5,8]	6,3 [5,4; 7,2]	0,020
Холестерин общий, 3,3–5,7 ммоль/л	5,4 [4,7; 6,2]	4,8 [4,1; 5,5]	0,011
Лептин, нг/мл (2,0–5,6)	7,1 [4,6; 9,8]	10,7 [5,1; 21,0]	0,046
Адипонектин, мкг/мл (5,6–13,4)	16,0 [12,5; 19,9]	8,3 [5,9; 12,0]	0,003
Грелин, пг/мл	163,0 [61,0; 566,0]	193,0 [95,0; 290,0]	0,079
Инсулин, 6–29 мМЕ/л	6,8 [3,9; 10,9]	12,5 [6,5; 21,1]	0,000
Тестостерон, 7–28 нмоль/л	12,9 [10,6; 15,8]	8,7 [6,8; 10,9]	0,084
Эстрадиол, менее 205 пмоль/л	231,0 [193,0; 266,0]	192,0 [133,0; 233,0]	0,377
Индекс НОМА IR	1,8 [0,9; 2,9]	3,9 [1,9; 6,5]	0,000

Таблица 4
Основные биохимические маркеры метаболического синдрома у ЛПА на ЧАЭС и в контрольной группе, Ме [q 25; q75]

Показатель	Пациенты с МС		Р
	ЛПА (n = 90)	Контрольная группа (n = 30)	
Глюкоза, 3,5–5,8 ммоль/л	6,2 [5,4; 7,0]	5,8 [5,3; 6,2]	0,150
Индекс НОМА	3,6 [1,9; 5,7]	2,9 [2,3; 7,0]	0,334
Холестерин ЛПВП, 1,03–2,10 ммоль/л	1,2 [1,0; 1,4]	1,4 [1,2; 1,4]	0,064
Лептин, нг/мл (2,0–5,6)	9,9 [5,1; 21,0]	9,2 [6,1; 12,3]	0,566
Адипонектин, мкг/мл (5,6–13,4)	9,7 [6,3; 17,1]	13,1 [9,9; 16,6]	0,976
Инсулин, 6–29 мМЕ/л	12,3 [6,3; 21,1]	10,7 [9,7; 22,3]	0,054
Тестостерон, 7–28 нмоль/л	8,7 [6,8; 10,9]	11,5 [6,9; 13,7]	0,098
Индекс свободных андрогенов (ИСА)	27,8 [19,8; 35,2]	27,8 [19,8; 35,2]	0,998
Эстрадиол, менее 205 пмоль/л	192,0 [133,0; 233,0]	117,0 [73,0; 139,0]	0,000
Тестостерон/эстрадиол	4,6 [3,4; 6,1]	9,6 [6,1; 12,8]	0,000
ДГАЭС, 2,2–15,0 мкмоль/л	2,2 [1,6; 2,8]	2,8 [2,2; 5,4]	0,012

В настоящем исследовании мы не получили убедительных данных о значимости индекса ДГЭАС/кортизол в диагностике МС. Учитывая современные представления о главенствующей роли генетической детерминанты в формировании соматической патологии, можно предположить, что, несмотря на высокую значимость определения индекса ДГЭАС/кортизол для оценки интегративного влияния стрессовых факторов на состояние здоровья в целом, использовать данный маркер для диагностики МС, как отдельно взятой нозологии, нельзя.

Выраженность выявленных изменений в содержании биохимических маркеров МС увеличивается с увеличением числа компонентов МС у ЛПА на ЧАЭС (табл. 3).

При увеличении количества компонентов МС достоверно ($p < 0,05$) повышаются в сыворотке крови уровень базального инсулина и индекс НОМА IR, уровень лептина, понижается концентрация адипонектина (табл. 3).

В таблице 4 представлены сравнительные данные изменения основных биохимических показателей у пациентов с МС.

Анализ полученных результатов не выявил существенных различий в содержании основных маркеров МС у ЛПА и пациентов контрольной группы с МС. В то же время можно отметить, что у 25% ЛПА с МС значения адипонектина определяются ниже нижней границы референтного интервала (менее 5,6 мкг/мл), а содержание лептина выше 21,0 нг/мл при верхней границе референтного интервала 5,6 нг/мл. Имеется устойчивая тенденция к снижению холестерина ЛПВП, что соответствует полученным нами ранее при обследовании ЛПА с МС данным [1].

Важно отметить достоверное повышение уровня эстрадиола и снижение расчетного соотношения тестостерона и эстрадиола в группе ЛПА, достоверное понижение концентрации ДГАЭС (табл. 4). Можно констатировать, что эстрадиол, общий тестостерон и ДГАЭ-сульфат играют патогенетически значимую роль в развитии МС у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС.

Результаты определения показателей окислительного стресса у ЛПА на ЧАЭС с МС и без него представлены в табл. 5.

Содержание жирорастворимых витаминов, полиненасыщенных жирных кислот и МДА в плазме крови у ЛПА на ЧАЭС с метаболическим синдромом и без него

Показатель	МС		p
	Нет (n = 29)	Есть (n = 75)	
Витамин А, мкг/мл	0,62 [0,49; 0,77]	0,63 [0,51; 0,78]	0,484
Витамин Е, мкг/мл	6,2 [3,5; 8,4]	9,7 [6,8; 12,7]	0,000
25(OH)D ₃ , нг/мл	28,6 [23,1; 31,8]	23,8 [18,5; 30,8]	0,112
МДА, нмоль/мл	0,53 [0,33; 0,68]	0,56 [0,39; 0,76]	0,368
Эйкозапентаеновая кислота, мкг/мл	19,0 [13,4; 25,3]	15,1 [7,6; 23,0]	0,030
Докозагексаеновая кислота, мкг/мл	56,7 [39,2; 73,4]	47,1 [22,5; 67,0]	0,145
А-линоленовая кислота, мкг/мл	40,8 [34,1; 47,7]	38,9 [31,0; 46,5]	0,968
Индекс омега-3, %	4,6 [3,7; 5,7]	3,9 [2,5; 5,2]	0,019
Арахидоновая кислота, мкг/мл	147,7 [125,9–220,6]	104,9 [64,1; 141,9]	0,146
Линолевая кислота, мкг/мл	264,9 [220,6; 312,0]	230,9 [184,6; 293,0]	0,089

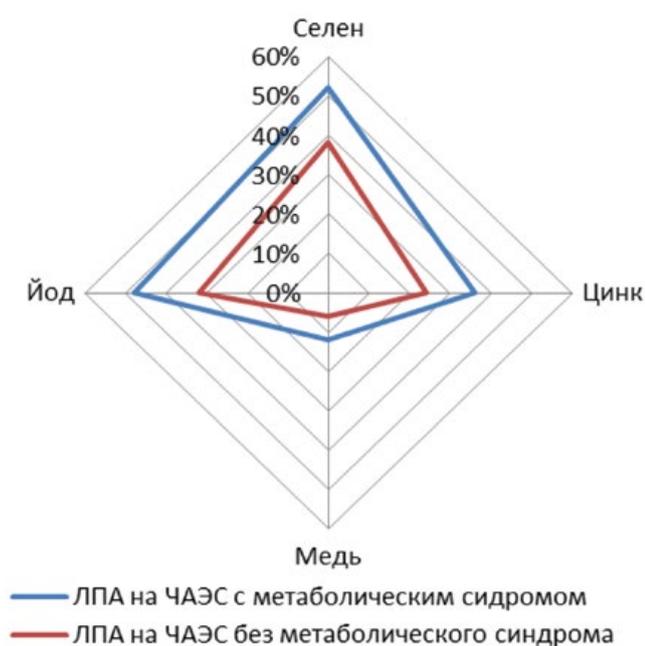


Рисунок. Доля ЛПА на ЧАЭС с дефицитом микроэлементов.

У ЛПА с МС, по сравнению с ЛПА без МС (табл. 5), выявлено достоверное ($p < 0,05$) увеличение содержания витамина Е, а также снижение уровня эйкозапентаеновой кислоты, докозагексаеновой кислоты и индекса омега-3. Индекс омега-3 представляет собой долю ЭПК и ДГК от общего содержания жирных кислот в мембране эритроцита. Расчетный индекс омега-3 у ЛПА на ЧАЭС с метаболическим синдромом равен 3,9%, он ниже дискриминационного значения 4,0% и свидетельствует о высоком риске развития сердечно-сосудистых заболеваний в этой группе пациентов. При МС у ЛПА на ЧАЭС выявлена тенденция к снижению уровня линолевой кислоты.

При сравнении исследуемых показателей при МС у ЛПА на ЧАЭС с МС и лиц контрольной группы обнаруживалось статистически значимое увеличение концентрации витамина Е (9,7 [6,8–12,7] и 6,3 [5,3–7,7]; $p = 0,001$) на 54% и снижение уровня линолевой

кислоты (230,9 [184,6–293,0] и 262,3 [214,1–426,3]; $p = 0,014$) на 12%. Остальные показатели достоверно не различались.

Проведенное исследование биоэлементного статуса ЛПА, проживающих на территории Санкт-Петербурга и Ленинградской области, выявило отличия в подгруппе с МС. У пациентов с МС наблюдался более выраженный дефицит ряда жизненно необходимых элементов, прежде всего селена, цинка, меди и йода (см. рис.).

Среди ЛПА с МС доля обследованных со сниженным уровнем концентрации селена в биопробах статистически значимо выше (52%), чем в группе без МС ($p < 0,05$). У ЛПА с МС дефицит цинка выявлен среди 36% обследованных. Сниженный уровень меди отмечен у 8% обследованных ЛПА на ЧАЭС, при этом в группе с МС доля с пониженным уровнем концентрации меди достигала 12%. У 40% обследованных ЛПА зафиксировано йододефицитное состояние. В группе лиц с МС такой дефицит зарегистрирован в 48% случаев. Исследование концентрации в пробах волос показало, что, независимо от наличия или отсутствия МС, доля обследованных мужчин с достоверно сниженным уровнем магния составила 36%. Уровень кальция ниже референтных значений выявлен у 40% обследованных, без различий в группах сравнения. Анализ содержания токсических веществ – свинца и кадмия – в группе обследованных выявил достоверное превышения референтных интервалов у 8 и 2% обследованных соответственно. При дальнейшем сравнении показателей в подгруппах по наличию заболевания достоверных отличий не выявлено. Одним из возможных механизмов накопления токсичных элементов в организме обследованных может быть связан с дефицитом эссенциальных элементов. Полученные данные указывают на необходимость проведения микроэлементного анализа для прогнозирования возможного риска формирования МС и коррекции выявленных нарушений.

На основании проведенных исследований и анализа данных литературы нами разработан алгоритм клинико-лабораторной диагностики метаболического синдрома у ЛПА на ЧАЭС (табл. 7).

Алгоритм клинико-лабораторной диагностики метаболического синдрома у ЛПА на ЧАЭС

Критерии МС	
Основные	Дополнительные (для выявления патогенеза и варианта течения МС)
Глюкоза, ммоль/л (< 5,6)	Индекс НОМА IR > 2,2
Окружность талии, см (< 94)	Адипонектин/лептин < 1,22
САД, мм рт. ст. (≥ 130)	Тестостерон < 8,7 нмоль/л
ДАД, мм рт. ст. (≥ 85)	Тестостерон/эстрадиол < 4,6
ХС ЛПВП, ммоль/л (< 1,0)	Показатели оксидативного стресса
Триглицериды, ммоль/л (> 1,7)	Микроэлементы

Goncharov N.P., Katsiya G.V., Chagina N.A. Obesity and metabolic syndrome in middle-aged men: comparative analysis of androgenic status, anthropometric parameters, lipid spectrum, carbohydrate metabolism parameters. *Andrology and Genital Surgery*. 2007. No. 1. S.6-13.

- Гончаров Н.П., Кация Г.В. Нейростероид дегидроэпиандростерон и функция мозга. *Физиология человека*. 2013, том 39, № 6, с. 120–128.
- Goncharov N.P., Katsiya G.V. The neurosteroid dehydroepiandrosterone and brain function. *Human physiology*. 2013, volume 39, No. 6, p. 120–128.
- Гриневич В.Б. Вклад кишечной микробиоты в патогенез инсулинорезистентности (обзор литературы). В.Б. Гриневич, О.Н. Ткачева, Л.В. Егшатын и др. *Профилактическая медицина*. 2015. № 1. С. 54–58.
- Grinevich V.B. Contribution of the gut microbiota to the pathogenesis of insulin resistance (literature review). V. B. Grinevich, O. N. Tkacheva, L. V. Egshatyan et al. *Preventive Medicine*. 2015. No. 1. P. 54–58.
- Кузнецова Е.А. Выбор метода диагностики гипогонадизма при ожирении и метаболическом синдроме у мужчин. Е.А. Кузнецова, А.С. Адамчик, Н.П. Гончаров, Г.В. Капия. *Андрология и генитальная хирургия*. 2015. Т. 3. С. 10–6.
- Kuznetsova E.A. The choice of a method for diagnosing hypogonadism in obesity and metabolic syndrome in men. E. A. Kuznetsova, A. S. Adamchik, N. P. Goncharov, G. V. Kapiyayev. *Andrology and genital surgery*. 2015. T. 3. P. 10–6.
- Михно А.Г. Роль витамина D в развитии ожирения. А.Г. Михно, А.В. Солнцева. *Педиатрия. Восточная Европа*. 2017. Т. 5, № 2. С. 167–176.
- Mikhno A.G. The role of vitamin D in the development of obesity. A. G. Mikhno, A. V. Solntseva. *Pediatrics, Eastern Europe*. 2017. Vol. 5, No. 2. P. 167–176.
- Чернышева Е.Н., Панова Т.Н., Живчикова Е.В. Биологический возраст и коэффициент скорости старения у больных метаболическим синдромом. *Астраханский медицинский журнал*. 2013. С. 83–87.
- Chernysheva E.N., Panova T.N., Zhivchikova E.V. Biological age and rate of aging in patients with metabolic syndrome. *Astrakhan Medical Journal*. 2013. P. 83–87.
- Шевченко О.П. Метаболический синдром. О.П. Шевченко, Е.А. Праскурничий, А.О. Шевченко. М., 2004. 141 с.
- Shevchenko O.P. Metabolic syndrome. O. P. Shevchenko, E. A. Praskurnichy, A. O. Shevchenko. M., 2004. 141 p.
- Alberti K.G., Eckel R.H., Grundy S.M. et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009. Oct 20. 120 (16). P. 1640–1645. DOI: 10.1161/circulationaha.109.192644.

Статья поступила / Received 12.02.21

Получена после рецензирования / Revised 03.03.21

Принята в печать / Accepted 05.03.21

Заключение

Диагностика МС при использовании международных рекомендаций 2009 года, как правило, не вызывает затруднений. В то же время запуск и развитие МС у конкретного человека могут быть связаны с широким диапазоном расстройств, учитывать которые необходимо при проведении индивидуальных профилактических и терапевтических мероприятий.

Мы посчитали необходимым включить в диагностический алгоритм показатели такого универсального механизма метаболических нарушений в организме, как оксидативный стресс (МДА, уровень полиненасыщенных жирных кислот, витаминов), микроэлементов, биологически активных пептидов жировой ткани, половых гормонов.

Наличие любых трех критериев МС из основной группы позволяет диагностировать МС. Результаты проведенного исследования продемонстрировали, что у ЛПА на ЧАЭС с метаболическим синдромом возможно развитие различных патогенетических вариантов МС, уточнить которые позволяют предложенные дополнительные критерии. Выявление патогенетического варианта МС открывает возможности персонализированного подхода к терапии МС и профилактике развития болезней системы кровообращения и сахарного диабета.

Список литературы / References

- 30 лет после Чернобыля: патогенетические механизмы формирования соматической патологии, опыт медицинского сопровождения участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции: монография. Под ред. профессора С.С. Алексанина. СПб.: Политехника-принт, 2016. 506 с.
- 30 years after Chernobyl: pathogenetic mechanisms of the formation of somatic pathology, the experience of medical support for participants in the liquidation of the consequences of the accident at the Chernobyl nuclear power plant: monograph. Ed. professor S.S. Aleksanin. SPb.: Politekhnik-a-print, 2016. 506 p.
- Барышников Н.В. Дисбиоз кишечника и инфекция *Helicobacter pylori* – синдром раздраженного кишечника – метаболический синдром: что их объединяет? Н.В. Барышников, Ю.А. Фоминых, Е.В. Балукова и др. *Практическая медицина*. 2012. 3 (58). С. 11–16.
- Baryshnikova N. V. Intestinal dysbiosis and *Helicobacter pylori* infection – irritable bowel syndrome – metabolic syndrome: what do they have in common? N. V. Baryshnikova, Yu. A. Fominykh, E. V. Balukova et al. *Practical medicine*. 2012.3 (58). P. 11–16.
- Бобко О.В. Маркеры десинхронизации в оценке риска развития метаболического синдрома. О.В. Бобко, О.В. Тихомирова, Н.Н. Зыбина, О.А. Клищенко. *Медицинский алфавит*. 2019. № 4, Т. 1. Современная лаборатория. С. 21–26.
- Bobko O. V. Desynchronous markers in assessing the risk of developing metabolic syndrome. O. V. Bobko, O. V. Tikhomirova, N. N. Zybina, O. A. Klitschenko. *Medical Alphabet*. 2019. No. 4, V. 1. Modern laboratory. P. 21–26.
- Гончаров Н.П., Кация Г.В., Чагина Н.А. Ожирение и метаболический синдром у мужчин среднего возраста: сравнительный анализ андрогенного статуса, антропометрических показателей, липидного спектра, показателей углеводного обмена. *Андрология и генитальная хирургия*. 2007. № 1. С.6-13.

Сведения об авторах

Дрыгина Лариса Борисовна, д.б.н., проф., вед.н.с. научно-исследовательского отдела. E-mail: drygina@nrcerm.ru. ORCID: 0000-0001-6735-3757

Пятибрат Александр Олегович, д.м.н., вед.н.с. научно-исследователя отдела. E-mail: medicine@nrcerm.ru

Астафьев Олег Михайлович, к.м.н, гл.н.с., зав. НИО «Медицинский регистр МЧС России». E-mail: medicine@nrcerm.ru

Шантыр Игорь Игнатьевич, д.м.н проф., гл.н.с., заведующий НИО биоиндикации. E-mail: medicine@nrcerm.ru

Родионов Геннадий Георгиевич, д.м.н. доцент, вед.н.с., зав. НИЛ токсикологии и лекарственного мониторинга. E-mail: medicine@nrcerm.ru

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

Автор для переписки: Дрыгина Лариса Борисовна. E-mail: drygina@nrcerm.ru

Для цитирования: Дрыгина Л.Б., Пятибрат А.О., Астафьев О.М., Шантыр И.И., Родионов Г.Г. Алгоритм диагностики метаболического синдрома у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС с использованием новых медицинских технологий. *Медицинский алфавит*. 2021; (30): 30–37. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-30-37>

About authors

Drygina Larisa B., Dr. Bio Sci (habil.), chief researcher of Research and Development Dept of Organization of Scientific Activity. E-mail: drygina@nrcerm.ru. ORCID: 0000-0001-6735-3757

Pyatibrat Alexander O., DM Sci (habil.), leading researcher of Research Dept. E-mail: medicine@nrcerm.ru

Astafiev Oleg M., PhD Med, chief researcher, head of the Medical Register of the Russian Emergency Situations Ministry. E-mail: medicine@nrcerm.ru

Shantyr Igor I., DM Sci (habil.), professor, chief researcher, head of Research Institute of Bioindication. E-mail: medicine@nrcerm.ru

Rodionov Gennady G., DM Sci (habil.), associate professor, leading researcher, head of Research Laboratory of Toxicology and Drug Monitoring. E-mail: medicine@nrcerm.ru

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

Corresponding author: Drygina Larisa B. E-mail: drygina@nrcerm.ru

For citation: Drygina L. B., Pyatibrat A. O., Astafiev O. M., Shantyr I. I., Rodionov G. G. Clinical and laboratory algorithm for diagnosis of metabolic syndrome with use of new medical technologies in liquidators of Chernobyl accident. *Medical alphabet*. 2021; (30):30–37. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-30-37>



Взаимосвязи структурно-функциональных показателей миокарда с уровнем биомаркеров апоптоза у пациентов с кардиомиопатией ишемического генеза

Г. Н. Мухамбетова¹, О. С. Полунина¹, Л. П. Воронина¹, Н. Б. Гринберг², Е. А. Полунина¹, Т. В. Прокофьева¹

¹Кафедра внутренних болезней педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Астрахань

²ГБУЗ АО «Александро-Мариинская областная клиническая больница», г. Астрахань

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучить уровни биомаркеров апоптоза аннексина А5 (AnxA5) и Bcl-2 и с помощью корреляционного анализа выявить наличие взаимосвязей структурно-функциональных показателей миокарда с уровнями изучаемых биомаркеров у пациентов с ишемической кардиомиопатией (ИКМП).

Материалы и методы. В качестве основной группы были обследованы пациенты с ИКМП ($n = 47$). Контрольная группа включала 30 соматически здоровых лиц. Уровни Bcl-2 и AnxA5 определялись в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа.

Результаты исследования. Было установлено, что в группе пациентов с ИКМП уровень AnxA5 был статистически значимо выше ($p < 0,001$), а уровень Bcl-2 – статистически значимо ниже ($p < 0,001$), чем в группе контроля. По результатам корреляционного анализа заметна теснота взаимосвязей по шкале Чеддока была выявлена между уровнями изучаемых биомаркеров апоптоза (AnxA5, Bcl-2) и значениями индекса сферичности в диастолу и систолу левого желудочка (ЛЖ), конечным диастолическим и систолическим объемом ЛЖ и фракцией выброса ЛЖ. Между остальными показателями ремоделирования миокарда и уровнями изучаемых биомаркеров апоптоза теснота взаимосвязей по шкале Чеддока была слабой и умеренной.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ишемическая кардиомиопатия, ремоделирование миокарда, апоптоз, аннексин А5, Bcl-2.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Relationships between values of myocardial remodeling parameters and level of apoptosis biomarkers in patients with ischemic cardiomyopathy

G. N. Mukhambetova¹, O. S. Polunina¹, L. P. Voronina¹, N. B. Greenberg², E. A. Polunina¹, T. V. Prokofieva¹

¹Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

²Alexander-Mariinsky Regional Clinical Hospital, Astrakhan, Russia

SUMMARY

The aim of the research. To study levels of the apoptosis biomarkers annexin A5 (AnxA5) and Bcl-2 and to identify the presence of correlations of structural and functional parameters of the myocardium with the level of the studied biomarkers in patients with ischemic cardiomyopathy (ICMP).

Materials and methods. Patients with ICMP ($n = 47$) were examined as the main group. The control group included 30 somatically healthy individuals. Bcl-2 and AnxA5 levels were determined in the blood serum by the enzyme immunoassay.

Results. It was found that in the group of patients with ICMP. The level of AnxA5 was statistically significantly higher ($p < 0,001$), and the level of Bcl-2 was statistically significantly lower ($p < 0,001$) than in the control group. Based on the results of the correlation analysis a noticeable close relationship on the Cheddock scale was revealed between levels of the studied apoptosis biomarkers and the values of the sphericity index of in diastole and systole of left ventricle (LV), final diastolic and systolic volume of LV and ejection fraction of LV. Between the other parameters of myocardial remodeling and levels of the studied biomarkers of apoptosis, the closeness of relationships on the Cheddock scale were weak and moderate.

KEY WORDS: ischemic cardiomyopathy, myocardial remodeling, apoptosis, annexin A5, Bcl-2.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Ишемическая кардиомиопатия (ИКМП) представляет собой важную проблему современной медицины междисциплинарного характера. Уже много лет, несмотря на значительные успехи в лечении ИКМП, регистрируется высокая частота смертности среди пациентов с данной патологией [1–3].

Одной из основ прогрессирования ИКМП и сердечной недостаточности у пациентов с ИКМП является ремоделирование миокарда. Среди различных патогенетических основ ремоделирования миокарда, в том числе и у пациентов с ИКМП, широко обсуждается роль апоптоза [4, 5].

Доказано, что в результате апоптоза происходит гибель кардиомиоцитов. Гибель миокардиальных клеток, таких как кардиомиоциты, ставит под угрозу сократительную способность сердечной мышцы, что, в свою очередь, вызывает неблагоприятное ремоделирование миокарда, которое в конечном итоге приводит к сердечной дисфункции и последующему прогрессированию сердечной недостаточности [6, 7]. Результаты современных исследований свидетельствуют о перспективности поиска путей эффективного ингибирования апоптоза для улучшения сердечной функции и предотвращения ремоделирования миокарда [8, 9].

Одним из активно изучаемых биомаркеров апоптоза является аннексин А5 (AnxA5) – член семейства белков, связывающих фосфолипиды, обладающий способностью связываться с экспонированными остатками фосфатидилсерина и считающийся ранним маркером апоптоза. В одном из исследований радиоактивно меченный AnxA5 был использован для обнаружения апоптоза в качестве неинвазивного инструмента визуализации [10, 11]. Еще одним широко изучаемым биомаркером апоптоза является Bcl-2 (B-cell lymphoma-2) – антиапоптотический белок, который обладает кардиопротективным действием. Доказано, что скорость экспрессии Bcl-2 оказывает прямое влияние на апоптоз кардиомиоцитов и функцию сердца [12, 13].

Цель исследования: изучить уровень биомаркеров апоптоза AnxA5 и Bcl-2 и с помощью корреляционного анализа выявить наличие взаимосвязей структурно-функциональных показателей миокарда с уровнем изучаемых биомаркеров у пациентов с ишемической кардиомиопатией (ИКМП).

Материалы и методы

В качестве основной группы были обследованы пациенты с ИКМП ($n = 47$). Контрольная группа включала 30 соматически здоровых лиц, которые были сопоставимы по возрасту и полу с обследуемыми пациентами. Основная клинико-anamnestическая характеристика пациентов представлена в *таблице 1*.

Критериями включения: наличие систолической дисфункции ЛЖ (фракция выброса ЛЖ [Simpson] < 40%), признаки дилатации ЛЖ (конечный диастолический объем ≥ 180 мл).

Критериями исключения: возраст старше 65 лет, наличие хронических заболеваний в стадии обострения и онкологических заболеваний в анамнезе.

Проведение клинического исследования было одобрено локальным этическим комитетом (17.09.2016). Обследуемыми лицами было подписано информированное согласие на участие в исследовании.

Ультразвуковое исследование сердца осуществлялось на сканере Siemens Acuson X300 по стандартной методике.

Уровень биомаркеров Bcl-2 и AnxA5 определялся в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с помощью тест-систем фирмы Bender MedSystems (Австрия).

Обработка данных осуществлялась в программе Statistica 11.0. Для каждого показателя рассчитывалось значение медианы (Me) и перцентилей [5; 95]. Оценку интенсивности корреляционной связи проводили при помощи рангового коэффициента корреляции (ρ) Спирмена. Теснота взаимосвязей оценивалась по шкале Чеддока. Уровень статистической значимости (p -value) был принят за $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе исследования нами были изучены и проанализированы уровни маркеров апоптоза AnxA5 и Bcl-2 в группе пациентов с ИКМП и в группе соматически здоровых лиц, а также показатели эхокардиографии

в группе пациентов с ИКМП. Как видно из данных, представленных в *таблице 2*, у пациентов с ИКМП уровни AnxA5 и Bcl-2 статистически значимо отличались ($p < 0,001$) от группы контроля.

Выявленные изменения уровней биомаркеров апоптоза AnxA5 и Bcl-2 свидетельствуют об усилении апоптоза у пациентов с ИКМП.

Полученные значения показателей геометрических параметров левого предсердия (ЛП) и ЛЖ, а также объемные и индексированные характеристики ЛЖ представлены в *таблице 3*.

