

Серии научно-практических рецензируемых журналов



Медицинский АЛФАВИТ

№ 6 / 2022



Modern
LABORATORY

MEDICAL ALPHABET
Russian Professional Medical Journal

Современная ЛАБОРАТОРИЯ (1)



- 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

ГЕМОСТАЗ НА НОВОМ УРОВНЕ



Technology
Solution 4



Technology
Solution 60



Technology
Solution 400



Technology
Solution 190



ТЕХНОЛОГИЯ **ТС** СТАНДАРТ

**TECHNOLOGY
SOLUTION**

ООО ФИРМА «ТЕХНОЛОГИЯ-СТАНДАРТ»
656037, Россия, г. Барнаул, пр. Калинина,
д. 116/95. Тел.: (385-2) 229-937, 229-938, 229-939.
E-mail: mail@tehnologia-standart.ru
www.tehnologia-standart.ru

ООО «ЛАБОРАТОРНЫЕ РЕШЕНИЯ»
656037, Алтайский край, г. Барнаул, пр. Калинина,
д. 116/10, офис 108. Тел.: 8-800-551-61-71.
E-mail: sales@lab-solution.ru
www.labsolution.ru; www.лаб-решение.пф

Научный сайт журнала
www.med-alfavit.com

Медицинский портал
издательства
www.medalfavit.ru

Издательство медицинской
литературы

ООО «Альфмед»
+7 (495) 616-48-00

medalfavit@mail.ru
Россия, 129515, Москва, а/я 94

Учредитель и главный редактор
издательства
Татьяна Владимировна Синица

Адрес редакции
Москва, ул. Академика
Королева, 13, стр. 1, оф. 720 Б

Главный редактор журнала
Сергей Сергеевич Петриков
д.м.н., проф., член-корр. РАН

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: на портале
www.medalfavit.ru, e-mail: podpiska.
ma@mail.ru, «Почта России»,
«Урал-Пресс» индекс 014517.

Периодичность: 40 номеров в год.

Подписано в печать 30.03.2022.

Формат А4. Цена договорная.

© Медицинский алфавит, 2021

Содержание

- 7 Генетическая предрасположенность и устойчивость к некоторым инфекционным заболеваниям. IV. Туберкулез
С. Н. Щербо, Д. С. Щербо, Н. А. Соколова, М. И. Савина, Т. И. Туркина
- 11 Определение порогового значения защитного уровня антител класса G к SARS-COV-2 в поздней фазе иммунного ответа у реконвалесцентов COVID-19
Н. А. Алхутова, Н. А. Ковязина, Н. И. Давыдова, С. С. Алексанин, В. Ю. Рыбников
- 18 Оценка эффективности гуморального иммунного ответа после вакцинации «КовиВаком»
С. П. Казаков, Д. В. Решетняк, Н. В. Давыдова, С. Б. Путков
- 25 Повышенный уровень ферритина у стационарных пациентов
М. С. Ковальчук, В. С. Берестовская, В. С. Власов, Ю. И. Жиленкова
- 30 Методологические аспекты обеспечения и повышения диагностической эффективности количественных иммунохемилюминесцентных исследований. Модель «клинической неопределенности» в составе лабораторных модулей клинических рекомендаций и образовательных программ
Н. А. Ковязина, С. С. Алексанин, А. Г. Чуновкина, В. Л. Эмануэль
- 35 Клинический случай криптогенного сепсиса под маской лимфопролиферативного заболевания
И. Б. Барановская, К. А. Котивец, И. П. Сысоева
- 40 Диагностическое значение выявления аутоантител и современные автоматизированные методы их исследования
О. Ю. Ткаченко, С. В. Лапин, А. В. Мазинг, Т. В. Блинова, А. Н. Мошникова, Д. А. Кузнецова, И. В. Холопова
- 47 Биомаркеры неспецифического воспаления и атеросклероза сонных артерий при синдроме обструктивного апноэ сна
Е. Л. Полонский, Н. Н. Зыбина, О. В. Тихомирова, И. П. Ломова
- 53 Тактика опознания типовых патологических расстройств на фоне накопления С-терминального белкового фрагмента коллагена I типа в панели соотношений персональных показателей водно-электролитного обмена
А. В. Соломенников, С. Л. Богданова, А. И. Тюкавин, Н. А. Арсениев
- 57 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., Копцева 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

Tatyana Siniitska

Alfmed Publishing

+7 (495) 616-4800

medalfavit@mail.ru

Box 94, Moscow, 129515, Russia

Editorial Office

Office 720, Bldg. 1, 13

Academician Korolev Str.,

Moscow, Russia

Editor-in-Chief

Sergey Petrikov

Corr. Member of RAS, Doctor
of Medical Sciences (habil.), Professor**'Modern Laboratory' Project
Manager**

Tatyana Chikmaryova

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: 40 issues per year.

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

Signed for press: 30 March 2022.

© 2021 Medical Alphabet

Contents

- 7 Genetic predisposition and resistance to certain infectious diseases. IV. Tuberculosis**
S. N. Shcherbo, D. S. Shcherbo, N. A. Sokolova, M. I. Savina, T. I. Turkina
- 11 Determination of threshold value of protective level of class G antibodies to SARS-COV-2 in late phase of immune response in COVID-19 convalescents**
N. A. Alkhutova, N. A. Kovyazina, N. I. Davydova, S. S. Aleksanin, V. Yu. Rybnikov
- 18 Evaluation of effectiveness of humoral immune response after vaccination with 'CoviVac'**
S. P. Kazakov, D. V. Reshetnyak, N. V. Davydova, S. B. Putkov
- 25 Elevated serum ferritin level in inpatients**
M. S. Kovalchuk, V. S. Berestovskaya, V. S. Vlasov, Yu. I. Zhilenkova
- 30 Methodological aspects of ensuring and improving diagnostic effectiveness of quantitative immunochemiluminescent studies. Model of 'clinical uncertainty' as part of laboratory modules of clinical recommendations and educational programs**
N. A. Kovyazina, S. S. Aleksanin, A. G. Chunovkina, V. L. Emanuel
- 35 Clinical case of cryptogenic sepsis disguised as lymphoproliferative disease**
I. B. Baranovskaya, K. A. Kotivets, I. P. Sysoeva
- 40 Diagnostic value of autoantibodies and novel automated methods of their detection**
O. Yu. Tkachenko, S. V. Lapin, A. V. Mazing, T. V. Blinova, A. N. Moshnikova, D. A. Kuznetsova, I. V. Kholopova
- 47 Biomarkers of non-specific inflammation and atherosclerosis of carotid arteries in obstructive sleep apnea syndrome**
E. L. Polonskiy, N. N. Zybina, O. V. Tikhomirova, I. P. Lomova
- 53 Tactics of recognition of typical pathological disorders on background of accumulation of C-terminal protein fragment of collagen I type in panels of ratio of personal indicators of water-electrolyte metabolism**
A. V. Solomennikov, S. L. Bogdanova, A. I. Tyukavin, N. A. Arseniev
- 57 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.L., 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

Петриков Сергей Сергеевич, д.м.н., проф., член-корр. РАН, директор ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ» (Москва)

Редакционный совет журнала

Акимкин Василий Геннадьевич («Эпидемиология, инфекционные болезни, 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, 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)

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. акад. 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. акад. 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. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Editor-in-Chief

Petrikov S. S., Doctor of Medical Sciences (habil.), professor, director of Research Institute of Emergency Care n.a. N.V. Sklifosovsky (Moscow, Russia)

Editorial Board

Akimkin V. G. (*Epidemiology, Infectious diseases, Hygiene*), DMSci (habil.), prof., RAS acad., Central Research Institute of Epidemiology (Moscow, Russia)

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

Babaeva A. R. (*Rheumatology*), DMSci (habil.), prof., Volgograd State Medical University (Volgograd, Russia)

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

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

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

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

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

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

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

Kulakov A. A. (*Dentistry*), DMSci (habil.), 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)

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

Ostroumova O. D., DMSci (habil.), 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*), DMSci (habil.), prof., Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

Editorial Board of 'Modern Laboratory' series

Editor-in-Chief of 'Modern Laboratory' series

Shcherbo S. N., DMSci (habil.), 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., DMSci (habil.), 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., DMSci (habil.), 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., DMSci (habil.), 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., DMSci (habil.), 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., DMSci (habil.), 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., DMSci (habil.), 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., DMSci (habil.), 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. Peterburg n.a. I. P. Pavlov, St. Peterburg, Russia

Генетическая предрасположенность и устойчивость к некоторым инфекционным заболеваниям. IV. Туберкулез

С. Н. Щербо, Д. С. Щербо, Н. А. Соколова, М. И. Савина, Т. И. Туркина

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

РЕЗЮМЕ

В обзоре рассматриваются вопросы, связанные с генетической предрасположенностью и устойчивостью к туберкулезу. Генетические факторы в значительной мере определяют восприимчивость организма к различным заболеваниям, в том числе инфекционным. Основное влияние уделяется генам главного комплекса гистосовместимости и toll-подобных рецепторов. Рассмотрены некоторые генетические полиморфизмы, ответственные за устойчивость и предрасположенность к туберкулезу и связанным с ними клиническим последствиям. Знание молекулярно-генетических биомаркеров необходимо для выделения групп риска и проведения предиктивных мероприятий.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: туберкулез, генетическая предрасположенность, однонуклеотидные полиморфизмы, лабораторные биомаркеры, Toll-подобные рецепторы.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Genetic predisposition and resistance to certain infectious diseases. IV. Tuberculosis

S. N. Shcherbo, D. S. Shcherbo, N. A. Sokolova, M. I. Savina, T. I. Turkina

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

SUMMARY

The review discusses issues related to genetic predisposition and resistance to tuberculosis. Genetic factors largely determine susceptibility to various diseases, including infections. The main focus is on the genes of the major histocompatibility complex and toll-like receptors. A number of genetic polymorphisms responsible for resistance and predisposition to tuberculosis and related clinical consequences are considered. Knowledge of molecular genetic biomarkers is necessary to identify risk groups and carry out predictive measures.

KEY WORDS: tuberculosis, genetic predisposition, single nucleotide polymorphisms, laboratory biomarkers, Toll-like receptors.

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

Туберкулез (ТБ) относится к МФЗ (мультифакторным заболеваниям): распространение и развитие инфекционных болезней связано с социальными факторами и биологическими свойствами (патогенность и антибиотикорезистентность), генетически опосредованной способностью организма хозяина давать адекватный иммунный ответ на специфический патоген. ТБ являются основным фактором естественного отбора в человеческих популяциях, что обуславливает их разнообразие. Дж. С. Холдейн, выдвинувший данный постулат в середине 1900-х годов, предполагал, что основным фактором отбора у негроидов является малярия, а у европеоидов – туберкулез. Инфекции, вызванные микобактериями туберкулеза, находятся на подъеме, по оценкам, в мире до 9 млн новых случаев заражения и 2 млн смертей в год. Несмотря на высокую контагиозность и распространенность *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) в природе, заболевание возникает не у всех лиц, контактирующих с возбудителем, а примерно у 10%, что свидетельствует о значительной роли в развитии болезни индивидуальных особенностей больного, состояния его иммунного статуса [1, 2], который во многом определяется генетическими факторами, в первую очередь системой HLA II класса. Это наиболее значимое звено генетического

контроля восприимчивости к инфекционным заболеваниям вообще и к ТБ, в частности, поскольку здесь расположены гены, ответственные за распознавание патогена, кооперацию клеток и развитие иммунных реакций. К настоящему времени известно более 4 тыс. моногенных болезней, являющихся следствием мутаций единичного гена, а также более 600 хромосомных болезней, обусловленных изменением числа или структуры хромосом. Однако доля их неизмеримо мала среди всей патологии у человека в сравнении с МФЗ, при которых пожизненный риск возникновения заболевания достаточно высок. Для возникновения ТБ вероятно, определенную роль играют половые гормоны, так как туберкулезом и аспергиллезом чаще болеют мужчины (69–75%). Однако клиническое значение генетических факторов макро- и микроорганизма для развития и прогноза течения ТБ представлено в настоящее время недостаточно. В разных популяциях мира доказана ассоциация заболеваний туберкулеза и лепрой более чем с 140 генами (база данных HuGENet), которые вовлечены в развитие, характер заболевания и реакцию на лечение.

Достижения последних десятилетий в области фундаментальной иммуногенетики позволили перейти от изучения антигенов к исследованию генов иммунного ответа человека

на молекулярно-генетическом уровне. Полиморфизмы генов *SLC11F1*, *VDR*, *IL1B*, *IL1RA*, *IL1BB*, видимо, могут определять особенности течения туберкулеза. Генетическая предрасположенность связана с особенностями функционирования системы внутриклеточного клиренса фагоцитов, с дефектами системы гуморальных факторов резистентности слизистых оболочек, с определенными белками, экспрессируемыми генами главного комплекса гистосовместимости (HLA I и II классов). Мутации в трех разных генах, связанных с продукцией и функционированием сурфактантов (смесь поверхностно-активных веществ, выстилающая легочные альвеолы изнутри находящаяся на границе воздух-жидкость), приводят к дефициту этих белков и развитию ряда острых и хронических болезней легких. Получены ассоциации с антигенами HLA-комплекса, и были обнаружены маркеры, проявившие связь с заболеванием в нескольких популяциях (B15, B5, B12, Cw1), некоторые ассоциированы с отдельными его клиническими проявлениями и формами течения. Антиген IL27 ассоциирован с благоприятным течением, а DR2 с восприимчивостью к ТБ, хронизацией и более тяжелым течением. Результаты исследований свидетельствуют о тесной связи между наличием определенных аллелей HLA-DQB1* и HLA-DRB1* в генотипе больного и вариантом развития инфекции, клинической картиной, типом тканевой реакции и параметрами иммунитета. При выборе адекватного режима лечения необходимо принимать во внимание не только свойства микроорганизма, но и данные генотипирования больного [3]. Больные с впервые выявленным туберкулезом легких в сравнении со здоровыми людьми достоверно реже являются носителями 03 аллеля локуса HLA-DQB1*, что указывает на его протективную роль, и не отличаются по частоте встречаемости аллелей локуса HLA-DRB1*. Для впервые выявленных больных, имеющих в генотипе 03 аллель HLA-DQB1* и выделяющих МБТ других семейств, кроме Beijing, присущи специфические поражения, быстрая инволюция воспалительных и деструктивных изменений. Наиболее неблагоприятно хронический туберкулез легких протекает при заражении МБТ семейства Beijing и наличии в генотипе больного таких сочетаний аллелей, как: 05 аллеля HLA-DQB1* и 16 HLA-DRB1*, 03 аллеля HLA-DQB1* и 16 HLA-DRB1*, 02 аллеля HLA-DQB1* и 04 HLA-DRB1*. Для точного прогнозирования варианта течения ТБ необходимо проводить генетическое типирование аллелей локусов HLA-DRB1* и HLA-DQB1*. При идентификации в генотипе 03 аллеля HLA-DQB1* впервые выявленным больным туберкулезом органов дыхания показана комплексная терапия с применением Беталейкина®. При наличии в генотипе пациентов 05 аллеля HLA-DQB1* и 16 HLA-DRB1*, 03 аллеля HLA-DQB1* и 16 HLA-DRB1*, 02 аллеля HLA-DQB1* и 04 HLA-DRB1* необходимо использовать Ронколейкин® в сочетании с преднизолоном на фоне интенсивной химиотерапии [4].

Не всегда развитие хронических форм ТБ обусловлено снижением функций иммунной системы. Существует ряд генов, определяющих сложное взаимодействие «микобактерия туберкулезис – хозяин»: гены Toll-подобных белков и цитокинов, гены рецептора к витамину D (*VDR*) и маннозсвязывающего лектина (*MBL*). Для 10 из более 240 известных олигонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) гена *NRAMP1* показаны надежные ассоциации с ТБ. Белковый продукт указанного гена ответственен за способность зре-

лых тканевых макрофагов ограничивать внутриклеточное размножение возбудителей инфекций (включая возбудитель ТБ), регулируя мембранный транспорт двухвалентных ионов железа, марганца, кобальта. Научные исследования показали, что полиморфизмы в определенном регионе 17-й хромосомы человека связаны с повышенным риском развития активного ТБ. Виновником повышенной восприимчивости к ТБ небольшое изменение в гене, который кодирует белок, называемый MCP-1 (MCP-1 гена на хромосоме 17). Определенный ОНП приводит к увеличению производства MCP-1 белка в пять раз более распространенным у лиц с активной формой ТБ, чем у инфицированных, но оставшихся здоровыми. MCP-1 представляет собой белок, который помогает привлекать иммунные клетки к сайтам инфекции, который является важным в начале иммунного ответа на ТБ-бактерий. Но чрезвычайно высокие уровни MCP-1 могут быть опасны, так как они тормозят производство другого иммунного белка: интерлейкина-12, необходимого для активирования иммунных клеток, которые борются с инфекцией.