Таблица 1
Характеристика обследуемых пациентов

Показатель	Группа пациентов с ИКМП, $n = 47$
Возраст, лет	56,5 [43,0; 64,0]
Пол, n мужской женский	33 (70,2%) 14 (29,8%)
Длительность симптомов ишемической болезни сердца, лет	4,9 [2,0; 13,0]
Стенокардия, n	38 (88%)
Длительность симптомов хронической сердечной недостаточности (ХСН), лет	2,8 [1,0; 6,0]
Функциональный класс ХСН II, n (%) III, n (%) IV, n (%)	8 (17%) 32 (68%) 7 (15%)
6-минутный тест ходьбы (6МХТ), м	169 [38; 368]
Шкала оценки клинического состояния, баллов	9,19 [4,00; 15,00]
Длительность артериальной гипертензии в анамнезе, лет	14,1 [3,0; 25,0]
Фибрилляция предсердий (ФП) постоянная форма, n (%)	25 (53%)
Длительность ФП постоянная форма в анамнезе, лет	8 [2; 10]

Примечание: данные представлены в виде Me [P5; P95].

Таблица 2
Уровни биомаркеров апоптоза у обследуемых

Биомаркер	Группа контроля, $n = 30$	Группа пациентов с ИКМП, $n = 47$	P
AnxA5, нг/мл	1,6 [1,27; 2,26]	6,38 [2,90; 7,34]	< 0,001
Bcl-2, МЕ/мл	34,9 [29,6; 37,1]	12,9 [11,2; 19,7]	< 0,001

Таблица 3
Значение показателей эхокардиографии

Показатели	Группа пациентов с ИКМП, $n = 47$
Геометрические параметры ЛП и ЛЖ	
Передне-задний размер ЛП, см	4,9 [4,4; 5,8]
Верхне-нижний размер ЛП, см	6,1 [5,5; 6,8]
Медиально-латеральный размер ЛП, см	5,0 [4,5; 5,6]
ЛЖ в парастернальной позиции по длинной оси в диастолу, см	6,7 [6,0; 7,6]
ЛЖ в парастернальной позиции по длинной оси в систолу, см	5,7 [4,9; 6,8]
Объемные и индексированные характеристики ЛЖ	
Индекс сферичности в диастолу	1,017 [0,865; 1,010]
Индекс сферичности в систолу	0,843 [0,75; 1,02]
Конечный диастолический объем, мл	250 [182; 325]
Конечный систолический объем, мл	152 [113; 224]
Фракция выброса, %	32 [25; 39]

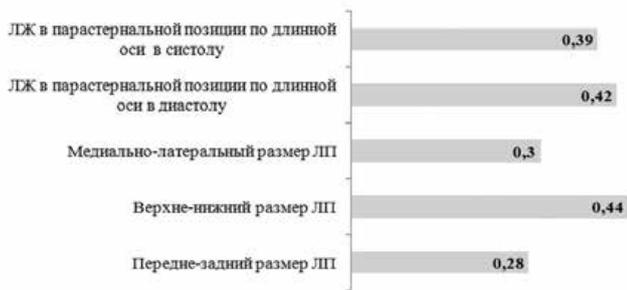


Рисунок 1. Взаимосвязи геометрических параметров ЛП и ЛЖ с уровнем AnxA5. Примечание: * – $p < 0,05$.

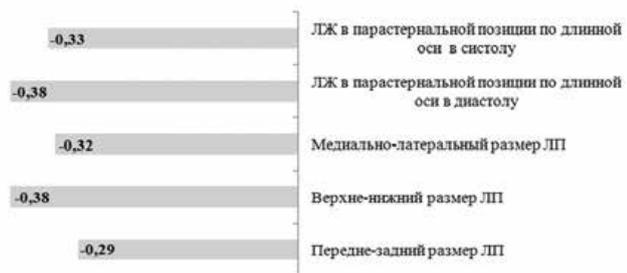


Рисунок 3. Взаимосвязи геометрических параметров ЛП и ЛЖ с уровнем Vcl-2. Примечание: * – $p < 0,05$.

На втором этапе исследования был проведен корреляционный анализ для выявления наличия и тесноты взаимосвязей значения показателей ремоделирования миокарда с уровнями AnxA5 и Vcl-2 у пациентов с ИКМП. При сопоставлении уровня AnxA5 и геометрических параметров ЛП и ЛЖ было выявлено наличие положительных статистически значимых взаимосвязей разной тесноты по шкале Чеддока (рис. 1).

Между уровнем AnxA5 и значением объемных и индексированных характеристик ЛЖ были выявлены статистически значимые взаимосвязи разной тесноты по шкале Чеддока (рис. 2).

При сопоставлении уровня Vcl-2 и геометрических параметров ЛП и ЛЖ было выявлено наличие отрицательных статистически значимых взаимосвязей разной тесноты по шкале Чеддока (рис. 3).

Между уровнем Vcl-2 и значением объемных и индексированных характеристик ЛЖ были выявлены статистически значимые взаимосвязи разной тесноты по шкале Чеддока (рис. 4).

Заключение

По результатам корреляционного анализа заметная теснота взаимосвязей по шкале Чеддока была выявлена между уровнями изучаемых биомаркеров апоптоза (AnxA5, Vcl-2) и значениями индекса сферичности в диастолу и систолу ЛЖ, конечным диастолическим и систолическим объемом ЛЖ и фракцией выброса ЛЖ. Между остальными показателями ремоделирования миокарда и уровнями изучаемых биомаркеров апоптоза теснота взаимосвязей по шкале Чеддока была слабой и умеренной.



Рисунок 2. Взаимосвязи значений объемных и индексированных характеристик ЛЖ с уровнем AnxA5. Примечание: * – $p < 0,05$.

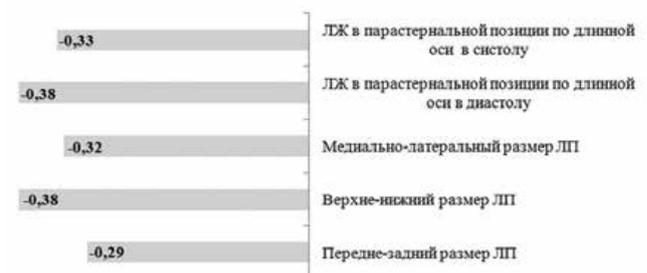


Рисунок 4. Взаимосвязи значений объемных и индексированных характеристик ЛЖ с уровнем Vcl-2. Примечание: * – $p < 0,05$.

Список литературы / References

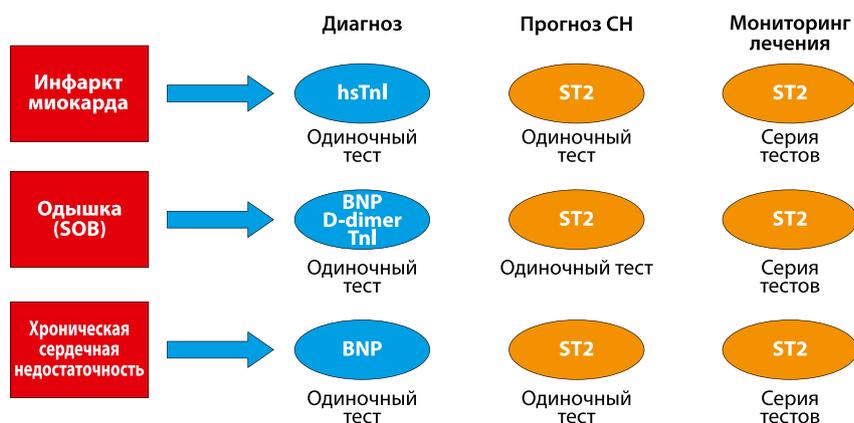
- Шипулин В. В., Саушкин В. В., Пряхин А. С., Андреев С. Л., Веснина Ж. В., Завадовский К. В. Возможности перфузионной сцинтиграфии миокарда в обследовании пациентов с ишемической кардиомиопатией. *REJR*. 2019; 9 (3): 155–175. <https://doi.org/10.21569/2222-7415-2019-9-3-155-175>
- Шипулин В. В., Саушкин В. В., Пряхин А. С., Андреев С. Л., Веснина Ж. В., Завадовский К. В. Possibilities of myocardial perfusion scintigraphy in the examination of patients with ischemic cardiomyopathy. *REJR*. 2019; 9 (3): 155–175. <https://doi.org/10.21569/2222-7415-2019-9-3-155-175>
- Дубовик Т. А., Рачок Л. В. Влияние гипокситерапии на течение хронической сердечной недостаточности у пациентов с ишемической кардиомиопатией. *Евразийский кардиологический журнал*. 2017; 3: 32. Dubovik T. A., Rachok L. V. Influence of hypoxotherapy on the course of chronic heart failure in patients with ischemic cardiomyopathy. *Eurasian Cardiology Journal*. 2017; 3: 32.
- Шипулин В. М., Пряхин А. С., Андреев С. Л., Шипулин В. В., Козлов Б. Н. Современное состояние проблемы хирургического лечения ишемической кардиомиопатии. *Кардиология*. 2019; 59 (9): 71–82. <https://doi.org/10.18087/cardio.2019.9.n329>
- Shipulin V. M., Pryakhin A. S., Andreev S. L., Shipulin V. V., Kozlov B. N. Current state of the problem of surgical treatment of ischemic cardiomyopathy. *Cardiology*. 2019; 59 (9): 71–82. <https://doi.org/10.18087/cardio.2019.9.n329>
- Шипулин В. В., Мишкина А. И., Гуля М. О., Варламова Ю. В., Андреев С. Л., Пряхин А. С., Шипулин В. М., Завадовский К. В. Отдаленный прогноз повторного ремоделирования левого желудочка после хирургического лечения ишемической кардиомиопатии: возможности нагрузочной радионуклидной томоэнцефалографии. *Российский кардиологический журнал*. 2020; 11: 66–72. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2020-3831>
- Shipulin V. V., Mishkina A. I., Gulya M. O., Varlamova Yu. V., Andreev S. L., Pryakhin A. S., Shipulin V. M., Zavadovsky K. V. Long-term prognosis of re-modeling of the left ventricle after surgical treatment of ischemic cardiomyopathy: the possibilities of loading radionuclide tomography. *Russian journal of cardiology*. 2020; 11: 66–72. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2020-3831>
- Мясоедова Е. И. Фракция фиброза миокарда и структурное ремоделирование левых отделов сердца у пациентов с ишемической кардиомиопатией. *Астраханский медицинский журнал*. 2017; 12 (2): 98–103. Myasoedova E. I. Myocardial fibrosis fraction and structural remodeling of the left heart in patients with ischemic cardiomyopathy. *Astrakhan Medical Journal*. 2017; 12 (2): 98–103.
- Калинин Р. Е., Сучков И. А., Климентова Э. А., Егоров А. А., Поваров В. О. Апоптоз в сосудистой патологии: настоящее и будущее. *Российский медицинско-биологический вестник имени академика И. П. Павлова*. 2020; 28 (1): 79–87. <https://doi.org/10.23888/pavlovj202028167-75>
- Kalinin R. E., Suchkov I. A., Klimentova E. A., Egorov A. A., Povarov V. O. Apoptosis in vascular pathology: present and future. *Russian medical and biological bulletin named after academician I. P. Pavlova*. 2020; 28 (1): 79–87. <https://doi.org/10.23888/pavlovj202028167-75>
- Terigova E., Tousek P. Apoptosis in ischemic heart disease. *J Transl Med*. 2017; 15 (1): 87. <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1191-y>



ST2 – новый маркер сердечной недостаточности и других сердечно-сосудистых заболеваний

(РУ № РЗН2019/9160)

- **ST2** – маркер ремоделирования желудочков и фиброза сердца
- Прогноз развития неблагоприятных исходов и смерти пациентов с подтвержденным диагнозом сердечной недостаточности (СН)
- Стратификация риска развития СН у лиц с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ)
- Прогноз развития ССЗ в будущем в популяции в целом
- Мониторинг эффективности лечения СН
- Клиническое преимущество в прогнозировании СН по сравнению с BNP и NT-proBNP
- Экономическая эффективность при длительном лечении
- **ST2** входит в национальных стандарты США по ведению пациентов с СН (с 2013 года)
- Уровень **ST2** не зависит от пола пациента, острых состояний, сопутствующих заболеваний
- Тест-системы в ИФА и экспресс форматах



ЗАО БиоХимМак

119991 Москва, Ленинские Горы, МГУ им. М.В. Ломоносова, д.1, стр. 11
 телефон (495) 647-27-40, 939-10-60; факс (495) 939-09-97
 e-mail: info@biochemmack.ru
www.biochemmack.ru

8. Wakabayashi H., Taki J., Inaki A., Shiba K., Matsunari I., Kinuya S. Correlation between apoptosis and left ventricular remodeling in subacute phase of myocardial ischemia and reperfusion. *EJNMMI Res.* 2015; 5 (1): 72. <https://doi.org/10.1186/s13550-015-0152-9>
9. Hojo Y., Saito T., Kondo H. Role of apoptosis in left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *J Cardiol.* 2012; 60 (2): 91–2. <https://doi.org/10.1016/j.jcc.2012.05.014>
10. de Jong R.C.M., Pluijmer N.J., de Vries M.R., Pettersson K., Atsma D.E., Jukema J.W., Quax P.H.A. Annexin A5 reduces infarct size and improves cardiac function after myocardial ischemia-reperfusion injury by suppression of the cardiac inflammatory response. *Sci Rep.* 2018; 8 (1): 6753. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25143-y>
11. Kenis H., Zandbergen H.R., Hofstra L., Petrov A.D., Dumont E.A., Blankenberg F.D., Haider N., Bitsch N., Gijbels M., Verjans J.W., Narula N., Narula J., Reutelingsperger C.P. Annexin A5 uptake in ischemic myocardium: demonstration of reversible

- phosphatidylserine externalization and feasibility of radionuclide imaging. *J Nucl Med.* 2010; 51 (2): 259–67. <https://doi.org/10.2967/jnumed.109.068429>
12. Hattori R., Hernandez T.E., Zhu L., Maulik N., Otani H., Kaneda Y., Das D.K. An essential role of the antioxidant gene Bcl-2 in myocardial adaptation to ischemia: an insight with antisense Bcl-2 therapy. *Antioxid Redox Signal.* 2001; 3 (3): 403–13. <https://doi.org/10.1089/15230860152409059>
13. Korshunova AY, Blagonravov ML, Neborak EV, et al. BCL2-regulated apoptotic process in myocardial ischemia-reperfusion injury [Review]. *Int J Mol Med.* 2021; 47 (1): 23–36. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2020.4781>

Статья поступила / Received 26.05.21
Получена после рецензирования / Revised 10.06.21
Принята в печать / Accepted 14.06.21

Сведения об авторах

Мухамбетова Гульназ Насихатовна, к.м.н., ассистент кафедры¹.
E-mail: gulnaz4ik.91@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3827-8385

Полунина Ольга Сергеевна, д.м.н., проф., зав. кафедрой¹.
E-mail: admed@yandex.ru, ORCID 0000-0001-8299-6582

Воронина Людмила Петровна, д.м.н., проф., проф. кафедры¹.
E-mail: voroninaluda74@mail.ru. ORCID: 0000-0002-2538-5627

Гринберг Наталья Борисовна, к.м.н., врач ультразвуковой диагностики².
E-mail: gr1nbergn@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-9183-4227

Полунина Екатерина Андреевна, к.м.н., доцент кафедры¹.
E-mail: -mail: gillit2@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-3679-432X

Прокофьева Татьяна Васильевна, к.м.н., доцент кафедры¹.
E-mail: prokofeva-73@inbox.ru. ORCID 0000-0002-3260-2677

¹Кафедра внутренних болезней педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Астрахань

²ГБУЗ АО «Александро-Мариинская областная клиническая больница», г. Астрахань

Автор для переписки: Прокофьева Татьяна Васильевна.
E-mail: prokofeva-73@inbox.ru

Для цитирования: Мухамбетова Г.Н., Полунина О.С., Воронина Л.П., Гринберг Н.Б., Полунина Е.А., Прокофьева Т.В. Взаимосвязи структурно-функциональных показателей миокарда с уровнем биомаркеров апоптоза у пациентов с кардиомиопатией ишемического генеза. *Медицинский алфавит.* 2021; (30): 38–42. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-38-42>

About authors

Mukhambetova Gulnaz N., PhD Med, assistant of Dept of Internal Medicine Faculty of Pediatrics. E-mail: gulnaz4ik.91@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3827-8385

Polunina Olga S., DM Sci (habil.), prof., head of Dept of Internal Medicine Faculty of Pediatrics. E-mail: admed@yandex.ru, ORCID 0000-0001-8299-6582

Voronina Lyudmila P., DM Sci (habil.), prof., prof. of Dept of Internal Medicine Faculty of Pediatrics. E-mail: voroninaluda74@mail.ru. ORCID: 0000-0002-2538-5627

Grinberg Natalia B., PhD Med, doctor of ultrasound diagnostics².
E-mail: gr1nbergn@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-9183-4227

Polunina Ekaterina A., PhD Med, associate professor of Dept of Internal Medicine Faculty of Pediatrics. E-mail: -mail: gillit2@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-3679-432X

Prokofieva Tatiana V., PhD Med, associate professor of Dept of Internal Medicine Faculty of Pediatrics. E-mail: prokofeva-73@inbox.ru. ORCID 0000-0002-3260-2677

¹Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

²Alexander-Mariinsky Regional Clinical Hospital, Astrakhan, Russia

Corresponding author: Prokofieva Tatiana V. E-mail: prokofeva-73@inbox.ru

For citation: Mukhambetova G. N., Polunina O. S., Voronina L. P., Greenberg N. B., Polunina E. A., Prokofieva T. V. Relationships between values of myocardial remodeling parameters and level of apoptosis biomarkers in patients with ischemic cardiomyopathy. *Medical alphabet.* 2021; (30):38–42. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-38-42>



Ученые подвергли сомнению популярный тест на антитела к коронавирусу и предложили новый маркер тяжести заболевания

Исследователи из Сколтеха, американских компаний VirlIntel и Argentys Informatics и двух институтов РАН провели совместное исследование, в котором проанализировали иммунный ответ на вирус SARS-CoV-2 у пациентов с разной степенью тяжести заболевания. Ученые обнаружили, что у половины пациентов с бессимптомным течением заболевания не вырабатывается значимого количества антител IgG того вида, на который нацелены многие популярные тесты для выявления перенесенной коронавирусной инфекции. В то же время практически у всех пациентов были обнаружены другие антитела, причем их уровень часто оказывался выше именно при бессимптомном течении заболевания. На основе этих наблюдений ученые предложили в качестве маркера тяжести заболевания соотношение между этими двумя показателями. Результаты исследования опубликованы в журнале *Viruses*.

Цель анализа крови на антитела у пациентов, недавно перенесших коронавирусную инфекцию, – выявить иммуноглобулины IgG, которые, как правило, начинают вырабатываться спустя несколько недель после инфицирования и подразделяются на несколько разновидностей в зависимости от того, к какой части вируса они прикрепляются. Наиболее распространенные виды IgG – антитела к нуклеокапсидному белку и рецептор-связывающему домену (RBD) спайкового белка коронавируса. В ходе исследования российские и американские ученые определили уровни антител обоих типов у пациентов, переболевших COVID-19 в легкой, бессимптомной и тяжелой формах.

Основываясь на полученных данных, ученые полагают, что для установления факта перенесенного заболевания целесообразнее всего делать анализ на уровень антител к RBD.

Чем объясняется, что у части переболевших ковидом есть антитела к RBD, но к нуклеокапсидному белку – нет? Исследователи предполагают, что все дело в том, где находится элемент вирусной частицы, на который нацелен иммуноглобулин, – внутри нее или снаружи.

Ученые высказали предположение, что в случае бессимптомного течения COVID-19 иммунная система настолько успешно дает отпор инфекции на ранней стадии заболевания, что вирус просто

не успевает войти в фазу активного размножения, когда клетки буквально разрывает на части и во все стороны разлетаются вирусные «запчасти», обычно скрытые внутри вредоносной частицы. Лишь при таком неблагоприятном сценарии могут сформироваться антитела к нуклеокапсидному белку. Однако до тех пор, пока вирус не проник в клетку, у пациента вырабатываются только антитела к RBD, мишень которых находится на внешней поверхности вируса.

Антитела к RBD часто называют «нейтрализующими», так как они способны предотвращать связывание спайкового белка вируса с рецептором. Ученым удалось показать наличие корреляции между количеством антител IgG к RBD и способностью сыворотки блокировать взаимодействие между рецептором и RBD.

Еще один весьма любопытный вывод, к которому пришли ученые, заключается в том, что в исследуемой выборке содержание антител к RBD не только не уменьшилось, но в среднем даже увеличилось. Хотя, по словам авторов, полученные результаты на первый взгляд противоречат более ранним исследованиям, в которых отмечалось постепенное снижение уровня антител к RBD, результат может во многом зависеть от образа жизни и поведения пациентов из выборки после выздоровления.

У вакцинированных повышенный уровень антител к RBD может указывать на то, что после вакцинации имела место повторная встреча с вирусом, а значит, оснований для ревакцинации нет, поскольку иммунная система и так среагировала на новый контакт с вирусом.

Работа восполняет один из пробелов в исследованиях иммунного ответа при COVID-19: пациенты с легкой симптоматикой далеко не всегда обращаются за медицинской помощью и, следовательно, выпадают из поля зрения ученых.

Исследование проведено учеными Сколковского института науки и технологий, Института биофизики клетки и Института проблем передачи информации РАН, компаний VirlIntel и Argentys Informatics (США).



Клинико-лабораторные маркеры кальцифицирующего атеросклероза

Л. Б. Дрыгина, В. Н. Хирманов

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

РЕЗЮМЕ

Несмотря на достижения в области выявления отложения кальция в стенках сосудов, данные о взаимосвязи кальциноза коронарных артерий с клинико-лабораторными показателями кальцификации в крови практически отсутствуют, а механизмы этого процесса полностью не установлены. Цель работы заключалась в установлении взаимосвязи между показателями выраженности кальциноза сосудов и клинико-лабораторными маркерами сосудистой кальцификации для повышения эффективности диагностики заболеваний сердечно-сосудистой системы и оптимизации терапии. Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют о высокой распространенности кальциноза сосудов у больных атеросклерозом. Оценки кальциевого индекса и традиционных факторов риска не всегда бывает достаточно для прогнозирования сердечно-сосудистых осложнений. Таким образом, выделение специфических лабораторных маркеров кальцификации и предрасположенности к кальцинозу является весьма актуальным в настоящее время. В проведенных исследованиях показано, что атеросклероз с кальцинозом сосудов сочетается с развитием хронического системного воспаления и воспаления сосудистой стенки. При этом отмечаются повышенные уровни С-реактивного белка, эндотелина, гомоцистеина, показателей липидного обмена и сниженные уровни фетуина-А в крови, что позволяет рекомендовать эти лабораторные показатели для предотвращения сердечно-сосудистых осложнений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кальциевый индекс, кальциноз коронарных артерий, биомаркеры кальциноза.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Clinical and laboratory markers of calcifying atherosclerosis

L. B. Drygina, V. N. Khirmanov

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

SUMMARY

Despite the achievements in the detection of calcium deposits in the walls of blood vessels, there is practically no data on the relationship of calcification of the coronary arteries with clinical and laboratory indicators of calcification in the blood, and the mechanisms of this process have not been fully established. The aim of the work was to establish the relationship between the severity of vascular calcification and clinical and laboratory markers of vascular calcification to improve the effectiveness of the diagnosis of diseases of the cardiovascular system and optimize therapy. The data obtained during the study indicate a high prevalence of vascular calcification in patients with atherosclerosis. Estimates of the calcium index and traditional risk factors are not always sufficient to predict cardiovascular complications. Thus, the identification of specific laboratory markers of calcification and predisposition to calcinosis is very relevant at the present time. Studies have shown that atherosclerosis with vascular calcification is combined with the development of chronic systemic inflammation and inflammation of the vascular wall. At the same time, there are elevated levels of C-reactive protein, endothelin, homocysteine, lipid metabolism indicators, and reduced levels of fetuin-A in the blood, which allows us to recommend these laboratory indicators to prevent cardiovascular complications.

KEY WORDS: calcium index, calcification of coronary arteries, biomarkers of calcification.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Болезни сердца, в частности атеросклероз коронарных артерий, остаются одной из основных причин смертности во всем мире [21, 11].

Кальцификация, или процесс отложения солей кальция (гидроксиапатитов) в стенках сосудов, длительное время считалась результатом пассивных возрастных дегенеративно-дистрофических изменений [16]. Сегодня установлено, что кальцификация коронарных артерий может начаться и у совсем молодых пациентов, например в возрасте 10–20 лет [3, 7]. В настоящее время кальцификация считается активным процессом, возможно, как ответ на повреждение и воспаление, который имеет общие молекулярные механизмы с минерализацией костной ткани [10]. Согласно современным представлениям, в основе развития кальциноза лежит нарушение баланса между факторами, ответственными

за процесс стимуляции и ингибирования кальцификации [19]. В этой связи актуальность исследования клинико-лабораторных показателей, отражающих процесс кальцификации, важна для оценки прогрессирования атеросклероза.

В 2000 году согласительная комиссия American College of Cardiology (ACC) и American Heart Association (AHA) представила данные о том, что присутствие кальция в коронарных артериях – это одна из стадий развития атеросклероза и наличие кальцификации в коронарных сосудах указывает на коронарный атеросклероз.

Исследователями лаборатории сердечно-сосудистых заболеваний и лаборатории молекулярной медицины госпиталя Fuwai в Китае было выделено два фенотипа артериальной кальцификации: кальцификация на артериальной стенке и кальцификация в атероскле-

ротических бляшках [Common, 2013]. Показано, что эти два вида кальцификации ассоциируются с разной патологией сердечно-сосудистой системы. Например, не удалось выявить сильной корреляционной связи между кальцификацией артериальной стенки без атеросклеротической бляшки и инфарктом миокарда. В настоящее время механизмы отложения кальция в области атеросклеротической бляшки полностью не установлены.

С момента начала изучения патологии сердца, отложения солей кальция в стенках сосудов связывались с его болезнями. Кальций обладает высокой плотностью, и это свойство позволило впервые методом рентгенографии показать его скопление в коронарных артериях сердца, что стало считаться важным диагностическим признаком сердечно-сосудистых заболеваний. Рентгенография сердца использовалась длительное время до появления коронарной ангиографии и других, менее инвазивных методов исследования [4]. Электронно-лучевая компьютерная томография (КТ) стала первым инструментальным методом исследования, позволяющим количественно оценить кальций в коронарных артериях, но не получила широкого применения из-за высокой стоимости аппаратуры. На смену пришла спиральная КТ. Эта технология продолжает совершенствоваться и в настоящее время. Исследование с помощью мультиспиральной КТ (МСКТ) позволяет неинвазивно, без катетеризации коронарных артерий, оценить морфологическое состояние аорты, коронарных, брахиоцефальных, подвздошно-бедренных и почечных артерий, определить степень их поражения атерокальцинозом, рассчитать вероятность осложнений ишемической болезни сердца, в частности инфарктов миокарда, тромбозов и региональных ишемий. Современные мультиспиральные компьютерные томографы передают четкие изображения исследуемой зоны и с помощью программы Calcium Scoring позволяют провести оценку степени коронарного риска. Рассчитываемый кальциевый индекс отражает степень кальциноза коронарных артерий. Метод МСКТ обладает преимуществом перед другими инструментальными методами, поскольку обладает большей чувствительностью и дает количественную характеристику кальцинозу сосудов. Другим широко распространенным и эффективным неинвазивным методом обнаружения кальциноза сосудов является метод ультразвукового исследования (УЗИ). Однако объем кальцификатов с помощью этого метода определить не удастся из-за акустических теней [10]. Несмотря на достижения в области выявления отложения кальция в стенках сосудов, данные о взаимосвязи кальциноза коронарных артерий с клинико-лабораторными показателями кальцификации в крови практически отсутствуют, а механизмы этого процесса полностью не установлены.

Цель работы заключалась в установлении взаимосвязи между показателями выраженности кальциноза сосудов и клинико-лабораторными маркерами сосудистой кальцификации для повышения эффективности диагностики заболеваний сердечно-сосудистой системы и оптимизации терапии.

Материалы и методы исследования

Исследование проводили на базе клиник Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова МЧС России. Основную группу составили 65 мужчин в возрасте от 42 лет до 78 лет (средний возраст – $57,0 \pm 8,7$ лет) с атеросклерозом, из них 16 (24,6%) человек перенесли острый инфаркт миокарда.

Общеклиническое обследование пациентов включало сбор жалоб, анамнез заболевания и жизни, общий осмотр пациента, физикальное исследование сердечно-сосудистой системы, измерение артериального давления крови в плечевой артерии.