Для цитокиновых генов существуют мутации, приводящие к тяжелым нарушениям цитокинового ответа первого типа. Это новый класс микобактериальных болезней, вызванных непатогенными или слабопатогенными бактериями *M. bovis*, *M. marinum*, *M. smegmatis*, *M. avium*, *Salmonella enterica* и др. Такие случаи впервые были обнаружены с началом повсеместной вакцинации и сопровождалась редкими осложнениями, вплоть до летальных исходов. Известны 6 генов, мутации в которых приводят к подобным состояниям: *IL12B* (ген субъединицы p40 ИЛ-12), *IL12RB1* (субъединицы β1-рецептора к ИЛ-12), *IFNGR1*, *IFNGR2* (кодирующие первый и второй домены рецептора к ИФН-γ), *STAT1* (ИФН-γ-ассоциированного сигнального трансдуктора и активатора транскрипции), а также ген *NEMO* (*IKBKG*) – основного модулятора NF-KAPPA-B. Мутации этих генов проявляются в ослаблении сигнала ИФН-γ – ключевого активатора антимикобактериальной активности макрофагов и, следовательно, имеют общий патогенетический механизм. Сейчас известно более 60 мутаций этих 6 генов и выделено 12 генетически разнородных микобактериальных заболеваний. Установлена ассоциация полиморфного локуса 308G>A гена *TNFA* с инфильтративным туберкулезом легких (ИТЛ). Гетерозиготный генотип *TNFA**G/*A является маркером повышенного риска развития заболевания [4]. Полиморфные локусы (511C/T, 3953C>T, VNTR) генов цитокинов *IL1B* и *IL1RA*, а также инсерционный полиморфизм гена *CYP2E1* не ассоциированы с развитием ИТЛ. Генотип *CYP1A1**I/*V полиморфного локуса Le462Val гена *CYP1A1* является маркером пониженного риска развития ИТЛ, тогда как нулевой генотип *GSTM1**0/*0 гена *GSTM1* является фактором, предрасполагающим к развитию ИТЛ.

Полноэкзомный сиквенс идентифицировал 8 генов-кандидатов: *MAP4*, *WDFY4*, *ACTRT2*, *KLHL25*, *MAP2K3*, *MBD1*, *OR10J1* и *OR2T34*, которые определяют предрасположенность к некоторым формам ТБ. Исследования, направленные на нахождения генов-кандидатов и ассоциацию «случай – контроль», выявили многочисленные полиморфизмы, связанные с восприимчивостью к ТБ [5]. Выявлены гены, кодирующие несколько типов белков: рецепторы макрофагов, такие как маннозный рецептор (MR, CD206), специфичный для дендритных клеток ICAM-3-захватывающий неинте-

грин (DC-SIGN, CD209), дектин-1, Toll-подобные рецепторы (TLR), рецептор комплемента 3 (CD3, CD11b/CD18), домен олигомеризации нуклеотидов 1 (NOD1) и NOD2, CD14, P2X7 и ядерный рецептор витамина D (VDR); растворимые лектины С-типа, такие как поверхностно-активный белок-A (SP-A), SP-D и лектин, связывающий маннозу (MBL); цитокины фагоцитов, такие как фактор некроза опухоли (TNF), интерлейкин-1 β (IL-1 β), IL-6, IL-10, IL-12 и IL-18; хемокины, такие как IL-8, хемоаттрактивный белок моноцитов 1 (MCP-1), RANTES и CXCL10; и другие важные молекулы врожденного иммунитета, такие как индуцируемая синтаза оксида азота (NOS) и белок-носитель растворенного вещества 11A1 (SLC11A1). Полиморфизмы в этих генах по-разному связаны с восприимчивостью к ТБ среди разных групп населения. Изменчивость, вероятно, объясняется давлением эволюционного отбора в результате длительных взаимодействий хозяина и патогена в определенных регионах или популяциях и, частично, отсутствием надлежащего дизайна исследования и ограниченными знаниями о молекулярных и функциональных эффектах вовлечения генетических факторов.

Современная глобальная популяция *M. tuberculosis* генотипа Beijing характеризуется генетической неоднородностью и в целом сформировалась в результате человеческих миграций. Генотип Beijing возник на территории Северного Китая более 2000 лет назад и проник в другие регионы мира из Юго-Восточной Азии: в Россию – в средние века, в Южную Африку с XVII века и в Австралию в конце XIX века. Генотип Beijing включает две крупные филогенетические линии («древние» и «современные» штаммы), которые различаются по структуре локусов NTF, IS 6110, IS 1547 и Rv3135-PPE и особенностям развития лекарственной устойчивости. Субпопуляция варианта B0/Beijing отличается существенно более быстрым (в 10,6 раза) ростом в сравнении с популяцией Beijing в целом, что показывает «успешный» характер этого клонального варианта *M. tuberculosis*, распространенного в России. Метод инвертированной IS 6110-ПЦР пригоден для детекции штаммов *M. tuberculosis* генотипа Beijing и его двух основных филогенетических линий, а VNTR-типирование – для детекции и дифференциации штаммов кластера B0. Разработанная минимальная схема VNTR-типирования на основе 7 локусов (QUB-11b, Mtub21, QUB-26, MIRU 26, QUB-3232, VNTR-3820, VNTR-4120) эффективна для скринингового анализа штаммов *M. tuberculosis* Beijing. Сочетанное применение методов VNTR и IS 6110-RFLP необходимо для высококорреляющего типирования *M. tuberculosis*. Разработанный метод мультиплексной аллель-специфической ПЦР для анализа основных мутаций резистентности в генах *rpoB* и *katG* эффективен для выявления большинства мультирезистентных штаммов *M. tuberculosis*, циркулирующих в России и других странах с высоким уровнем заболеваемости туберкулезом. Мутации резистентности в *katG315*, *embB306* и *rpoB531* наиболее часто встречаются у штаммов генотипа Beijing в сравнении со штаммами других генотипов. Мутации в гене *embB306*, выявленные у 30% штаммов *M. tuberculosis*, чувствительных к этамбутолу, не могут служить маркером устойчивости к этамбутолу. Разработанные методологические подходы на основе применения комплекса информативных молекулярных маркеров могут быть использованы для проведения филогенетических и филогеографических исследований,

эффективного мониторинга и диагностики лекарственной устойчивости циркулирующих штаммов *M. tuberculosis*.

Микобактериями туберкулеза заражен каждый третий житель планеты, но лишь 5–10% из этого огромного количества носителей действительно заболевают туберкулезом. Остальным как-то удается удерживать болезнь в «спящем» состоянии. Ключом, запускающим указанный механизм, является ген *NRAMP1*, который имеет отношение ко многим болезням, включая такие непохожие, как проказа и ревматоидный артрит. Обнаружено, что варианты (аллели) гена *NRAMP1* контролируют скорость развития туберкулеза, а также то, разовьется ли вообще эта болезнь [6] и может управлять временем, которое проходит от момента заражения до начала болезни. Кроме того, определенные факторы могут ускорять развития туберкулеза. Так, если человек заражен одновременно туберкулезом и ВИЧ, обе болезни прогрессируют значительно быстрее. Предполагается, что полиморфизмы гена *NRAMP1* влияют на скорость прогрессирования от заражения до заболевания туберкулезом в том числе у детей. Белковый продукт гена *NRAMP1* отвечает за способность зрелых тканевых макрофагов ограничивать внутриклеточное размножение возбудителей инфекций, регулируя мембранный транспорт двухвалентных ионов металлов (железа, марганца, кобальта и др.). Только для 10 из 240 известных ОНП получены надежные ассоциации с туберкулезом. Получены ассоциации с предрасположенностью к туберкулезу для генов: рецептора к витамину D, маннозсвязывающего лептина (MBL), Toll-подобных белков и гены цитокинов. Для цитокиновых генов существуют мутации, приводящие к тяжелым нарушениям цитокинового ответа первого типа. Это новый класс микобактериальных болезней, вызванных непатогенными или слабопатогенными бактериями *M. bovis*, *M. marinum*, *M. smegmatis*, *M. avium*, *Salmonella enterica* и др. Такие случаи впервые были обнаружены с началом повсеместной вакцинации и сопровождались редкими осложнениями, вплоть до летальных исходов.

Известны 6 генов, мутации в которых приводят к подобным состояниям: *IL12B* (ген субъединицы p40 ИЛ-12), *IL12RB1* (субъединицы β 1-рецептора к ИЛ-12), *IFNGR1*, *IFNGR2* (кодирующие первый и второй домены рецептора к ИФН- γ), *STAT1* (IFN- γ -ассоциированного сигнального трансдуктора и активатора транскрипции), а также ген *NEMO(IKKBK)* – основного модулятора NF-KAPPA-B. Мутации этих генов проявляются в ослаблении сигнала ИФН- γ – ключевого активатора антимикобактериальной активности макрофагов и, следовательно, имеют общий патогенетический механизм. Сейчас известно более 60 мутаций этих 6 генов и выделено 12 генетически разнородных микобактериальных заболеваний. Установлена ассоциация полиморфного локуса 308G>A гена *TNFA* с ИТЛ. Гетерозиготный генотип *TNFA**G/*A является маркером повышенного риска развития ИТЛ (ОШ = 2,5; 95%ДИ: 1,41–4,47) [6]. Полиморфные локусы (511C>T, 3953C>T, VNTR) генов цитокинов *IL1B* и *IL1RA*, а также инсерционный полиморфизм гена *CYP2E1* не ассоциированы с развитием ИТЛ. Генотип *CYP1A1**I/*V полиморфного локуса Ile462Val гена *CYP1A1* является маркером пониженного риска развития ИТЛ (ОШ = 0,39; 95% ДИ: 0,17–0,86), тогда как нулевой генотип *GSTM1**0/*0 гена *GSTM1* является фактором, предрасполагающим к развитию ИТЛ (ОШ=2,74; 95% ДИ: 1,66–4,52).

Одной из проблем современной медицины является изучение механизмов возникновения и персистенции внутриклеточных бактериальных инфекций, вызванных *Mycobacterium tuberculosis* и *Salmonella enteritidis* [7]. Несмотря на многочисленные исследования в области генетики инфекционных заболеваний, многие аспекты функционирования генов, определяющих развитие защитных реакций при внедрении патогена, остаются до конца не установленными. Следует изучить функциональную вариативность генов *MCP1*, *IFNG*, *TLR2*, *STAT1* и *IFNGR2*, вовлеченных в формирование подверженности инфекционным заболеваниям. Российское исследование включало в себя формирование посредством биоинформационных методов панели потенциально функциональных ОНП в промоторной и интронной областях генов *MCP1*, *IFNG*, *TLR2*, *STAT1* и *IFNGR2* и оценку влияния полиморфизмов на экспрессию исследуемых генов в культурах мононуклеарных клеток крови при стимуляции их индукторами микробного и не микробного происхождения у здоровых русских жителей г. Томска. С помощью биоинформационной программы Matinspector проведен анализ 26 полиморфизмов промоторной области генов *MCP1*, *IFNG*, *STAT1*, *IFNGR2* и пяти ОНП интронной области гена *TLR2*, из которых для дальнейшего анализа выбрано только пять ОНП: rs1024611, rs2069705, rs4853455, rs17880053 и rs56000463 [8]. Остальные 21 ОНП при оценке их предполагаемого фенотипического эффекта не вызывали изменений в качестве и количестве ССФТ регуляторного региона каждого из исследуемых генов. Идентификация потенциальных сайтов связывания для факторов транскрипции в промоторных областях генов *MCP1*, *IFNG*, *STAT1*, *IFNGR2* и в интронной области гена *TLR2* позволила значительно сократить пространство поиска кандидатных ОНП, т.е. подойти к их выбору более целенаправленно. Частоты полиморфных вариантов генов (*MCP-1*, *IFNG*, *IFNGR2* и *STAT1*) у здоровых русских находились в границах величин, характерных для популяций европеоидного происхождения. Частота редкого аллеля Т полиморфного варианта rs56000463: T>G интронной области гена *TLR2* составила 6,3%.

В последнее время большое внимание уделяется выяснению роли ОНП в предрасположенности к ТБ для различных этнических групп. Проведено два исследования полногеномного скрининга ассоциаций в Гане и Гамбии 11425 африканцев, и в бедном генами регионе обнаружен ОНП rs4331426 на 18q11.2 хромосоме, связанный с развитием ТБ [9]. Исследование турецких пациентов с туберкулезом и незараженным контролем

предположило, что полиморфизм Arg753Gln TLR2 был связан с увеличенной чувствительностью с ТБ. Гомозиготы для генотипа AA были более частыми среди тех с ТБ, и это оставалось существенным, когда анализ был ограничен тем с легочным ТБ. Гетерозиготы были также более частыми среди тех с ТБ, хотя это открытие было менее существенным. Предполагено, что генотип TLR2597CC был связан с туберкулезным менингитом во вьетнамской популяции [10], однако такая ассоциация не была найдена для легочных форм ТБ. Другой анализ этой когорты предположил, что SNP в домене преемника TLR1 (C558T) был связан с туберкулезом и более строго – с туберкулезным менингитом [11]. Исследования русской и хорватской популяций показало важную роль ОНП (rs557011) HLA-DQA1, HLA-DRB1 в развитии легочных форм ТБ [12, 13].

Список литературы / References

1. Matzaraki V., Kumar V., Wijmenga C. et al. The MHC locus and genetic susceptibility to autoimmune and infectious diseases. // *Genome Biol.*–2017.–18.– 1.– 76.
2. Bai X., Wilson S.E., Chmura K. et al. Morphometric analysis of Th(1) and Th(2) cytokine expression in human pulmonary tuberculosis. // *Tuberculosis (Edinb.)*.–2004.–84.–6.–P. 375–385.
3. Арчакова А.И., Скворцова А.А., Кноринг Б.Е. и др. Иммуногенетические аспекты течения и лечения туберкулеза легких. // *Проблемы туберкулеза и болезней легких.*–2008.–№ 12.–С. 34–37.
Archakova L.I., Skvortsova L.A., Knoring B.E. and other. Immunogenetic aspects of the course and treatment of pulmonary tuberculosis. // *Problems of tuberculosis and lung diseases.*–2008.–No. 12.–P. 34–37.
4. Скворцова А.А., Павлова М.В., Кондакова М.Н. и др. Роль генотипа HLA-DRB1* в комплексной терапии туберкулеза органов дыхания / А.А. Скворцова, Т.И. Виноградова, Р.Г. Ковалева, А.И. Арчакова // *Проблемы туберкулеза и болезней легких.*–2008.–№ 12.–С. 38–40.
Skvortsova L.A., Pavlova M.V., Kondakova M.N. The role of the HLA-DRB1* genotype in the complex therapy of respiratory tuberculosis / L.A. Skvortsova, T.I. Vinogradova, R.G. Kovaleva, L.I. Archakova // *Problems of tuberculosis and lung diseases.*–2008.–No. 12.–P. 38–40.
5. Azad A.R., Sadee W., Schlesinger L.S. Innate Immune Gene Polymorphisms in Tuberculosis // *Infect. Immun.*–2012.–80.–10.–P. 3343–3359.
6. Юнусбаева М.М., Карунас А.С., Бикмаева А.Р. и др. Исследование полиморфных локусов ряда генов цитокинов (TNFA, IL1B, IL1RA) и генов детоксикации ксенобиотиков (CYP1A1, CYP2E1, GSTM1) у больных инфильтративным туберкулезом легких. // *Пульмонология.*–2008.–3.–P. 59–63.
Yunusbaeva M.M., Karunas A.S., Bikmaeva A.R., et al. Study of polymorphic loci of a number of cytokine genes (TNFA, IL1B, IL1RA) and xenobiotic detoxification genes (CYP1A1, CYP2E1, GSTM1) in patients with infiltrative pulmonary tuberculosis. // *Pulmonology.*–2008.–3.–R. 59–63.
7. Schnappinger D., Schoolnik G.K., Ehrst S. Expression profiling of host pathogen interactions: how *Mycobacterium tuberculosis* and the macrophage adapt to one another. // *Microbes Infect.*–2006.–8.–4.–P. 1132–40.
8. Ozhegova D.S., Freidin M.B., Pusyrev V.P. Using the bioinformatic tools to choose the SNPs with highly possible phenotypic effect / *European Journal of Human Genetics.*–2008.–Vol. 16.–P. 397.
9. Thyé T., Vannberg F.O., Wong S.H. Genome-wide association analyses identifies a susceptibility locus for tuberculosis on chromosome 18q11.2. // *Nat. Genet.*–2010.–42.–9.–P. 739–741.
10. Thung N.T., Hawn T.R., Thwaites G.E. et al. A polymorphism in human TLR2 is associated with increased susceptibility to tuberculous meningitis. // *Genes Immun.*–2007.–8.–P. 422–428.
11. Hawn T.R., Dunstan S.J., Thwaites G.E. et al. A polymorphism in Toll-interleukin 1 receptor domain containing adaptor protein is associated with susceptibility to meningococcal tuberculosis. // *J. Dis.*–2006.–194.–P. 1127–1134.
12. Azad A.R., Sadee W., Schlesinger L.S. Innate Immune Gene Polymorphisms in Tuberculosis // *Infect. Immun.*–2012.–80.–10.–P. 3343–3359.
13. Sveinbjornsson G., Gudbjartsson D.F., Halldorsson B.V. et al. HLA class II sequence variants influence tuberculosis risk in populations of European ancestry. // *Nat. Genet.*–2016.–48.–P. 318–22.