Нами была проведена оценка выраженности кальциноза сосудов на основании данных МСКТ и УЗИ. Для подтверждения коронарного кальциноза у ЛПА выполнялась мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) грудной клетки с оценкой кальциноза в программе Calcium Scoring и определением кальциевого индекса (КИ) по Agatston, оценкой степени поражения коронарных артерий и коронарного риска.

В сыворотке крови пациентов методом иммуноферментного анализа и хемилюминесцентным методом проводилось определение фетуина-А (BioVender, США), высокочувствительного С-реактивного белка (Immylite 2000, Siemens, Германия), гомоцистеина (Immylite 2000, Siemens, Германия), эндотелина (RnD Systems, США). Также анализировали содержание кальция общего и ионизированного в крови, уровни общего холестерина, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), триглицеридов и рассчитывали индекса атерогенности. Определение основных биохимических показателей выполнялось на биохимическом анализаторе UniCel DXC 600 Pro (Beckman Coulter, США).

Методом иммуноферментного анализа проводилось определение IgG к белкам теплового шока HSP60 хламидии (Medac, Германия) и IgG к *H. pylori* (Biohit, Финляндия).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью программы Statistica 6.1 (лицензия ВЦЭРМ до 31.12.2037) и Statistica 10.0. Для сравнения медиан непрерывных показателей в двух группах наблюдения применяли ранговый критерий Манна – Уитни. Данные в тексте и таблицах представлены в виде $Me [q25; q75]$ (Me – медиана; $q25; q75$ – перцентиль – 25–75%-ный интервал значений). Нормальность распределения оценивали по критерию Шапиро – Уилка. Значимость различий при парных сравнениях оценивали с помощью U-критерия Манна – Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Для обнаружения корреляционной связи применяли непараметрические меры связи Гамма.

Результаты и их обсуждение

УЗ-признаки умеренных атеросклеротических изменений корня аорты и створок аортального клапана с явлениями кальциноза.

При анализе результатов МСКТ аорты, ее ветвей и коронарных артерий было показано, что у 74% больных атеросклерозом отмечался кальциноз стенок аорты и ко-

Таблица 1
Значения кальциевого индекса по Agatston и степень поражения артерий у обследованных пациентов с атеросклерозом

Кальциевый индекс по Agatston	Значения КИ	Степени поражения коронарных артерий и степень коронарного риска в программе Calcium Scoring	Количество обследованных пациентов
Низкий	0–10	Низкая	17 (26%)
Умеренный	11–99	Умеренная	13 (20%)
Высокий	100–399	Высокая	19 (29%)
Очень высокий	Более 400	Очень высокая	16 (25%)

Таблица 2
Данные о физической активности и психоэмоциональных нагрузках у обследованных пациентов с атеросклерозом

Данные анамнеза жизни	Низкая, %	Средняя, %	Высокая, %
Физическая активность	35	63	2
Психоэмоциональные нагрузки	13	69	18

Таблица 3
Распределение значений индекса массы тела у обследованных пациентов с атеросклерозом

ИМТ, кг/м ²	Количество пациентов, %
18,5–24,9	6
25,0–29,9	52
30,0–40,0	42

ронарных артерий. Кальциевый индекс (КИ) по Agatston у них составлял более 10, а медиана КИ – 373 [228; 745], что соответствовало высокой и очень высокой степени поражения коронарных артерий и высокой степени коронарного риска. У 26% КИ был менее 10, что соответствует низкой степени поражения коронарных артерий и низкой степени коронарного риска (табл. 1).

Таким образом, кальциноз сосудов выявлялся почти у ¾ пациентов с атеросклерозом, что обосновывает использование КИ в качестве маркера заболевания у пациентов с данной патологией.

В работе J. Wayne Selby Jr. (2013) указывается на тесную ассоциацию кальциноза коронарных артерий и неблагоприятного прогноза развития сердечно-сосудистых заболеваний [3]. По мнению автора, инфаркт миокарда может развиваться у больных с низким уровнем КИ, однако общая сердечно-сосудистая заболеваемость у пациентов с низкими значениями КИ мала.

Несмотря на перечисленные выше преимущества инструментальных методов в оценке состояния сосудистой стенки, УЗИ и МСКТ имеют невысокое пространственное разрешение и поэтому не могут выявлять кальцификацию на ранних стадиях, когда процесс начинается на клеточном и молекулярном уровнях.

Диагностика сердечно-сосудистых заболеваний неразрывно связана с оценкой факторов риска развития атеросклероза. На основании продолжительных мультицентровых исследований, таких как Framingham Heart Study или MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis,

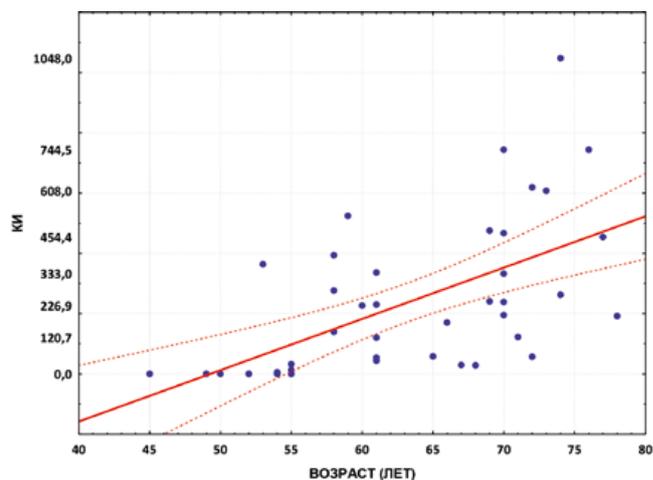


Рисунок 1. Взаимосвязь КИ и возраста у пациентов с атеросклерозом ($r = 0,45$; $p < 0,05$).

многонациональное изучение атеросклероза), были разработаны специальные шкалы, с помощью которых возможно прогнозировать риск развития болезней сердца [www.consultantlive.com] [14].

Одним из факторов риска развития сердечно-сосудистой патологии является возраст пациентов. На основании результатов корреляционного анализа нами была показана сильная прямая корреляционная зависимость КИ от возраста пациентов с атеросклерозом ($r = 0,45$; $p < 0,05$) (рис. 1).

Также к факторам риска заболеваний сердца относятся курение, злоупотребление алкоголем, малоподвижный образ жизни, высокие психоэмоциональные нагрузки, наследственность, гипертония и высокое содержание холестерина.

Среди обследованных пациентов с атеросклерозом было 40% курящих, 27% злоупотребляли алкоголем. Большая часть пациентов вели малоподвижный образ жизни и имели большие психоэмоциональные нагрузки (табл. 2).

Была показана высокая корреляционная зависимость ($r = 0,78$; $p < 0,05$) между низкой физической активностью и высокой психоэмоциональной нагрузкой.

Расчет индекса массы тела (ИМТ) показал, что у 94% обследованных пациентов наблюдалось превышение нормальных показателей 25 кг/м² (табл. 3).

Пациентов с недостатком массы тела (ИМТ менее 18,5) и резко выраженным ожирением (ИМТ более 40) среди больных атеросклерозом не было. Абдоминальный тип ожирения выявлялся у 64% пациентов.

Средние уровни общего холестерина, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), триглицеридов в крови и индекса атерогенности у пациентов с кальцинозом и атеросклерозом превышали референтные интервалы. Проведенный нами корреляционный анализ не выявил значимой взаимосвязи между показателями кальциевого индекса и показателями липидного спектра.

На основании имеющихся в литературе данных можно предположить, что повышенные уровни липидов сыворотки крови совместно с другими атерогенными факторами вызывают активацию эндотелиальных клеток, что

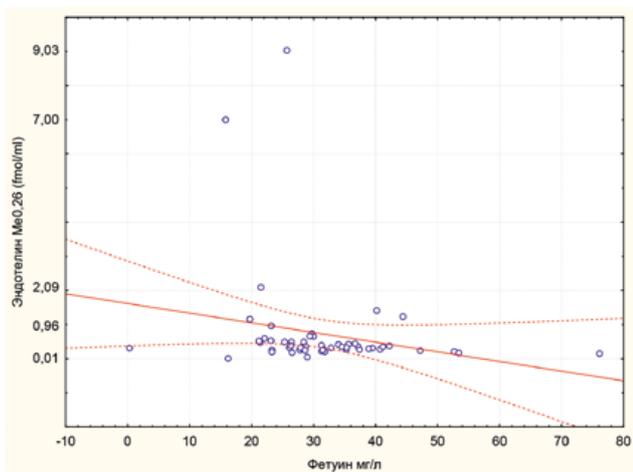


Рисунок 2. Взаимосвязь содержания фетуина-А и эндотелина в сыворотке крови пациентов с атеросклерозом и кальцинозом сосудов ($r = -0,42$; $p < 0,05$).

приводит к экспрессии адгезионных молекул, активации моноцитов с последующим накоплением макрофагов во внеклеточном матриксе [5].

В литературе широко дискутируется вопрос о возможной роли воспалительной реакции в кальцификации сосудов. Предполагают, что на фоне воспаления повышается пролиферация гладкомышечных клеток сосудов, ускоряется окисление липидов, индуцируется внутриэндотелиальное накопление макрофагов, триггеров остеогенной активности, изменяется продукция цитокинов, что, в свою очередь, может привести к остеогенной дифференцировке и минерализации гладкомышечных клеток. Также повышается прокоагулянтная активность эндотелиальных клеток, стимулируется адгезия лейкоцитов к эндотелию, увеличивается продукция фактора роста фибробластов и так далее [J. D. Miller Circ. Res. 2011].

В 2003 году ведущие медицинские организации в области сердечно-сосудистых заболеваний (Centers for Disease Control and Prevention и АНА) рекомендовали использование С-реактивного белка (СРБ) для оценки риска заболеваний сердца [12]. Спустя четыре года European Society of Cardiology пришла к выводу, что СРБ не является обоснованным маркером риска сердечно-сосудистых заболеваний [6]. В 2010 году множеством исследований было доказано, что оценка уровня СРБ имеет высокую значимость для выявления среднего риска развития сердечно-сосудистых заболеваний [17; 18].

В проведенном нами исследовании была оценена выраженность процессов эндогенного хронического воспаления у больных атеросклерозом с кальцинозом сосудов. Проводился анализ СРБ высокочувствительным методом (hsСРБ), позволяющим определять концентрации СРБ от 0,5 мг/л. У пациентов с КИ меньше 10 концентрация hsСРБ составляла (1,4 [0,75; 3,2]) мг/л и достоверно ($p < 0,05$) отличалась от таковой у пациентов с КИ больше 10 – (4,1 [2,4; 7,2]) мг/л. Выявлена положительная статистически значимая зависимость между концентрацией hsСРБ и ЛПНП ($r = 0,49$), расчетным коэффициентом атерогенности ($r = 0,47$) и остеокальцином ($r = 0,51$) у пациентов с атеросклерозом и кальцинозом сосудов

($p < 0,05$). Можно предположить, что причиной повышения СРБ может быть окисление ЛПНП, которое приводит к вялотекущему воспалительному процессу в эндотелии, или ожирение.

Таким образом, определение уровней hsСРБ в диапазоне низких концентраций, от 0,5 мг/л, и показателей липидного обмена дает возможность оценить уровень воспаления и дегенерации сосудистой стенки и прогнозировать риск развития сердечно-сосудистых заболеваний.

По данным литературы, существует взаимосвязь воспаления, вызванного инфекцией, и прогрессирования атеросклероза [13]. С целью выявления ассоциации хеликобактерной и хламидийной инфекции с кальцинозом сосудов нами было проведено полуколичественное определение продукции специфических антител класса IgG к HSP60 хламидии и IgG к *H. pylori*. Специфические антитела к хламидиям и *H. pylori* выявлялись с одинаковой частотой в сыворотке пациентов с атеросклерозом и КИ как больше 10, так и меньше 10. Корреляция с уровнем антител к инфекциям и СРБ была недостоверна ($p > 0,05$), что указывает на то, что повышенные уровни СРБ у обследованных пациентов не связаны с воспалением инфекционной природы. Также полученные в исследовании данные не позволяют утверждать, что между хламидиями, *H. pylori* и атерокальцинозом существует взаимосвязь. Эти данные согласуются с резолюцией Маастрихтской конференции 2012 года о том, что данных для установления четкой причинно-следственной связи *H. pylori* с болезнями сердечно-сосудистой системы и взаимосвязи с лечением недостаточно.

Исследования последних лет свидетельствуют об участии фетуина-А, или альфа-2-HS-гликопротеина (АНСГ), в заболеваниях сердечно-сосудистой системы. Фетуин-А является мультифункциональным белком, синтезируемым в печени и находящимся в кровотоке в достаточном количестве. Фетуин-А играет важную роль в минеральном обмене костной ткани, метаболических нарушениях, таких как резистентность к инсулину и сахарный диабет, расстройствах центральной нервной системы, таких как ишемический инсульт и нейродегенеративные заболевания. Фетуин-А является одним из наиболее важных кальций-связывающих белков, который участвует в минеральном гомеостазе, считается системным ингибитором кальций-фосфатных осадков и, таким образом, способен предотвращать развитие кальцификации [8]. Тем не менее есть много противоречивых выводов о связи между фетуином-А и сосудистыми заболеваниями. С одной стороны, фетуин-А рассматривается как фактор атерогенности, с другой – как ингибитор сосудистой кальцификации [15].

С целью расширения научных представлений о роли фетуина-А в сосудистом минеральном обмене в ходе нашего исследования у пациентов с атеросклерозом и кальцинозом сосудов были определены концентрации фетуина-А в сыворотке крови. По результатам анализа пациенты с атеросклерозом и кальцинозом сосудов характеризовались низким содержанием фетуина-А в сыворотке крови: 306,5 [264,0; 381,5] мкг/мл. При проведении корреляционного анализа была выявлена умеренная прямая корреляционная связь

между содержанием в крови фетуина-А и кальция (общего и ионизированного) ($r = 0,31$; $p < 0,05$). Выявлялась значимая отрицательная корреляция уровня фетуина-А с уровнем эндотелина в крови ($r = -0,42$; $p < 0,05$) (рис. 2).

На основании графика, представленного на рисунке 2, можно предполагать, что эндотелиальная дисфункция увеличивается при сниженных концентрациях фетуина-А в крови. Полученные при статистическом анализе данные свидетельствуют о взаимосвязи содержания фетуина-А в сыворотке крови с маркерами эндотелиальной дисфункции и наличием атеросклероза с кальцинозом сосудов.

Рядом исследователей была установлена связь между повышенными уровнями гликированного гемоглобина (А1С) и кальцификации коронарных артерий у мужчин и женщин без проявлений сердечно-сосудистых заболеваний или сахарного диабета с учетом уровня глюкозы натощак и традиционных сердечно-сосудистых факторов риска [2]. В экспериментальных исследованиях было показано, что фетуин-А подавляет физиологическое действие инсулина, однако имеются единичные работы, показывающие ассоциацию уровней фетуина-А и сахарного диабета.

Сывороточный уровень гомоцистеина у пациентов с КИ более 10 составил 15,00 [12,90; 17,90] мкмоль/л и был достоверно выше, чем у пациентов с КИ менее 10. Как известно, гомоцистеин участвует в ранних атеросклеротических процессах, когда усиливается пролиферация гладкомышечных клеток и продуцируются свободные радикалы, которые вызывают повреждения клеток. Эти факторы играют важную роль в прогрессировании атеросклероза, что в дальнейшем может приводить к сосудистой минерализации [1].

Заключение

Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют о высокой распространенности кальциноза сосудов у больных атеросклерозом. Оценки кальциевого индекса и традиционных факторов риска не всегда бывает достаточно для прогнозирования сердечно-сосудистых осложнений. Таким образом, выделение специфических лабораторных маркеров кальцификации и предрасположенности к кальцинозу является весьма актуальным в настоящее время. В проведенных исследованиях показано, что атеросклероз с кальцинозом сосудов сочетается с развитием хронического системного воспаления и воспаления сосудистой стенки. При этом отмечаются повышенные уровни С-реактивного белка, эндотелина, гомоцистеина, показателей липидно-

го обмена, и сниженные уровни фетуина-А в крови, что позволяет рекомендовать эти лабораторные показатели для предотвращения сердечно-сосудистых осложнений.

Список литературы / References

1. Наумов А. В. Гомоцистеин в патогенезе микроциркуляторных и тромботических осложнений. А. В. Наумов, Т. Н. Гриневич, В. М. Найдина. Тромбоз гемостаз и реология. 2012. № 1. С. 9–19.
A. V. Naumov Homocysteine in the pathogenesis of microcirculatory and thrombotic complications. A. V. Naumov, T. N. Grinevich, V. M. Naidin. Thrombosis, hemostasis and rheology. 2012. No. 1. P. 9–19.
2. A1C and Coronary Artery Calcification in Nondiabetic Men and Women. Y. Chang, K. E. Yun, H. Jung, C. Kim et al. Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology. 2013.
3. Bayne Selby Jr. J. Coronary Artery Calcification on CT Scanning. J. Bayne Selby Jr., P. Bowe Morris. Электронный ресурс: Medscape Reference, 2013. reference.medscape.com.
4. Chow A. L. S. Coronary CT Angiography guided medical therapy in subclinical atherosclerosis. Alyssa L. S. Chow, S. D. Alhassani, A. M. Crean, G. R. Small. J. Clin. Med. 2021. Feb. 7, 10 (4). Epreb.
5. Demer L. The Roles of Lipid Oxidation Products and Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Signaling in Atherosclerotic Calcification. L. Demer, Y. Tintut. Circ. Res. 2011. Vol. 108. P. 1482–1493.
6. Graham I. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary. I. Graham, D. Atar, K. Borch-Johnsen et al. Eur. Heart J. 2007. Vol. 28. P. 2375–2414.
7. Hartiala O. Adolescence risk factors are predictive of coronary artery calcification at middle age: the cardiovascular risk in young Finns study. O. Hartiala, C. G. Mag-nussen, S. Kajander, J. Knuuti. J. Am. Coll. Cardiol. 2012. Vol. 60. (15). P. 1364–1370.
8. Jahnen-Dechent W. Fetuin-A Regulation of Calcified Matrix Metabolism. W. Jahnen-Dechent, A. Heiss, C. Schafer, M. Ketteler. Circ. Res. 2011. Vol. 108. P. 1494–1509.
9. Miller J. D. Calcific Aortic Valve Stenosis: Methods, Models, and Mechanisms. J. D. Miller, R. M. Weiss, D. D. Heistad. Circ. Res. 2011. Vol. 108 (11). P. 1392–1412.
10. New S. E. P. Molecular Imaging Insights into Early Inflammatory Stages of Arterial and Aortic Valve Calcification. S. E. P. New, E. Aikawa. Circulation Research. 2011. Vol. 108. P. 1381–1391.
11. Patel J. Inflammation and Coronary Artery Calcification in South Asians: The Mediators of Atherosclerosis in South Asians Living in America (MASALA) Study. J. Patel, M. Al. Rifai, C. Ayers et al. Circulation. 2016. Vol. 134. P. 17316.
12. Pearson T. A. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. T. A. Pearson, G. A. Mensah, R. W. et al. Circulation. 2003. Vol. 107. P. 499–511.
13. Rosenfeld M. E. Pathogens and atherosclerosis: update on the potential contribution of multiple infectious organisms to the pathogenesis of atherosclerosis. M. E. Rosenfeld, L. A. Campbell. Thromb. Haemost. 2011. Vol. 106 (5). P. 858–867.
14. Rutecki G. W. Novel Risk Factors Improve Prediction of Cardiovascular Disease in Intermediate-Risk Persons. G. W. Rutecki. электронный ресурс: 2012. www.consultantlive.com.
15. Schafer C. The serum protein α 2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is a systemically acting inhibitor of ectopic calcification. C. Schafer, A. Heiss, A. Schwarz, R. Westenfeld et al. The Journal of Clinical Investigation. 2003. Vol. 112 (3). P. 357–366.
16. Schinke T. Vascular calcification – a passive process in need of inhibitors. S. Thorsten, G. Karsenty. Nephrol. Dial. Transplant. 2000. Vol. 15 (9). P. 1272–1274.
17. Shaw L. J. An Approach to Asymptomatic and Atypically or Typically Symptomatic Women with Cardiac Disease. L. J. Shaw. Interventional Cardiology Clinics. 2012. Vol. 1, Issue 2. P. 157–163; C-Reactive Protein, Fibrinogen, and Cardiovascular Disease Prediction. The Emerging Risk Factors Collaboration. N. Engl. J. Med. 2012. Vol. 367. P. 1310–1320.
18. Towler D. A. Thematic Series on the Pathobiology of Vascular Calcification an Introduction. D. A. Towler, L. L. Demer. Circ. Res. 2011. Vol. 108. P. 1378–1380.
19. Wang J. Common genetic variants of MGP are associated with calcification on the arterial wall but not with calcification present in the atherosclerotic plaques. Y. Wang, J. Chen, Y. Zhang, W. Yu, C. Zhang, L. Gong, L. Shao, J. Lu, Y. Gao, X. Chen, X. Chen, R. Hui. Circ. Cardiovasc. Genet. 2013. Vol. 6 (3). P. 271–278.
20. WHO updates: Cardiovascular risk. The world health report, 2019. Электронный ресурс: <http://Cardiovascular diseases/www.who.int>.

Статья поступила / Received 20.02.21

Получена после рецензирования / Revised 11.03.21

Принята в печать / Accepted 15.03.21

Сведения об авторах

Дрыгина Лариса Борисовна, д. б. н., проф., вед. н. с. научно-исследовательского отдела. E-mail: grygina@arcern.spb.ru. ORCID: 0000-0001-6735-3757

Хирманов Владимир Николаевич, д. м. н., проф., зав. отделения сердечно-сосудистой патологии. E-mail: vkhirmanov@mail.ru

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

Автор для переписки: Дрыгина Лариса Борисовна, E-mail: grygina@arcern.spb.ru

About authors

Drygina Larisa B., Dr. Bio Sci. (habil.), professor, lead researcher at Research Dept. E-mail: grygina@arcern.spb.ru. ORCID: 0000-0001-6735-3757

Khirmanov Vladimir N., DM Sci (habil.), professor, head of Dept of Cardiovascular Diseases. E-mail: vkhirmanov@mail.ru

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

Corresponding author: Drygina Larisa B., E-mail: grygina@arcern.spb.ru

Для цитирования: Дрыгина Л. Б., Хирманов В. Н. Клинико-лабораторные маркеры кальцифицирующего атеросклероза. Медицинский алфавит. 2021; (30): 43–47. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-43-47>

For citation: Drygina L. B., Khirmanov V. N. Clinical and laboratory markers of calcifying atherosclerosis. Medical alphabet. 2021; (30):43–47. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-43-47>



Значение определения генотипов *Gardnerella vaginalis* в диагностике рецидивирующего бактериального вагиноза

А. А. Крысанова^{1,2}, А. Е. Гущин³, А. М. Савичева^{1,2}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта», Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург

³ГБУЗ г. Москвы «Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения Москвы»

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценить значение выявления разных генотипов *Gardnerella vaginalis* в диагностике рецидивирующего бактериального вагиноза.

Материалы и методы. В исследовании участвовали 299 женщин репродуктивного возраста. Все пациентки были разделены на три группы (здоровые женщины, женщины с первым эпизодом бактериального вагиноза и женщины с рецидивирующим бактериальным вагинозом). ДНК *Gardnerella vaginalis* в отделяемом влагалища выявляли методом ПЦР в реальном времени. Обнаружение четырех генотипов *G. vaginalis* выполнено с использованием мультиплексного ПЦР в реальном времени. Для количественного определения амплифицированных ПЦР-фрагментов были сконструированы стандартные количественные образцы. Статистический анализ результатов осуществляли с использованием статистического пакета NCSS 11 (NCSS, LCC).

Результаты. У 38,2% здоровых женщин в вагинальном биотопе выявляли какой-либо генотип *G. vaginalis*, причем наиболее часто это был генотип 4 (35,2%), при этом концентрация ДНК *G. vaginalis* была низкой (10^2 – 10^3 ГЭ/мл). При выявлении нескольких генотипов гарднерел одновременно у здоровых женщин концентрация ДНК не превышала 10^4 ГЭ/мл. Совершенно другая картина наблюдалась среди женщин с бактериальным вагинозом (БВ). При первом эпизоде БВ превалировал 4-й генотип *G. vaginalis* как в качестве единственного генотипа, так и в сочетании с 1-м, или 2-м, или 3-м. При рецидивирующем течении БВ выявлялись исключительно сразу 3–4 генотипа *G. vaginalis*, причем в 78% случаев имело место сочетание 1-го, 2-го и 4-го генотипов, а концентрация ДНК составляла 10^7 – 10^8 ГЭ/мл.

Заключение. Для диагностики рецидивирующих форм БВ необходимы разработка и внедрение в практику лабораторной диагностики тест-системы для выявления разных генотипов *G. vaginalis* методом ПЦР в реальном времени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рецидивирующий бактериальный вагиноз, *Gardnerella vaginalis*, генотипы, диагностика.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Significance of *Gardnerella vaginalis* genotyping in diagnosis of recurrent bacterial vaginosis

A. A. Krysanova^{1,2}, A. E. Guschin³, A. M. Savicheva^{1,2}

¹Scientific and Research Institute for Obstetrics and Gynecology n.a. D. O. Ott, Saint Petersburg, Russia

²Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

³Moscow Scientific and Practical Centre for Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russia

SUMMARY

Objective. To assess the importance of identifying different genotypes of *Gardnerella vaginalis* in the diagnosis of recurrent bacterial vaginosis.

Materials and methods. The study involved 299 women of reproductive age. All patients were divided into three groups (healthy women, women with the first episode of bacterial vaginosis, and women with recurrent bacterial vaginosis). DNA of *Gardnerella vaginalis* in vaginal discharge was detected by real-time PCR. The detection of four genotypes of *G. vaginalis* was performed using real-time multiplex PCR. To quantify the amplified PCR fragments, quantitative standard samples were constructed. Statistical analysis of the results was carried out using the statistical package NCSS 11 (NCSS, LCC).

Results. In 38.2% of healthy women, any one genotype of *G. vaginalis* was identified in the vaginal biotope, most often it was genotype 4 (35.2%), while the concentration of *G. vaginalis* DNA was low (10^2 – 10^3 geqs/ml). When several genotypes of *Gardnerella* were detected simultaneously in healthy women, the DNA concentration did not exceed 10^4 geqs/ml. A completely different picture was observed among women with bacterial vaginosis (BV). In the first episode of BV, genotype 4 of *G. vaginalis* prevailed, both as a single genotype and in combination with 1 or 2, or 3 genotypes. In the recurrent course of BV, only 3–4 genotypes of *G. vaginalis* were detected at once, and in 78% of cases it had place a combination of 1, 2 and 4 genotypes, and the DNA concentration was 10^7 – 10^8 geqs/ml.

Conclusion. To diagnose recurrent forms of BV, it is necessary to develop and introduce into practice laboratory diagnostics a test system for detecting different genotypes of *G. vaginalis* by real-time PCR.

KEY WORDS: recurrent bacterial vaginosis, *Gardnerella vaginalis*, genotypes, diagnostics.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Введение

Бактериальный вагиноз (БВ) – распространенное заболевание влагалища женщин репродуктивного возраста, которое может протекать как с развитием характерной симптоматики, так и бессимптомно. Примерно у 50%

женщин могут появиться неприятный запах из влагалища, выделения, зуд, а также повышение pH влагалища. БВ может увеличить риск заражения многими возбудителями инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), такими как вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), *Neisseria*

gonorrhoeae (NG), *Chlamydia trachomatis* (CT), *Trichomonas vaginalis* (TV), вирус простого герпеса-2 (HSV-2) [1]. В литературе также описывается связь между БВ и вирусом папилломы человека (HPV) [2].

В большинстве случаев заболевание поддается лечению с использованием доступных препаратов, включая пероральный и интравагинальный метронидазол и клиндамицин, а также тинидазол, однако эти методы оказываются неэффективными в долгосрочной перспективе.