Статья поступила / Received 20.03.2022

Получена после рецензирования / Revised 22.03.2022

Принята в печать / Accepted 25.03.2022

Сведения об авторах

Щербо Сергей Николаевич, д.б.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики ФДПО

Щербо Дмитрий Сергеевич, к.б.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ФДПО

Соколова Н.А. к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ФДПО

Савина Марина Ивановна, д.б.н., проф., проф. кафедры клинической лабораторной диагностики ФДПО

Туркина Татьяна Ивановна, д.б.н., проф., проф. кафедры клинической лабораторной диагностики ФДПО

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

Автор для переписки: Щербо Сергей Николаевич. E-mail: indvsm@mail.ru

About authors

Shcherbo Sergey N., Dr Bio Sci, prof., head of Dept of Clinical Laboratory Diagnostics

Scherbo Dmitry S., PhD Bio Sci, associate prof. at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics

Sokolova N.A., PhD Med, associate prof. at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics

Savina Marina I., Dr Bio Sci, prof., prof. at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics

Turkina Tatiana I., Dr Bio Sci, prof., prof. at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics

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

Corresponding author: Shcherbo Sergey N. E-mail: indvsm@mail.ru

Для цитирования: Щербо С.Н., Щербо Д.С., Соколова Н.А., Савина М.И., Туркина Т.И. Генетическая предрасположенность и устойчивость к некоторым инфекционным заболеваниям. IV. Туберкулез. Медицинский алфавит. 2022; (6): 7–10. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-7-10>

For citation: Shcherbo S.N., Shcherbo D.S., Sokolova N.A., Savina M.I., Turkina T.I. Genetic predisposition and resistance to certain infectious diseases. IV. Tuberculosis. Medical alphabet. 2022; (6): 7–10. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-7-10>



Определение порогового значения защитного уровня антител класса G к SARS-CoV-2 в поздней фазе иммунного ответа у реконвалесцентов COVID-19

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

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

РЕЗЮМЕ

Определение эффективности и продолжительности гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 имеет большое значение для тактики управления и прогнозирования течения пандемии COVID-19. Однако важно понимать, что высокая концентрация антител, которая характерна для острого иммунного ответа (в том числе после вакцинации), не будет сохраняться в его поздней стадии («памяти»). Уровень антител по окончании острой фазы иммунного ответа неизбежно снижается, а затем, достигнув определенного предела, у большинства людей стабилизируется.

Цель настоящего исследования – обосновать пороговое значение («защитного») уровня антител к SARS-CoV-2 при использовании системы реагентов «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ», АО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия).

Результаты нашего исследования подтвердили, что через 6–10 и даже 18 месяцев после заболевания COVID-19 и через 6 месяцев после вакцинации индекс позитивности (ИП) уровня антител оставался относительно постоянным и сопоставимым. Учитывая риски нежелательных реакций и осложнений, вызванных избыточной иммунизацией при повторном введении вакцины на фоне высокого уровня антител, целесообразно ориентироваться на среднее значение уровня антител поздней фазы иммунного ответа, принимая этот уровень в качестве порогового значения («защитного») иммунитета. Полученные нами данные в совокупности с результатами зарубежных авторов позволяют предположить, что как инфицирование SARS-CoV-2, так и вакцинация в большинстве случаев приводят к формированию длительного гуморального иммунитета, которому соответствует диапазон концентрации SARS-CoV-2-IgG, равный ИП = $7,77 \pm 1,64$ или $102,63 \pm 29,31$ BAU/мл.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: COVID-19, антитела к SARS-CoV-2-IgG, пороговое значение антител при вакцинации против вируса SARS-CoV-2.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Determination of threshold value of protective level of class G antibodies to SARS-CoV-2 in late phase of immune response in COVID-19 convalescents

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

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

SUMMARY

Determining the effectiveness and duration of humoral immunity to SARS-CoV-2 is of great importance for the management tactics and forecasting of the COVID-19 pandemic. However, it is important to understand that the high concentration of antibodies, which is characteristic of an acute immune response (including after vaccination), will not persist in its late stage of "memory". The level of antibodies at the end of the acute phase of the immune response inevitably decreases, and then, having reached a certain limit, it stabilizes in most people.

The purpose of this study is to substantiate the threshold value of the "protective" level of antibodies to SARS-CoV-2 when using the SARS-CoV-2-IgG-ELISA-BEST reagent system of Vector-Best JSC, Novosibirsk, Russia.

The results of our study confirmed that 6–10 and even 18 months after the COVID-19 disease and 6 months after vaccination, the antibody level positivity index (IP) remained relatively constant and comparable. Taking into account the risks of adverse reactions and complications caused by excessive immunization with repeated administration of the vaccine against a background of high antibody levels, it is advisable to focus on the average value of the level of antibodies of the late phase of the immune response, taking this level as the threshold value of "protective" immunity. The data obtained by us together with the results of foreign authors suggest that both infection with SARS-CoV-2 and vaccination, in most cases, lead to the formation of long-term humoral immunity, which corresponds to the range of concentration of SARS-CoV-2-IgG equal to $IP = 7,77 \pm 1,64$ or $102,63 \pm 29,31$ BAU / ml.

KEY WORDS: COVID-19, antibodies to SARS-CoV-2-IgG, threshold value of antibodies during vaccination against SARS-CoV-2 virus.

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

Введение

Несмотря на общий характер развития иммунитета на вакцину, иммунный ответ у каждого человека имеет индивидуальные особенности, генетически обусловленные наличием или отсутствием определенных антигенов системы HLA – продуктов I γ -генов (генов иммунного ответа) главного комплекса гистосовместимости (МНС), участвующих в представлении экзоантигенов антигенпрезентирующими клетками Т- и В-лимфоцитам, которые реализуют специфический иммунный ответ. Высокая специфичность

вируса-носителя гена, активация которого приводит к синтезу целевого антигена, является необходимым условием при создании рекомбинантных векторных вакцин. Наличие рецепторов для антигенов возбудителя на тканях-мишенях человека определяет вирулентность, тяжесть инфекционного заболевания, а также характер иммунного ответа, в том числе при вакцинации. Таким образом, эффективность вакцинации обуславливается не только характеристиками и условиями введения вакцины, но и способностью иммунной системы вакцинируемого реализовать адекватный иммунный ответ.

Традиционно при вакцинации отдельных групп повышенного риска (медицинские работники, беременные женщины, контингенты домов престарелых и интернатов, дети, лица с острыми и хроническими заболеваниями) применяют дифференцированный подход, что укладывается в современную тактику лечения и профилактики разных заболеваний человека [2]. Необходимость вакцинации разного контингента лиц привела к установлению «защитного» порогового уровня антител применительно к разным инфекциям. Понятие защитного уровня является условным, поскольку противоинфекционный иммунитет может быть эффективным даже в случае, если уровень антител не достигает защитного, в то время как наличие установленного «защитного» количества антител не всегда гарантирует стопроцентную защиту от инфекции.

Необходимо отметить, что статистически в 5–10% случаев вакцинация не приводит к выработке «защитного» уровня антител. При этом низкий уровень вырабатываемых в ответ на вакцинацию антител, вероятно, может способствовать вирусоносительству и развитию феномена антителозависимого усиления инфекции [3], который описан при разных вирусных и бактериальных заболеваниях (лихорадка Эбола, Денге, Ку, желтая лихорадка, гепатит С, и т. д.). Напротив, для небольшого процента вакцинируемых характерна интенсивная продукция антител уже после первого введения компонентов вакцины и им, вероятно, не надо проводить ревакцинацию (которая требуется в соответствии с инструкцией по применению большинства вакцин) [2]. У людей с высоким уровнем антител присутствует риск гипериммунизации, которая может стать причиной нежелательных побочных действий и осложнений при повторном введении вакцины (ревакцинации) за счет эффекта подавления образования новых антител и формирования иммунных комплексов [2]. Таким образом, учет уровня антител при планировании и в ходе вакцинации (коррекция вакцинации) может препятствовать излишней иммунизации лиц с имеющимся «защитным» уровнем антител и позволяет определять контингент лиц, подлежащих вакцинации: с низким или, в определенных случаях, со средним уровнем антител.

Цель настоящего исследования – обосновать пороговое значение «защитного» уровня антител к *SARS-CoV-2* при использовании системы реагентов «*SARS-CoV-2*-IgG-ИФА-БЕСТ», АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия.

Задачи исследования

- Оценить динамику антител класса G у реконвалесцентов COVID-19.
- Оценить уровень поствакцинальных антител в динамике после применения двухдозовой вакцины «Гам-КОВИД-Вак» или «Спутник-V» (НИЦЭМ имени Н. Ф. Гамалеи).
- Определить пороговое значение ИП антител к *SARS-CoV-2* в группах со снижением антител в динамике у участников вакцинации и реконвалесцентов COVID-19.

Материалы и методы исследования

Мы провели ретроспективное исследование определения длительности (от 3 до 10 месяцев) гуморального ответа у 160 пациентов, перенесших с июня по декабрь 2020 года новую коронавирусную инфекцию, и динамическое определение в течение 6 месяцев антител к *SARS-CoV-2* у 83 участников вакцинации после применения вакцины «Гам-КОВИД-Вак» [4].

В группе вакцинированных в течение 6 месяцев после вакцинации заболели COVID-19 7 (8,4%) человек. Однако у всех заболевших не было отмечено случаев среднетяжелого и тяжелого течения заболевания. Определение антител проводили с помощью систем реагентов «*SARS-CoV-2*-IgG-ИФА-БЕСТ» (качественный тест) и «*SARS-CoV-2*-IgG-ИФА-БЕСТ» (количественный тест), АО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия). В системах 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.

Результат количественного теста выражали в международных единицах стандарта ВОЗ – First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human), NIBSC code: 20/136 BAU – «единицы связывающих антител». Уровень специфических антител IgG менее 10 BAU/мл расценивали как отрицательный результат количественного анализа.

Система реагентов «*SARS-CoV-2*-IgG-ИФА-БЕСТ» (качественный тест) была протестирована на панели Anti-*SARS-CoV-2*, предназначенной для верификации серологических анализов на COVID-19, Национального института биологических стандартов и контроля (NIBSC, Великобритания, 2020). Оценку результатов проводили полуколичественным методом с использованием расчетного индекса позитивности (ИП) по формуле: $ИП = \frac{ОП_{обр.}}{ОП_{крит.}}$, где $ОП_{обр.}$ – значение оптической плотности в лунке с контролем или анализируемым образцом, $ОП_{крит.} = ОП_{ср.} + 0,2$. 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%, с доверительной вероятностью 95%), диагностическая специфичность теста – 100% (интервал 98,5%,–100%, с доверительной вероятностью 95%). Материалом для исследования служила сыворотка крови. Подготовка биоматериала проводилась в соответствии с инструкцией к системе реагентов.

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 (M – средняя арифметическая, m – стандартная ошибка среднего, Me – медиана). Значимость различий при парных сравнениях оце-

нивали 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

В ходе выполнения первой задачи нами было установлено, что во всех группах динамического определения антител (через 3–4, 5–6, 7–8, 9–10 месяцев) после перенесенной новой коронавирусной инфекции распределение пациентов по характеру изменения количественного показателя антител было примерно одинаковым. Так, в каждой группе имелись пациенты с уменьшением или с увеличением индекса позитивности антител (ИП Ат), а также пациенты, у которых уровень антител в динамике не изменился. Было определено, что в течение 10 месяцев после перенесенного заболевания в 91,2% случаев не было обнаружено снижения ИП Ат до пограничных значений и ниже. Однако у 14 (8,75%) пациентов, у которых исходный ИП Ат был не более $2,95 \pm 0,33$, уровень SARS-CoV-2-IgG постепенно снижался, начиная с третьего месяца, до пороговых значений и ниже. Однако при этом у 64,1% переболевших COVID-19 уровень антител (в динамике от 3 до 10 месяцев) не изменился или даже повысился [4]. Особого внимания заслужил тот факт, что в группах пациентов со снижением уровня антител ИП Ат, определенный в динамике, находился примерно в одном и том же диапазоне (6,8–8,8), независимо от срока динамического наблюдения, а его среднее значение составило $7,83 \pm 1,35$. Средние ИП Ат через 3–10 месяцев после заболевания у пациентов со снижением уровня антител в динамике представлены в *таблице 1*.

В ходе решения второй задачи определили уровень SARS-CoV-2-IgG через 6 месяцев после вакцинации у 53 человек, среди которых были выделены группы со снижением уровня антител, со снижением ИП Ат до пороговых значений и ниже, с увеличением уровня антител и без динамики ИП Ат. (*табл. 2*).

Аналогично группе реконвалесцентов, в группе вакцинированных у 18 (34%) человек через 6 месяцев после вакцинации уровень антител не изменился или даже повысился (*рис. 1, табл. 1*). Необходимо отметить, что у вакцинированных снижение уровня антител в динамике произошло более чем у половины участников вакцинации. Как и в группах реконвалесцентов, нас больше всего интересовала подгруппа участников вакцинации со снижением уровня антител в динамике. Эта группа состояла из 35 (66%) человек: у одного (2%) из них уровень антител снизился до отрицательных значений, у 6 (11%) – до пограничных значений (0,8–1,1), у остальных 28 (53%) человек до среднего значения $7,22 \pm 0,68$.

Таким образом, среднее значение динамического ИП Ат в группе участников вакцинации со снижением уровня антител ($7,22 \pm 0,68$) было сопоставимо с таковым у лиц, перенесших COVID-19 ($7,83 \pm 1,35$). Ориентируясь на этот факт, мы разделили участников вакцинации со снижением уровня антител на две группы в зависимости от ИП Ат, полученного через 6 месяцев после вакцинации (ИП Ат < 7,0 и ИП Ат > 7,0). На *рисунке 2* представлены индивидуальные графики шести-

Таблица 1
Динамика индекса позитивности антител класса G к SARS-CoV-2 в группах реконвалесцентов со снижением уровня антител в течение 3–10 месяцев

Динамика антител через	n	ИП Ат исходный	ИП Ат в динамике
3–4 месяца	38	$12,86 \pm 0,71$	$8,03 \pm 0,74$
5–6 месяцев	23	$11,71 \pm 1,22$	$7,62 \pm 1,13$
7–8 месяцев	14	$14,84 \pm 1,02$	$8,83 \pm 1,16$
9–10 месяцев	7	$9,98 \pm 2,04$	$6,84 \pm 2,36$

Таблица 2
Уровень SARS-CoV-2-IgG у участников вакцинации в динамике

Статус уровня антител	n	Возраст, лет	ИП Ат исходный	ИП Ат через 6 месяцев
Снизился	28	$50,4 \pm 1,94$	$16,65 \pm 0,26$	$7,22 \pm 0,68$
Снизился до пороговых значений и ниже	7	$55,6 \pm 2,6$	$11,01 \pm 2,32$	$1,1 \pm 0,1$
Не изменился	9	$44,5 \pm 3,4$	$16,32 \pm 0,95$	$15,67 \pm 1,04$
Повысился	9	$46,5 \pm 4,68$	$6,05 \pm 1,86$	$15,5 \pm 1,3$

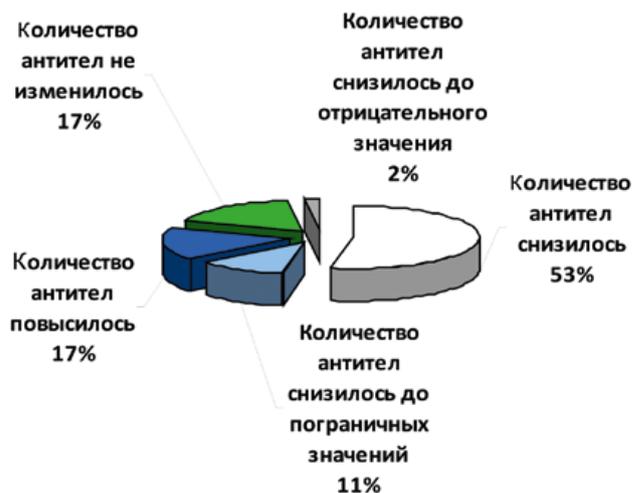
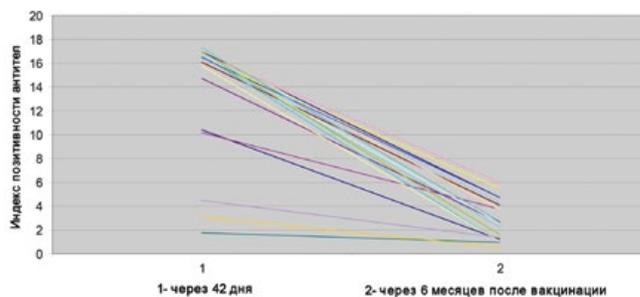
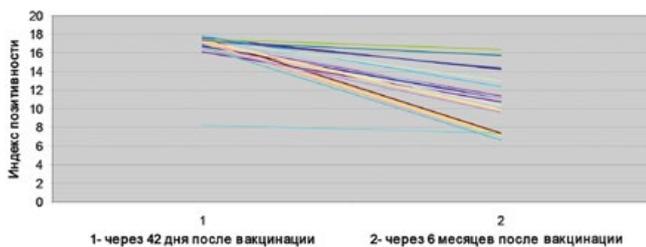


Рисунок 1. Динамика уровня антител через 6 месяцев после вакцинации



Показатель	Возраст, лет	ИП Ат через 6 месяцев	
		ИП Ат через 42 дня	ИП Ат через 6 месяцев
n		После вакцинации 20	
M	53,6	11,40	2,92
m	2,1	1,19	0,37
Me	54,5	16,45	2,67
1q	46,5	10,40	1,30
3q	60,8	16,80	4,11

Рисунок 2. Группа участников вакцинации с ИП < 7,0 в динамике через 6 месяцев. Индивидуальные графики снижения индекса позитивности антител.