Частота возникновения рецидивов после эпизодов БВ может достигать 80% через 3 месяца после эффективного лечения [3]. До 50% женщин с БВ испытывают рецидив в течение года после начала лечения от первичного эпизода [4, 5]. В ряде случаев причинами рецидива могут быть нарушение режима терапии и прекращение приема препаратов пациентками, резистентность основных микроорганизмов-возбудителей БВ к метронидазолу или клиндамицину, а также развитие антибиотикоустойчивости БВ-ассоциированных микроорганизмов.

В настоящее время активно обсуждается половой путь передачи возбудителей от партнера (партнеров). Описаны случаи носительства БВ-ассоциированных бактерий у мужчин, а также обмена БВ-ассоциированными бактериями в рамках сексуальных партнерств между мужчинами и женщинами, женщинами и женщинами [6, 7].

Кроме того, рецидив заболевания может развиваться из-за образования биопленки, которая защищает бактерии, вызывающие БВ, от антимикробной терапии [8–13].

БВ – это полимикробное заболевание, однако основным возбудителем БВ является *Gardnerella vaginalis* [14–16]. Этот микроорганизм характеризуется исключительным фенотипическим и генотипическим разнообразием. Различают от 8 до 17 метаболических биотипов *G. vaginalis* на основании присутствия или отсутствия ферментов β -галактозидазы, липазы, способности гидролизовать гиппурат натрия ферментировать сахара (ксилозу, арабинозу и галактозу) [17, 18].

Генотипическое разнообразие *G. vaginalis* было продемонстрировано с использованием молекулярных методов, таких как рестрикционный анализ амплифицированной рибосомальной ДНК (ARDRA). Используя этот метод, были идентифицированы три различных генотипа *G. vaginalis*, два из которых продуцировали сиалидазу. Хотя связь с продуцированием сиалидазы была показана для определенных генотипов ARDRA *G. vaginalis*, четкой связи между БВ и любым из генотипов ARDRA выявлено не было. Были описаны различные генетические варианты *G. vaginalis*, основанные на сравнительном геномном анализе и сообщалось о существенных различиях в метаболическом и вирулентном потенциале между генотипами микроорганизма [19–21].

Gardnerella vaginalis демонстрирует исключительный потенциал вирулентности по сравнению с другими БВ-ассоциированными бактериями. Она секретирует холестерин-зависимый токсин вагинолизин, порообразующая активность которого связана с апоптозом эпителиальных клеток. Сиалидаза, секретируемая *G. vaginalis*, участвует в разрушении физиологических мукозных компонентов влагалища, обеспечивая питанием бактерии, и улучшает их способность уклоняться от иммунной системы хозяина [22, 23].

Описаны две формы существования гарднерелл – «рассеянная» (disperced) форма *G. vaginalis*, рассредоточенная среди другой микрофлоры и «сцепленная» (cohesive) форма *G. vaginalis*, адгезированная на клетках эпителия и образующая «ключевые» клетки. Дисперсная форма была обнаружена у 10–18% случайно отобранных женщин, 3–4% мужчин и 10% детей и не имела связи с сексуальными контактами. Сцепленная форма присутствовала у всех пациентов с подтвержденным БВ и их сексуальных партнеров, но не была выявлена ни у одного из здоровых людей или детей [24].

В более поздних исследованиях было подтверждено генетическое разнообразие гарднерелл, и с 2019 года предложена принципиально новая таксономическая классификация, устанавливающая, что род *Gardnerella* включает как минимум 13 отдельных видов. В дополнение к виду *G. vaginalis* были описаны три новых вида – *G. piotii*, *G. swidsinskii* и *G. Leopoldii* – на основе сравнения полногеномных последовательностей, биохимических свойств и матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации с времяпролетной масс-спектрометрией (MALDI-TOF). Остальные девять геномных видов не были названы и описаны, предположительно из-за отсутствия достаточного количества изолятов, чтобы иметь веские основания для их обозначения [25].

Несмотря на получение новых знаний о генотипах и видах гарднерелл, до сих пор обсуждаются проблемы частого рецидивирования этого заболевания, особенностей его диагностики и терапии [26]. Ключевую роль в развитии рецидивирующих форм БВ отводят образованию бактериальных пленок, которые чаще всего формируют корпоративные формы гарднерелл.

Цель исследования: оценить значение выявления разных генотипов *Gardnerella vaginalis* в диагностике рецидивирующего бактериального вагиноза.

Материалы и методы

В исследовании участвовали 299 женщин репродуктивного возраста (18–54 года), обратившихся в лечебные учреждения гинекологического профиля Санкт-Петербурга для обследования с жалобами на выделения из половых путей. На основании результатов микроскопии по Граму со шкалой Нуджента все пациентки были разделены на группы: 162 женщины – с физиологическим микробиоценозом влагалища (здоровые), 58 – с промежуточным и 79 женщин – с бактериальным вагинозом. Для лучшего определения диагностических характеристик случаи с промежуточной микрофлорой по Нудженту были исключены из анализа.

Пациентки с бактериальным вагинозом были разделены на две подгруппы: с первым эпизодом БВ (по результатам анамнеза) и с рецидивирующим БВ (более четырех эпизодов БВ в год). В итоге были сформированы три группы пациенток: I – здоровые женщины, II – женщины с первым эпизодом БВ и III – женщины с рецидивирующим БВ.

Клиническим материалом для исследования служило отделяемое влагалища, которое получали с помощью дакроновых тампонов.

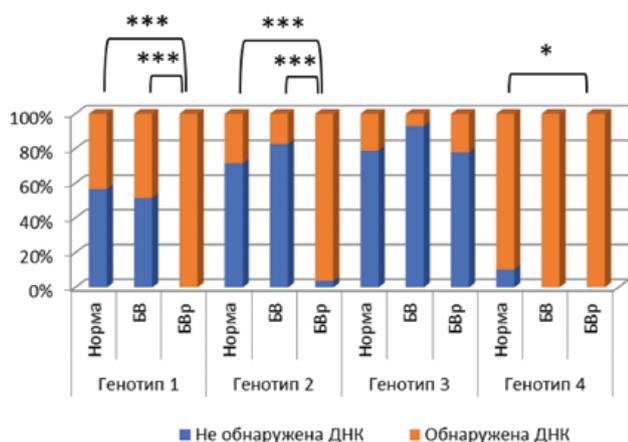


Рисунок 1. Частота выявления ДНК определенных генотипов *G. vaginalis* в группах женщин с физиологическим микробиоценозом влагалища (норма), первым эпизодом БВ и рецидивирующим БВ.

ДНК *Gardnerella vaginalis* из образцов клинического материала для исследования методом ПЦР в реальном времени выделяли с помощью набора реагентов ДНК-сорб-АМ (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) в соответствии с инструкцией производителя.

Обнаружение ДНК четырех генотипов *G. vaginalis* было выполнено с использованием мультиплексного ПЦР-анализа в реальном времени с ранее описанными праймерами и зондами [27]. Для количественного определения амплифицированных ПЦР-фрагментов были сконструированы стандартные количественные образцы путем клонирования фрагментов ПЦР-генов-мишеней pGEM-T Vector Systems (Promega, Madison, США). Концентрацию ДНК в плазмидных препаратах тестировали с использованием количественной ПЦР с теми же специфическими праймерами и зондами в цифровой системе ПЦР QX100 Droplet (BioRad, США). Стандартные кривые были получены путем тестирования количественных стандартных образцов (в двух повторениях) в концентрациях 10^3 , 10^5 , 10^7 и 10^9 геном эквивалент (ГЭ) на 1 мл для всех мишеней. Концентрации экстракта ДНК в клинических образцах выражали в ГЭ/мл.

Статистический анализ результатов осуществляли с использованием статистического пакета NCSS 11 (NCSS, LCC).

Результаты и обсуждение

На основании клинико-anamnestических данных и результатов микроскопической оценки микробиоценоза

влагалища со шкалой Нуджента были сформированы три группы женщин: I группа (норма) – женщины с физиологическим микробиоценозом влагалища – 162 человека, II группа – 29 женщин с первым эпизодом БВ и III группа – 50 женщин с рецидивирующим БВ.

В общей сложности ДНК *Gardnerella vaginalis* в вагинальных пробах пациенток разных групп выявлялись с частотой 95,8%. В I группе женщин ДНК этого микроорганизма была обнаружена в 93,2% случаев (151 из 162), у женщин II и III – в 100%. Это согласуется с данными литературы о том, что *Gardnerella vaginalis* часто присутствует в вагинальном биотопе здоровых женщин [28, 29].

Однако концентрация ДНК *Gardnerella vaginalis* в группе женщин с физиологическим микробиоценозом влагалища была значительно ниже, чем у женщин с БВ, и составила в среднем 10^3 ($0-8 \times 10^7$) ГЭ на 1 мл. В то же время в группе женщин с первым эпизодом БВ концентрация ДНК была равна 5×10^7 ГЭ/мл, ($4 \times 10^6-3 \times 10^8$), а при рецидивирующем БВ – 1×10^8 ГЭ/мл ($2 \times 10^7-3 \times 10^8$). Различия в концентрации ДНК *Gardnerella vaginalis* в вагинальном биотопе женщин с физиологическим микробиоценозом влагалища и женщин с течением БВ были достоверными ($p < 0,0001$).

На рисунке 1 представлены данные по частоте выявления ДНК определенных генотипов *G. vaginalis* в группах женщин с физиологическим микробиоценозом влагалища (норма), первым эпизодом БВ и рецидивирующим БВ.

Следует отметить, что 4-й генотип *G. vaginalis* был самым распространенным и выявлялся во всех группах женщин, как здоровых, так и с БВ. Генотип 1 был обнаружен у всех женщин с рецидивирующими формами БВ и лишь у части женщин с первым эпизодом БВ и здоровых женщин. Такая же картина была и при выявлении 2-го генотипа гарднерелл.

Среди этих групп женщин были обнаружены разные генотипы *Gardnerella vaginalis* – от 1 до 4 одновременно. Данные по количеству генотипов *Gardnerella vaginalis* в вагинальных пробах пациенток с БВ, рецидивирующим БВ и у здоровых женщин представлены в таблице 1.

Как видно из данных, представленных в таблице 1, у здоровых женщин в вагинальном биотопе *G. vaginalis* наиболее часто (в 38% случаев) представлена одним генотипом по сравнению с женщинами, у которых был первый эпизод БВ ($p < 0,05$). При рецидивирующем БВ один генотип *G. vaginalis* не был обнаружен ни у одной пациентки. Кроме того, два генотипа *G. vaginalis*, тем более три и четыре ге-

Таблица 1
Количество генотипов *Gardnerella vaginalis* и их концентрация в вагинальных пробах здоровых женщин, пациенток с первым эпизодом БВ и рецидивирующим течением БВ

Количество генотипов <i>Gardnerella vaginalis</i> в образце	Здоровые (n = 162)		Первый эпизод БВ (n = 29)		Рецидивирующий БВ (n = 50)		p
	Частота (%)	Концентрация ДНК, медиана (ГЭ/мл)	Частота (%)	Концентрация ДНК, медиана (ГЭ/мл)	Частота (%)	Концентрация ДНК, медиана (ГЭ/мл)	
<i>G. vaginalis</i> не обнаружены	11 (6,8)	–	0	–	0	–	
1	62 (38,3)	$2,0 \times 10^3$ [$8,3 \times 10^2-4,7 \times 10^3$]	8 (27,6)	$2,2 \times 10^6$ [$1,6 \times 10^3-2,5 \times 10^9$]	0	–	I-II < 0,05
3	49 (30,2)	$1,8 \times 10^4$ [$4,5 \times 10^3-1,6 \times 10^5$]	21 (72,4)	$8,0 \times 10^7$ [$1,2 \times 10^7-4,0 \times 10^9$]	0	–	I-II < 0,001
4	25 (15,4)	$2,4 \times 10^4$ [$1,1 \times 10^4-1,0 \times 10^5$]	0	–	41 (82)	$1,2 \times 10^8$ [$2,2 \times 10^7-3,3 \times 10^9$]	I-III < 0,001
4	15 (9,3)	$2,3 \times 10^4$ [$1,3 \times 10^4-2,0 \times 10^5$]	0	–	9 (18)	$1,1 \times 10^8$ [$4,1 \times 10^7-1,5 \times 10^9$]	I-III < 0,001

Сочетание генотипов *G. vaginalis*, выявленных в вагинальных образцах здоровых женщин, пациенток с первым эпизодом БВ и рецидивирующим течением БВ

Генотипы <i>G. vaginalis</i> , обнаруженные в вагинальных образцах	Здоровые (n = 162)		Первый эпизод БВ (n = 29)		Рецидивирующий БВ (n = 50)		p
	I		II		III		
	Частота (%)	Концентрация ДНК	Частота (%)	Концентрация ДНК	Частота (%)	Концентрация ДНК	
Только 1	3 (1,8)	$7,0 \times 10^2$	0	–	0	–	
Только 2	1 (0,6)	$1,7 \times 10^2$	0	–	0	–	
Только 3	1 (0,6)	$1,3 \times 10^3$	0	–	0	–	
Только 4	57 (35,2)	$2,2 \times 10^3$ [$9,4 \times 10^2$ – $5,1 \times 10^3$]	8 (27,6)	$2,2 \times 10^6$ [$1,6 \times 10^3$ – $2,5 \times 10^9$]	0	–	I-II > 0,05
Сочетание 1 и 2	1 (0,6)	$4,9 \times 10^4$	0	–	0	–	
Сочетание 1 и 4	30 (18,5)	$1,8 \times 10^4$ [$5,6 \times 10^3$ – $2,2 \times 10^5$]	14 (48,3)	$1,5 \times 10^8$ [$1,5 \times 10^7$ – $4,2 \times 10^9$]	0	–	I-II < 0,001
Сочетание 2 и 4	12 (7,4)	$2,7 \times 10^4$ [$2,9 \times 10^3$, $1,1 \times 10^5$]	5 (17,2)	$5,3 \times 10^7$ [$6,2 \times 10^6$ – $8,0 \times 10^7$]	0	–	I-II < 0,01
Сочетание 3 и 4	6 (3,7)	$1,1 \times 10^4$ [$4,5 \times 10^3$ – $2,0 \times 10^4$]	2 (6,9)	$1,6 \times 10^7$ [$2,6 \times 10^3$ – $3,3 \times 10^7$]	0	–	I-II > 0,05
Сочетание 1, 2 и 4	13 (8,0)	$7,3 \times 10^4$ [$1,7 \times 10^4$ – $7,4 \times 10^5$]	0	–	39 (78,0)	$1,7 \times 10^8$ [$2,2 \times 10^7$ – $3,8 \times 10^9$]	I-III < 0,001
Сочетание 1, 3 и 4	8 (4,9)	$2,2 \times 10^4$ [$1,5 \times 10^4$ – $2,8 \times 10^4$]	0	–	2 (4,0)	$3,2 \times 10^7$ [$6,4 \times 10^3$ – $6,3 \times 10^7$]	I-III > 0,05
Сочетание 2, 3 и 4	4 (2,5)	$4,0 \times 10^3$ [$3,4 \times 10^3$ – $2,3 \times 10^4$]	0	–	0	–	
Сочетание 1, 2, 3 и 4	15 (9,3)	$2,3 \times 10^4$ [$1,3 \times 10^4$ – $2,0 \times 10^5$]	0	–	9 (18,0)	$1,1 \times 10^8$ [$4,1 \times 10^7$ – $1,5 \times 10^9$]	I-III < 0,001

нотипа одновременно существенно реже были обнаружены у здоровых женщин по сравнению с пациентками II и III групп. Различия достоверны по частоте обнаружения двух генотипов *G. vaginalis* в I и II группах женщин ($p < 0,001$). В III группе два генотипа не были обнаружены ни в одном случае. Интересны данные по выявлению трех и четырех генотипов *G. vaginalis* в группе женщин с рецидивирующим течением БВ. Такое количество генотипов не обнаруживалось во влагалище женщин с первым эпизодом БВ, а среди здоровых женщин частота их выявления была существенно ниже ($p < 0,001$), также значительно ниже была и концентрация этих генотипов.

Таким образом, одновременное выявление трех и более генотипов *G. vaginalis* во влагалище женщин и их максимальная концентрация более 10^8 ГЭ/мл наиболее характерны для рецидивирующего течения БВ. По-видимому, разные генотипы, а возможно, разные виды гарднерелл, потенцируют патогенный потенциал друг друга, способствуя образованию прочной бактериальной пленки. Поэтому заболевание часто рецидивирует, не поддаваясь традиционным методам терапии.

Далее мы исследовали, как сочетались генотипы *G. vaginalis* друг с другом у здоровых женщин и женщин с БВ (табл. 2).

Как видно из данных, приведенных в таблице 2, среди здоровых женщин в вагинальном биоотопе в 38,2% случаев выявлялся какой-либо один генотип *G. vaginalis*, причем наиболее часто это был генотип 4 (35,2%). Сочетание генотипов *G. vaginalis* было разным, выявлялось с частотой от 0,6% (1-й и 2-й генотипы) до 18,5% (1-й и 4-й генотипы). В случае выявления одного генотипа *G. vaginalis* у здоровых женщин концентрация ДНК *G. vaginalis* была низкой: 10^2 – 10^3 ГЭ/мл. При выявлении нескольких генотипов гарднерелл одновременно у здоровых женщин концентрация ДНК не превышала 10^4 ГЭ/мл.

Совершенно другая картина наблюдалась среди женщин с БВ. При первом эпизоде БВ превалировал 4-й генотип *G. vaginalis*, как в качестве единственного генотипа, так и в сочетании с 1-м, или 2-м, или 3-м. При рецидивирующем течении БВ выявлялись исключительно сразу 3–4 генотипа *G. vaginalis*, причем в 78% случаев имело место сочетание 1-го, 2-го и 4-го генотипов, а концентрация ДНК составляла 10^7 – 10^8 ГЭ/мл.

По-видимому, выявление каждого генотипа *G. vaginalis* по отдельности не имеет большого прогностического значения для диагностики рецидивирующих форм БВ. Именно соотношение генотипов и одновременное выявление сразу нескольких, причем наиболее часто 1-го, 2-го и 4-го генотипов, а также их повышенное количественное содержание может помочь в прогнозировании и диагностике рецидивирующих форм БВ, а это, в свою очередь, улучшит качество терапии БВ. Поскольку в патогенезе рецидивов БВ существенную роль играют биопленки, образованные разными бактериями, в основном *G. vaginalis* [11, 30], генетический анализ этих микроорганизмов позволит выявить биопленкообразующие гарднереллы. На сегодняшний день в широкой медицинской практике выявление бактериальных пленок при БВ затруднительно. В ряде исследований отмечено использование технологии FISH для выявления биопленок [31], однако в диагностической работе эта технология не используется. Опосредованно возможно выявление ключевых клеток в отделяемом влагалища в качестве маркера биопленки, однако многие лаборатории неправильно трактуют эти клетки. Здесь требуется обучение врачей лабораторной службы методам микроскопического исследования вагинальных мазков. Разработка и внедрение в практику лабораторной диагностики метода ПЦР в реальном времени с выявлением разных генотипов *G. vaginalis* помогут в диагностике рецидивирующих форм БВ.

Заключение

Для рецидивирующего течения БВ наиболее характерным является одновременное выявление трех и более генотипов *G. vaginalis* во влагалище женщин и их максимальная концентрация более 10^8 ГЭ/мл. При рецидивирующем течении БВ выявлялись исключительно сразу 3–4 генотипа *G. vaginalis*, причем в 78% случаев имеет место сочетание 1-го, 2-го и 4-го генотипов. Для диагностики рецидивирующих форм БВ необходимы разработка и внедрение в практику лабораторной диагностики тест-системы для выявления разных генотипов *G. vaginalis* методом ПЦР в реальном времени.

Список литературы / References

1. Shipitsyna E, Khnutdinova T, Budilovskaya O et al. Bacterial vaginosis-associated vaginal microbiota is an age-independent risk factor for Chlamydia trachomatis, Mycoplasma genitalium and Trichomonas vaginalis infections in low-risk women, St. Petersburg, Russia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020 Jul; 39 (7): 1221–1230. DOI: 10.1007/s10096-020-03831-w. Epub 2020 Feb 8. PMID: 32036466. PMID: PMC 7303053.
2. Schwebke JR, Desmond R. Natural history of asymptomatic bacterial vaginosis in a high-risk group of women. *Sexually transmitted diseases*. 2007; 34 (11): 876–7. DOI: 10.1097/OLQ.0b013e318073bd82.
3. Oduyeyo OO, Anorlu RI, Ogunsoola FT. The effects of antimicrobial therapy on bacterial vaginosis in non-pregnant women. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; DOI: 10.1002/14651858.CD006055.pub2.
4. Sobel JD, Schmitt C, Meriwether C. Long-term follow-up of patients with bacterial vaginosis treated with oral metronidazole and topical clindamycin. *J Infect Dis*. 1993 Mar; 167 (3): 783–4. DOI: 10.1093/infdis/167.3.783. PMID: 8440952.
5. Bradshaw CS, Morton AN, Hocking J, et al. High recurrence rates of bacterial vaginosis over the course of 12 months after oral metronidazole therapy and factors associated with recurrence. *J Infect Dis*. 2006 Jun 1; 193 (11): 1478–86. DOI: 10.1086/503780. Epub 2006 Apr 26. PMID: 16652274.
6. Bradshaw CS, Walker SM, Vodstrcil LA, et al. The influence of behaviors and relationships on the vaginal microbiota of women and their female partners: the WOW Health Study. *J Infect Dis*. 2014 May 15; 209 (10): 1562–72. DOI: 10.1093/infdis/jit664. Epub 2013 Nov 27. PMID: 24285846.
7. Vodstrcil LA, Walker SM, Hocking JS, et al. Incident bacterial vaginosis (BV) in women who have sex with women is associated with behaviors that suggest sexual transmission of BV. *Clin Infect Dis*. 2015 Apr 1; 60 (7): 1042–53. DOI: 10.1093/cid/ciu1130. Epub 2014 Dec 16. PMID: 25516188.
8. Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, et al. An adherent Gardnerella vaginalis biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole. *Am J Obstet Gynecol*. 2008 Jan; 198 (1): 97.e1–6. DOI: 10.1016/j.ajog.2007.06.039. Epub 2007 Nov 19. PMID: 18005928.
9. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Mendling W, et al. Infection through structured polymicrobial Gardnerella biofilms (SIPM-G8). *Histol Histopathol*. 2014 May; 29 (5): 567–87. DOI: 10.14670/HH-29.10.567. Epub 2013 Dec 11. PMID: 24327088.
10. Muzny CA, Schwebke JR. Biofilms: An Underappreciated Mechanism of Treatment Failure and Recurrence in Vaginal Infections. *Clin Infect Dis*. 2015 Aug 15; 61 (4): 601–6. DOI: 10.1093/cid/civ353. Epub 2015 May 1. PMID: 25935553. PMID: PMC 4607736.
11. Machado A, Cerca N. Influence of Biofilm Formation by Gardnerella vaginalis and Other Anaerobes on Bacterial Vaginosis. *J Infect Dis*. 2015 Dec 15; 212 (12): 1856–61. DOI: 10.1093/infdis/jiv338. Epub 2015 Jun 16. PMID: 26080369.
12. Castro J, Cerca N. BV and non-BV associated Gardnerella vaginalis establish similar synergistic interactions with other BV-associated microorganisms in dual-species biofilms. *Anaerobe*. 2015 Dec; 36: 56–9. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2015.10.008. Epub 2015 Oct 24. PMID: 26505928.
13. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Verstraelen H. Polymicrobial Gardnerella biofilm resists repeated intravaginal antiseptic treatment in a subset of women with bacterial vaginosis: a preliminary report. *Arch Gynecol Obstet*. 2015 Mar; 291 (3): 605–9. DOI: 10.1007/s00404-014-3484-1. Epub 2014 Sep 23. PMID: 25245669.

Сведения об авторах

Крысанова Анна Александровна, н.с. группы экспериментальной микробиологии¹, ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики ФП и ДПО². E-mail: krusanova.anna@mail.ru. ID researcher: K-3678-2018. Scopus: 57199643089. ORCID: 0000-0003-4798-1881

Гущин Александр Евгеньевич, к.б.н., вед.н.с.³. E-mail: mcclik@zdrav.mos.ru. ORCID ID: 0000-0002-0399-1167

Савичева Алевтина Михайловна, д.м.н., проф., з.д.н. РФ, зав. отделом медицинской микробиологии¹, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики². ID researcher: P-6788-2015. Scopus: 6602838765. E-mail: savitcheva@mail.ru

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта», Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург

³ГБУЗ г. Москвы «Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения Москвы»

Автор для переписки: Крысанова Анна Александровна. E-mail: krusanova.anna@mail.ru

Для цитирования: Крысанова А. А., Гущин А. Е., Савичева А. М. Значение определения генотипов Gardnerella vaginalis в диагностике рецидивирующего бактериального вагиноза. *Медицинский алфавит*. 2021; (30): 48–52. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-48-52>

14. Alves P, Castro J, Sousa C, Cereija TB, Cerca N. Gardnerella vaginalis outcompetes 29 other bacterial species isolated from patients with bacterial vaginosis, using an in vitro biofilm formation model. *J Infect Dis*. 2014 Aug 15; 210 (4): 593–6. DOI: 10.1093/infdis/jiu131. Epub 2014 Mar 4. PMID: 24596283.
15. Machado A, Jefferson KK, Cerca N. Interactions between Lactobacillus crispatus and bacterial vaginosis (BV)-associated bacterial species in initial attachment and biofilm formation. *Int J Mol Sci*. 2013 Jun 5; 14 (6): 12004–12. DOI: 10.3390/ijms140612004. PMID: 23739678. PMID: PMC 3709769.
16. Castro J, Alves P, Sousa C, Cereija T, França Â, Jefferson KK, Cerca N. Using an in-vitro biofilm model to assess the virulence potential of bacterial vaginosis or non-bacterial vaginosis Gardnerella vaginalis isolates. *Sci Rep*. 2015 Jun 26; 5: 11640. DOI: 10.1038/srep11640. PMID: 26113465. PMID: PMC 4481526.
17. Piot P, Van Dyck E, Peeters M, Hale J, Totten PA, Holmes KK. Biotypes of Gardnerella vaginalis. *J Clin Microbiol*. 1984 Oct; 20 (4): 677–9. DOI: 10.1128/JCM.20.4.677-679.1984. PMID: 633346. PMID: PMC 271409.
18. Benito R, Vazquez JA, Berron S, Fenoll A, Saez-Neito JA. A modified scheme for biotyping Gardnerella vaginalis. *J Med Microbiol*. 1986 Jun; 21 (4): 357–9. DOI: 10.1099/00222615-21-4-357. PMID: 3088281.
19. Santiago GL, Deschaght P, El Aila N, Kiama TN, Verstraelen H, Jefferson KK, Temmerman M, Vaneechoutte M. Gardnerella vaginalis comprises three distinct genotypes of which only two produce sialidase. *Am J Obstet Gynecol*. 2011 May; 204 (5): 450.e1–7. DOI: 10.1016/j.ajog.2010.12.061. Epub 2011 Mar 27. PMID: 21444061.
20. Paramel Jayaprakash T, Schellenberg JJ, Hill JE. Resolution and characterization of distinct cpn60-based subgroups of Gardnerella vaginalis in the vaginal microbiota. *PLoS One*. 2012; 7 (8): e43009. DOI: 10.1371/journal.pone.0043009. Epub 2012 Aug 10. PMID: 22900080. PMID: PMC 3416817.
21. Ahmed A, Earl J, Retchless A, Hillier SL, Rabe LK, Cherpes TL, Powell E, Janto B, Eutsey R, Hillier NL, Boissy R, Dahlgren ME, Hall BG, Costerton JW, Post JC, Hu FZ, Ehrlich GD. Comparative genomic analyses of 17 clinical isolates of Gardnerella vaginalis provide evidence of multiple genetically isolated clades consistent with subspeciation into genovars. *J Bacteriol*. 2012 Aug; 194 (15): 3922–37. DOI: 10.1128/JB.00556-12. Epub 2012 May 18. PMID: 22609915. PMID: PMC 3416530.
22. Lewis WG, Robinson LS, Gilbert NM, Perry JC, Lewis AL. Degradation, foraging, and depletion of mucus sialoglycans by the vagina-adapted Actinobacterium Gardnerella vaginalis. *J Biol Chem*. 2013 Apr 26; 288 (17): 12067–79. DOI: 10.1074/jbc.M113.453654. Epub 2013 Mar 11. PMID: 23479734. PMID: PMC 3636892.
23. Brisdelen AM, Moncla BJ, Stevens CE, Hillier SL. Sialidases (neuraminidases) in bacterial vaginosis and bacterial vaginosis-associated microflora. *J Clin Microbiol*. 1992 Mar; 30 (3): 663–6. DOI: 10.1128/JCM.30.3.663-666.1992. PMID: 1551983. PMID: PMC 265128.
24. Swidsinski A, Doerffel Y, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Verstraelen H, Vaneechoutte M, Lemm V, Schilling J, Mendling W. Gardnerella biofilm involves females and males and is transmitted sexually. *Gynecol Obstet Invest*. 2010; 70 (4): 256–63. DOI: 10.1159/000314015. Epub 2010 Oct 16. PMID: 21051845.
25. Vaneechoutte M, Guschin A, Van Simaey L, Gansemans Y, Van Nieuwerburgh F, Cools P. Emended description of Gardnerella vaginalis and description of Gardnerella leopoldii sp. nov., Gardnerella piotii sp. nov., and Gardnerella swidsinskii sp. nov., with delineation of 13 genomic species within the genus Gardnerella. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2019 Mar; 69 (3): 679–687. DOI: 10.1099/ijsem.0003200. Epub 2019 Jan 16. PMID: 30648938.
26. Brooke M Faught 1, Sonia Reyes J Womens Health (Larchmt) 2019 Sep; 28 (9): 1218–1226. Characterization and Treatment of Recurrent Bacterial Vaginosis DOI: 10.1089/jwh.2018.7383.
27. Balashov SV, Mordechai E, Adelson ME, Gygas SE. Identification, quantification and subtyping of Gardnerella vaginalis in noncultured clinical vaginal samples by quantitative PCR. *J Med Microbiol*. 2014 Feb; 63 (Pt 2): 162–175. DOI: 10.1099/jmm.0.066407-0. Epub 2013 Nov 7. PMID: 24200640.
28. Zozaya-Hinchliffe M, Lillis R, Martin DH, Ferris MJ. Quantitative PCR assessments of bacterial species in women with and without bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol*. 2010 May; 48 (5): 1812–9. DOI: 10.1128/JCM.00851-09.
29. Castro J, Jefferson KK, Cerca N. Genetic Heterogeneity and Taxonomic Diversity among Gardnerella Species. *Trends Microbiol*. 2020 Mar; 28 (3): 202–211. DOI: 10.1016/j.tim.2019.10.002. Epub 2019 Nov 4. PMID: 31699644.
30. Castro J, Machado D, Cerca N. Unveiling the role of Gardnerella vaginalis in polymicrobial Bacterial Vaginosis biofilms: the impact of other vaginal pathogens living as neighbors. *ISME J*. 2019 May; 13 (5): 1306–1317. DOI: 10.1038/s41396-018-0337-0. Epub 2019 Jan 22. PMID: 30670827. PMID: PMC 6474217.
31. Machado A, Cerca N. Multiplex Peptide Nucleic Acid Fluorescence in Situ Hybridization (PNA-FISH) for Diagnosis of Bacterial Vaginosis. *Methods Mol Biol*. 2017; 1616: 209–219. DOI: 10.1007/978-1-4939-7037-7_13. PMID: 28600771.

Статья поступила / Received 19.04.21
Получена после рецензирования / Revised 28.04.21
Принята в печать / Accepted 30.04.21

About authors

Krusanova Anna A., researcher of the Group of Experimental Microbiology¹, assistant of Dept of Clinical Laboratory Diagnostics². E-mail: krusanova.anna@mail.ru. Researcher ID: K-3678-2018. Scopus: 57199643089. ORCID: 0000-0003-4798-1881

Gushchin Alexander E., PhD Bio, led. researcher³. E-mail: mcclik@zdrav.mos.ru. ORCID ID: 0000-0002-0399-1167

Savitcheva Alevtina M., DM Sci (habil.), professor, head of Dept of Medical Microbiology¹, head of Dept of Clinical Laboratory Diagnostics². Researcher ID: P-6788-2015. Scopus: 6602838765. E-mail: savitcheva@mail.ru

¹Scientific and Research Institute for Obstetrics and Gynecology n.a. D. O. Ott, Saint Petersburg, Russia

²Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

³Moscow Scientific and Practical Centre for Dermatovenerology and Cosmetology, Moscow, Russia

Corresponding author: Krusanova Anna Alexandrovna. E-mail: krusanova.anna@mail.ru

For citation: Krusanova A. A., Guschin A. E., Savitcheva A. M. Significance of Gardnerella vaginalis genotyping in diagnosis of recurrent bacterial vaginosis. *Medical alphabet*. 2021; (30): 48–52. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-48-52>



Способ диагностики неалкогольного стеатоза печени

И. А. Булатова, А. М. Мифтахова, И. Л. Гуляева

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

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Разработка неинвазивного способа диагностики неалкогольного стеатоза печени (НАСП).

Материал и методы. Обследован 21 пациент с подтвержденным НАСП при ультразвуковом исследовании со средним возрастом $42,1 \pm 10,1$ года. Группу контроля составили 10 практически здоровых лиц. Определяли следующие показатели – индекс массы тела (ИМТ), уровень гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП), васкулоэндотелиального фактора роста (ВЭФР) и интерлейкина-6 (ИЛ-6) в сыворотке крови и рассчитывали индекс стеатоза (ИС) с помощью формулы $ИС = -1,2390 + 0,0575 \times ИМТ + 0,0064 \times ГГТП + 0,0006 \times ВЭФР + 0,0001 \times ИЛ-6$. В качестве зависимой переменной был использован показатель наличия стеатоза печени по данным УЗИ печени.

Результаты. По результатам обследования у пациентов со стеатозом ИМТ и сывороточные концентрации ГГТП, ВЭФР и ИЛ-6 были значимо выше, чем в контрольной группе ($p < 0,001$; $p < 0,001$; $p < 0,001$ и $p < 0,001$ соответственно), что свидетельствует о наличии синдрома холестаза, признаков воспаления и дисфункции эндотелия. Коэффициент корреляции между значением ИМТ и наличием НАСП составил 0,90; между ГГТП и наличием стеатоза – 0,80; между ВЭФР и наличием стеатоза – 0,85; между ИЛ-6 и наличием стеатоза – 0,80. Предсказательную ценность каждого параметра модели оценивали по шкале значений площади под ROC-кривой (AUC). Модель эффективна (коэффициент множественной корреляции $R = 0,809$; доля влияния суммы входящих в модель факторов составляет $R^2 \cdot 100 = 65,5\%$), статистически значима (критерий $F = 12,318$; $p < 0,0001$) и обладает отличными диагностическими характеристиками.

Заключение. Предложенный неинвазивный метод позволяет диагностировать стеатоз печени с чувствительностью 95,2% и специфичностью 97,0%: при ИС, равном 0,5 и более, диагностируют наличие НАСП, при ИС менее 0,5 – отсутствие.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: неалкогольный стеатоз печени, индекс стеатоза, васкулоэндотелиальный фактор роста, интерлейкин-6.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Method for diagnosing non-alcoholic liver steatosis

I. A. Bulatova, A. M. Miftakhova, I. L. Gulyaeva

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

SUMMARY

Purpose of the study. Development of a non-invasive method for the diagnosis of non-alcoholic hepatic steatosis.

Material and methods. The study involved 21 patients with confirmed non-alcoholic hepatic steatosis on ultrasound examination with an average age of 42.1 ± 10.1 years. The control group consisted of 10 apparently healthy individuals. The following indicators were determined: body mass index (BMI), the level of gamma-glutamyl transpeptidase (GGTP), vasculoendothelial growth factor (VEGF) and interleukin-6 (IL-6) in serum, and the steatosis index (IS) was calculated using the formula $IS = -1.2390 + 0.0575 \times BMI + 0.0064 \times GGTP + 0.0006 \times VEGF + 0.0001 \times IL-6$. The index of the presence of hepatic steatosis according to liver ultrasound data was used as a dependent variable.

Results. According to the examination results, BMI and serum concentrations of GGTP, VEGF, and IL-6 in patients with steatosis were significantly higher than in the control group ($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$, and $p < 0.001$, respectively), which indicates the presence of cholestasis syndrome, signs of inflammation and endothelial dysfunction. The correlation coefficient between BMI and the presence of non-alcoholic hepatic steatosis was 0.9; between GGTP and the presence of steatosis was 0.80; between VEGF and the presence of steatosis was 0.85; between IL-6 and the presence of steatosis was 0.80. The predictive value of each parameter of the model was assessed using a scale of values of the area under the ROC-curve (AUC). The model is effective (multiple correlation coefficient $R = 0.809$; the share of the influence of the sum of the factors included in the model is $R^2 \cdot 100 = 65.5\%$), statistically significant (criterion $F = 12.318$; $p < 0.0001$) and has excellent diagnostic characteristics.

Conclusion. The proposed non-invasive method makes it possible to diagnose hepatic steatosis with a sensitivity of 95.2% and a specificity of 97.0%: with IS equal to 0.5 or more, the presence of non-alcoholic hepatic steatosis is diagnosed, with IS less than 0.5 is not.

KEY WORDS: non-alcoholic hepatic steatosis, steatosis index, vasculoendothelial growth factor, interleukin-6.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The study was not sponsored.

Введение

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБ) является одним из самых распространенных заболеваний в мире. Распространенность неалкогольного стеатоза печени (НАСП) в мире составляет в среднем 20–35%, стеатогепатита – 3%, у пациентов с ожирением достигает 90–95%. Заболеваемость НАЖБП в России составляет 37,1% [1]. При длительном бессимптомном течении это заболевание неуклонно прогрессирует: неалкогольный стеатоз печени (НАСП) переходит в стеатогепатит, а затем – в цирроз печени.

На сегодняшний день диагностика НАСП представляет значительные трудности, поскольку требует исключения

других заболеваний печени и применения инвазивных методов исследования. Инструментальные методы позволяют косвенно оценить наличие и степень стеатоза печени, формирование фиброза и портальной гипертензии.

Одним из основных способов диагностики НАСП является проведение пункционной биопсии печени с последующим гистологическим исследованием биоптата. Гистологическая картина печени при стеатозе характеризуется признаками жировой дистрофии гепатоцитов, стеатонекроза и долькового воспаления [2]. Однако данный метод является инвазивным, травматичным и трудоемким, характеризуется технической сложностью получения

материала и значительной вероятностью развития осложнений, наличием противопоказаний к проведению данной процедуры; длительным ожиданием результата исследования (до 10 дней) и невозможностью частых повторных исследований для оценки эффективности терапии.

В последние годы предложены ряд неинвазивных интегральных методов диагностики стеатоза с определением лабораторных и биометрических показателей и расчетом жирового индекса печени: индекс FLI (Fatty Liver Index, «жировой индекс печени»), неинвазивный тест SteatoScreen компании BioPredictive (Франция), Hepatic steatosis index, шкала NFS (NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease) Fibrosis Score [3–7].

Результаты этих тестов являются достаточно точными, удобными в применении, в том числе в амбулаторных условиях, контролируемые и воспроизводимые, позволяют оценить степень выраженности стеатоза, наличие фиброза, проследить за динамикой процесса, могут использоваться как скрининг-метод для пациентов из групп риска, что важно для определения ранних стадий заболевания, своевременного назначения терапии и профилактики дальнейшего прогрессирования заболевания.

Однако часть существующих панелей и индексов для диагностики стеатоза запатентованы, дороги, выполняются с определенными реактивами либо включают большой перечень лабораторных тестов. Поэтому дальнейшая разработка неинвазивных общедоступных маркеров стеатоза печени, позволяющих реализовать их у широкого круга пациентов, в настоящее время продолжается.

Цель исследования: разработка неинвазивного способа диагностики НАСП.

Материал и методы

Обследован 21 пациент с подтвержденным НАСП при ультразвуковом исследовании со средним возрастом $42,1 \pm 10,1$ года (13 женщин и 8 мужчин). Группу контроля составили 10 относительно здоровых лиц без патологии печени. У исследуемых групп определяли следующие показатели – индекс массы тела (ИМТ), уровень гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП), концентрации васкулоэндотелиального фактора роста (ВЭФР) и интерлейкина-6 (ИЛ-6) в сыворотке крови и рассчитывали индекс стеатоза (ИС).

Индекс массы тела после измерения роста и веса рассчитывали по формуле как отношение массы тела (кг) к росту (м), возведенному во вторую степень. Сывороточный уровень ГГТП исследовали фотометрическим методом с использованием набора «Гамма-ГТ-Ново» (ЗАО «Вектор-

Бест», г. Новосибирск) на автоматическом биохимическом анализаторе Architect c4000 (Abbott Laboratories, США).

Методом иммуноферментного анализа на аппарате Stat Fax 2100 (Awareness Technology, США) исследовали концентрации ВЭФР и ИЛ-6 с использованием наборов «VEGF-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск).

Полученные значения использовали для расчета ИС печени с помощью специальной формулы:

$$ИС = -1,2390 + 0,0575 \times \text{ИМТ} + 0,0064 \times \text{ГГТП} + 0,0006 \times \text{ВЭФР} + 0,0001 \times \text{ИЛ-6},$$

где: ИС – индекс стеатоза; $-1,2390$ – константа; $0,0575$, $0,0064$, $0,0006$ и $0,0001$ – коэффициенты показателей; ИМТ – индекса массы тела ($\text{кг}/\text{м}^2$); ГГТП – уровень гамма-глутамилтранспептидазы (ед/л); ВЭФР – концентрация васкулоэндотелиального фактора роста (пг/мл); ИЛ-6 – уровень интерлейкина-6 (пг/мл) (приоритетная справка № 2021106422 от 11.03.2021).

Цифровые данные обрабатывали с помощью компьютерной программы Statistica 7.0, а также авторского пакета прикладных электронных таблиц Stat-2000 [8]. Данные для количественных признаков описывались в виде среднего и стандартного отклонения ($M \pm \sigma$) с оценкой значимости различий с помощью критерия Манна – Уитни. Для исследования зависимостей между количественными переменными использовался коэффициент корреляции Спирмена (r). Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Константа и коэффициенты для данной формулы были рассчитаны с помощью метода множественной регрессии. В качестве зависимой переменной был использован показатель наличия стеатоза печени по данным УЗИ печени. Уравнение регрессии считалось достоверным при оценке с помощью критерия Фишера F при $p < 0,05$. Оценка адекватности прогноза проводилась по четырехпольной таблице с расчетом показателей чувствительности и специфичности, а также показателей воспроизводимости и соответствия. Прогноз считался хорошим при чувствительности и специфичности $\geq 90\%$, воспроизводимости $\geq 75\%$, соответствия $\geq 90\%$, удовлетворительным – при чувствительности $\geq 80\%$, специфичности $\geq 75\%$, воспроизводимости $\geq 50\%$, соответствия $\geq 75\%$ [9]. Диагностическую значимость и прогностическую ценность модели оценивали по шкале значений площади под ROC-кривой (Area Under Curve, AUC), которая позволяет выделить отличное, очень хорошее, хорошее, среднее и неудовлетворительное качество моделей.

При значении индекса стеатоза, равном 0,5 и более, диагностируют наличие неалкогольного стеатоза печени, при индексе стеатоза менее 0,5 – отсутствие неалкогольного стеатоза печени.

Таблица 1
Сравнительный анализ ИМТ, ГГТП, ВЭФР и ИЛ-6 в группе контроля и у пациентов с неалкогольным стеатозом печени

№	Группы	Признаки стеатоза печени, по данным УЗИ	Показатели, $M \pm \sigma$			
			ИМТ, $\text{кг}/\text{м}^2$	ГГТП, Ед/л	ВЭФР, пг/мл	ИЛ-6, пг/мл
1	Контроль (n = 10)	Нет	$23,3 \pm 0,8$	$12,2 \pm 3,6$	$88,1 \pm 80,1$	$0,0 \pm 0,0$
2	НАСП (n = 21)	Есть (неоднородность структуры тканей печени, нечеткость сосудистого рисунка, затухание сигнала и повышенная эхогенность)	$32,1 \pm 4,3$	$25,6 \pm 15,7$	$241,9 \pm 153,2$	$1,3 \pm 1,1$
		p1–2	< 0,001	< 0,001	0,001	< 0,001

Результаты и обсуждение

По результатам обследования, у пациентов с НАСП сывороточные концентрации ГГТП, ВЭФР и ИЛ-6 были значимо выше, чем в контрольной группе ($p < 0,001$, $p < 0,001$ и $p < 0,001$ соответственно). Индекс массы тела у больных стеатозом также значимо превышал значения практически здоровых лиц ($p < 0,001$) (табл. 1).

Повышение уровня ГГТП, ИЛ-6 и ВЭФР в сыворотке крови больных НАСП характеризует наличие синдрома холестаза, признаков воспаления и дисфункции эндотелия, что было отмечено и рядом других авторов при НАЖБ [10–13].

Коэффициент корреляции между значением ИМТ и наличием НАСП составил 0,90; между ГГТП и наличием стеатоза – 0,80; между ВЭФР и наличием стеатоза – 0,85; между ИЛ-6 и наличием стеатоза – 0,80.

Предсказательную ценность каждого параметра модели оценивали по шкале значений площади под ROC-кривой (AUC). Площадь ROC-кривой для ИМТ составила $AUC 1,00 \pm 0,00$ (доверительный интервал: 0,88–1,00), для ГГТП площадь AUC – $0,84 \pm 0,07$ (доверительный интервал: 0,67–0,95), AUC для ВЭФР – $0,79 \pm 0,08$ (доверительный интервал: 0,61–0,92), для ИЛ-6 – $0,92 \pm 0,03$ (доверительный интервал: 0,77–0,99) (см. рис.).

Модель эффективна (коэффициент множественной корреляции $R = 0,809$; доля влияния суммы входящих в модель факторов составляет $R^2 \cdot 100 = 65,5\%$), статистически значима (критерий $F = 12,318$; $p < 0,0001$) и обладает отличными диагностическими характеристиками (табл. 2).

Клинические примеры использования ИС

Пример 1

Больная А., 49 лет. В течение 4 лет наблюдается у эндокринолога по поводу ожирения. Пришла на плановый консультативный прием. Жалобы на момент осмотра: ощущение тяжести в области печени. Кожа и склеры физиологической окраски, печень на 0,5 см ниже края реберной дуги. Живот мягкий, безболезненный. Индекс массы тела – 33 кг/м². Уровень ГГТП в сыворотке крови – 21 ед/л, концентрация ВЭФР в сыворотке крови – 182 пг/мл, сывороточный уровень интерлейкина-6 – 2,3 пг/мл. Расчет индекса стеатоза: $ИС = -1,2390 + 0,0575 \times 33 + 0,0064 \times 21 + 0,0006 \times 182 + 0,0001 \times 2,3 = 0,90$. При округлении до целого числа $ИС = 1$, что свидетельствует о наличии неалкогольного стеатоза печени. Результат согласуется с результатами УЗИ печени.

Пример 2

Больная К., 57 лет. В течение 5 лет наблюдается у эндокринолога по поводу ожирения. Пришла на плановый консультативный прием. На момент осмотра пациентка предъявляет жалобы на небольшую утомляемость. Кожа и склеры физиологической окраски, печень на 1,0 см ниже края реберной дуги, живот безболезненный. Индекс массы тела – 35 кг/м². Уровень ГГТП в сыворотке крови – 28 ед/л, концентрация ВЭФР в сыворотке крови – 345 пг/мл, сывороточный уровень интерлейкина-6 – 2,2 пг/мл. Расчет

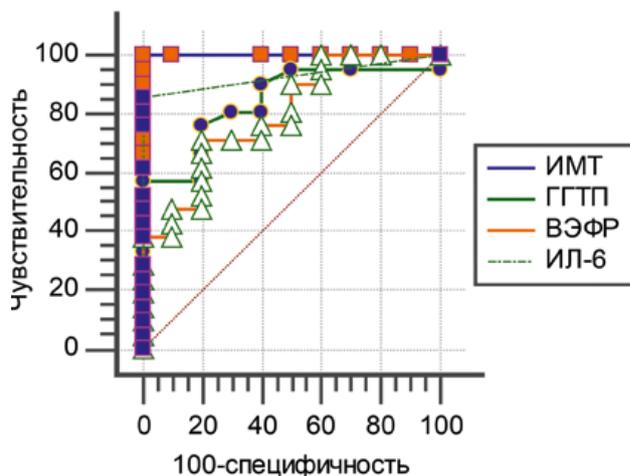


Рисунок. ROC-кривая для показателей индекса стеатоза.

Таблица 2

Диагностические характеристики индекса стеатоза

Диагностическая характеристика	Значения, %
Чувствительность	95,2
Специфичность	97,0
Показатель воспроизводимости	95,2
Показатель соответствия	96,8

индекса стеатоза: $ИС = -1,2390 + 0,0575 \times 35 + 0,0064 \times 28 + 0,0006 \times 345 + 0,0001 \times 2,2 = 1,1$. При округлении до целого числа $ИС = 1$, что свидетельствует о наличии неалкогольного стеатоза печени. Результат согласуется с результатами УЗИ печени.

Пример 3

Больной Н., 48 лет. В течение 3 лет наблюдается у эндокринолога по поводу избытка массы тела. Пришел на плановый консультативный прием. На момент осмотра пациент предъявляет жалобы на снижение работоспособности. Кожа и склеры физиологической окраски, печень у края реберной дуги, живот мягкий, безболезненный. Индекс массы тела – 28 кг/м². Уровень ГГТП в сыворотке крови – 45 ед/л, концентрация ВЭФР в сыворотке крови – 431 пг/мл, сывороточный уровень интерлейкина-6 – 0 пг/мл. Расчет индекса стеатоза: $ИС = -1,2390 + 0,0575 \times 28 + 0,0064 \times 45 + 0,0006 \times 431 + 0,0001 \times 0 = 0,91$. При округлении до целого числа $ИС = 1$, что свидетельствует о наличии неалкогольного стеатоза печени. Результат согласуется с результатами УЗИ печени.

Пример 4

Относительно здоровая женщина Д., 42 года. Жалобы не предъявляет. При осмотре: кожа и склеры физиологической окраски, живот мягкий, безболезненный. Индекс массы тела – 21,8 кг/м². Уровень ГГТП в сыворотке крови – 11 ед/л, концентрация ВЭФР в сыворотке крови – 138 пг/мл, сывороточный уровень интерлейкина-6 – 0 пг/мл. Расчет индекса стеатоза: $ИС = -1,2390 + 0,0575 \times 21,8 + 0,0064 \times 11 + 0,0006 \times 138 + 0,0001 \times 0 = 0,16$. При округлении

до целого числа ИС = 0, что свидетельствует об отсутствии неалкогольного стеатоза печени. Результат согласуется с результатами УЗИ печени.

Как уже было сказано выше, на сегодняшний день существует ряд неинвазивных интегральных методов диагностики стеатоза печени. Например, предложен неинвазивный тест SteatoScreen компании BioPredictive (Франция), включающий определение 10 маркеров крови, а также возраста, пола и ИМТ [5]. Известен способ диагностики стеатоза печени путем оценки в крови уровня гликированного гемоглобина (HbA1c), трансаминаз, ГГТП, щелочной фосфатазы, фракций билирубина, холестерина, а также сбор анамнеза на наличие сахарного диабета, артериальной гипертензии, метаболического синдрома и алкогольной болезни печени, факта приема системных глюкокортикостероидов. Затем проводят УЗИ печени и определяют коэффициент затухания УЗ волны в дБ/см [14].

Однако эти способы имеют ряд недостатков: необходимость проведения большого количества лабораторно-инструментальных исследований, подробный сбор анамнестических данных, что приводит к удлинению времени для постановки диагноза и не позволяет использовать их для широкого скрининга НАСП.

Предложенный нами неинвазивный метод диагностики НАСП включает доступные и недорогие лабораторные тесты и имеет высокие диагностические характеристики.

Заключение

Таким образом, предложенный неинвазивный метод позволяет диагностировать стеатоз печени с чувствительностью 95,2% и специфичностью 97,0%: при ИС, равном 0,5 и более, диагностируют наличие НАСП, при ИС менее 0,5 – отсутствие.

Использование предлагаемого способа диагностики обеспечит раннее выявление изменений в печени, позволит своевременно начать лечение НАСП и контролировать его эффективность.

Список литературы / References

1. Ивашкин В.Т., М.В. Маевская, Ч.С. Павлов и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2016; (2): 24–42. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2016-26-2-24-42>

- Ivashkin V.T., M.V. Mayevskaya, Ch.S. Pavlov et al. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease of the Russian Society for the Study of the Liver and the Russian Gastroenterological Association. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology and Coloproctology. 2016; (2): 24–42. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2016-26-2-24-42>
2. Ивашкин В.Т. и соавт. Диагностика и лечение неалкогольной жировой болезни печени: методические рекомендации для врачей. В.Т. Ивашкин. Москва. 2015. 29 с.
- Ivashkin V.T. et al. Diagnostics and treatment of non-alcoholic fatty liver disease: guidelines for doctors. V.T. Ivashkin. Moscow. 2015. 29 p.
3. Bedogni G., Miglioli L., Masutti F. et al. Incidence and natural course of fatty liver in the general population: The Dionysos study. Hepatology. 2007; (46): 1387–1391.
4. Мохорт Т.В. Неалкогольная жировая болезнь печени и сахарный диабет: аспекты патогенеза, диагностики и лечения. Медицинские новости. 2012; (4): 4–10.
- Mohort T.V. Non-alcoholic fatty liver disease and diabetes mellitus: aspects of pathogenesis, diagnosis and treatment. Medical news. 2012; (4): 4–10.
5. Poynard T., Lassailly G., Diaz E., Clement K. et al. Performance of biomarkers FibroTest, ActiTest, SteatoTest, and NashTest in patients with severe obesity: meta-analysis of individual patient data. PLoS One. 2012; 7 (3): e30325. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030325>
6. Yamaguchi K., Yang L., McCall S. et al. Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology. 2007; (45): 1366–1374. DOI: 10.1002/hep.21655.
7. Treeprasertsuk S., Björnsson E., Enders F., Suwanwalaikorn S., Lindor KD. NAFLD fibrosis score: A prognostic predictor for mortality and liver complications among NAFLD patients. World J Gastroenterol. 2013; 19 (8): 1219–1229. PMID: 23482703. DOI: 10.3748/wjg.v19.i8.1219.
8. Шелудко В.С. Теоретические основы медицинской статистики: метод. рекомендации. В.С. Шелудко, М.Я. Подлужная. Пермь, 2001. 36 с.
- Sheludko V.S. Theoretical foundations of medical statistics: method. Recommendations. VS Sheludko, M. Ya. Podluzhnaya. Perm, 2001. 36 p.
9. Власов В.В. Эффективность диагностических исследований. В.В. Власов. М.: Медицина, 1988. 256 с.
- Vlasov V.V. Efficiency of diagnostic studies. V.V. Vlasov. M.: Medicine, 1988. 256 p.
10. Kugelmas M., Hill D.B., Vivian B., Marsano L., McClain C.J. Cytokines and NASH: a pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E. Hepatology. 2003; 38 (2): 413–419. DOI: 10.1053/jhep.2003.50316.
11. Abiru S., Migita K., Maeda Y. et al. Serum cytokine and soluble cytokine receptor levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. Liver Int. 2006; 26 (1): 39–45. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2005.01191.x.
12. Пивторак Е.В. Нарушения функции эндотелия у больных неалкогольной жировой болезнью печени. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2014; (2): 63.
- Pivtorak E.V. Endothelial dysfunction in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2014; (2): 63.
13. Cetindagli I., Kara M., Tanoglu A., Ozalper V., Aribal S., Hancerli Y., Unal M., Ozari O., Hira S., Kaplan M., Yazgan Y. Evaluation of endothelial dysfunction in patients with nonalcoholic fatty liver disease: Association of selenoprotein P with carotid intima-media thickness and endothelium-dependent vasodilation. Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology. 2017; 28 (3): 290–291. DOI: 10.1016/j.clinre.2017.01.005. Epub 2017 Jul 29.
14. Борсуков А.В., Морозова Т.Г., Венедиктова Д.Ю., Иванов Ю.В. Способ диагностики стеатоза печени. Патент RU2648 183 С 1. 2018. Опубликовано 22.03.2018 Бюл. № 9. <https://patent.ru/patent/RU2648183C1.pdf>
- Borsukov A.V., Morozova T.G., Venidiktova D.Yu., Ivanov Yu.V. Method for diagnosing liver steatosis. Patent RU2648 183 С 1. 2018 Published 22.03.2018. Bul. No. 9. <https://patent.ru/patent/RU2648183C1.pdf>

Статья поступила / Received 19.07.2021
Получена после рецензирования / Revised 26.07.2021
Принята в печать / Accepted 29.07.2021

Сведения об авторах

Булатова Ирина Анатольевна, д.м.н., доцент, зав. кафедрой нормальной физиологии, проф. кафедры факультетской терапии № 2, профессиональной патологии и клинической лабораторной диагностики. E-mail: bula.1977@mail.ru. ORCID: 0000-0002-7802-4796

Мифтахова Альбина Малетьяновна, аспирант кафедры патологической физиологии. E-mail: albinamiftakhova91@mail.ru. ORCID: 0000-0001-9149-6328

Гуляева Инна Леонидовна, д.м.н., доцент, зав. кафедрой патологической физиологии. E-mail: pimenova774@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-7521-1732

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

Автор для переписки: Булатова Ирина Анатольевна. E-mail: bula.1977@mail.ru

About authors

Bulatova Irina A., DM Sci (habil.), head of Dept of Normal Physiology, professor of Dept of Faculty Therapy No. 2, Occupational Pathology and Clinical Laboratory Diagnostics. E-mail: bula.1977@mail.ru. ORCID: 0000-0002-7802-4796

Miftakhova Albina M., postgraduate student of Dept of Pathological Physiology. E-mail: albinamiftakhova91@mail.ru. ORCID: 0000-0001-9149-6328

Gulyaeva Inna L., DM Sci (habil.), professor, head of Dept of Pathological Physiology. E-mail: pimenova774@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-7521-1732

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

Corresponding author: Bulatova Irina A. E-mail: bula.1977@mail.ru

Для цитирования: Булатова И.А., Мифтахова А.М., Гуляева И.Л. Способ диагностики неалкогольного стеатоза печени. Медицинский алфавит. 2021; (30): 53–56. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-53-56>

For citation: Bulatova I.A., Miftakhova A.M., Gulyaeva I.L. Method for diagnosing non-alcoholic liver steatosis. Medical alphabet. 2021; (30):53–56. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-53-56>



Носительство *Streptococcus pneumoniae* у детей школьного возраста

И. Н. Протасова¹, Н. В. Бахарева², Н. А. Ильенкова¹, Е. С. Соколовская¹, Т. А. Елистратова¹, А. Г. Сульдина¹

¹ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, г. Красноярск

²Министерство здравоохранения Красноярского края, г. Красноярск

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучение серотипового, клонального состава и чувствительности к антибактериальным препаратам пневмококков у детей школьного возраста.