Показатель	Возраст лет	ИП Ат через 42 дня	
		После вакцинации	
n		15	
M	47,3	12,25	10,81
m	3,64	1,28	0,85
Me	47,5	17,30	10,69
1q	41,0	17,00	8,50
3q	54,5	17,47	12,70

Рисунок 3. Группа участников вакцинации с ИП > 7,0 в динамике через 6 месяцев. Индивидуальные графики снижения индекса позитивности антител.

Таблица 3
Динамика снижения индекса позитивности уровня антител к SARS-CoV-2 в группах переболевших COVID-19 и в динамике через 6 месяцев после вакцинации «Спутник V»

Обследованные с динамикой уровня антител	n	Исходный ИП	В динамике
Реконвалесценты через:	3–4 месяца	38	12,86 ± 0,71
	5–6 месяцев	23	11,71 ± 1,22
	7–8 месяцев	14	14,84 ± 1,02
	9–10 месяцев	7	9,98 ± 2,04
Через 6 месяцев после вакцинации «Спутником V»	53	15,28 ± 0,56	6,76 ± 0,63

месячной динамики уровня антител 20 человек с ИП Ат < 7,0 через 6 месяцев после вакцинации, которые демонстрируют, что концентрация антител у них активно снижалась: через 6 месяцев среднее значение ИП Ат в этой группе составило $2,92 \pm 0,37$. Принимая во внимание данные, полученные нами при изучении динамики уровня антител у перенесших COVID-19, можно допустить, что в группе вакцинированных в течение последующих 3 месяцев произойдет дальнейшее снижение уровня антител до пороговых значений и ниже.

Индивидуальные графики шестимесячной динамики уровня антител 15 человек с ИП Ат > 7,0 через 6 месяцев после вакцинации представлены на рисунке 3.

Обращает на себя внимание, что медиана среднего возраста в группе вакцинированных с ИП Ат < 7,0 была на 7 лет больше чем в группе вакцинированных с ИП Ат > 7,0. (54,5 [рис. 2] и 47,5 [рис. 3], соответственно). Возможно, этот факт обуславливается так называемым иммунным старением, которое характеризуется снижением и нарушением регуляции иммунного ответа при старении организма. При этом медианы исходных ИП Ат в эти группы были сопоставимы (16,45 и 17,3) (рис. 2, 3). Средний индекс позитивности уровня антител в подгруппе с ИП Ат > 7,0 через 6 месяцев после вакцинации составил $10,81 \pm 0,85$. Таким образом, при обследовании как 160 пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, так и 83 участников вакцинации мы наблюдали, что в фазе острого иммунного ответа (во время первичного инфицирования) и через 21–42 дня после введения вакцины уровень антител в подавляющем большинстве случаев был

высоким. Через 1–3 месяца у части обследованных уровень антител начал снижаться (подгруппы со снижением антител в динамике, см. табл. 1, 2), причем динамика снижения имела индивидуальные различия. Через 6–10 и даже 18 месяцев после заболевания и через 6 месяцев после вакцинации снижение уровня антител стабилизировалось и ИП Ат оставался относительно постоянным и сопоставимым (табл. 3).

Обсуждение

Специфический или адаптивный иммунный ответ на патоген – процесс, состоящий из нескольких стадий. После начальных стадий распознавания и представления антигена следует активация Т- и В-лимфоцитов: немногочисленные клоны этих клеток, экспрессирующих на мембране Т- и В-клеточные рецепторы к антигенным детерминантам возбудителя, пролиферируют и численность клонов возрастает. В частности, В-клетки дифференцируются в короткоживущие плазматические клетки, секретирующие антитела с повышенной аффинностью, а также В-клетки памяти, плазматические клетки и плазматические клетки памяти. В целом при первичном иммунном ответе формируется иммунологическая память, которая при повторной встрече с возбудителем будет обеспечивать защиту организма от инфекционного агента за счет продукции антител В-клетками памяти и плазматическими клетками памяти.

Одним из эффективных механизмов иммунной защиты является продукция высокоаффинных антител. В ходе иммунного ответа аффинность антител усиливается. Процесс повышения аффинности происходит в зародышевых центрах вторичных лимфоидных органов (костном мозге, селезенке и лимфоидной ткани). Так, после инфицирования или вакцинации активированные специфические CD4⁺ Т-клетки стимулируют В-клетки к пролиферации. Сначала В-клетки дифференцируются в плазмобласты, которые, как правило, секретируют низкоаффинные антитела. Однако повторяющиеся циклы пролиферации и соматической гипермутации на протяжении иммунного ответа приводят к отбору В-клеток с рецептором, характеризующимся лучшей способностью связывать антиген. Этот отбор продолжается до тех пор, пока аффинность антител не достигнет максимума. Таким образом, в течение иммунного ответа усиливается сродство В-клеток к антигену.

В то же время наличие иммунной памяти к антигенам возбудителя не всегда может обеспечить адекватный иммунный ответ при повторном инфицировании. Защитный гуморальный иммунитет определяется не только количеством, но и качеством антител. Например, высокие уровни нейтрализующих антител обеспечивают защиту без необходимости инициации иммунного ответа при повторной встрече с возбудителем. Однако низкий уровень нейтрализующих антител, наличие антител к нерелевантным антигенам либо высокая вирусная нагрузка при повторном заражении будут приводить к инициации вторичного иммунного ответа за счет активации плазматических клеток памяти. При этом условия формирования и поддержания иммунной памяти при инфекции и вакцинации являются сложными, но ключевыми факторами, понимание которых необходимо для предотвращения инфекции.

Для SARS-CoV-2 в большинстве исследований до сих пор анализировалась острая фаза иммунного ответа, которая

длится несколько месяцев после заражения [5]. При этом остается неустановленной роль долгоживущих плазматических клеток памяти в продукции специфических антител к *SARS-CoV-2*. Turner JS *et al.*, (2021) наблюдали двухфазную картину концентрации антител к *SARS-CoV-2* в сыворотке крови людей в течение года (рис. 4) [6]. В исследовании [6] у 15 из 19 человек примерно через 7 месяцев после заражения были обнаружены плазматические клетки памяти, которые секретируют антитела, специфичные к S-белку *SARS-CoV-2*. Следует отметить, что и через 11 месяцев после перенесенной инфекции COVID-19 количество таких плазматических клеток оставалось стабильным у 14 из них. Обнаруженные плазматические клетки не размножались, что позволило классифицировать их как истинные плазматические клетки памяти.

Wang Z. *et al.*, (2021) определили, что от 6 до 12 месяцев после заражения *SARS-CoV-2* концентрация нейтрализующих антител остается неизменной [7]. О том, что острая иммунная реакция длится даже более 6 месяцев, свидетельствовал проведенный авторами в течение года анализ В-клеток памяти, специфичных для *SARS-CoV-2*, в крови выздоравливающих людей. Эти В-клетки памяти непрерывно повышали реактивность своих антител посредством процесса, известного как соматическая гипермутация. Данный факт был подтвержден авторами с помощью тестов *in vitro* по нейтрализации антител широкого набора штаммов вариантов *SARS-CoV-2* [7]. Согласно временным методическим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение COVID-19» версии 11 в числе требований к донорам антиковидной плазмы указана вируснейтрализующая активность плазмы в разведении 1:160. Проведенное специалистами АО «Вектор-Бест» научное исследование с использованием метода нейтрализации S – псевдотипированного вируса сыворотками ($n=56$), содержащими антитела к S-белку *SARS-CoV-2*, и наборов реагентов «*SARS-CoV-2*-IgG-ИФА-БЕСТ» (количественный тест) с целью установления соответствия вируснейтрализующей активности (титром в реакции нейтрализации) и концентрацией IgG к *SARS-CoV-2* позволило прийти к осторожным выводам о «защитном» уровне антител: 10–80 BAU/мл – невысокий уровень вируснейтрализующей активности антител; 80–100 BAU/мл – средний уровень вируснейтрализующей активности антител; > 150 BAU/мл – высокий уровень вируснейтрализующей активности антител.

В этой связи необходимо отметить, что относительно *SARS-CoV-1* (коронавируса, который был первоначально идентифицирован в 2003 году и вызывает тяжелый острый респираторный синдром [SARS]) сообщалось о постоянном присутствии высоких концентраций нейтрализующих антител в сыворотке крови в течение более 17 лет [8]. Исследования Gaebler C. *et al.*, (2021) показали, что формирование долгосрочного иммунитета может быть ожидаемо и при инфицировании *SARS-CoV-2*. Авторы сообщили об исследовании уровня сывороточных антител и В-клеток памяти, специфичных для *SARS-CoV-2*, примерно через год после заражения. Изучение динамики уровня антител в течение 6 месяцев [9] и результаты, полученные через год, позволили авторам утверждать о переходе от продукции антител плазматическими клетками острой иммунной реакции к генерации антител плазматическими клетками памяти. При этом известно, что 10–20% плазматических

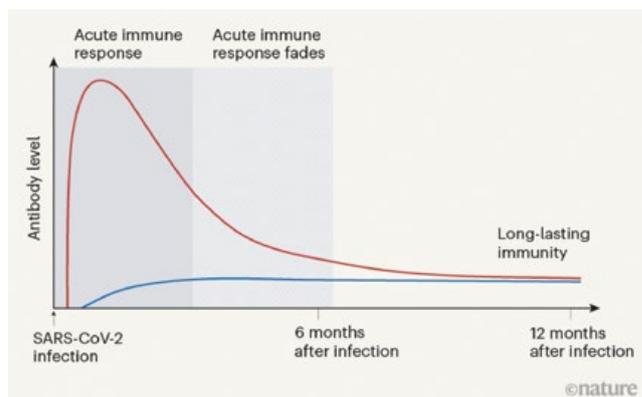


Рисунок 4. Схема иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2. Turner JS *et al.* (2021).

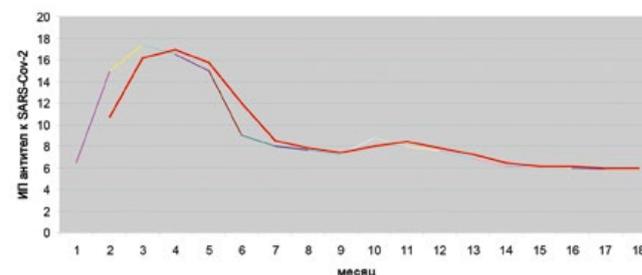


Рисунок 5. Динамика антител у реконвалесцентов COVID-19 в течение 18 месяцев после заболевания.

клеток при острой иммунной реакции трансформируются в плазматические клетки памяти [10], обеспечивая длительную персистенцию защитных антител на уровне 10–20% от их концентрации в острой фазе (рис. 4, синяя линия) [11].

Принимая во внимание данные, полученные зарубежными коллегами, мы построили график снижения ИП Ат у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, и наблюдали аналогичный характер динамики уровня антител в период от 1 до 18 месяцев (рис. 5). Это позволяет высказать предположение, что при инфицировании *SARS-CoV-2* острая фаза иммунной реакции длится в течение первых шести месяцев, чему соответствует относительно высокий уровень антител (ИПА Ат от 17,24 до 11,71). Начиная с 6-го месяца и до окончания периода наблюдения (18 месяцев) иммунный ответ переходит в следующую, позднюю фазу, чему соответствует стабилизированный уровень антител, который, вероятно, поддерживается плазматическими клетками памяти. Результаты нашего исследования показали, что среднее значение ИП Ат в поздней, долговременной фазе иммунного ответа соответствует диапазону 6,4–8,8 ($7,62 \pm 1,2$).

Важно, что производитель предоставил нам сведения о деталях стандартизации системы реагентов «*SARS-CoV-2*-IgG-ИФА-БЕСТ», а в последующем запустил в производство систему реагентов для количественного определения уровня антител к *SARS-CoV-2*. Это позволило нам провести полуколичественное определение уровня антител, отобрать образцы сыворотки крови с ИП в диапазоне 6,4–8,8, затем в этих же образцах провести количественное определение антител, результат исследования выразить в международных единицах BAU/мл (табл. 4). Таким образом, был определен числовой эквивалент диапазона ИП Ат $7,77 \pm 1,64$ в международных единицах количества антител – $102,63 \pm 29,31$ BAU/мл (табл. 4).

Таблица 4
Сопоставление индекса позитивности антител к SARS-CoV-2 и концентрации антител к SARS-CoV-2 в международных единицах ВАУ/мл с использованием систем реагентов «АО Вектор-Бест» в образцах сыворотки крови пациентов (n = 20)

Показатель	Индекс позитивности антител, ИП Ат	Международные единицы, ВАУ/мл
M	7,77	102,63
SD	1,64	29,31
Me	7,37	99,70
1q	6,63	90,80
3q	8,98	101,35
min	4,20	56,20
max	10,83	195,00

На основании проведенного исследования уровень антител в поздней, долговременной фазе иммунного ответа соответствует диапазону $102,63 \pm 29,31$ ВАУ/мл.

Заключение

Важно понимать, что высокие концентрации уровня антител, которые характерны для острого иммунного ответа (в том числе после вакцинации), не будут сохраняться в его поздней стадии «памяти» [12]. Также для расчета сроков ревакцинации целесообразно ориентироваться на расчет «периода полураспада» образовавшихся антител, так как это противоречит двухфазной картине иммунного ответа (рис. 4). Уровень антител по окончании острой фазы иммунного ответа неизбежно снижается, а затем, достигнув определенного предела, у большинства людей стабилизируется. Результаты нашего исследования подтвердили этот факт, поскольку через 6–10 и даже 18 месяцев после заболевания COVID-19 и через 6 месяцев после вакцинации снижение уровня антител стабилизировалось и ИП Ат оставался относительно постоянным и сопоставимым (табл. 3). Известно, что индивидуальный подход при планировании вакцинации (ревакцинации) обладает рядом таких преимуществ, как эффективность, быстрое достижение коллективного иммунитета, снижение циркуляции возбудителя, уменьшение случаев вирусносительства, снижение побочных реакций и экономическая выгода [2]. Учитывая риски нежелательных реакций и осложнений, вызванных избыточной иммунизацией при повторном введении вакцины на фоне высокого уровня антител, целесообразно ориентироваться на среднее значение уровня антител поздней фазы иммунного ответа, принимая этот уровень в качестве порогового значения «защитного» иммунитета.

Полученные нами данные в совокупности с результатами зарубежных авторов позволяют предположить, что как инфицирование SARS-CoV-2, так и вакцинация в большинстве случаев приводят к формированию длительного гуморального иммунитета, которому соответствует диапазон концентрации SARS-CoV-2-IgG, равный $ИП = 7,77 \pm 1,64$ или $102,63 \pm 29,31$ ВАУ/мл.

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. Populyatsionnyy immunitet k virusu SARS-CoV-2 sredi naseleniya Sankt-Peterburga v aktivnyuyu fazu epidemii COVID-19 / A.Yu. Popova [i dr.] // Problemy osobo opasnykh infektsiy. – 2020. – № 3. – С. 124–130. Doi 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130.
2. Медуницын Н.В. Проблемы коррекции иммунитета при вакцинации / Н.В. Медуницын // Иммунология. – 2017. – Т. 38. – № 3. – С. 148–154. – DOI 10.18821/0206-4952-2017-38-3-148-154. Medunicyn N.V. Problemy korektsii immuniteta pri vaktsinatsii / N.V. Medunicyn // Immunologiya. – 2017. – Т. 38. – № 3. – С. 148–154. – DOI 10.18821/0206-4952-2017-38-3-148-154.
3. Миронов А.Н., Супотницкий М.В., Лебединская Е.В. Феномен антитело-зависимого усиления инфекции у вакцинированных и переболевших // Биопрепараты. – 2013. – № 3. – С. 12–25. Mironov A.N., Supotnitskiy M.V., Lebedinskaya E.V. The phenomenon of antibody-dependent enhancement of infection in vaccinated and convalescents // Biopreparats (Biopharmaceuticals). 2013. No. 3. P. 12–25.
4. 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 // Медицинский алфавит. – 2021. – № 30. – С. 7–11. – DOI 10.33667/2078-5631-2021-30-7-11. 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 alphabef. 2021; (30): 7–11. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-7-11>.
5. Settle A, Croftly S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. Cell. 2021 Feb 18;184(4):861–880. doi: 10.1016/j.cell.2021.01.007. Epub 2021 Jan 12. PMID: 33497610; PMCID: PMC7803150.
6. Turner JS, Kim W, Kalaidina E, Goss CW, Rauseo AM, Schmitz AJ, Hansen L, Haile A, Kleberf MK, Pusic I, O'Halloran JA, Presti RM, Ellebedy AH. SARS-CoV-2 infection induces long-lived bone marrow plasma cells in humans. Nature. 2021 Jul;595(7867):421–425. doi: 10.1038/s41586-021-03647-4. Epub 2021 May 24. PMID: 34030176.
7. Wang Z, Muecksch F, Schaefer-Babajew D, Finkin S, Viant C, Goebler C, Hoffmann HH, Barnes CO, Cipolla M, Ramos V, Oliveira TY, Cho A, Schmidt F, Da Silva J, Bednarski E, Aguado L, Yee J, Daga M, Turroja M, Millard KG, Jankovic M, Gazumyan A, Zhao Z, Rice CM, Bieniasz PD, Caskey M, Hatziioannou T, Nussenzweig MC. Naturally enhanced neutralizing breadth against SARS-CoV-2 one year after infection. Nature. 2021 Jul;595(7867):426–431. doi: 10.1038/s41586-021-03696-9. Epub 2021 Jun 14. PMID: 34126625; PMCID: PMC8277577.
8. Anderson DE, Tan CW, Chia WN, Young BE, Linster M, Low JH, Tan YJ, Chen MI, Smith GJD, Leo YS, Lye DC, Wang LF. Lack of cross-neutralization by SARS patient sera towards SARS-CoV-2. Emerg Microbes Infect. 2020 Dec;9(11):900–902. doi: 10.1080/22221751.2020.1761267. PMID: 32380903; PMCID: PMC7241448.
9. Gaebler C, Wang Z, Lorenzi JCC, Muecksch F, Finkin S, Tokuyama M, Cho A, Jankovic M, Schaefer-Babajew D, Oliveira TY, Cipolla M, Viant C, Barnes CO, Bram Y, Bregon G, Hägglöf T, Mendoza P, Hurley A, Turroja M, Gordon K, Millard KG, Ramos V, Schmidt F, Weisblum Y, Jha D, Tankelevich M, Martinez-Delgado G, Yee J, Patel R, Dizon J, Unson-O'Brien C, Shmeliovich I, Robbiani DF, Zhao Z, Gazumyan A, Schwartz RE, Hatziioannou T, Bjorkman PJ, Mehndru S, Bieniasz PD, Caskey M, Nussenzweig MC. Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2. Nature. 2021 Mar;591(7851):639–644. doi: 10.1038/s41586-021-03207-w. Epub 2021 Jan 18. PMID: 33461210; PMCID: PMC8221082.
10. Manz RA, Thiel A, Radbruch A. Lifetime of plasma cells in the bone marrow. Nature. 1997 Jul 10;388(6638):133–4. doi: 10.1038/40540. PMID: 9217150.
11. Amanna IJ, Carlson NE, Sifka MK. Duration of humoral immunity to common viral and vaccine antigens. N Engl J Med. 2007 Nov 8;357(19):1903–15. doi: 10.1056/NEJMo066092. PMID: 17989383.
12. Hammarlund E, Thomas A, Amanna IJ, Holden LA, Slayden OD, Park B, Gao L, Sifka MK. Plasma cell survival in the absence of B cell memory. Nat Commun. 2017 Nov 24;8(1):1781. doi: 10.1038/s41467-017-01901-w. PMID: 29176567; PMCID: PMC5701209.

Статья поступила / Received 02.02.2022

Получена после рецензирования / Revised 18.02.2022

Принята в печать / Accepted 01.03.2022

Сведения об авторах

Алхутова Наталья Александровна, к.б.н., с.н.с. НИЛ 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
Давыдова Наталья Ивановна, к.м.н., зав. лабораторией клинической иммунологии отдела лабораторной диагностики
Рыбников Виктор Юрьевич, д.м.н., д. псих. н., проф., зам. директора по научной и учебной работе, медицине катастроф
Алексанин Сергей Сергеевич, д.м.н., проф., член-корр. РАН, директор. E-mail: medicine@nrcerm.ru

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

Для цитирования: Алхутова Н.А., Ковязина Н.А., Давыдова Н.И., Алексанин С.С., Рыбников В.Ю. Определение порогового значения защитного уровня антител класса G к SARS-CoV-2 в поздней фазе иммунного ответа у реконвалесцентов COVID-19. Медицинский алфавит. 2022; (6): 11–16. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-11-16>.

About authors

Alkhutova Natalya A., PhD Bio Sci, senior researcher, Scientific Research Laboratory, Dept of Laboratory Diagnostics. E-mail: nalhutova@yandex.ru
Kovyazina Nadezhda A., PhD Med, head of the Laboratory of Serological Research and Allergy Diagnostics of the Dept of Laboratory Diagnostics. E-mail: nakovzn@gmail.com
Davydova Natalia I., PhD Med, head of Laboratory of Clinical Immunology, Dept of Laboratory Diagnostics.
Rybnikov Viktor Yu., DM Sci (habil.), Doctor Psy Sci (habil.), professor, deputy director for Scientific and Educational Work, Disaster Medicine
Aleksanin Sergey S., DM Sci (habil.), professor, RAS corresponding member, director. E-mail: medicine@nrcerm.ru

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

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

For citation: Alkhutova N.A., Kovyazina N.A., Davydova N.I., Aleksanin S.S., Rybnikov V. Yu. Determination of threshold value of protective level of class G antibodies to SARS-CoV-2 in late phase of immune response in COVID-19 convalescents. Medical alphabef. 2022; (6): 11–16. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-11-16>.



Автоматический иммуноферментный анализатор «Лазурит»

ВЕКТОР
БЕСТ

Самый массовый
ИФА-анализатор в России

>1000
установленных приборов



- ▶ Максимальная загрузка до 100 образцов
- ▶ Одновременная работа с двумя планшетами
- ▶ Возможность выполнения до 12 методик на планшете
- ▶ Предварительное разведение образцов
- ▶ Датчик уровня реагентов и образцов
- ▶ Детекция сгустка и вспенивания
- ▶ Двусторонняя связь с ЛИС
- ▶ Программа контроля качества
- ▶ Режим аллергодиагностики

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

Оценка эффективности гуморального иммунного ответа после вакцинации «КовиВаком»

С. П. Казаков^{1,2}, Д. В. Решетняк¹, Н. В. Давыдова¹, С. Б. Путков¹

¹ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н. Н. Бурденко» Минобороны России, Москва

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

РЕЗЮМЕ

Значительной проблемой в настоящее время является определение эффективности средств специфической иммунопрофилактики в формировании поствакцинального иммунитета к новой коронавирусной инфекции (НКИ), а также эффективности, то есть выбора методов лабораторной диагностики для адекватной оценки уровня и характера поствакцинального иммунного ответа (ПИО).

Цель исследования. Проведение исследования эффективности гуморального ПИО с выработкой специфических антител у пациентов, вакцинированных «КовиВаком», с использованием полуколичественных и количественных тест-систем отечественного и зарубежного производства.

Материал и методы. У 103 испытуемых, вакцинированных «КовиВаком», на 22–30-е сутки после окончания вакцинации основными иммунохимическими методами (иммуноферментным и иммунохеми-люминесцентным) определялись уровни антител к основным антигенам вируса SARS-CoV-2 – S-антигену и рецептор-связывающий домен (RBD) S-антигена. Изучался характер и уровень ПИО в отношении выработки этих видов антител и адекватность использованных диагностических методов с определением сходимости результатов, а также их перекрёстной чувствительности и специфичности.

Результаты. Выявлена недостаточная эффективность ПИО при вакцинации «КовиВаком» в отношении выработки антител к SARS-CoV-2 и достижения их высоких уровней, предположительно, достаточных для формирования стойкого иммунитета к НКИ. Однако при этом установлена высокая корреляция между результатами количественных методов определения антител к S-белку и его RBD вируса SARS-CoV-2 и достаточно высокая сходимость результатов количественных и полуколичественных методов исследования этих видов антител.

Вывод. Поствакцинальный иммунный ответ при вакцинации «КовиВаком» характеризуется недостаточной эффективностью в отношении формирования долгоживущих антител IgG к поверхностным антигенам SARS-CoV-2, особенно в достижении («защитных») уровней этих антител, при этом диагностическая эффективность использованных иммунохимических тест-систем является высокой, а их использование в оценке ПИО при вакцинации «КовиВаком» адекватным.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: новая коронавирусная инфекция, SARS-CoV-2, вакцины, «КовиВак», поствакцинальный иммунитет, антитела к S-белку, антитела к RBD S-белка, антитела к N-белку.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Evaluation of effectiveness of humoral immune response after vaccination with 'CoviVac'

S. P. Kazakov^{1,2}, D. V. Reshetnyak¹, N. V. Davydova¹, S. B. Putkov¹

¹Main Military Clinical Hospital n. a. academician N.N. Burdenko, Moscow, Russia

²Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Moscow, Russia

SUMMARY

Determining the efficiency of the principal means of specific immunoprophylaxis in forming the post-vaccinal immunity against the new coronavirus infection (COVID-19) is a very important and topical problem. Solving it involves the evaluation of the efficiency and choosing the laboratory diagnostics technique for an adequate estimation of the nature and the level of the post-vaccinal immune response (PIR).

Research objectives. Evaluating efficiency of the humoral PIR involving the production of specific antibodies in patients vaccinated with 'CoviVac' using quantitative and semi-quantitative test systems developed by Russian and international companies.

Material and methods. The level of antibodies matching the principal known antigens of the SARS-CoV-2 virus was measured. The probes were taken in a group of 103 persons 22–30 days after vaccination. The techniques used were the principal immunochemical ones (enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA)). The nature and the level of the PIR in terms of these antibodies' production was studied, and the adequacy of the diagnostic techniques applied was evaluated, wherefore the result convergence was studied, and the techniques' cross-sensitivity and specificity were determined.

Results. Insufficient level of PIR in terms of producing antibodies against SARS-CoV-2 after vaccination with 'CoviVac' was established. The levels of antibodies were found to be not high enough to ensure a reliable immunity against the Covid-19. However, a high degree of correlation between the results of different quantitative techniques for measuring the antibodies matching the S-protein and its BRD of the SARS-CoV-2 virus was determined. A rather high convergence of the results of the quantitative and semi-quantitative techniques used for studying this type of antibodies was found.

Conclusions. The PR upon the vaccination with the 'CoviVac' is characterized by insufficient intensity level in terms of forming the long-living IgG antibodies with surface antigens of SARS-CoV-2. In particular, the antibody count, which is generally considered capable of ensuring reliable protection, was not reached. Efficiency of the immunochemical test systems used in this study is high enough and can provide an adequate estimate of the PIR after the vaccination with 'CoviVac'.

KEY WORDS: COVID-19, SARS-CoV-2, vaccines, 'CoviVac', post-vaccinal immunity, antibodies matching the S-protein, antibodies matching the RBD of the S-protein, antibodies matching the N-protein.

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

Введение

Стремительное распространение новой коронавирусной инфекции (НКИ), вызванной вирусом *SARS-CoV-2* и в 2020–2021 годах принявшей характер пандемии, заставляет разрабатывать новые методы ее диагностики, мониторинга и терапии [1]. В настоящее время становится очевидным, что борьба с НКИ должна вестись с помощью новых этиотропных фармакологических препаратов и схем патогенетической терапии, а также с использованием методов специфической профилактики, из которых вакциноterapia является наиболее перспективным [2, 3]. Формирование значительных групп населения, вакцинированных против *SARS-Cov-2*, позволяет не только создать популяционный иммунитет и тем самым препятствовать дальнейшему стремительному распространению вируса в мире, но и прежде всего снизить степень тяжести заболевания, в большей части переведя его течение в легкую форму, а у части людей – в бессимптомную.

Приоритет в области создания вакцин против НКИ, вызванной *SARS-Cov-2*, принадлежит Российской Федерации. Первой зарегистрированной в мире вакциной стала российская «Гам-КОВИД-Вак» ФГБУ «НИЦЭМ имени Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, получившая патентованное название «Спутник V» [4, 5]. В дальнейшем появилось еще несколько отечественных вакцин, при создании которых использованы технологии, основанные на пептидных платформах и инактивированных вирусах.

Так, широкое распространение получила перспективная вакцина, основанная на инактивированных вирусах, которая проходит III фазу испытания, – «КовиВак» ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и производства иммунобиологических препаратов имени И. П. Чумакова» РАН, имеющего большой авторитет благодаря проверенной десятилетиями технологии [6]. Однако дальнейшее ее применение в клинических условиях является предметом будущих научных исследований.

Тем не менее, из-за того, что ни одна из имеющихся вакцин не лишена недостатков, процесс создания и совершенствования средств специфической профилактики НКИ продолжается [7, 8]. В условиях начавшейся в РФ в 2021 году массовой вакцинации возрастает актуальность определения способов оценки эффективности вакцин в формировании ими поствакцинального иммунного ответа (ПИО) и прежде всего выработки специфических антител. В настоящее время одним из основных и доступных способов является оценка эффективности гуморального иммунитета по уровню продукции специфических антител класса IgG к спайк-белку (S-protein), в том числе к его рецептор-связывающему домену (RBD) вируса *SARS-CoV-2* (Anti-*SARS-CoV-2*, S-protein [RBD]), а также к нуклеокапсидному белку (N-белку) *SARS-CoV-2* (Anti-*SARS-CoV-2*, N-protein), если это касается вакцин на основе инактивированных вирусов [9, 10]. Проблема оценки эффективности ПИО для лабораторной диагностики – выбора метода исследования – остается наиболее актуальной [10–13]. В наибольшей степени дискуссионным остается определение целевого уровня антител, достигаемого вакцинацией и обеспечивающего эффективный ПИО [12–19]. А поскольку для этой оценки используются

самые различные лабораторные методы с отечественными и зарубежными тест-системами, необходимым является проведение сравнительных исследований, в частности, антител к S-белку и RBD S-белка на разных диагностических системах. Все это делает оценку эффективности гуморальной составляющей ПИО, в особенности количественного уровня антител, определяемого только количественными тест-системами, по-настоящему актуальной прикладной проблемой для клинической лабораторной диагностики, в иммунологической практике и для терапии НКИ, требующей своего решения.

Цель работы

Проведение исследования эффективности гуморального ПИО с выработкой специфических антител к S-, RBD-S- и N-антигенам у вакцинированных «КовиВаком» с использованием полуколичественных и количественных тест-систем отечественного и зарубежного производства.

Материал и методы

Были обследованы 103 испытуемых: 50 женщин и 53 мужчины в возрасте 24–81 года, вакцинированных «КовиВаком», на 22–30-е сутки после введения второго компонента вакцины с августа по сентябрь 2021 года. Из них были сформированы три группы. В первую вошло 66 испытуемых, ранее не вакцинировавшихся и не имевших клинических проявлений заболевания НКИ (условно – «ранее не иммунизированные»); во вторую – 31 человек, ранее переболевший клинически подтвержденной НКИ в апреле 2020 – январе 2021 года, и в третью – 6 испытуемых, ранее вакцинированных «Спутником V».

У всех испытуемых определялись антитела класса IgM к рекомбинантным белкам *SARS-CoV-2*-нуклеокапсида и RBD S-белка методом захвата (capture) и класса IgG – к рекомбинантному полноразмерному вирусному S-белку (полноформатному тримеризованному) непрямым иммуноферментным анализом (ИФА), полуколичественными методами с использованием тест-систем «*SARS-Cov-2*-IgM-ИФА-БЕСТ D-5502» и «*SARS-Cov-2*-IgG-ИФА-БЕСТ D-5501» («Вектор-Бест», Россия) соответственно. Результат измерен в единицах коэффициента позитивности (КП) с пределом измерений метода по КП=18,1. Также антитела класса IgG к RBD S-белка у всех испытуемых определялись количественным иммунохемилюминесцентным (ИХЛА) методом с использованием тест-системы *SARS-Cov-2*-IgG II на анализаторе Architect 1000i (Abbott, США). Полученные результаты в Antibody Units в 1 мл (AU/мл) были пересчитаны в Binding Antibody Units в 1 мл (BAU/мл) с коэффициентом BAU=0,142 AU.

У большей части испытуемых ($n=92$) (табл. 1) также исследовались антитела IgG к рекомбинантному полноразмерному вирусному S-белку количественным методом ИФА «*SARS-Cov-2*-IgG количественный ИФА-БЕСТ D-5505» (лот 1, в BAU/мл) и антитела IgG к N-белку полуколичественным ИФА (NovaLisa *SARS-Cov-2*-IgG NovaTec, Германия) и ИХЛА (*SARS-Cov-2* IgG, на анализаторе Architect 1000i, Abbott, США). Результаты в обоих случаях определены в КП.