Материалы и методы. В 2012–2018 годах обследовано 498 школьников в возрасте от 6 до 17 лет. У детей были взяты мазки из ротоглотки, проведено бактериологическое исследование с последующим генотипированием чистых культур и определением их чувствительности к антибиотикам.

Результаты. Пневмококк был выявлен у 10,6% детей. Исследуемые штаммы относились к семи серотипам и семи серогруппам. Наиболее часто встречались *S. pneumoniae* 6-й серогруппы и серотипа 19F (по 15,1%), 9-й серогруппы (13,2%). С меньшей частотой встречались пневмококки 33FA/37 и 3 (9,4 и 5,7%), представители серогрупп 15 и 18 (7,6 и 5,7%), серотипа 10A (3,8%). Выделенные культуры принадлежали к 20 сиквенс-типам, относящимся к 14 клональным комплексам (СС); преобладающими являлись СС 156, СС 447 и СС 320. У 1,9% штаммов выявлена резистентность к пенициллину, у 13,2% – к макролидам, клиндамицину и тетрациклину. Устойчивые к антибиотикам пневмококки относились к глобальным мультирезистентным клональным комплексам 320, 315 и 156.

Выводы. Распространенность *S. pneumoniae* среди детей школьного возраста невысока. Популяция пневмококков характеризуется серотиповым и клональным разнообразием, в том числе присутствием «инвазивных» серотипов и генотипов. Большинство штаммов сохраняют чувствительность к антибактериальным препаратам.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Streptococcus pneumoniae*, пневмококк, носительство, серотипы, сиквенс-типы, резистентность, дети школьного возраста.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Streptococcus pneumoniae carriage in school children

I. N. Protasova¹, N. V. Bakhareva², N. A. Ilenkova¹, Y. S. Sokolovskaya¹, T. A. Yelistratova¹, A. G. Sulдина¹

¹Krasnoyarsk State Medical University n.a. professor V.F. Voyno-Yasenyetsky, Krasnoyarsk, Russia

²Ministry of Health of the Krasnoyarsk Territory, Krasnoyarsk, Russia

SUMMARY

Purpose. To investigate the serotype distribution, clonal structure and antimicrobial resistance of pneumococci isolated from schoolchildren.

Materials and methods. During the period from 2012 to 2018 we examined 498 healthy school children aged 6 to 17 years. Oropharyngeal swab was taken from each child for culture, after that all *S. pneumoniae* strains were genotyped for serotype and ST-type deduction (PCR and sequencing, respectively). Antimicrobial resistance was also determined.

Results. Pneumococcal culture was positive in 10.6% of children. *S. pneumoniae* isolates belonged to seven serogroups and seven serotypes. Serogroup 6 and serotype 19F strains (15.1% each), and serogroup 9 strains (13.2%) were the most prevalent. *S. pneumoniae* 33FA/37 and 3 (9.4 and 5.7%), serogroups 15 and 18 (7.6 and 5.7%), and 10A serotype (3.8%) were determined at a lower frequency. 20 detected ST-types belonged to 14 clonal complexes (CCs); CC 156, CC 447, and CC 320 were predominant. 1.9% of isolates were penicillin-resistant; 13.2% – macrolide-, clindamycin-, and tetracycline-resistant. *S. pneumoniae* antibiotic resistant strains belonged to multidrug-resistant CCs 320, 315, and 156.

Conclusion. *S. pneumoniae* prevalence in school children is not high. Pneumococcal population is characterized by serotype and clonal diversity including 'invasive' serotypes and genotypes. Most of strains are susceptible to antimicrobials.

KEY WORDS: *Streptococcus pneumoniae*, pneumococcus, carriage, serotypes, sequence-types, resistance, school children.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Введение

Streptococcus pneumoniae – один из основных бактериальных возбудителей внебольничной пневмонии, острого среднего отита, синусита и менингита [1–3]. В Красноярском крае показатели заболеваемости населения по указанным нозологиям являются одними из самых высоких в Сибирском федеральном округе; болезни органов дыхания занимают лидирующее место в структуре заболеваемости [4–6]. Носоглоточное носительство пневмококка является predisposing фактором развития вышеперечисленных заболеваний не только у самого носителя, но и у контактных лиц [7]. По некоторым данным, у школьников частота носительства пневмококка в среднем составляет 25–35% [8], достигая 55% среди непривитых детей [9].

В Российской Федерации уровень носительства *S. pneumoniae* у детей старше 5 лет изучен недостаточно.

В то же время исследование носительства *S. pneumoniae* в различных возрастных группах необходимо не только для оценки эпидемиологической роли данного микроорганизма, но и для прогнозирования популяционного эффекта противопневмококковой вакцинации.

Цель исследования: изучить распространенность, чувствительность к антибактериальным препаратам, серотиповой и клональный состав популяции пневмококков у детей школьного возраста.

Методы

Для проведения бактериологического исследования у детей забирались мазки из ротоглотки с использованием транспортных систем со средой Эймса (HiMedia, Индия). Материал забирался тампоном с задней стенки глотки,

язык прижимали шпателем. Образцы хранились при температуре 20–25 °С в пределах 48 часов. Транспортировка проводилась в термоконтейнерах.

Материал засеивали на Columbia Agar (Bio-Rad, Франция) с добавлением 5%-ной крови барана или лошади. Посевы инкубировали в течение 18–24 часов при 37 °С в атмосфере с 8–10%-ным CO₂ с использованием газогенерирующих пакетов «Кампилогаз» (ООО «НИКИ МЛТ», Россия) в течение 24–48 часов.

Предварительная идентификация пневмококков проводилась на основе культуральных и морфотинкториальных свойств. Культуру идентифицировали как *S. pneumoniae* при наличии альфа-гемолиза, чувствительности к оптохину и желчи (диски с оптохином и желчью [НИЦФ, Россия]). Выделенные культуры хранили при температуре минус 80 °С в триптиказо-соевом бульоне с добавлением 30%-ного глицерина.

Чувствительность культур *S. pneumoniae* к антибактериальным препаратам исследовали диско-диффузионным методом на агаре Мюллера – Хинтон 2 (bioMerieux, Франция) с добавлением 5%-ной дефибринированной крови лошади и 20 г/л β-НАД. Использовали диски с 1 мкг оксациллина, 15 мкг эритромицина, 2 мкг клиндамицина, 30 мкг тетрациклина, 10 мкг норфлоксацина, 30 мкг ванкомицина, 30 мкг хлорамфеникола, 30 мкг линезолида, 5 мкг рифампицина (Bio-Rad, США). В качестве контроля использовался штамм *S. pneumoniae* ATCC 49619. При выявлении резистентности к вышеперечисленным препаратам определяли МПК с помощью Е-тестов (bioMerieux, Франция) с бензилпенициллином, цефуроксимом, цефтриаксоном, имипенемом, эритромицином, азитромицином, тетрациклином, клиндамицином, ципрофлоксацином, левофлоксацином, рифампицином согласно инструкции производителя [10]. Результаты интерпретировали в соответствии с российскими клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (2018) [11].

Геномную ДНК из чистых культур *S. pneumoniae* выделяли кипячением [12]. Все выделенные культуры анализировали на наличие *cpsA* (фрагмент гена, кодирующего синтез капсулы) и *lytA* (фрагмент гена, кодирующего пневмококковый аутолизин) с помощью традиционной ПЦР согласно протоколу: 95 °С – пауза; 95 °С (3 минуты) – предварительный прогрев системы; 95 °С (10 с), 56 °С (15 с), 72 °С (10 с) – амплификация (35 циклов); 72 °С (2 минуты) – достройка цепей; 4 °С – хранение. Для постановки реакции использовали следующие праймеры:

- *cpsA*-f GCAGTACAGCAGTTTGTGGACTGACC;
- *cpsA*-r GAATATTTTCATTATCAGTCCCAGTC (размер продукта 160 п. н.);
- *lytA*-f CAGCGGTTGAACTGATTGA;
- *lytA*-r TGGTTGGTTATTCGTGCAA (размер продукта 173 п. н.).

Серотипы культур *S. pneumoniae* определяли с помощью мультиплексной ПЦР, используя 40 пар праймеров [13]. Реакции каждого сета ставили последовательно до появления положительного результата. Штаммы, серотип которых не был установлен, относили к нетипируемым. Протокол амплификации был аналогичен описанному выше.

Реакции проводили на амплификаторах Applied Biosystems (Thermo Fisher Scientific, США) и Thermal Cycler (Bio-Rad, США). Продукты амплификации детектировали в 1,5%-ном агарозном геле (Sigma, США) с последующей визуализацией бромистым этидием (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора) в трансиллюминаторе Molecular Imager® Gel Doc XR System (Bio-Rad, США). Размеры ПЦР-продуктов определяли сравнением с маркером молекулярных масс (100 bp DNA Ladder; «Евроген», Россия).

Мультилокусное сиквенс-типирование штаммов *S. pneumoniae* (MLST) проводили с целью выявления фрагментов семи генов «домашнего хозяйства», кодирующих ферменты, необходимые для осуществления жизненно важных биохимических реакций: *aroE* (шикиматдегидрогеназа); *gdh* (глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа); *gki* (глюкокиназа); *recP* (транскетолаза); *spi* (сигнальная пептидаза I); *xpt* (ксантинфосфорибозилтрансфераза); *dll* (D-аланин-D-аланилигаза).

Для амплификации и секвенирования использовали семь пар праймеров [14]. Амплификацию проводили по протоколу: 95 °С – пауза; 95 °С (5 минут) – предварительный прогрев системы; 95 °С (30 с), 50 °С (2 минуты), 72 °С (2 минуты) – амплификация (35 циклов); 72 °С (5 минут) – достройка цепей; 4 °С – хранение.

Очистка ампликонов и секвенирование проводились компанией «Синтол» (Россия). Анализ результатов проводили с использованием программного обеспечения FinchTV 1.4.0 и Bio Edit Sequence Alignment Editor 7.1.3.0. Аллельный профиль (сиквенс-тип – ST) *S. pneumoniae* определяли с помощью базы данных MLST, размещенной на вебсайте pubmlst.org. Принадлежность сиквенс-типов к определенным клональным комплексам (CC) определяли с помощью программы goeBURST [15]. Для графического отображения результатов использовали программу PHYLOViZ 2.0.

Статистическая обработка данных выполнена с помощью программ Microsoft Excel 2007 и Statistica 6.0. Количественные признаки были представлены в виде среднего значения, минимального и максимального значений, стандартного отклонения. Стандартное отклонение рассчитывалось по формуле $\sqrt{\sum(x - \bar{x})^2 / (n - 1)}$, где x – выборочное среднее, а n – размер выборки. Качественные признаки были представлены в виде абсолютных чисел и долей (%).

Результаты и обсуждение

В исследование вошли 498 детей, жителей г. Красноярска и Красноярского края, учащихся гимназий, лицеев и школ в возрасте от 6 до 17 лет. Средний возраст обследуемых составил $11,47 \pm 2,12$ года.

Исследование проводилось в зимний период (с декабря по февраль) в течение ряда лет (с 2012 по 2018 год). На момент обследования дети не имели острых инфекционных заболеваний и не получали антибактериальную терапию.

S. pneumoniae был выделен у 53 человек, что составило $10,64 \pm 0,58\%$. Серотипы выделенных культур представлены в таблице 1. Преобладали пневмококки 6-й серогруппы и серотипа 19F, на втором месте находились «мукоидные» типы 3 и 33AF/37, далее в порядке убывания – серогруппы 9, 18 и 15, серотипы 3 и 10A. Велика была доля «нетипируемых» изолятов.

Для 44 штаммов было проведено мультилокусное сиквенс-типирование. Изоляты *S. pneumoniae* принадлежали

Таблица 1
Серотипы пневмококков у обследуемых детей

Серотип (серогруппа)	Число штаммов (n = 53)	Доля представителей данного серотипа, %
3	3	5,66 ± 4,23
6AB	4	7,55 ± 4,79
6CD	4	7,55 ± 4,79
7C/7B/40	1	1,89 ± 2,54
9AV	4	7,55 ± 4,79
9LN	3	5,66 ± 4,23
10A	2	3,77 ± 3,52
14	1	1,89 ± 2,54
15AF	1	1,89 ± 2,54
15BC	3	5,66 ± 4,23
18ABCF	3	5,66 ± 4,23
19F	8	15,09 ± 6,22
21	1	1,89 ± 2,564
23A	1	1,89 ± 2,54
23F	1	1,89 ± 2,54
33AF/37	5	9,43 ± 5,25
35AC/42	1	1,89 ± 2,54
Нетипируемый	7	13,21 ± 5,95

к 20 сиквенс-типам, относящимся к 14 клональным комплексам. Преобладающими являлись CC 156, CC 447 и CC 320 (рис. 1), являющиеся глобально распространенными и способные вызывать инвазивные пневмококковые инфекции [16]. Также всемирно распространены и потенциально инвазивны сиквенс-типы 66, 180, 315, 433, 1016, 2331 и 6202 [16, 17].

ST 490, 3550 и 6189 распространены в основном в европейских странах, а ST 13292 – в США [18]. Пневмококки клонального комплекса 1025 описаны только в России, Польше и Белоруссии. Сиквенс-тип 13662 (*S. pneumoniae* 15BC) является однолокусным вариантом ST1025 и встречается только в России. К российским сиквенс-типам относятся также ST 2989 [18]. Два сиквенс-типа – 9248 (id 17791) и 8636 (id 19869) – были впервые выявлены на территории Красноярского края и зарегистрированы в базе данных pubmlst.org под идентификационными номерами 17791 и 19869 соответственно [18].

Клональные комплексы 1025 и 156 были представлены двумя сиквенс-типами, в первом случае относящимися к одному серотипу (15BC), а во втором – к двум (9VA и 14). Штаммы серотипа 19F относились к трем сиквенс-типам, одним из которых являлся глобально распространенный ST 320 (CC 320). Пневмококки 6-й серогруппы, 6AB и 6CD, принадлежали к двум сиквенс-типам каждый (рис. 1).

Четыре сиквенс-типа не относились к определенному клональному комплексу (рис. 1).

При исследовании чувствительности к антибактериальным препаратам у 11 штаммов из 53 выявлена резистентность к оксациллину. Из них один изолят был устойчив к пенициллину (МПК = 4 мг/л), а пять являлись умеренно резистентными (МПК = 1,0–1,5 мг/л) (табл. 2).

Нечувствительность к одному или нескольким бета-лактамам антибиотикам была обнаружена у 7,55% штаммов. Мультирезистентными являлись 13,21% (7 из 53). У всех мультирезистентных изолятов выявлялась устойчивость к оксациллину, устойчивость или умеренная резистентность к пенициллину, устойчивость или

Таблица 2
Чувствительность *S. pneumoniae* к антибактериальным препаратам (n = 53)

№ п/п	Название препарата	Ч (%)	УР (%)	Р (%)
1	Оксациллин	79,25	–	20,75
2	Бензилпенициллин	88,68	9,43	1,89
3	Цефуроксим	88,68	0,00	11,32
4	Цефаклор	77,36	9,43	13,21
5	Цефтриаксон	94,34	5,66	0,00
6	Имипенем	100,00	–	0,00
7	Эритромицин	86,79	0,00	13,21
8	Азитромицин	86,79	0,00	13,21
9	Клиндамицин	86,79	–	13,21
10	Тетрациклин	86,79	0,00	13,21
11	Доксициклин	86,79	0,00	13,21
12	Норфлоксацин	100,00	–	0,00
13	Левифлоксацин	100,00	–	0,00
14	Рифампицин	100,00	0,00	0,00
15	Хлорамфеникол	98,11	–	1,89
16	Ванкомицин	100,00	–	0,00
17	Линезолид	100,00	0,00	0,00

Примечание: Ч – чувствительность; УР – умеренная резистентность; Р – резистентность; (–) – для умеренно резистентных критерий отсутствует.

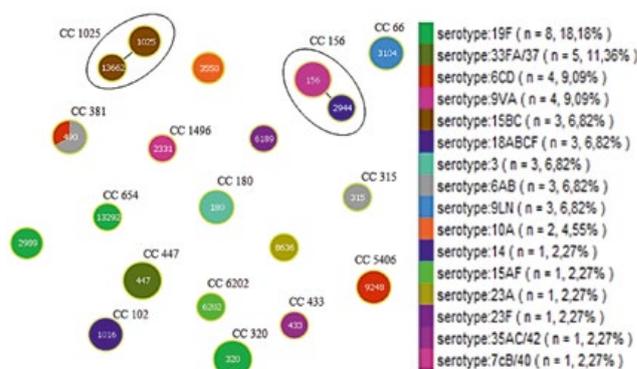


Рисунок 1. Генотипы *S. pneumoniae* у обследуемых детей (n = 44). CC – клональный комплекс; serotype – серотип. Примечание: изображение получено с помощью программы PHYLOViZ 2.0

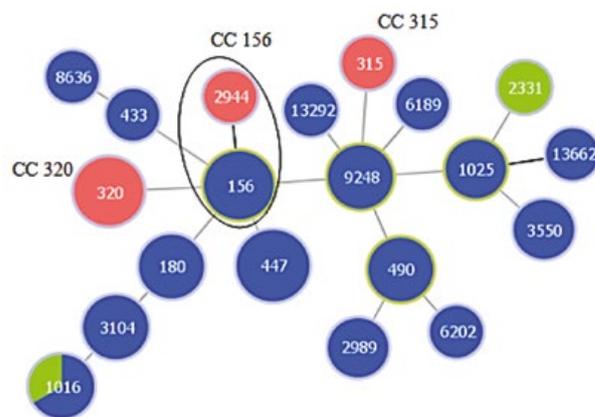


Рисунок 2. Клональная структура изолятов *S. pneumoniae* в зависимости от чувствительности к антибактериальным препаратам. Синий цвет – чувствительность ко всем тестируемым антибиотикам, зеленый – нечувствительность к некоторым бета-лактамам, красный – мультирезистентность. CC – клональный комплекс. Примечание: изображение получено с помощью программы PHYLOViZ 2.0

умеренная резистентность к цефаклору, резистентность к макролидам, клиндамицину и тетрациклину. При этом МПК макролидов и клиндамицина превышали 256 мг/л, а МПК тетрациклина находилась в диапазоне 8–64 мг/л.

Мультирезистентные пневмококки являлись представителями глобально распространенных клональных комплексов CC 320, CC 315 и CC 156 (рис. 2). Родоначальником CC 320 является глобальный клон Taiwan^{19F}-14, другие два комплекса происходят от клонов Poland^{6B}-20 и Spain^{9V}-3 соответственно [19].

Заключение

Распространенность носительства пневмококка среди детей школьного возраста невысока и составляет 10,6%. Лидирующими являются традиционные «педиатрические» варианты серотипа 19F и 6-й серогруппы, при этом обращает на себя внимание значительная доля представителей 9-й серогруппы, а также серотипов 33AF/37 и 3, практически не встречающихся у дошкольников [20]. Соответствие выявленных серотипов составу пневмококковых конъюгированных вакцин (ПКВ) составило в отношении ПКВ13–45,3%, ПКВ15–54,7%, ПКВ20–64,2%; пневмококковой полисахаридной вакцины (ППСВ23) – 69,8%.

К сиквенс-типам, распространенным на территории РФ, относилась третья часть (29,6%) изолятов, остальные являлись глобально распространенными.

Большая часть штаммов *S. pneumoniae*, полученных от детей школьного возраста, сохраняет чувствительность к антибактериальным препаратам. Устойчивые к антибиотикам пневмококки относятся к глобальным мультирезистентным клональным комплексам 320, 315 и 156, распространившимся на территории Красноярского края как с азиатской, так и европейской части континента.

Список литературы / References

1. Bries D.E., Paton J.C., Mukerji R., Swiatlo E., Crain M.J. Pneumococcal vaccines. *Microbiology Spectrum*. 2019. Vol. 7, No. 6. DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0028-2018.
2. Górka-Kot A., Greenberg D., Gastoł K., Zieliński A., Givon-Lavi N. Characterization of acute otitis media otopathogens before the introduction of the pneumococcal conjugated vaccine into the national immunization program in Poland. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2019. Vol. 127: 109666. DOI: 10.1016/j.ijporl.2019.109666.
3. Touhami K.O., Sakkali H.E.B., Maaloum F., Diawara I., Touhami M.O., Bezzari M., Zerouali K., Belabbes H. Meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae* serotype 7a in an infant vaccinated with two doses of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine: a case study. *The Pan African Medical Journal*. 2019. Vol. 32: 203. DOI: 10.11604/pamj.2019.32.203.18157.
4. Красноярский краевой медицинский информационно-аналитический центр. Медико-статистическая информация [Интернет-ресурс]. https://www.kmiac.ru/statistics/?ELEMENT_ID=125 (дата обращения: 09.01.2020). Krasnoyarsk Regional Medical Information and Analytical Center. Medical and statistical information [Internet resource]. https://www.kmiac.ru/statistics/?ELEMENT_ID=125 (date of access: 09/01/2020).

5. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Статистические материалы [Интернет-ресурс]. <https://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/22/statistika-979/statisticheskie-i-informatsionnyye-materialy/statisticheskie-materialy> (дата обращения: 09.01.2020). Ministry of Health of the Russian Federation. Statistical materials [Internet resource]. <https://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/22/statistika-979/statisticheskie-i-informatsionnyye-materialy/statisticheskie-materialy> (date of access: 09/01/2020).
6. Артюхов И.П., Галактионова М.Ю., Рахимова А.А. Основные тенденции состояния здоровья подростков города Красноярск. *Сибирское медицинское обозрение*. 2012. № 6. С. 47–52. Artyukhov I.P., Galaktionova M.Yu., Rakhimova A.A. The main trends in the state of health of adolescents in the city of Krasnoyarsk. *Siberian Medical Review*. 2012. No. 6. P. 47–52.
7. Weiser J.N., Ferreira D.M., Paton J.C. *Streptococcus pneumoniae*: transmission, colonization and invasion. *Nature Reviews. Microbiology*. 2018. Vol. 16, No. 6. P. 355–367. DOI: 10.1038/s41579-018-0001-8.
8. Маркова В. Новые возможности вакцинопрофилактики пневмококковой инфекции у детей раннего возраста. Эффективная фармакология в педиатрии. 2009. № 1. С. 50–59. Markova V. New opportunities for vaccine prevention of pneumococcal infection in young children. *Effective pharmacotherapy in pediatrics*. 2009. No. 1. P. 50–59.
9. Le Polain de Waroux O., Flasche S., Prieto-Merino D., Edmunds W.J. Age-dependent prevalence of nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* before conjugate vaccine introduction: a prediction model based on a meta-analysis. *PLoS One*. 2014. Vol. 9, No. 1: e86136. DOI: 10.1371/journal.pone.0086136.
10. bioMérieux SA. *Etest Application Guide* [Интернет-ресурс]. https://www.biomerieux-usa.com/sites/subsidiary_us/files/supplementary_inserts_-_16273_-_b_-_en_-_eag_-_etest_application_guide-3.pdf (date of access: 09.01.2020).
11. Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» [Интернет-ресурс]. <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2018.pdf> (дата обращения: 09.01.2020). Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. Clinical guidelines "Determination of the sensitivity of microorganisms to antimicrobial drugs" [Internet resource]. <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2018.pdf> (date of access: 09/01/2020).
12. Маннатиус Т., Фрич Э., Самбрук Д. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. Москва: Мир, 1984. 480 с. Maniatis T., Fritsch E., Sambrook D. *Methods of genetic engineering. Molecular Cloning. Moscow: Mir, 1984. 480 p.*
13. Centers for disease control and prevention. Conventional PCR deduction of 40 pneumococcal serotypes or serogroups [Интернет-ресурс]. <https://www.cdc.gov/streplab/downloads/pcr-oligonucleotide-primers.pdf> (дата обращения: 09.01.2020).
14. Public databases for molecular typing and microbial genome diversity. Primers and PCR conditions for *St. pneumoniae* [Интернет-ресурс]. <https://pubmlst.org/spneumoniae/info/primers.shtml> (дата обращения: 09.01.2020).
15. Global optimal eBURST [Интернет-ресурс]. <http://www.phylovis.net/goeburst/#Description> (дата обращения: 09.01.2020).
16. del Amo E., Esteve C., Hernandez-Bou S., Galles C., Navarro M., Sauca G., Diaz A., Gassiot P., Martí C., Larossa N., Ciruela P., Jane M., Sá-Leão R., Muñoz-Almagro K. Serotypes and clonal diversity of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive disease in the era of PCV13 in Catalonia, Spain. *PLoS One* 2016. Vol. 11, No. 3: e0151125. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151125>.
17. Golden A.R., Adam H.J., Karlovsky J.A., Baxter M., Nichol K.A., Marlin I., Demczuk W., Van Caesele P., Gubbay J.B., Lefebvre B., Levett P.N., Zahariadis G., Haldane D., Gad R., German G., Gilmour M.W., Mulvey M.R., Hoban D.J., Zhanel G.G., the Canadian Antimicrobial Resistance Alliance (CARA). Molecular characterization of predominant *Streptococcus pneumoniae* serotypes causing invasive infections in Canada: the SAVE study, 2011–15. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2018. Vol. 73, No. 7. P. vii 20–vi31. <https://doi.org/10.1093/jac/aky157>.
18. Public databases for molecular typing and microbial genome diversity. *Streptococcus pneumoniae* isolates database [Интернет-ресурс]. https://pubmlst.org/bigadb?db=pubmlst_spneumoniae_isolates (дата обращения: 10.01.2020).
19. Pneumococcal Molecular Epidemiology Network. Clone collection [Интернет-ресурс]. <https://www.pneumogenet.net/pmen/clone-collection.html> (дата обращения: 10.01.2020).
20. Протасова И.Н., Бахарева Н.В., Перьянова О.В., Ильенкова Н.А., Мартынова Г.П., Домрачева С.В., Овчинникова О.П., Елистратова Т.А., Шушешская О.А., Соколовская Е.С., Сидоренко С.В., Yamamoto T. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика и резистентность пневмококков у детей дошкольного возраста. *Сибирское медицинское обозрение*. 2018. № 3. С. 73–79. Protasova I.N., Bakhareva N.V., Perjanova O.V., Ilyenkova N.A., Martynova G.P., Domracheva S.V., Ovchinnikova O.P., Elistratova T.A., Tyusheshskaya O.A., Sokolovskaya E.S., Sidorenko S.V., Yamamoto T. Molecular epidemiological characteristics and resistance of pneumococci in preschool children. *Siberian Medical Review*. 2018. No. 3. P. 73–79.