Таблица 1
Количество выполненных исследований у вакцинированных «КовиВаком»

Характеристика групп вакцинированных	Вакцинированные «КовиВаком»						
	«SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ D-5501» (антитела к S-белку)	«SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ D-5502» (антитела к S-белку)	«SARS-CoV-2-IgG количественный ИФА-БЕСТ D-5505» (антитела к S-белку)	SARS-CoV-2-IgG Abbot (антитела к N-белку)	Novalisa SARS-CoV-2-IgG (антитела к N-белку)	Abbot SARS-CoV-2-IgGII (антитела к RBD)	
Обследовано за 90–120 суток до вакцинации	42	42	0	0	0	0	
• в т.ч. ранее неиммунизированных	26	26	0	0	0	0	
• ранее переболевших НКИ	13	13	0	0	0	0	
• ранее вакцинированных	3	3	0	0	0	0	
Обследовано на 22–30-е сутки после вакцинации	103	103	92	94	92	103	
• в т.ч. ранее неиммунизированных	66	66	62	62	62	66	
• ранее переболевших НКИ	31	31	28	29	28	31	
• ранее вакцинированных	6	6	2	3	2	6	

Таблица 2
Результаты исследования у вакцинированных «КовиВак» по уровням антител класса IgG к S-белку SARS-CoV-2, с использованием полуколичественного ИФА

№	Уровни антител у испытуемых (ИФА, КП, P3 < 1,1)	Группы вакцинированных «КовиВак»					
		НИ*(n=66)		НКИ*(n=31)		В*(n=6)	
		Всего	%	Всего	%	Всего	%
1.	≥ 1,1 < 10,0	9	13,6	11	35,5	1	16,7
2.	≥ 10,0 < 15,0	20	30,3	13	41,9	2	33,3
3.	≥ 15,0	0	0,0	7	22,6	3	50,0
4.	Всего ≥ 10,0	20	30,3	20	64,5	5	83,3
5.	Итого ≥ 1,1	47	71,2	31	100	6	100
6.	Отрицательные	19	28,8	0	0	0	0

*Примечание. НИ – ранее неиммунизированные, НКИ – ранее болевшие НКИ, В – ранее вакцинированные.

У 42 испытуемых (26 ранее неиммунизированных, 13 ранее переболевших НКИ и 3 ранее вакцинированных «Спутником V» [более полугодом назад]) за 90–120 суток были исследованы антитела класса IgM к RBD и класса IgG к S-белку полуколичественным ИФА с использованием тест-систем «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ D-5502» и «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ D-5501» («Вектор Бест», Россия) соответственно. Результат измерен в единицах КП.

Опираясь на мнение большинства авторов [20–26], предполагающих, что эффективный уровень антител находится в диапазоне 150–550 ВАУ/мл, условным критерием оценки эффективности вакцины нами сочтено нарастание уровня антител класса IgG к S-белку или RBD ≥ 1,1 КП в ИФА и ≥ 7,1 ВАУ/мл в ИХЛА, промежуточным (однозначно сопровождавшимся выработкой значимого количества антител) ≥ 10 КП и ≥ 150 ВАУ/мл (≥ 880 АУ/мл) соответственно, и надёжным (достигаемым целевым значением) ≥ 550 ВАУ/мл (≥ 3872 АУ/мл) только в количественных исследованиях.

Математическая обработка результатов количественных исследований выполнялась с использованием программы «IBMSPSSStatistics», дополнительно для получения статистических данных применяли корреляционный анализ по Спирмену.

Результаты и обсуждение

Среди всех вакцинированных «КовиВак» в полуколичественном ИФА уровень антител IgG к S-белку превысил референсные значения (P3) ≥ 1,1 КП у 84 (81,6%) испытуемых, у 45 (43,7%) составил ≥ 10 КП и у 10 (9,7%) испытуемых ≥ 15 КП (табл. 2). Соответственно у 19 (18,4%) испытуемых на 22–30-е сутки после вакцинации уровень антител оказался ниже 1,1 КП, то есть ПИ О

оказался отрицательным. Эти 19 испытуемых относились к группе ранее неиммунизированных, среди которых составили 28,8%. В этой группе уровня ≥ 1,1 достигли 47 (71,2%) испытуемых, уровня ≥ 10 у 20 испытуемых (30,3%), а уровня ≥ 15,0 КП не достиг ни один ранее неиммунизированный.

У всех испытуемых, ранее перенесших НКИ (n=31), уровень антител превысил P3 ≥ 1,1 КП, из них у 11 (35,5%) человек КП находился в пределах ≥ 1,1 < 10,0, у 20 (64,5%) человек КП превысил 10,0, в том числе у 7 (22,6%) человек КП был ≥ 15,0.

Среди 6 ранее вакцинированных «Спутником V» уровень антител превысил P3 в 100% случаев, был ≥ 10,0 КП в 5 (83,3%), а в 3 (50,0%) случаях КП был ≥ 15,0.

Таким образом, можно полагать, что вакцинация «КовиВаком» в основной целевой группе (ранее неиммунизированных) согласно результатам одного из наиболее часто используемых в нашей стране ИФА-исследования вызвала ПИО с выработкой антител у 71,2% вакцинированных, а появление антител на уровне ≥ 10,0 КП – лишь у 30,3% вакцинированных. Эти результаты сопоставлялись с данными ретроспективного исследования. У 42 вакцинированных «КовиВаком» (13 – ранее переболевшие НКИ, 3 – ранее вакцинированные «Спутником V», 26 – ранее неиммунизированные) за 90–120 суток до вакцинации антитела исследовались полуколичественным ИФА. У 24 человек (13 [100%] – ранее переболевшие, 2 [66,7%] – ранее вакцинированные «Спутником V», 9 [34,6%] – ранее не имевшие клинических проявлений НКИ) обнаружился уровень антител IgG ≥ 1,1 КП.

Из 42 испытуемых, у которых имелись данные о периоде, предшествовавшем вакцинации, появление антител или прирост их уровня в ответ на вакцинацию отмечен лишь у 20 (47,6%) человек, а их появление в количестве ≥ 1,1 КП (≥ 7,1 ВАУ/мл) и лишь у 7 (38,9%) из 18 испытуемых, ранее их не имевших.

Из 24 испытуемых, у которых в ИФА до вакцинации «КовиВаком» определялся уровень антител IgG ≥ 1,1 КП, на 22–30-е сутки после окончания вакцинации, у 17 (70,8%) человек (10

Сравнительные результаты в группе вакцинированных «КовиВаком», ранее неиммунизированных по уровням антител класса IgG к RBD S-белка и полноразмерного S-белка SARS-CoV-2 при использовании разных иммунохимических методов

№	Уровни антител у испытуемых (ИХЛА, ВАУ/мл)	Вакцинированные «КовиВаком», ранее неиммунизированные (n = 66)							Соответствие, %
		Количество испытуемых с соответствующим уровнем антител к RBD S-белка, (ИХЛА количественный, ВАУ/мл, P3 < 7,1)				Количество испытуемых с антителами к S-белку (ИФА полуколичественный, КП, P3 < 1,1) соответственно группе ИХЛА			
		Все	%	Среднее	Разброс*	Все ≥ 1,1	Среднее	Разброс	
1.	≥ 7,1 < 150	33	50,0	61,2	7,3–148,5	31	10,0	3,7–14,5	93,9
2.	(Защитные) ≥ 150 < 550	9	13,7	268,0	156,5–483,2	9	14,5	7,1–16,4	100
3.		3	4,5	1622,1	792,6–3086,3	3	12,6	9,6–15,1	100
4.		12	18,2	596,4	156,5–3086,3	12	14,6	7,1–16,4	100
5.	Итого ≥ 7,1	45	68,2	237,3	7,3–3086,3	45	10,9	2,6–16,4	100
6.	Отрицательные < 7,1	21	31,8	1,2	0–6,7	6	2,3	1,2–4,2	72,5

Примечание. * – минимальный и максимальный показатели в группе.

[76,9%] – ранее переболевшие, 2 – [100%] ранее вакцинированные «Спутником V», 5 [55,6%] – ранее неиммунизированные) он в абсолютных значениях вырос, а у 7 (29,2%) (3 – ранее переболевшие НКИ, 4 – ранее неиммунизированные) – снизился на 10–30%. Из 42 испытуемых, обследованных за 90–120 дней до вакцинации «КовиВаком», по сравнению с результатами, полученными через 22–30 дней после ее окончания, в 7 (17,0%) случаях произошло появление антител на уровне ≥ 1,1 КП (≥ 7,1 ВАУ/мл), в 13 (31%) случаях наблюдался прирост уровня антител, в том числе в 2 (4,7%) случаях – более 50%. У 3 (7,1%) испытуемых уровень антител не претерпел заметных изменений в ИФА, снижение же уровня антител на 10–50% наблюдалось в зависимости от метода у 6 (14,2%) и 2 (4,7%) испытуемых соответственно. У 13 (31%) испытуемых появление антител на уровне ≥ 1,1 КП (≥ 7,1 ВАУ/мл) не отмечено.

Таким образом, после вакцинации «КовиВаком» уровень антител ≥ 1,1 КП в полуколичественном ИФА наблюдался у 84 (81,6%) испытуемых. Появление антител непосредственно в результате вакцинации «КовиВак» следует предполагать не более чем у 58 из 80 (72,5%) всех испытуемых, не более чем у 43 из 61 (70,5%) ранее не болевших НКИ, и не более чем у 39 из 57 (68,4%) всех «ранее неиммунизированных».

Достижение условного целевого значения ≥ 150 ВАУ/мл непосредственно в результате вакцинации можно предполагать в зависимости от метода у 24,3–63,8% испытуемых, а у ранее неиммунизированных – в 19,7–51,6% случаев.

При ИХЛА-исследовании уровень антител IgG к RBD S-белка характеризовался большим разбросом (0,0–3086,3 ВАУ/мл) и составил в среднем $150,3 \pm 217,85$ ВАУ/мл. Из числа всех испытуемых он превысил P3 (≥ 7,1 ВАУ/мл [50 АУ/мл]) у 81 (78,6%), ≥ 150 ВАУ/мл у 25 (24,3%) и ≥ 550 ВАУ/мл у 4 (3,9%). У ранее неиммунизированных (n = 66) эти значения составили 45 (68,2%), 12 (18,2%) и 3 (4,5%) соответственно (табл. 3). У переболевших НКИ (n = 31): 30 (96,8%), 9 (29,0%) и 1 (3,2%) соответственно (табл. 4). Все 6 ранее вакцинированных «Спутник V» имели уровень антител ≥ 7,1 ВАУ/мл, 3 (50%) ≥ 150 ВАУ/мл и 1 (16,7%) ≥ 550 ВАУ/мл.

При сопоставлении результатов, полученных для антител класса IgG к RBD и ранее приведенных данных полуколичественного ИФА-исследования для антител к полноформатному тримеризованному S-белку (табл. 4), видно, что в группе ранее неиммунизированных средний уровень антител в КП (для ИФА) повышался в прямой зависимости от значений антител в ВАУ/мл (для ИХЛА), при этом можно отметить, что для всех диапазонов результатов ИХЛА, в соответствующих им результатам ИФА наблюдалась высокая сходимость результатов, по крайней мере по превышению P3 (7,1 ВАУ/мл или 1,1 КП), на уровне 93,9–100%. Лишь у испытуемых, у которых в ИХЛА-исследовании антитела не превысили P3 (< 7,1 ВАУ/мл, n = 21), сходимость составила 72,5%, поскольку у 6 из них в ИФА-исследовании антитела к S-белку превышали P3 (≥ 1,1 КП).

Таблица 4

Сравнительные результаты в группе вакцинированных «КовиВак», ранее переболевших НКИ, по уровням антител класса IgG к RBD S-белка и полноразмерному S-белку SARS-CoV-2 при использовании разных иммунохимических методов

№	Уровни антител у испытуемых (ИХЛА, ВАУ/мл)	Вакцинированные «КовиВаком», ранее переболевшие НКИ, (n = 31)							Соответствие, %
		Количество испытуемых с антителами к RBD S-белка, (ИХЛА, количественный в ВАУ/мл, P3 < 7,1)				Количество испытуемых с антителами к S-белку, (ИФА, КП, P3 < 1,1)			
		Все	%	Среднее	Разброс*	Все ≥ 1,1	Среднее	Разброс*	
1.	≥ 7,1 < 150	21	67,7	74,9	7,3–148,5	21	10,7	1,4–15,8	100
2.	(Защитные) ≥ 150 < 550	8	25,8	216,2	156,5–483,2	8	14,9	10,5–16,1	100
3.		1	3,2	359,7	792,6–3086,3	1	16,1	-	100
4.		9	29,0	216,2	156,5–3086,3	9	14,9	10,5–16,1	100
5.	Итого ≥ 7,1	30	96,8	105,2	7,3–3086,3	30	11,7	1,4–16,1	100
6.	Отрицательные < 7,1	1	3,2	6,7	0–6,7	1	3,1	-	0,0

Примечание. * – минимальный и максимальный показатели в группе.

Таблица 5
Сравнительные результаты в группах вакцинированных «КовиВаком», по уровням количества антител класса IgG к S-белку SARS-CoV-2 при использовании количественного ИФА

№	Уровни антител у испытуемых (ИФА, ВАУ/мл, P3<10,0)	Группы пациентов, вакцинированных «КовиВаком»				
		НИ*(n=62)		НКИ*(n=28)		В*(n=2)
		все	%	все	%	все
1.	≥10 <150	16	25,7	3	10,7	0
2.	«Защитные» ≥150 <550	22	35,4	15	53,6	1
3.		10	16,1	10	35,7	1
4.		32	51,6	25	89,3	2
5.	Итого ≥10 ВАУ/мл	48	77,4	28	100	2
6.	Отрицательные <10 ВАУ/мл	14	22,6	0	-	0

*Примечание. НИ – ранее неиммунизированные; НКИ – ранее болевшие НКИ; В – ранее вакцинированные.

В группе ранее переболевших НКИ наблюдалась подобная картина в отношении средних показателей, а сходимость результатов во всех диапазонах свыше P3 составила 100%. Лишь у одного испытуемого, имевшего в исследовании методом ИХЛА уровень антител к RBD < 7,1 ВАУ/мл, антитела к полноразмерному S-белку присутствовали (табл. 4).

Таким образом, можно отметить, что в целом нарастание уровней антител к RBD S-белка и полноформатному тримеризованному S-белку происходило однонаправленно, и что накопление «защитных» уровней антител к RBD S-белка сопровождалось также и повышением уровня антител к полноформатному тримеризованному S-белку до значений, превышавших по крайней мере 7,1 КП. Специфичность для обоих методов составила 92,4%, чувствительность – 96,2%.

Соответственно, применение обоих методов исследования для оценки ПИО при вакцинации «КовиВаком» можно считать вполне адекватной.

При количественном ИФА уровень антител IgG к S-белку также характеризовался значительным разбросом значений (0–850 ВАУ/мл), при среднем – 248,6 ± 255,3 ВАУ/мл. Из числа всех испытуемых (n = 92) он превысил P3 (≥ 10 ВАУ/мл) у 78 (84,8%) человек, уровень ≥ 150 ВАУ/мл наблюдался у 59 (64,1%) человек и ≥ 550 ВАУ/мл у 21 (22,8%) испытуемого.

У ранее неиммунизированных (n=62) эти значения составили 48 (77,4%), 32 (51,6%) и 10 (16,1%) соответственно. В группе переболевших НКИ (n=28) 100% испытуемых имели уровень антител ≥ 10 ВАУ/мл, 25 (89,3%) ≥ 150 ВАУ/мл и 10 (35,7%). Двое (100%) ранее вакцинированных «Спутник V» имели уровень антител ≥ 10 ВАУ/мл и ≥ 150 ВАУ/мл и один (50,0%) – ≥ 550 ВАУ/мл (табл. 5).

Таким образом, при количественном исследовании методом ИФА уровень антител к S-белку выше P3 (в 84,8%) определялся чаще, чем в полуколичественном ИФА (81,6%), и чаще, чем антитела к RBD в исследовании методом ИХЛА (78,6%) среди всех испытуемых, и ещё это более заметно в группе ранее неиммунизированных – 77,4% против 71,2 и 68,2% соответственно.

При сравнении результатов количественного исследования методами ИФА и ИХЛА (табл. 6) становится заметным, что в исследование проводимом методом количественного ИФА значительно чаще определялись антитела к S-белку ≥ 150 ВАУ/мл и ≥ 550 ВАУ/мл, особенно среди ранее неиммунизированных, чем такие же уровни антител при их исследовании к RBD S-белка. Соответственно, соотношение результатов, выполненных методом количественного ИФА и ИХЛА имеет высокое соответствие в диапазонах < 10 ВАУ/мл, ≥ 10 ВАУ/мл и ≥ 10 < 150 ВАУ/мл и значительно меньшее в диапазонах ≥ 150 ВАУ/мл и ≥ 550 ВАУ/мл, при этом наблюдалась высокая корреляция между уровнями обоих видов антител. Коэффициент корреляции (по Спирмену) для ранее неиммунизированных составил для всей группы 0,93; в диапазоне ≥ 10 ВАУ/мл – 0,8, ≥ 10 < 150 ВАУ/мл – 0,78, ≥ 150 < 550 ВАУ/мл – 0,66 и ≥ 150 ВАУ/мл – 0,81; у ранее переболевших НКИ для всей группы – 0,91, для всех ≥ 10 ВАУ/мл – 0,95, для диапазона ≥ 10 < 150 ВАУ/мл – 0,9 и ≥ 150 < 550 ВАУ/мл – 0,95. Прочие значения (прежде всего ≥ 550 ВАУ/мл) оказались статистически незначимыми вследствие малочисленности группы обследованных.