Статья поступила / Received 14.01.2021

Получена после рецензирования / Revised 03.02.2021

Принята в печать / Accepted 05.02.2021

Сведения об авторах

Протасова Ирина Николаевна, к.м.н., доцент кафедры микробиологии имени доцента Б.М. Зельмановича¹. Email: ovsyanka802@gmail.com. Scopus Author ID: 57194856372. ORCID: 0000-0001-6521-8615

Бахарева Наталья Васильевна, консультант². E-mail: bakhareva@kraszdrav.ru. ORCID: 0000-0003-2868-1509

Ильенкова Наталья Анатольевна, д.м.н., проф., зав. кафедрой детских болезней с курсом ПО¹. E-mail: ilenkova1@mail.ru. ORCID: 0000-0001-8058-7806

Соколовская Елена Сергеевна, соискатель кафедры детских болезней с курсом ПО¹. E-mail: selenasergsokol@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5351-5433

Елистратова Татьяна Анатольевна, ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом ПО¹. E-mail: anna040208@mail.ru. ORCID: 0000-0003-1969-5482

Сулдина Анна Геннадьевна, студентка 507-й группы педиатрического факультета¹. E-mail: asyga@inbox.ru. ORCID: 0000-0003-1969-5482

¹ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, г. Красноярск

²Министерство здравоохранения Красноярского края, г. Красноярск

Автор для переписки: Протасова Ирина Николаевна. Email: ovsyanka802@gmail.com

About authors

Protasova Irina N., PhD Med, associate professor at Dept of Microbiology n.a. associate professor B.M. Zelmanovich¹. Email: ovsyanka802@gmail.com. Scopus Author ID: 57194856372. ORCID: 0000-0001-6521-8615

Bakhareva Natalya V., consultant². E-mail: bakhareva@kraszdrav.ru. ORCID: 0000-0003-2868-1509

Ilyenkova Natalya A., DM Sci (habil.), professor, head of Dept of Childhood Diseases¹. E-mail: ilenkova1@mail.ru. ORCID: 0000-0001-8058-7806

Sokolovskaya Elena S., applicant for Dept of Childhood Diseases¹. E-mail: selenasergsokol@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5351-5433

Elistratova Tatiana A., assistant of Dept of Infectious Diseases and Epidemiology¹. E-mail: anna040208@mail.ru. ORCID: 0000-0003-1969-5482

Suldina Anna G., student of the 507th group of Pediatric Faculty¹. E-mail: asyga@inbox.ru. ORCID: 0000-0003-1969-5482

¹Krasnoyarsk State Medical University n.a. professor V.F. Voyno-Yasenyetsky, Krasnoyarsk, Russia

²Ministry of Health of the Krasnoyarsk Territory, Krasnoyarsk, Russia

Corresponding author: Protasova Irina N. Email: ovsyanka802@gmail.com

Для цитирования: Протасова И.Н., Бахарева Н.В., Ильенкова Н.А., Соколовская Е.С., Елистратова Т.А., Сулдина А.Г. Носительство *Streptococcus pneumoniae* у детей школьного возраста. *Медицинский алфавит*. 2021; (30): 57–60. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-57-60>

For citation: Protasova I.N., Bakhareva N.V., Ilyenkova N.A., Sokolovskaya Y.S., Yelistratova T.A., Suldina A.G. *Streptococcus pneumoniae* carriage in school children. *Medical alphabet*. 2021; (30):57–60. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-57-60>



Роль нерезидентных субпопуляций мукозальной и адаптивной иммунной системы у больных с хроническим пародонтитом

В. П. Мудров¹, Н. В. Давыдова², С. П. Казаков^{1,2}, Т. Е. Мишина²

¹ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

²ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н. Н. Бурденко» Минобороны России, Москва

РЕЗЮМЕ

Бактерии биопленки пародонта вызывают врожденную и адаптивную иммунную реакцию слизистой оболочки хозяина, приводящую к воспалению и разрушению поддерживающих пародонт тканей. Прогрессирование пародонтита зависит не только от бактерий, поскольку неадекватный иммунный ответ на микроорганизмы может ускорить развитие пародонтита. Однако точные механизмы развития иммунных реакций остаются неясными. Недавние исследования подчеркивают существование типичного врожденного ответа резидентных и экстравазированных иммунных клеток.

Цель работы. Исследовать количественный состав нерезидентных субпопуляций лимфоцитов в слюнной жидкости и изучить механизмы взаимодействия клеточного звена врожденной и адаптивной иммунной системы при хроническом генерализованном пародонтите различной степени тяжести.

Материалы и методы. Обследовано 49 человек в возрасте 26–67 лет обоего пола с диагнозом «хронический пародонтит» (K05.3 по МКБ-10). Группа сравнения – из 17 человек в возрасте 26–44 лет с отсутствием заболеваний пародонта. Составление клеточного звена адаптивной и местной иммунной системы ротовой полости оценивалось по следующим фенотипам: CD3⁺CD16⁺56⁺; CD3⁺CD16⁺56⁺; CD3⁺; CD3⁺HLA-DR⁺; CD19⁺; CD19⁺HLA-DR⁺; CD19⁺CD5⁺CD27⁻; CD19⁺CD5⁻CD27⁻; CD19⁺CD5⁻CD27⁺.

Результат. Количество T-NK-клеток снижалось при легкой степени пародонтита и увеличивалось при тяжелой степени. Аналогично CD3⁺HLA-DR⁺ снижались при легкой степени пародонтита [Me = 0,148 кл/мкл] и увеличивались при средней [Me = 0,247 кл/мкл] и тяжелой степени [Me = 0,448 кл/мкл]. Количество В-лимфоцитов с фенотипом CD19⁺, CD19⁺CD5⁺, CD19⁺CD5⁻CD27⁺ снижалось до единичных клеток в микролитре при развитии заболевания.

Вывод. Дисбаланс иммунной системы, вызванный патогенной колонизацией пародонта, при разных степенях тяжести является важным фактором возникновения и развития пародонтита, при котором определенную роль играют различные подмножества В-клеток адаптивной иммунной системы, тесно взаимодействующие с клеточным звеном врожденной мукозальной иммунной системы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пародонтит, В-лимфоциты, T-NK-клетки, врожденный мукозальный иммунитет.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Role of non-resident subpopulations of mucosal and adaptive immune systems in patients with chronic periodontitis

V. P. Mudrov¹, N. V. Davidova², S. P. Kazakov¹, T. E. Mishina²

¹Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Moscow, Russia

²Main Military Clinical Hospital n.a. academician N.N. Burdenko of the Ministry of Defense of Russia, Moscow, Russia

SUMMARY

Periodontal bacterial biofilm causes an innate and adaptive immune response of the host mucosa, leading to inflammation and destruction of the tissues supporting the periodontal. The progression of periodontitis depends not only on bacteria, since an inadequate immune response to microorganisms can accelerate the development of periodontitis. However, the exact mechanisms of the development of immune reactions remain unclear. Recent studies emphasize the existence of a typical innate response of resident and extravasated immune cells.

Objective. To investigate the quantitative composition of non-resident subpopulations of lymphocytes in salivary fluid and to study the mechanisms of interaction of the cellular link of the innate and adaptive immune system in chronic generalized periodontitis of varying severity.

Materials and methods. 49 people aged 26–67 years of both sexes were examined with a diagnosis of chronic periodontitis. The comparison group consisted of 17 people aged 26–44 years with no periodontal diseases. The state of the cellular link of the adaptive and local immune system of the oral cavity was assessed by the following phenotypes: CD3⁺CD16⁺56⁺; CD3⁺CD16⁺56⁺; CD3⁺; CD3⁺HLA-DR⁺; CD19⁺; CD19⁺HLA-DR⁺; CD19⁺CD5⁺CD27⁻; CD19⁺CD5⁻CD27⁻; CD19⁺CD5⁻CD27⁺.

Results. The number of T-NK cells decreased with a mild degree of periodontitis and increased with a severe degree. Similarly, CD3⁺HLA-DR⁺ decreased with mild periodontitis [Me = 0.148 cells/ μ l] and increased with moderate [Me = 0.247 cells/ μ l] and severe [Me = 0.448 cells/ μ l]. The number of B-lymphocytes with the CD19⁺, CD19⁺CD5⁺, CD19⁺CD5⁻CD27⁺ phenotype decreased to single cells per microliter during the development of the disease.

Conclusion. The imbalance of the immune system caused by pathogenic colonization of the periodontium, at different degrees of severity, is an important factor in the occurrence and development of periodontitis, in which various subsets of B cells of the adaptive immune system play a certain role, closely interacting with the cellular link of the innate mucosal immune system.

KEY WORDS: periodontitis, B-lymphocytes, T-NK cells, innate mucosal immunity.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Введение

Пародонтит – одно из трех наиболее распространенных заболеваний полости рта с высокой заболеваемостью [3]. Пародонтит характеризуется воспалительным разрушением опорных тканей пародонта с образованием пародонтального кармана, резорбцией альвеолярной кости, прогрессирующей потерей прикрепления зуба. Бактерии и продукты их жизнедеятельности в биопленке зубного налета непосредственно вызывают воспаление и разрушение поддерживающих тканей пародонта, а также врожденную

и адаптивную иммунную реакцию слизистой оболочки хозяина. Прогрессирование заболевания зависит не только от бактерий, но и от иммунного ответа, поскольку неадекватный иммунный ответ на микроорганизмы может ускорить развитие и прогрессирование пародонтита [2, 4]. Однако точные механизмы развития иммунных реакций остаются неясными. Недавние исследования подчеркивают существование типичного врожденного ответа резидентных и экстравазированных иммунных клеток [1]. В этот процесс вовлечены нейтрофилы, моноциты, естественные NK-

клетки, Т-НК-клетки, популяции Т-хелперов, Тreg-клетки, фолликулярные дендритные клетки и др. [1] Доминирование нейтрофилов проявляется как деструктор при неадекватной регуляции и как непредсказуемый эффектор для специфического В-клеточного иммунитета. В ротовой жидкости пациентов с заболеваниями пародонта наблюдается более высокое количество CD16⁺ НК-клеток по сравнению с периферической кровью и тканями десны. НК-клетки являются одним из основных источников секретируемого ИФН- γ [2, 5].

Т- и В-клетки присутствуют в тканях пародонта, и было показано, что Т- и В-лимфоциты десневой ткани находятся на более продвинутой стадии дифференцировки, чем эти субпопуляции лимфоцитов периферической крови, что свидетельствует о более выраженных функциональных возможностях этих клеток в тканях ротовой полости [6]. Отмечено, что Т-лимфоциты больных пародонтитом также экспрессируют более высокую секрецию ИФН- γ по сравнению с Т-клетками здоровых людей.

В-клетки являются частью гуморального компонента адаптивной иммунной системы, специализирующегося на секреции антител и цитокинов, представлении антигенов, и тесно связаны с гомеостазом и болезнями пародонта. В здоровой десне присутствие В-клеток минимально, что может быть важно для предотвращения потери костной массы из-за субклинического воспаления, возникающего в клинически здоровом пародонте. При этом наблюдается обилие плазматических клеток (CD138⁺) в области основания пародонтального кармана и рассеянных по всей соединительной ткани десны. В-клетки у больных пародонтитом могут способствовать хроническому системному воспалению через секрецию цитокинов. В-клетки памяти могут индуцировать потерю костной массы при ревматоидном артрите и регулируют гомеостаз альвеолярной кости при пародонтите [8]. Концентрация В-клеток памяти в очагах пародонтита значительно ниже, чем в здоровых тканях и тканях с гингивитом [9]. Существующие различия во фракциях иммунных клеток в тканях больных с пародонтитом и у здоровых пациентов указывают на то, что характерные изменения в субпопуляциях лимфоцитов могут изменять механизмы иммунной защиты в присутствии пародонтопатогенов, так и быть вероятной причиной остеодеструкции, наблюдаемой у этой группы пациентов.

Цель работы: исследовать количественный состав нерезидентных субпопуляций лимфоцитов в слюнной жидкости и изучить механизмы взаимодействия клеточного звена врожденной и адаптивной иммунной системы при хроническом генерализованном пародонтите различной степени тяжести.

Материалы и методы исследования

Обследовано 66 человек в возрасте 26–67 лет, разделенных на четыре группы. При формировании групп руководствовались критериями включения пациентов обоего пола зрелого возраста с диагнозом «хронический пародонтит» (K05.3 по МКБ-10). В первую группу вошли пациенты ($n = 14$) с легкой степенью тяжести пародонтита. Во вторую группу были включены пациенты ($n = 18$) со средней степенью тяжести пародонтита. В третью группу вошли пациенты ($n = 17$) с наиболее тяжелой степенью. Группа контроля (четвертая) была сформирована

из 17 человек в возрасте 26–44 лет с удовлетворительным уровнем гигиены рта, отсутствием заболеваний пародонта, очень низким уровнем интенсивности кариеса зубов.

Исследование проводили на базе отделения клинических инфекционно-иммунологических исследований центра клинической лабораторной диагностики ГВКГ имени Н. Н. Бурденко Минобороны России в 2020–2021 годах. Пациенты проводили полоскание ротовой полости натошак, без утренней чистки зубов, 50 мкл стерильного 0,9%-ного NaCl. 10 мкл образца отбирали в центрифужную пробирку, центрифугировали 10 минут на 1500 об/мин. Отбирали надосадочную жидкость. Осадок разводили в 500 мкл фосфатно-солевого буфера. К 30 мкл осадка добавляли 3 мкл моноклональных антител в соответствии с разработанными протоколами исследования. Инкубировали 90 минут при 28 °С. Для анализа абсолютного количества, размера и жизнеспособности клеток в образце проводили подсчет клеток на автоматическом счетчике клеток TC20 (Bio-Rad Laboratories, США), позволяющий стандартизировать количественный состав оцениваемых клеток в микролитре.

Оценку фенотипов лимфоцитов проводили на приборе Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, США) моноклональными антителами (Beckman Coulter, США).

Состояние клеточного звена адаптивной и местной иммунной системы ротовой полости оценивалось по следующим фенотипам субпопуляций лимфоцитов врожденной иммунной системы – CD3⁺CD16⁺56⁺; CD3⁺CD16⁺56⁺; адаптивной иммунной системы – CD3⁺; CD3⁺HLA-DR⁺; CD19⁺; CD19⁺HLA-DR⁺; CD19⁺CD5⁺CD27⁻; CD19⁺CD5⁻CD27⁻; CD19⁺CD5⁻CD27⁺.

Для статистической обработки результатов использовали пакет прикладных программ Statistica 12.0 (StatSoft, США) с расчетом средних арифметических величин с ее предельными отклонениями и среднеквадратичной ошибки. Соответствие данных нормальному распределению проверяли по критерию Колмогорова – Смирнова. При отсутствии нормального распределения данных использовали непараметрические критерии. В качестве критерия достоверности использовали статистический критерий Манна – Уитни для двух несвязанных групп и статистический критерий Краскелла – Уоллиса ANOVA для трех и более несвязанных групп. При анализе взаимосвязей внутри пары количественных или порядковых качественных признаков использовали корреляционный анализ по методу Спирмана. Достоверными принимались значения при $p < 0,05$.

Результаты

Исследование клеточного звена врожденного и подобно врожденного (innate-like) иммунного ответа, представленного субпопуляциями НК-клеток и Т-НК-клеток, выявило общую тенденцию к снижению количества этой субпопуляции при легкой степени ХГП и увеличению количества этих клеток при более тяжелых степенях ХГП. Статистически значимые различия выявлены в содержании Т-НК-субпопуляции с фенотипом CD3⁺CD16⁺56⁺ в смешанной слюнной жидкости и корреляции увеличения количества этих клеток при генерализации пародонтита. При легкой степени тяжести ХГП выявилось снижение уровня Т-НК CD3⁺CD16⁺56⁺ [Me = 0,221 кл/мкл; LQ = 0,156 кл/мкл; UQ = 0,367 кл/мкл; $p < 0,05$] по сравнению с контрольной группой [Me = 0,475 кл/мкл; LQ = 0,388 кл/мкл;

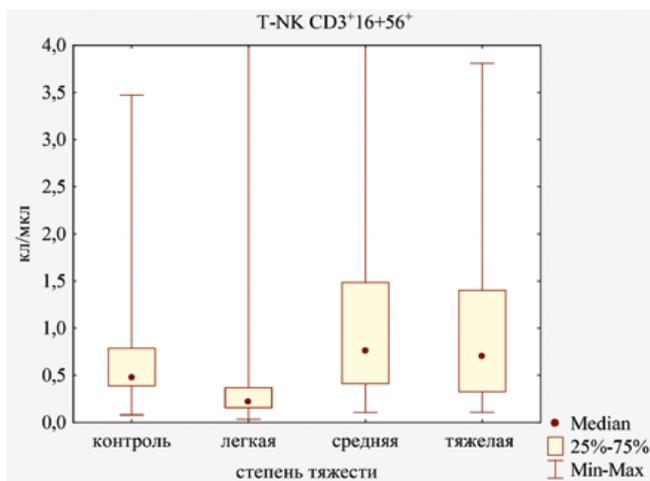


Рисунок 1. Уровень Т-НК лимфоцитов (CD3⁺CD16⁺56⁺) у пациентов с ХГП в зависимости от степени тяжести.

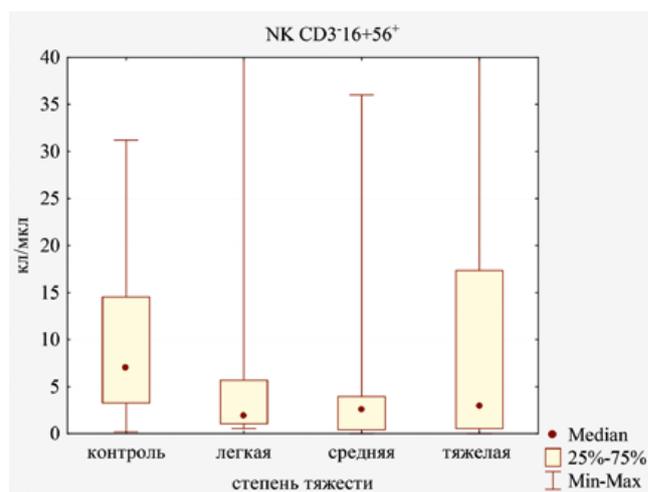


Рисунок 2. Уровень NK-субпопуляции (CD3⁻CD16⁺56⁺) у пациентов с ХГП в зависимости от степени тяжести.

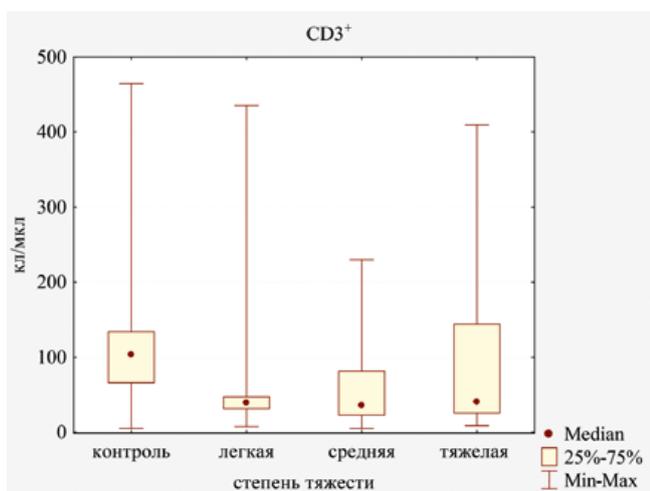


Рисунок 3. Уровень Т-лимфоцитов (CD3⁺) у пациентов с ХГП в зависимости от степени тяжести.

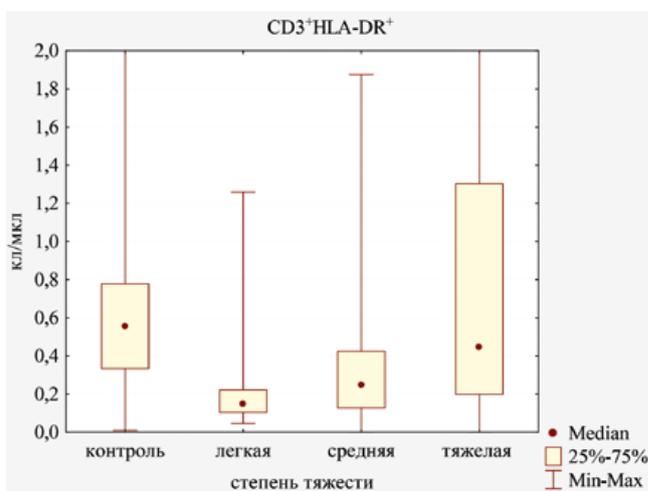


Рисунок 4. Уровень активированных Т-лимфоцитов (CD3⁺HLA-DR⁺) у пациентов с ХГП в зависимости от степени тяжести.

UQ = 0,785 кл/мл; $p < 0,05$], а при средней [Me = 0,759 кл/мл, LQ = 0,413 кл/мл; UQ = 1,484 кл/мл; $p < 0,01$] и тяжелой степени пародонтита [Me = 0,7 кл/мл, LQ = 0,326 кл/мл; UQ = 1,4 кл/мл; $p < 0,01$] было значимое повышение (рис. 1).

Исследование количества клеток NK-субпопуляции с фенотипом CD3⁻CD16⁺56⁺ выявило тенденцию к снижению количества клеток в зависимости от степени тяжести пародонтита (рис. 2). При легкой степени ХГП выявилось существенное снижение уровня NK-клеток CD3⁻CD16⁺56⁺ [Me = 0,193 кл/мл; LQ = 0,107 кл/мл; UQ = 0,569 кл/мл; $p < 0,05$] по сравнению с контрольной группой [Me = 0,702 кл/мл; LQ = 0,327 кл/мл; UQ = 1,452 кл/мл]. При средней [Me = 0,252 кл/мл; LQ = 0,043 кл/мл; UQ = 0,394 кл/мл; $p < 0,05$] и тяжелой [Me = 0,294 кл/мл; LQ = 0,056 кл/мл; UQ = 1,736 кл/мл; $p < 0,05$] степени пародонтита количество NK-субпопуляций с фенотипом CD3⁻CD16⁺56⁺ статистически достоверно ($p < 0,05$) были ниже, чем в группе условно здоровых лиц.

Исследование клеточного звена адаптивной иммунной системы в слюнной жидкости оценивали по количественному составу субпопуляций Т- и В-лимфоцитов. Количество Т-лимфоцитов с фенотипом CD3⁺ при различных степенях тяжести пародонтита было существенно ниже в сравнении

с контрольной группой [Me = 104 кл/мл; LQ = 66,15 кл/мл; UQ = 133,89 кл/мл; $p < 0,050$] (рис. 3). Эта тенденция к снижению имела место в сравнении с контрольной группой при легкой [Me = 39,6 кл/мл; LQ = 31,54 кл/мл; UQ = 47,1 кл/мл; $p < 0,050$], средней степени тяжести ХГП [Me = 36,04 кл/мл; LQ = 23,0 кл/мл; UQ = 81,62 кл/мл; $p < 0,010$] и тяжелой степени [Me = 40,94 кл/мл; LQ = 25,92 кл/мл; UQ = 144,06 кл/мл; $p < 0,001$].

Исследование уровня активированных Т-лимфоцитов с фенотипом CD3⁺HLA-DR⁺ при различных степенях тяжести пародонтита выявило статистически значимое снижение количества клеток при развитии заболевания и тенденцию к росту количества этой субпопуляции лимфоцитов по мере утяжеления процесса при ХГП (рис. 4). При легкой степени тяжести ХГП было выявлено значительное снижение уровня CD3⁺HLA-DR⁺ [Me = 0,148 кл/мл; LQ = 0,104 кл/мл; UQ = 0,221 кл/мл; $p < 0,05$] по сравнению с контрольной группой [Me = 0,556 кл/мл; LQ = 0,334 кл/мл; UQ = 0,778 кл/мл; $p < 0,05$]. При средней [Me = 0,247 кл/мл; LQ = 0,127 кл/мл; UQ = 0,424 кл/мл; $p < 0,05$] и тяжелой [Me = 0,448 кл/мл; LQ = 0,199 кл/мл; UQ = 1,3 кл/мл; $p < 0,05$] степени ХГП концентрация Т-лимфоцитов повышалась относительно легкой степени тяжести, хотя и оставалась ниже по сравнению с контрольной группой.

Таблица
Количество клеток с фенотипом CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺ в смешанной слюне при различных степенях тяжести ХГП

№	Группы пациентов	Количество CD3 ⁺ CD4 ⁺ , абсолютное, кл./мкл	Количество CD3 ⁺ CD8 ⁺ , абсолютное, кл./мкл
1	Легкая степень ХГП	Me = 85,76; LQ-UQ = 75,90-150,48	Me = 68,48; LQ-UQ = 50,60-87,89
2	Средняя степень ХГП	Me = 63,45; LQ-UQ = 29,52-210,00	Me = 39,96; LQ-UQ = 12,60-264,00
3	Тяжелая степень ХГП	Me = 42,00; LQ-UQ = 17,08-240,10	Me = 84,00; LQ-UQ = 56,00-347,20
4	Контроль	Me = 87,69; LQ-UQ = 65,36-171,60	Me = 188,48; LQ-UQ = 79,38-380,80

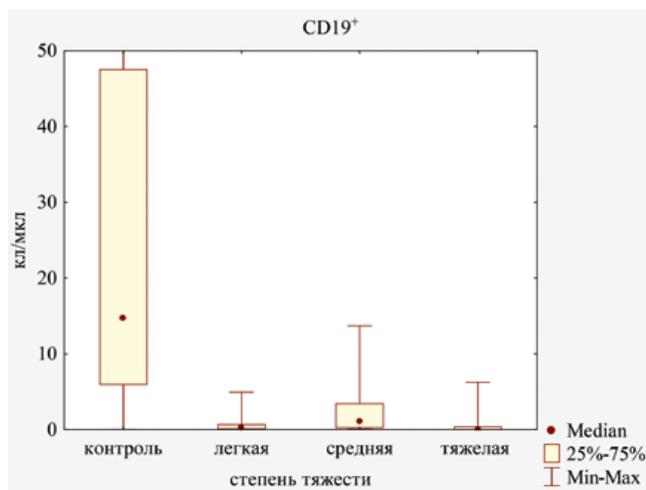


Рисунок 5. Уровень В-лимфоцитов (CD19⁺) у пациентов с ХГП в зависимости от степени тяжести.