Таким образом, можно предполагать прямую взаимосвязь между образованием антител класса IgG к полноформатному тримеризованному S-белку и к RBD S-белка.

При исследовании антител класса IgG к нуклеокапсиду (N-белку), проводившемся полуколичественными ИФА и ИХЛА, превышение P3 обнаружено в исследовании методом ИФА у 50 вакцинированных (28 ранее неиммунизированных (45,2% от их числа) и 22 (75,9%) ранее переболевших НКИ) и в исследовании методом ИХЛА

Таблица 6
Сопоставление групп вакцинированных «КовиВаком» по уровням антител IgG к SARS-CoV-2 при использовании различных иммунохимических методов

№	Уровни антител к S-белку у испытуемых (ИФА, ВАУ/мл, P3<10)	Группы пациентов с уровнем антител к RBD S-белка в ВАУ/мл. (ИХЛА) P3<7,1					
		НИ (n=62)			НКИ (n=28)		
		Среднее	Разброс	Соответствие* (%)	Среднее	Разброс	Соответствие* (%)
1.	≥10 <150	11,4	0,1–50,7	56,3	12,6	6,7–19,4	75,0
2.	«Защитные» ≥150 <550	80,0	23,5–146,3	9,1	74,4	25,8–158,8	4,5
3.		774,9	156,5–1328,0	40,0	176,4	95,7–344,5	0,0
4.		314,0	23,4–1328,0	34,8	115,2	25,8–344,5	24,0
5.	Итого ≥10	215,2	0,1–1328,0	85,4	101,8	6,7–344,5	96,4
6.	Отрицательные <10	2,2	0–3,7	100	-	-	-

Примечание. * – Количество испытуемых в группе, имеющих аналогичные результаты относительно выборки испытуемых, выполненных методом ИФА.

Сопоставление групп вакцинированных «КовиВаком» по уровням антител IgG к RBD S-белка и N-белка SARS-CoV-2 различными методами

№	Уровни антител к RBD S-белка у вакцинированных (BAU/мл)	Количество вакцинированных с антителами к N-белку							
		ИХЛА (КП, P3<1,4)				ИФА полуколичественный (КП, P3<10,5)			
		НИ (n=62)		НКИ (n=29)		НИ (n=62)		НКИ (n=29)	
		Всего	Соответствие (%)	Всего	Соответствие (%)	Всего	Соответствие (%)	Всего	Соответствие (%)
1.	Уровень $\geq 7,1 < 150$	12	36,4	10	47,6	16	48,5	17	81,0
2.	«Защитные» $\geq 150 < 550$	7	77,8	7	87,5	7	77,8	5	62,5
3.		1	33,3	-	-	1	33,3	-	-
4.		8	66,6	7	87,5	8	66,7	5	65,5
5.		Итого с уровнем $\geq 7,1$	20	48,8	17	56,7	24	53,3	22
6.	Всего с уровнем $< 7,1$	2	-	0	-	4	-	0	-
7.	Итого	22	35,5	17	58,6	28	45,2	22	75,9

*Примечание. НИ – ранее неиммунизированные; НКИ – ранее болевшие НКИ.

у 39 вакцинированных (22 – ранее неиммунизированных [35,5%] и у 17 – ранее переболевших [58,6%]) (табл. 7).

Закономерностей между количеством антител к RBD S-белка и динамикой уровня антител к N-белку у вакцинированных выявлено не было.

Таким образом, даже у ранее переболевших НКИ вакцинация не привела к восстановлению уровней антител к N-белку до 100%. Выявлено наличие антител к N-белку в 24,1–41,4% случаев, а у ранее неиммунизированных такие антитела продолжали отсутствовать более чем у половины (54,8–64,5%) вакцинированных, что может свидетельствовать о невысокой эффективности ПИО в отношении выработки антител к N-белку.

Определение уровня антител класса IgM у вакцинированных изначально не рассматривалось в качестве значимого критерия оценки эффективности ПИО, однако наличие этого исследования в программе диагностики НКИ побудило оставить его в списке исследования, а полученные данные могли оказаться интересными с научной точки зрения.

При исследовании методом ИФА у вакцинированных «КовиВаком» уровень антител IgM к RBD $\geq 1,1$ КП (с забросом 1,1–5,3) определялся у 23 (22,3%) испытуемых, в том числе у одного ранее привитого «Спутником V» и по 11 (35,5%) в группе ранее переболевших и ранее неиммунизированных (16,7%). Причем у 2 (1,9%) испытуемых повышение IgM сопровождалось низким уровнем антител IgG. При отсутствии каких-либо статистически подтвержденных закономерностей можно отметить, что вакцинация, то есть повторный контакт с антигеном, вызывала в качестве составляющей ПИО у более чем трети (35,5%) ранее переболевших относительно длительный период выработки антител IgM к RBD S-белка и, соответственно, гарантированно обеспечила контакт с RBD-антигеном у 16,7% ранее неиммунизированных.

Заключение

Анализ полученных результатов показал, что при вакцинации «КовиВаком» поствакцинальный иммунный ответ характеризуется недостаточной эффективностью в отношении формирования антител IgG к поверхностным антигенам SARS-CoV-2 (S-белку и его RBD), и особенно в форми-

ровании целевых «защитных» уровней этих антител для наиболее чувствительной категории вакцинируемых – ранее неиммунизированных, при этом эффективность оценки гуморального иммунного ответа при вакцинации «КовиВаком» можно признать адекватной, поскольку различные тест-системы, использованные в исследовании, демонстрировали высокую сходимость результатов, а у количественных методов для большинства диапазонов результатов наблюдалась статистически значимая корреляция.

Соответственно, как более чувствительный, точный и быстрый метод ИХЛА определения антител IgG к RBD S-белка является предпочтительным и, по данным литературных источников зарубежных авторов, имеет выраженную корреляцию с защитным уровнем нейтрализующих антител.

Количественный ИФА определения антител IgG к полноформатному тримеризованному S-белку дает возможность адекватно оценивать уровни «защитных» антител и может быть рекомендован для мониторинга поствакцинального иммунного ответа во всех клинико-диагностических лабораториях, но особенно там, где отсутствуют аппараты для ИХЛАА. Одним из сдерживающих моментов его использования является достаточно длительный (более 4 часов) этап его постановки.

Применение полуколичественного ИФА при необходимости допустимо, однако его использование не позволяет достоверно оценивать уровни защитных антител, так как их значения могут находиться выше максимального предела корректного измерения для используемого нами метода (18,1 КП).

Анализ результатов определения антител IgG к нуклеокапсидному белку SARS-CoV-2 после вакцинации «КовиВаком» показывает, что формирование антител к N-белку происходит лишь у меньшей части вакцинированных, составившей 35,5–45,2%, по данным разных методов детекции антител, при этом количество вакцинированных с антителами IgG к N-белку было выявлено в большем проценте случаев при использовании ИФА, чем при анализе этого показателя с детекцией методом ИХЛА.

Такой низкий процент вакцинированных с антителами IgG к N-белку может иметь неблагоприятные последствия прежде всего для формирования Т-клеточного поствакцинального иммунитета. В то же время (вследствие многофак-

торности формирования Т-клеточного ответа) только лишь недостаточное обнаружение антител к N-белку не является значимым фактором, препятствующим формированию достаточного и выраженного Т-клеточного иммунного ответа.

Почти у четверти вакцинированных «КовиВаком» вырабатываются антитела класса IgM, что свидетельствует об особенностях иммунного ответа организма человека после вакцинации.

Все вышесказанное подчеркивает абсолютную необходимость дальнейшего глубокого изучения таких аспектов, как определение роли выработки конкретных видов антител к различным антигенам SARS-CoV-2 и их критически значимых уровней в формировании полноценного иммунитета к НКИ при вакцинации различными вакцинами и количественными наборами реагентов отечественных и зарубежных производителей.

Список литературы /References

1. Временные методические рекомендации («Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)»). Версия 14 (27.12.2021). М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2021. 232 с. Interim guidelines "Prevention, diagnosis and treatment of a new coronavirus infection (COVID-19)". Version 14 (12/27/2021). Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2021. 232 p.
2. Извеков А. А., Капто О. В., Хритинин Д. Ф. и др. Применение рефлексотерапевтических методов в лечении транзиторных поствакцинальных реакций после иммунизации от COVID-19. Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. 2021;(7):504–510. Izvekov A. A., Kapto O. V., Khrifin D. F., et al. The use of reflexotherapy techniques in the treatment of transient post-vaccination reactions after immunization against COVID-19. Bulletin of neurology, psychiatry and neurosurgery. 2021;(7):504–510. <https://doi.org/10.33920/med-01-2107-02>.
3. Ignatiev S. A., Alekseev I. B., Kazakov S. P., et al. Some Features of the Development of AMD and Other Diseases of the Posterior Pole Associated with the Virus Carrier and the Novel Coronavirus Disease COVID-19. International Journal of Clinical and Experimental Medical Sciences. 2021;7(5):127–137. <https://doi.org/10.11648/j.ijcems.20210705.11>
4. Logunov D. Y., Dolzhikova I. V., Zubkova O. V., et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. Lancet. 2020;396(10255):887–897. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31866-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31866-3)
5. Rossi A. H., Ojeda D. S., Varese A., et al. Sputnik V vaccine elicits seroconversion and neutralizing capacity to SARS-CoV-2 after a single dose. Cell Rep Med. 2021;2(8):100359. <https://doi.org/10.1016/j.crm.2021.100359>
6. Kozlovskaya L. I., Piniava A. N., Ignatyev G. M., et al. Long-term humoral immunogenicity, safety and protective efficacy of inactivated vaccine against COVID-19 (CovVac) in preclinical studies. Emerg Microbes Infect. 2021;10(1):1790–1806. <https://doi.org/10.1080/22221751.2021.1971569>
7. Tukhvatulin A. I., Dolzhikova I. V., Shcheblyakov D. V., et al. An open, non-randomised, phase 1/2 trial on the safety, tolerability, and immunogenicity of single-dose vaccine "Sputnik Light" for prevention of coronavirus infection in healthy adults. The Lancet Regional Health Europe. 2021;11:100241. <https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2021.100241>
8. Временные методические рекомендации («Порядок проведения вакцинации взрослого населения против COVID-19»). М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, ФГБУ «НМИЦ ПМ» Минздрава России; 2021. 65 с.

Сведения об авторах

Казakov Сергей Петрович, д.м.н., доцент, начальник центра клинической лабораторной диагностики – главный лаборант¹, зав. кафедрой медицинской биохимии и иммунопатологии Академического образовательного центра трансляционной и фундаментальной медицины². E-mail: gvgk.cld@mail.ru; rmapo.kafimm@mail.ru; РИНЦ: 5560–3931. WoS Researcher ID: C-6644–2018. Scopus ID: 57211351588. ORCID: 0000–0001–6528–1059

Решетняк Дмитрий Витальевич, к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики Высшей квалификационной категории отделения клинических инфекционно-иммунологических исследований¹. E-mail: dvrld@yandex.ru

Давыдова Наталья Вячеславовна, врач клинической лабораторной диагностики высшей квалификационной категории отделения клинических инфекционно-иммунологических исследований центра клинической лабораторной диагностики¹

Путков Станислав Борисович, зав. отделением клинических инфекционно-иммунологических исследований, врач клинической лабораторной диагностики центра клинической лабораторной диагностики¹. E-mail: gvgk.cld@mail.ru; ORCID: 0000–0003–0542–4278

¹ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени Академика Н. Н. Бурденко» Минобороны России, Москва

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

Автор для переписки: Казakov Сергей Петрович.
E-mail: gvgk.cld@mail.ru; rmapo.kafimm@mail.ru

Для цитирования: Казakov С. П., Решетняк Д. В., Давыдова Н. В., Путков С. Б. Оценка эффективности гуморального иммунного ответа после вакцинации («Кови-Ваком»). Медицинский алфавит. 2022; (6): 18–24. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-18-24>.

- Interim guidelines "Procedure for vaccination of the adult population against COVID-19". M.: Ministry of Health of the Russian Federation, Federal State Budgetary Institution "NMITSIPM" of the Ministry of Health of Russia; 2021. 65 p
9. Shen C., Wang Z., Zhao F., et al. Treatment of 5 Critically Ill Patients With COVID-19 With Convalescent Plasma. JAMA. 2020;323(16):1582–1589. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.4783>
 10. Казakov С. П., Алимбарова Л. М., Чиркова Е. Ю. и др. Изучение эффективности тест-системы на основе иммунохимического метода для определения специфических антител классов IgM, IgG к коронавирусу SARS-CoV-2. Журнал иммунологии. 2021;13(1 S1):53–54. Kazakov S. P., Alimbarova L. M., Chirkova E. Yu., et al. Study of the effectiveness of test systems based on the immunochemical method for the determination of specific antibodies of the IgM, IgG classes to SARS-CoV-2 coronavirus. Journal of Infectology. 2021;13(1 S1):53–54.
 11. Dombourian M.G., Annen K., Huey L., Andersen G. Analysis of COVID-19 convalescent plasma for SARS-CoV-2 IgG using two commercial immunoassays. J Immunol Methods. 2020;486:112837. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2020.112837>
 12. Meschi S., Colavita F., Bordi L., et al. Performance evaluation of Abbott ARCHITECT SARS-CoV-2 IgG immunoassay in comparison with indirect immunofluorescence and virus microneutralization test. J Clin Virol. 2020;129:104539. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104539>
 13. SARS-CoV-2 IgG II – количественные реагенты для «Architect» (SARS-CoV-2 IgG II Quant Reagent Kit): инструкция для тест-системы компании «Abbot», декабрь 2020 г. SARS-CoV-2 IgG II – количественные реагенты для «Architect» (SARS-CoV-2 IgG II Quant Reagent Kit): инструкция для тест-системы компании «Abbot», декабрь 2020.
 14. Feng S., Phillips D. J., White T., et al. Correlates of protection against symptomatic and asymptomatic SARS-CoV-2 infection. Nat Med. 2021;27(11):2032–2040. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01540-1>
 15. Komisarov A. A., Dolzhikova I. V., Efimov G. A., et al. Boosting of the SARS-CoV-2-specific immune response after vaccination with single-dose Sputnik Light vaccine. MedRxiv. 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.10.26.21265531>
 16. Xiao A. T., Gao C., Zhang S. Profile of specific antibodies to SARS-CoV-2: The first report. J Infect. 2020;81(1):147–178. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.012>
 17. Ng D. L., Goldof G. M., Shy B. R., et al. SARS-CoV-2 seroprevalence and neutralizing activity in donor and patient blood. Nat Commun. 2020;11(1):4698. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18468-8>
 18. Charlton C. L., Kanji J. N., Johal K., et al. Evaluation of Six Commercial Mid- to High-Volume Antibody and Six Point-of-Care Lateral Flow Assays for Detection of SARS-CoV-2 Antibodies. J Clin Microbiol. 2020;58(10):e01361–20. <https://doi.org/10.1128/JCM.01361-20>
 19. Okba N. M. A., Müller M. A., Li W., et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease Patients. Emerg Infect Dis. 2020;26(7):1467–1488. <https://doi.org/10.3201/eid2607.200841>
 20. Grzelak L., Temmam S., Planchais C., et al. A comparison of four serological assays for detecting anti-SARS-CoV-2 antibodies in human serum samples from different populations. Sci Transl Med. 2020;12(559):eabc3103. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abc3103>
 21. Luchsingher L. L., Ransgnal B. P., Jin D. K., et al. Serological Assays Estimate Highly Variable SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody Activity in Recovered COVID-19 Patients. J Clin Microbiol. 2020;58(12):e02005–20. <https://doi.org/10.1128/JCM.02005-20>
 22. Joyner M. J., Bruno K. A., Klassen S. A., et al. Safety Update: COVID-19 Convalescent Plasma in 20,000 Hospitalized Patients. Mayo Clin Proc. 2020;95(9):1888–1897. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.06.028>
 23. Khoury D. S., Cromer D., Reynaldi A., et al. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. Nat Med. 2021;27(7):1205–1211. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01377-8>
 24. Muecksch F., Wise H., Batchelor B., et al. Longitudinal Serological Analysis and Neutralizing Antibody Levels in Coronavirus Disease 2019 Convalescent Patients. J Infect Dis. 2021;223(3):389–398. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa659>
 25. van Kampen J. J. A., van de Vijver D. A. M. C., Fraaij P. L. A., et al. Duration and key determinants of infectious virus shedding in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19). Nat Commun. 2021;12(1):267. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20568-4>
 26. Dimaggio C., Herin F., Martin-Blondel G., et al. Antibody titers and protection against a SARS-CoV-2 infection. J Infect. 2021 Sep 21: S0163-4453(21)00483-7. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.09.013>

Статья поступила / Received 24.03.2022

Получена после рецензирования / Revised 25.03.2022

Принята в печать / Accepted 25.03.2022

About authors

Kazakov Sergei P., DM Sci (habil.), associate professor, head of the Centre for Clinical Laboratory Diagnostics – Chief laboratory assistant¹, head of Dept of Medical Biochemistry and Immunopathology of Academic Educational Centre for Translational and Fundamental Medicine². E-mail: gvgk.cld@mail.ru; rmapo.kafimm@mail.ru; RSCI: 5560–3931. WoS Researcher ID: C-6644–2018. Scopus ID: 57211351588. ORCID: 0000–0001–6528–1059

Reshetnyak Dmitry V., PhD Med, doctor of clinical laboratory diagnostics of Supreme expert category at Dept of Clinical and Infectious-Immunological Research of Centre for Clinical Laboratory Diagnostics¹. E-mail dvrld@yandex.ru

Davydova Natalia V., doctor of Clinical Laboratory diagnostics of superior expert category at Dept of Clinical and Infectious-Immunological Research of Centre for Clinical Laboratory Diagnostics¹

Putkov Stanislav B., head of Dept, doctor of Clinical Laboratory diagnostics of superior expert category at Dept of Clinical and Infectious-Immunological Research of Centre for Clinical Laboratory Diagnostics¹. E-mail: gvgk.cld@mail.ru. ORCID: 0000–0003–0542–4278

¹Main Military Clinical Hospital n. a. academician N. N. Burdenko, Moscow, Russia

²Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Moscow, Russia

Corresponding author: Kazakov Sergei P.
E-mail: gvgk.cld@mail.ru; rmapo.kafimm@mail.ru

For citation: Kazakov S. P., Reshetnyak D. V., Davydova N. V., Putkov S. B. Evaluation of effectiveness of humoral immune response after vaccination with "CovVac". Medical alphabet. 2022; (6): 18–24. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-18-24>.