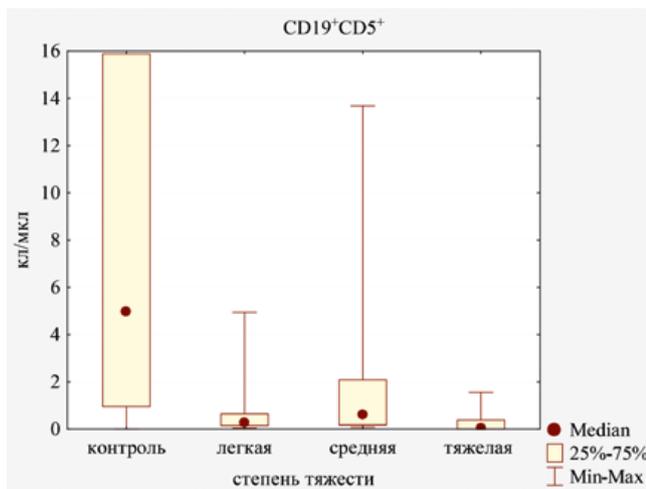


Рисунок 6. Уровень В-1-лимфоцитов (CD19⁺CD5⁺) у пациентов с ХГП в зависимости от степени тяжести.

Исследование количества клеток с фенотипом CD3⁺CD4⁺ при различных степенях тяжести пародонтита выявило статистически значимое снижение Т-хелперов по мере утяжеления заболевания ($p < 0,05$) (см. табл.). Количество клеток с фенотипом CD3⁺CD8⁺ при различных степенях тяжести пародонтита выявило снижение Т-цитотоксических лимфоцитов при легкой степени и статистически значимое увеличение при средней и тяжелой степени.

Оценка В-клеточного звена адаптивной иммунной системы в слюнной жидкости выявила особенности у пациентов с ХГП. Так, количество В-лимфоцитов с фенотипом CD19⁺

показало тенденцию к снижению количества этих клеток при развитии заболевания (рис. 5). При легкой степени тяжести ХГП выявилось существенное снижение относительного уровня CD19⁺ [Me = 0,211 кл/мкл; LQ = 0,103 кл/мкл; UQ = 0,648 кл/мкл; $p < 0,05$] по сравнению с контрольной группой [Me = 14,71 кл/мкл; LQ = 5,94 кл/мкл; UQ = 47,52 кл/мкл; $p < 0,05$]. При средней степени тяжести концентрация CD19⁺-лимфоцитов повышалась [Me = 1,08 кл/мкл; LQ = 0,27 кл/мкл; UQ = 3,43 кл/мкл; $p < 0,05$] относительно легкой степени тяжести, хотя и была ниже, чем в контрольной группе. При тяжелой степени пародонтита диапазон значений [Me = 0,06 кл/мкл; LQ = 0,001 кл/мкл; UQ = 0,39 кл/мкл; $p < 0,05$] был существенно ниже, чем в других исследуемых группах.

Исследование количества активированных В-лимфоцитов с фенотипом CD19⁺HLA-DR⁺ при различных степенях тяжести пародонтита выявило сходную картину снижения количества этих клеток при развитии более тяжелой степени ХГП.

Исследование относительного уровня В-1-лимфоцитов с фенотипом CD19⁺CD5⁺, являющихся самовозобновляемыми долгоживущими клетками и продуцирующими низкоаффинные полиреактивные антитела класса IgM, выявило аналогичную тенденцию снижения количества этих клеток при развитии более тяжелой степени этого заболевания (рис. 6). При легкой степени тяжести ХГП выявилось значительное снижение уровня В-1-лимфоцитов CD19⁺CD5⁺ [Me = 0,28 кл/мкл; LQ = 0,15 кл/мкл; UQ = 0,65 кл/мкл; $p < 0,05$] по сравнению с контрольной группой [Me = 4,96 кл/мкл; LQ = 0,95 кл/мкл; UQ = 15,19 кл/мкл; $p < 0,05$]. При средней степени ХГП концентрация активированных В-лимфоцитов незначительно повышалась [Me = 0,61 кл/мкл; LQ = 0,18 кл/мкл; UQ = 2,09 кл/мкл; $p < 0,05$] относительно легкой степени тяжести, хотя и была ниже, чем в контрольной группе. При тяжелой степени пародонтита [Me = 0,03 кл/мкл; LQ = 0,001 кл/мкл; UQ = 0,39 кл/мкл; $p < 0,05$] диапазон значений был существенно меньше по сравнению с другими исследуемыми группами.

Оценка количества лимфоцитов с фенотипом CD19⁺CD5⁺ выявила тенденцию к снижению количества этих клеток при появлении и развитии ХГП. При легкой степени тяжести ХГП относительный уровень В-2-лимфоцитов CD19⁺CD5⁺ составил [Me = 0,21 кл/мкл; LQ = 0,09 кл/мкл; UQ = 0,29 кл/мкл, $p < 0,05$] по сравнению с контрольной группой [Me = 1,85 кл/мкл; LQ = 0,33 кл/мкл; UQ = 3,64 кл/мкл]. При средней степени пародонтита концентрация В-2-лимфоцитов [Me = 0,12 кл/мкл; LQ = 0,07 кл/мкл; UQ = 0,49 кл/мкл] и тяжелой степени пародонтита [Me = 0,004 кл/мкл; LQ = 0,002 кл/мкл; UQ = 0,02 кл/мкл] снижалась относительно легкой степени тяжести.

Исследование количества В-лимфоцитов памяти с фенотипом CD19⁺CD5⁺CD27⁺ выявило тенденцию к снижению количества этих клеток при развитии более выраженной степени тяжести ХГП (рис. 7). Абсолютное количество В-лимфоцитов памяти CD19⁺CD5⁺CD27⁺ при ХГП стремилось к нулевым значениям по сравнению с контрольной группой. При легкой степени тяжести ХГП выявилось значительное снижение уровня В-лимфоцитов памяти CD19⁺CD5⁺CD27⁺ [Me = 0,011 кл/мкл; LQ = 0,006 кл/мкл; UQ = 0,02 кл/мкл; $p < 0,05$] по сравнению с контрольной группой [Me = 0,38 кл/мкл; LQ = 0,16 кл/мкл; UQ = 0,92 кл/мкл; $p < 0,05$]. При средней [Me = 0,014 кл/мкл;

LQ = 0,008 кл/мкл; UQ = 0,022 кл/мкл; $p < 0,05$] и тяжелой [Me = 0,002 кл/мкл; LQ = 0,001 кл/мкл; UQ = 0,006 кл/мкл; $p < 0,05$] степени пародонтита диапазон значений был минимальным по сравнению с другими исследуемыми группами.

Обсуждение

Наше исследование выявило особенности клеточных иммунных эффекторов в смешанной слюне, которые могут иметь отношение к патогенезу пародонтальных инфекций.

Снижение нерезидентных клеток иммунной системы ассоциировано с процессом и тяжестью развития воспаления при ХГП и является одним из этапов, который характеризует особенности в клеточных механизмах иммунного ответа всех звеньев при данной патологии. Такое снижение может быть характерным для иммунного ответа на внедрение и персистенцию пародонтальных возбудителей, сопровождающих данную патологию, с одной стороны, и ослабление гуморальных и клеточных факторов мукозальной иммунной системы, как системного патологического процесса в механизме иммунного ответа, – с другой. Дисбаланс этих процессов и может лечь в основу обоснования тех результатов, которые были нами получены при оценке нерезидентных клеток иммунной системы.

Снижение количества NK-клеток при пародонтальной инфекции может иметь прямую связь с увеличением колонизации вирусными и бактериальными инфекциями, так как NK-клетки являются первичными эффекторами, опосредующими лизис инфицированных клеток. Кроме того, секретируя ИФН- γ , NK-клетки будут способны стимулировать активацию моноцитов-макрофагов, дендритных клеток и выбора механизмов адаптивного иммунного ответа [1].

В текущем исследовании были выявлены В-клетки памяти с фенотипом CD19⁺CD5⁺CD27⁺ у пациентов без заболеваний пародонта. В отличие от резидентных Т-клеток памяти, о В-клетках памяти, находящихся в нелимфоидных тканях человека, известно меньше. Активация как Т-клеток, так и впоследствии В-клеток, может вызвать выработку рецептора активатора ядерного фактора κ В-лиганда (RANKL), что приводит к резорбции альвеолярной кости остеокластами и далее к потере зуба. Кроме того, активация В-клеток Т-фолликулярных лимфоцитов в периферических лимфатических узлах или третичных лимфатических органах может привести к клональной активации В-клеток, продуцирующих не только антитела для распознавания патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMP), но и выработке аутоантител к «стрессорным» молекулам (DAMP) – коллагену, фибронектину и ламинину и способствовать локальному разрушению десневой ткани. Отсутствие Treg-клеток может играть определенную роль в развитии хронического воспаления пародонта [8]. А регуляторные В-клетки играют супрессивную роль в активации адаптивного иммунного ответа.

Сообщается, что у пациентов с тяжелым пародонтитом наблюдается значительно более высокий процент CD19⁺CD5⁺CD27⁺ В-клеток памяти [11]. В то же время у таких пациентов снижается уровень В1-клеток человека, которые ранее были связаны с регуляторной функцией. В-клетки являются ключевыми участниками RANKL-опосредованной костной резорбции. Процент В-клеток, экспрессирующих RANKL, повышен после инфицирования

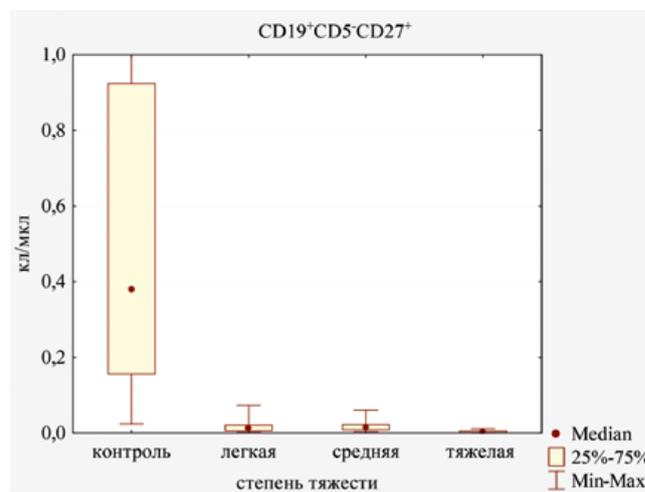


Рисунок 7. Уровень В-лимфоцитов памяти (CD19⁺CD5⁺CD27⁺) у пациентов с ХГП в зависимости от степени тяжести.

P. gingivalis десневой ткани. В-клетки у пациентов с заболеваниями пародонта могут вносить свой вклад в хроническое системное воспаление через секрецию ИЛ-8 и ИЛ-1 β . В пораженных тканях обнаруживается высокая экспрессия ИЛ-21, источником которого являются Th17-клетки и фолликулярные Th-клетки при очень малой их идентификации в тканях пародонта. Известно, что ИЛ-21 индуцирует большую дифференцировку плазматических клеток в присутствии передачи сигналов CD40 и плазматические клетки секретируют антитела, специфичные для *P. gingivalis*.

Известно о наблюдении В-клеток памяти в клинически здоровой десне человека преимущественно в ткани, прилегающей к соединительному эпителию. В этом районе рецепторы ICAM-1 обнаружены на эндотелиальных клетках кровеносных сосудов, что указывает на местную воспалительную реакцию слабой степени из-за постоянного воздействия бактериальной биопленки. Но остаются без ответа вопросы об их роли в гомеостазе клинически здоровой десны. Подмножества В-клеток в тканях десен явно отличаются от таковых в периферической крови соответствующих субъектов. В периферической крови две трети В-клеток принадлежат к подмножеству наивных В-клеток. Пародонтальная терапия пациентов с пародонтитом, включающая кюретаж и удаление биопленки зубного налета, приводит к сдвигу профиля В-клеток в тканях, похожему по составу в клинически здоровых тканях. Этот факт подтверждает ответственность биопленки бактериального налета за индукцию местного ответа В-клеток в тканях пародонтита.

Что касается различий в процентном содержании В-клеток в периферической крови и ротовой десневой жидкости, то снижение содержания В-лимфоцитов в смешанной слюне, по-видимому, компенсируется увеличением абсолютного содержания В-клеток в самой десневой ткани больных пародонтитом. Такие различия в количестве В-лимфоцитов не наблюдаются в различных тканевых компартаментах у здоровых обследуемых пациентов.

В нашем исследовании выявлено – снижение Т-хелперов по мере утяжеления ХГП и увеличение количества клеток с фенотипом CD3⁺CD8⁺ при тяжелом пародонтите в сравнении с пациентами, имеющими легкую и среднюю степень тяжести.

Периферическая кровь содержит только 2–3% общего пула Т-лимфоцитов и может не отражать фенотипы памяти, обнаруженные в очагах парадонита. Исследование N. Medara *et al.* (2021) показало, что в периферической крови при пародонтите доля наивных Т-клеток ниже, а циркулирующих Т-клеток памяти значительно больше по сравнению со здоровыми в контрольной группе [12]. Через 12 месяцев после терапии этими же авторами было показано, что количество Т-лимфоцитов с фенотипами CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺ было значительно увеличено. Это может быть связано, по мнению авторов, с активной дифференцировкой наивных Т-клеток в эффекторные клетки и (или) клетки памяти. Периодонтальная терапия снижает бактериальную нагрузку, и это может снижать активную дифференцировку наивных Т-клеток, восстанавливая нормальный баланс, наблюдаемый у здоровых пациентов в контрольной группе. Исследования в здоровых тканях десен показывают более высокое содержание CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов, а функциональные различия в CD3⁺CD4⁺- и CD3⁺CD8⁺- лимфоцитах адаптивной иммунной системы могут иметь место в периферической крови и в очаге локального (местного) поражения.

Заключение

Таким образом, пародонтит – это заболевание, в основе которого лежит местное воспаление, вызванное патоген-индуцированной инвазией. ХГП приводит к дисбалансу в мукозальной иммунной системе – снижению количества и взаимному взаимодействию клеток врожденной, в том числе мукозальной подсистемы и клеток адаптивной иммунной системы, приводящему к нарушению выработанных и сформированных механизмов иммунной защиты полости рта. Исследование нерезидентных клеток врожденной мукозальной и адаптивной иммунных систем дает новые представления о распределении количества клеток иммунной системы и механизмах, лежащих в основе иммунопатогенеза при пародонтите.

Дисбаланс иммунной системы, вызванный патогенной колонизацией пародонта, при разных степенях тяжести является важным фактором возникновения и развития

пародонтита, при котором определенную роль играют различные подмножества В-клеток адаптивной иммунной системы, тесно взаимодействующие с клеточным звеном врожденной местной (мукозальной) иммунной системы.

Список литературы / References

1. Арзуманян В.Г., Белохвостикова Т.С., Вавилова Т.В. и др. Клиническая лабораторная диагностика: в 2 т. Т. 2. Под ред. профессора В.В. Долгова. М.: ООО «Лабдиаг», 2018. 624 с.
Arzumanyan V.G., Belokhvoshtikova T.S., Vavilova T.V. and other Clinical laboratory diagnostics: in 2 volumes. Vol. 2. Ed. professor V.V. Dolgov. M.: Labdiag, 2018. 624 p.
2. Мудров В.П., Родкина Г.Н., Казаков С.П. Местный иммунный ответ при хроническом пародонтите и системные заболевания. Клиническая лабораторная диагностика. 2021. Т. 66. № 54. С. 47.
Mudrov V.P., Rodkina G.N., Kazakov S.P. Local immune response in chronic periodontitis and systemic diseases. Clinical laboratory diagnostics. 2021. Vol. 66. No. 54. P. 47.
3. Xiaoli Zhang, Qingxuan Wang, Xinyu Yan, Yue Shan, Lu Xing, Minqi Li, Hu Long, Wenli Lai Immune landscape of periodontitis unveils alterations of infiltrating immunocytes and molecular networks-aggregating into an interactive web-tool for periodontitis related immune analysis and visualization. J Transl Med. 2020; 18: 438. Nov 18. DOI: 10.1186/s12967-020-02616-1.
4. Hernandez M, Dutzan N, Garcia-Sesnich J, Abusleme L, Dezerega A, Silva N, Gonzalez FE, Vernal R, Sorsa T, Gamonal J. Host-pathogen interactions in progressive chronic periodontitis. J Dent Res. 2011; 90: 1164–1170. DOI: 10.1177/0022034511401405.
5. Kaur K., Vaziri S., Romero-Reyes M., Paranjpe A., Jewett A. Phenotypic and Functional Alterations of Immune Effectors in Periodontitis: A Multifactorial and Complex Oral Disease. J Clin Med. 2021 Feb 20; 10 (4): 875. DOI: 10.3390/jcm10040875.
6. Gemmell E., Yamazaki K., Seymour G. J. Destructive periodontitis lesions are determined by the nature of the lymphocytic response. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 2002; 13: 17–34. DOI: 10.1177/154411130201300104.
7. Dutzan N., Konkel J.E., Greenwell-Wild T., Moutsopoulos N.M. Characterization of the human immune cell network at the gingival barrier. Mucosal Immunol. 2016; 9: 1163–1172. DOI: 10.1038/mi.2015.136.
8. Figueredo C.M., Lira-Junior R., Love R.M.T and B Cells in Periodontal Disease: New Functions in A Complex Scenario. Int J Mol Sci. 2019 Aug; 20 (16): 3949. DOI: 10.3390/ijms20163949.
9. Mahanonda R., Champaiboon C., Subbalekha K., Sa-Ard-Iam N., Rattanathammatada W., Thawanaphong S., Rerkeyn P., Yoshimura F., Nagano K., Lang N.P. et al. Human Memory B Cells in Healthy Gingiva, Gingivitis, and Periodontitis. J. Immunol. 2016; 197: 715–725. DOI: 10.4049/jimmunol.1600540.
10. Campbell L., Millhouse E., Malcolm J., Culshaw S. T cells, teeth and tissue destruction – what do T cells do in periodontal disease? Mol. Oral. Microbiol. 2016; 31: 445–456. DOI: 10.1111/omi.12144.
11. Demoersman J., Pochard P., Framery C., Simon Q., Boisrame S., Soueidan A., Pers J.O. B cell subset distribution is altered in patients with severe periodontitis. PLoS ONE. 2018; 13: e0192986. DOI: 10.1371/journal.pone.0192986.
12. Medara N., Lenzo J.C., Walsh K.A., Holden J.A., Reynolds E.C., Darby I.B., O'Brien-Simpson N.M. Peripheral memory T-cell profile is modified in patients undergoing periodontal management. J Clin Periodontol. 2021 Feb; 48(2): 249–262. DOI: 10.1111/jcpe.13399. Epub 2020 Nov 22.

Статья поступила / Received 26.05.21
Получена после рецензирования / Revised 10.06.21
Принята в печать / Accepted 14.06.21

Сведения об авторах

Мудров Валерий Павлович, к.м.н., ассистент кафедры медицинской биохимии и иммунопатологии¹. SPIN 4934–3745. Author ID 934044. Researcher ID: ABD-8217–2020. ORCID 0000–0003–1129–8335

Давыдова Наталья Вячеславовна, врач клинической лабораторной диагностики высшей квалификационной категории отделения клинических и инфекционно-иммунологических исследований центра клинической лабораторной диагностики²

Казаков Сергей Петрович, д.м.н., доцент, нач. центра клинической лабораторной диагностики – гл. лаборант², зав. кафедрой медицинской биохимии и иммунопатологии Академического образовательного центра трансляционной и фундаментальной медицины¹. E-mail: gvkg.cld@mail.ru; mparo.kafimm@mail.ru. РИНЦ: 5560–3931. WoS Researcher ID: C-6644–2018. ORCID: 0000–0001–6528–1059

Мишина Татьяна Евгеньевна, врач клинической лабораторной диагностики первой квалификационной категории отделения клинических и инфекционно-иммунологических исследований центра клинической лабораторной диагностики²

¹ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

²ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Минобороны России, Москва

Автор для переписки: Казаков Сергей Петрович. E-mail: gvkg.cld@mail.ru

About authors

Mudrov Valery P., PhD Med, assistant at Dept of Medical Biochemistry and Immunopathology¹. SPIN 4934–3745. Author ID 934044. Researcher ID: ABD-8217–2020. ORCID 0000–0003–1129–8335

Davidova Natalia V., M.D., doctor of clinical laboratory diagnostics of supreme expert category at Dept of Clinical and Infectious-Immunological Research of Centre for Clinical Laboratory Diagnostics²

Kazakov Sergei P., DM Sci (habil.), associate professor, head of the Centre for Clinical Laboratory Diagnostics – chief laboratory assistant², head of Dept of Medical Biochemistry and Immunopathology of Academic Educational Centre for Translational and Fundamental Medicine¹. E-mail: gvkg.cld@mail.ru; mparo.kafimm@mail.ru. RSCI: 5560–3931. WoS Researcher ID: C-6644–2018. ORCID: 0000–0001–6528–1059

Mishina Tatiana E., doctor of clinical laboratory diagnostics of the first expert category at Dept of Clinical and Infectious-Immunological Research of Centre for Clinical Laboratory Diagnostics²

¹Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Moscow, Russia

²Main Military Clinical Hospital n.a. academician N.N. Burdenko of the Ministry of Defense of Russia, Moscow, Russia

Corresponding author: Kazakov Sergei. P. E-mail: gvkg.cld@mail.ru

Для цитирования: Мудров В.П., Давыдова Н.В., Казаков С.П., Мишина Т.Е. Роль нерезидентных субпопуляций мукозальной и адаптивной иммунной системы у больных с хроническим пародонтитом. Медицинский алфавит. 2021; (30): 61–66. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-61-66>

For citation: Mudrov V.P., Davidova N.V., Kazakov S.P., Mishina T.E. Role of non-resident subpopulations of mucosal and adaptive immune systems in patients with chronic periodontitis. Medical alphabet. 2021; (30):61–66. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-61-66>



AQUIOS CL

 **BECKMAN
COULTER**
Life Sciences

Первый полностью
автоматический
проточный цитометр



AQUIOS CL в вашей лаборатории поможет:

- Выполнять цитометрические заказы 24/7
- Значительно увеличить поток исследований
- Снизить риск ошибки оператора
- Обеспечить максимальную производительность персонала
- Снизить риск контакта с потенциально опасными видами биоматериала

Подробная информация на сайте: mybeckman.ru



Официальный дистрибьютор: **ЗАО «БиоХимМак»**
119992 Москва, Ленинские горы, МГУ им М. В. Ломоносова д. 1, стр. 11,
тел. (495) 647 27 40, факс (495) 939 09 07
www.biochemmack.ru, info@biochemmack.ru



19-21 ОКТЯБРЯ

Г. МОСКВА, КРОКУС ЭКСПО
ПАВИЛЬОН 1



РОССИЙСКИЙ
ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ
САММИТ

ДИАГНОСТИКА – ВЕКТОР РАЗВИТИЯ МЕДИЦИНЫ

В рамках Российского
диагностического саммита пройдут:

IV Итоговая
конференция МРО
«Лучевая диагностика:
междисциплинарное
взаимодействие»

MRO
mro.live

VIII международный
форум MIR:
менеджмент в
медицине



VII Российский
конгресс
лабораторной
медицины



3 дня



15 конференц-залов



БОЛЕЕ 200 сессий

БОЛЕЕ 180
производителей и поставщиков
диагностического,
фармацевтического и
лабораторного оборудования



зона **МАСТЕР-КЛАССОВ**



участие **БЕСПЛАТНОЕ**



info@rdsummit.ru



rdsummit.ru

регистрация и подробности

Биохимические анализаторы Global



Компактные
и высокопроизводительные
анализаторы с произвольным
доступом

- Первый результат после 2 минут
- Экономичное потребление реагентов
- Отдельные позиции для калибраторов и контролей
- Малый объем образца
- Охлаждающая система для реагентов
- Многоцветные реакционные кюветы
- Автоматическая станция промывки кювет
- Низкое потребление воды

GLOBAL 400

Для средних и крупных лабораторий

Производительность
до 750 тестов в час*



GLOBAL 240

Для малых и средних лабораторий

Производительность до 720 тестов в час*

МедСервис

115093, г. Москва

Партийный пер, д. 1, корп. 57, стр. 1

+7 (495) 633 23 53

www.medservice.info

office@medservice.info

BPC BIOSED S.R.L. 00060 Castelnuovo di Porto (RM), Traversa del Grillo Km. 0600. Tel. +39 069073666

info@bpcbiosed.it www.bpcbiosed.com

* при установке ионселективного модуля / спецификации прибора могут быть изменены производителем

IVD



ФБУН Центральный НИИ
Эпидемиологии
Роспотребнадзора
НАУКА НА СЛУЖБЕ ВАШЕГО ЗДОРОВЬЯ



ЦЕНТР
МОЛЕКУЛЯРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ



Место проведения: Москва, ул. Новый Арбат, д. 36.

7-8 октября 2021 г.

Всероссийская научно-практическая
конференция с международным участием
**Современная
иммунопрофилактика: вызовы,
возможности, перспективы**

Документация по данному учебному мероприятию представлена в Комиссию по оценке учебных мероприятий и материалов для НМО.

expodata.info
образовательный портал



Оргкомитет :

Тел: +7 (495) 617-36-43/44; +7 (495) 617-36-79;

E-mail: lvov.m.g@inbox.ru; www.expodata.info



**Подписка на журнал
2021 год**



**Медицинский
алфавит**

«Медицинский алфавит». Серия «**Современная лаборатория**»

Печатная версия – 500 руб., электронная версия любого журнала – 350 руб. (за номер).

Присылайте, пожалуйста, запрос на адрес medalfavit@mail.ru.

ООО «Альфмед»

ИНН 7716213348

Р/с № 40702810738090108773

ПАО «СБЕРБАНК РОССИИ» г. МОСКВА

К/с 3010181040000000225 БИК 044525225

Годовая подписка на журнал «Медицинский алфавит». Серия «**Современная лаборатория**» (2 выпуска в год).

Цена: 1 000 руб. в год (печатная версия) или 700 руб. (электронная версия).

Как подписаться

1. Оплатить квитанцию в любом отделении Сбербанка у кассира с получением кассового чека. Журналы высылаются в том случае, если вы сообщили адрес доставки на электронную почту издательства. Отправить скан квитанции с кассовым чеком, выданным кассиром банка, на e-mail medalfavit_pr@bk.ru или podpiska.ma@mail.ru.
2. Оплата через онлайн-банки издательством принимается только на сайте <https://medalfavit.ru/podpiska-na-zhurnaly/> в разделе «Издательство медицинской литературы».

Комплексное оснащение ПЦР-лабораторий



Проектирование КДЛ

- Планирование рабочих зон
- Подбор необходимого оборудования и расходных материалов



Оснащение лаборатории

- Оборудование для ручной и автоматической пробоподготовки
- Амплификаторы для real-time ПЦР



Технология РеалБест

- Транспортные растворы
- Наборы для выделения ДНК/РНК
- Более 250 наименований ПЦР-наборов для диагностики заболеваний человека и животных



Поддержка пользователей

- Оперативная сервисная поддержка и техническое обслуживание оборудования
- Обучение и методическая помощь



АО «Вектор-Бест»

📍 630117, Новосибирск-117, а/я 492

☎ (383) 25-25-163

✉ vbmarket@vector-best.ru

www.vector-best.ru

Представительства:

Москва: (495) 230-90-90

Санкт-Петербург: (812) 495-55-99

Ростов-на-Дону: (863) 295-13-19

Уфа: (347) 246-23-34

Екатеринбург: (343) 372-90-50

Нижний Новгород: (831) 270-48-53

Хабаровск: (4212) 335-946

Киев: (044) 338-04-04



БИОФИЗИЧЕСКАЯ АППАРАТУРА

Оборудование для службы крови и трансфузиологии

РП1-"БФА" - самый компактный размораживатель плазмы и эритроцитсодержащих компонентов крови, а также подогреватель криопреципитата и растворов.

Прибор использует специализированный блок обеззараживания теплоносителя, снижающий риск бактериального загрязнения пакетов или флаконов в соответствии с ГОСТ Р 53420-2009 "Кровь донорская и ее компоненты", и технологию "Бережное оттаивание", исключающую механические воздействия на размораживаемый объект.

«Бережное оттаивание»



РП 1-БФА
РП 2-01-БФА
РП 4-02-БФА



РАЗРАБОТКА  ПРОИЗВОДСТВО  СЕРВИС

"Бережное оттаивание" - самая безопасная технология оттаивания и согревания плазмы, крови, компонентов крови, эритроцитсодержащих компонентов и инфузионных растворов, применяемая во всех размораживателях компании "БФА".

г. Москва, улица Дубнинская, дом 79 Б, строение 2

Телефон: +7 (495) 602-06-69

e-mail: market@oobfa.ru

Сайт: oobfa.ru