Повышенный уровень ферритина у стационарных пациентов

М. С. Ковальчук¹, В. С. Берестовская², В. С. Власов², Ю. И. Жиленкова²

¹СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница», Санкт-Петербург

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

РЕЗЮМЕ

Ферритин сыворотки считается одним из предикторов развития тяжелых форм и летального исхода у пациентов с различными заболеваниями. Однако результаты проведенных на данный момент исследований неоднородны, а целесообразность измерения сывороточного ферритина всем стационарным пациентам, в том числе с COVID-19, ставится под сомнение. В исследование были включены результаты измерения сывороточного ферритина у 761 взрослого пациента, из которых у 634 в основной группе был подтвержден COVID-19, а 127 пациентов из группы сравнения были госпитализированы с другими диагнозами. Различия концентрации сывороточного ферритина в основной группе (COVID-19 «+»: выжившие: Me 295,2, 95% ДИ: 353,8–449,1 мкг/л, умершие Me 285,9, 95% ДИ: 309,9–628,9 мкг/л) и в группе сравнения (COVID-19 «-»: выжившие Me 267,2; 95% ДИ 268,2–526,0 мкг/л, умершие Me 197,7, 95% ДИ: 110,3–529,0 мкг/л), в зависимости от исходов заболевания, были статистически не значимы. При этом в когорте умерших сывороточный ферритин выше 500 мкг/л при COVID-19 встречался чаще в 23,75 раза, а в когорте с концентрацией ферритина выше 1500 мкг/л – в 17,75 раз по сравнению с ферритином в группе стационарных пациентов без COVID-19. Полученные нами результаты указывают на нецелесообразность измерения сывороточного ферритина для всех стационарных пациентов, однако подтверждают тот факт, что селективное измерение сывороточного ферритина у пациентов с тяжелым течением различных, особенно инфекционных заболеваний, позволяет выявить категорию пациентов с высоким риском развития гипервоспаления.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сывороточный ферритин, стационарные пациенты.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Elevated serum ferritin level in inpatients

M. S. Kovalchuk¹, V. S. Berestovskaya², V. S. Vlasov², Yu. I. Zhilenkova²

¹City Mariinsky Hospital, Saint-Petersburg, Russia

²National Medical Research Centre n.a. V. A. Almazov, Saint Petersburg, Russia

SUMMARY

Serum ferritin is considered one of the predictors of severe forms of diseases and an increased mortality risk in patients with various diseases. However, the results of the studies performed to date are not heterogeneous and the usefulness of measuring serum ferritin in all inpatients, including those with COVID-19, is being questioned. The study included the results of measuring serum ferritin in 761 adult patients, of which in the main group 634 were confirmed with COVID-19, and 127 patients from the comparison group were hospitalized with other diagnoses. Differences in serum ferritin concentration in the main group (COVID-19 "+": survivors: Me 295.2, 95% CI: 353.8–449.1 µg/l, non-survivors Me 285.9, 95% CI: 309.9–628.9 µg/l) and in the comparison group (COVID-19 "-": survivors Me 267.2; 95% CI 268.2–526.0 µg/l, non-survivors Me 197.7, 95% CI: 110.3–529.0 µg/l) depending on the outcomes of the disease were not statistically significant. At the same time, in the cohort of the non-survivors, serum ferritin above 500 µg/l with COVID-19 was 23.75 times more common, and in the cohort with a ferritin concentration above 1500 µg/l, 17.75 times more common than ferritin in the group of inpatients without COVID-19. Our results indicate the impracticality of measuring serum ferritin for all inpatients; however, they confirm the fact that selective measurement of serum ferritin in patients with severe course of diseases, especially infectious diseases, makes it possible to identify a category of patients with a high risk of developing hyperinflammation.

KEY WORDS: serum ferritin, inpatients.

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

11 марта 2020 года ВОЗ пришла к выводу о том, что вспышка новой коронавирусной инфекции (COVID-19), вызванная вирусом SARS-CoV-2, может быть охарактеризована как пандемия [1]. С момента получения сообщений о первых случаях заболевания по настоящее время в мире накоплен и проанализирован большой объем данных о клинических проявлениях и изменении лабораторных маркеров при COVID-19.

Одним из широко обсуждаемых лабораторных исследований, результаты которых способны выявлять пациентов с высоким риском развития тяжелых форм и летального исхода заболевания, является сывороточный ферритин. Эпидемиология гиперферритинемии достаточно хорошо изучена, так как часто наблюдается у пациентов в отде-

лениях интенсивной терапии [2, 3]. При этом рутинное измерение этого лабораторного параметра у всех стационарных пациентов до пандемии COVID-19 не проводилось.

Цель исследования – изучить возможности использования результатов сывороточного ферритина как предиктора летального исхода у стационарных пациентов с COVID-19 и другими заболеваниями.

Материалы и методы

Данное ретроспективное обсервационное исследование было проведено в СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница» города Санкт-Петербурга с 27 апреля по 27 июля 2020 года. В него были включены результаты

Таблица 1
Диагнозы пациентов без COVID-19, включенных в группу 2

Диагноз	Число пациентов
Анемия неуточненная	1
Астма с преобладанием аллергического компонента	1
Атеросклеротическая болезнь сердца	5
Внутричерепное кровоизлияние	5
Гастродуоденит неуточненный	1
Гипертензивная [гипертоническая] болезнь с преимущественным поражением сердца с (застойной) сердечной недостаточностью	3
Грыжа передней брюшной стенки с гангреной	1
Диафрагмальная грыжа без непроходимости или гангрены	1
Другие реактивные артропатии	1
Другие сочетания переломов, захватывающих несколько областей тела	1
Другие уточненные интерстициальные легочные болезни	2
Другие формы хронической ишемической болезни сердца	4
Другой и неуточненный цирроз печени	1
Запор	1
Застойная сердечная недостаточность	4
Злокачественное новообразование неуточненное	2
Инородное тело в другом или нескольких отделах дыхательных путей	1
Интерстициальная легочная болезнь, неуточненная	3
Инфаркт мозга, вызванный тромбозом мозговых артерий	5
Злокачественное новообразование молочной железы неуточненной части	1
Наблюдение при подозрении на другие болезни или состояния	21
Злокачественное новообразование нижней части глотки неуточненное	1
Носительство возбудителя другой инфекционной болезни	1
Острая инфекция верхних дыхательных путей неуточненная	3
Острый и подострый инфекционный эндокардит	1
Острый панкреатит неуточненный	2
Острый субэндокардиальный инфаркт миокарда	2
Острый трансмуральный инфаркт передней стенки миокарда	1
Острый фронтальный синусит	1
Пароксизмальная форма фибрилляций предсердий	3
Перелом ключицы	1
Переломы других частей бедренной кости	1
Пневмония неуточненная	19
Поверхностная травма других частей головы	2
Повторный инфаркт нижней стенки миокарда	1
Поражение желудка, выходящее за пределы одной и более	2
Поражение тела матки, выходящее за пределы одной и более вышеуказанных локализаций	1
Поражение шейки матки, выходящее за пределы одной и более вышеуказанных локализаций	1
Почечная недостаточность неуточненная	1
Рвота беременных неуточненная	1
Септицемия неуточненная	7
Травматическое субдуральное кровоизлияние	1
Ушиб грудной клетки	1
Функциональное нарушение кишечника неуточненное	1
Хроническая болезнь почки, стадия 5	1
Хроническая обструктивная легочная болезнь неуточненная	3
Цереброваскулярная болезнь неуточненная	3
Всего	127

измерения сывороточного ферритина у 761 взрослого пациента, из которых у 634 был подтвержден COVID-19 (основная группа), а 127 пациентов были госпитализированы с диагнозами, включающими кардиологические заболевания, поражения желудочно-кишечного тракта, верхних дыхательных путей, злокачественные новообразования, травмы и др. (группа сравнения). Данные о диагнозах пациентов, включенных в группу сравнения, приведены в *таблице 1*. Медиана возраста пациентов составила 60 лет (95 % ДИ: 57,8–60,4) в основной группе и 61 год (95 % ДИ: 55,3–61,4) в группе сравнения. Все пациенты имели законченный случай госпитализации, в выборку были включены результаты первого измерения концентрации ферритина в стационаре. Данные по концентрации ферритина за период госпитализации и исходы заболевания были извлечены из медицинской информационной системы «Ариадна» и лабораторной информационной системы «Акросс-Клиническая лаборатория».

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы SPSS Statistics (версия 21.0). Количественные данные были описаны с использованием медианы (Me) и доверительного интервала (95 % ДИ). Сравнение двух независимых переменных проводилось с помощью критерия Манна – Уитни. Уровень статистической значимости определен менее 0,05.

Результаты

Результаты измерения сывороточного ферритина у госпитализированных пациентов в основной группе (с подтвержденным диагнозом COVID-19) и в группе сравнения (без диагноза COVID-19), приведены в *таблице 2*, распределение значений в обеих группах представлено на *рисунке 1*. Различия концентрации ферритина между основной группой и группой сравнения были статистически не значимы ($p = 0,166$). Также нам не удалось обнаружить статистически значимые различия между содержанием ферритина в когортах выживших и умерших пациентов в зависимости от статуса COVID-19 (*табл. 2*).

В связи с тем, что в группе сравнения 40 случаев представлены состояниями, которые потенциально могут являться неустановленными случаям COVID-19 (наблюдение при подозрении на другие болезни/состояния и пневмонию неуточненную), было выполнено повторное сравнение концентрации ферритина в основной группе и группе сравнения, но без учета данных по 40 случаям, указанным выше. При статистической оценке результатов ферритина в данном сравнении значимые различия отсутствовали (данные не приводятся). В связи с тем, что гипотеза о потенциальном влиянии на статистические результаты случаев с возможным, но не установленным COVID-19 не подтвердилась, дальнейшая обработка данных группы сравнения проводилась с включением всех 127 случаев.

Также было проанализировано содержание сывороточного ферритина в основной группе и группе сравнения в зависимости от исходов заболевания. Результаты

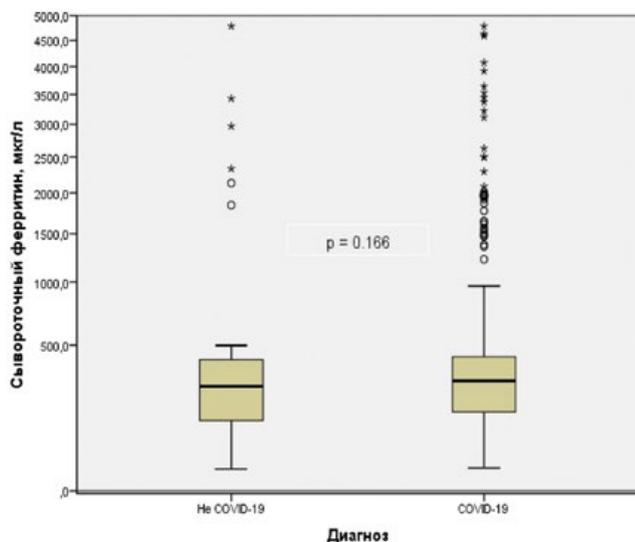


Рисунок 1. Распределение сывороточного ферритина у пациентов с подтвержденным COVID-19 и госпитализированных по другим причинам.

приведены в *таблице 3*, а распределение значений представлено на *рисунках 2 и 3*, статистических различий не установлено.

Кроме того, мы оценили инцидентность случаев, при которых концентрация сывороточного ферритина повышалась выше уровня 500 мкг/л, как значения, входящего в рекомендации по развитию первичного синдрома активации макрофагов (САМ) [4] и уровня выше 1500 мкг/л, как наиболее часто встречаемого значения, ассоциированного с высоким риском опасных для жизни состояний у реанимационных пациентов [2]. Данные представлены в *таблице 4*. Максимальное содержание ферритина 2970,1 мкг/л было отмечено у пациента с внутримозговым кровоизлиянием при отсутствии COVID-19.

Обсуждение

В публикациях, посвященных лабораторным маркерам, связанным с летальностью у госпитализированных пациентов с COVID-19, отмечается прогностическая роль

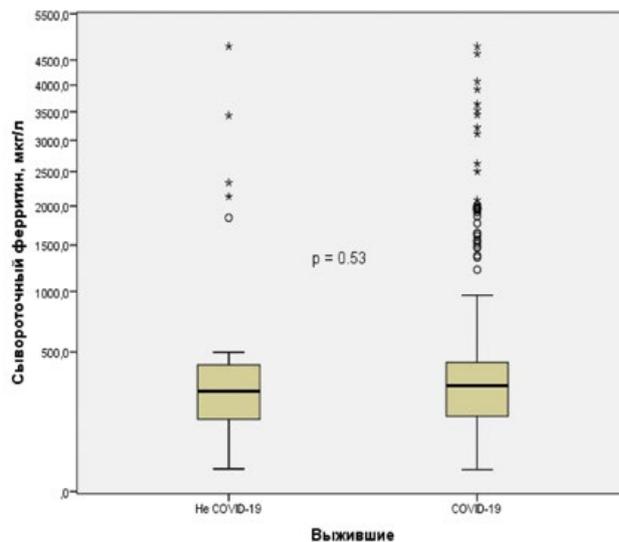


Рисунок 2. Распределение сывороточного ферритина у выживших пациентов с подтвержденным COVID-19 и госпитализированных по другим причинам.

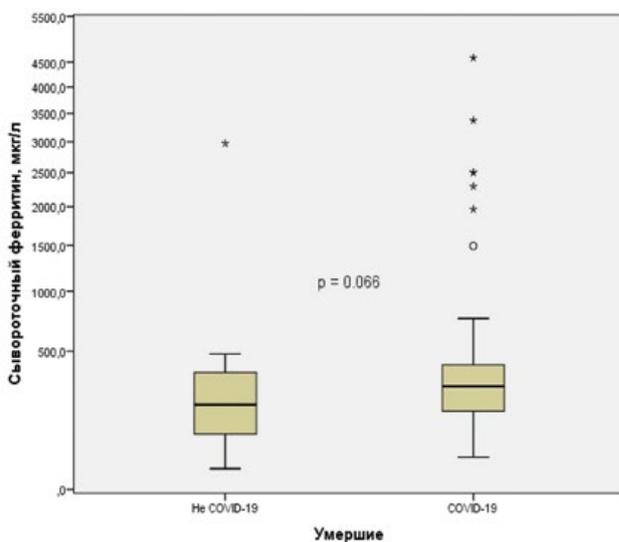


Рисунок 3. Распределение сывороточного ферритина у умерших пациентов с подтвержденным COVID-19 и госпитализированных по другим причинам.

Таблица 2
Содержание сывороточного ферритина в группе пациентов, включенных в исследование

	Основная группа (COVID-19 «+»)	Группа сравнения (COVID-19 «-»)	p	Умершие	Выжившие	p
Число пациентов	634	127		112	649	
Возраст, годы Me (ДИ 95%)	60 (57,8–60,4)	61 (55,3–61,4)	0,63	63 (58,7–65,0)	60 (57,2–59,8)	0,05
Ферритин, мкг/л Me (ДИ 95%)	293 (364,2–456,7)	265 (270,6–489,5)	0,166	270,4 (302,4–561,6)	291,7 (356,1–445,0)	0,426

Таблица 3
Концентрация сывороточного ферритина у выживших и умерших стационарных пациентов в зависимости от статуса COVID-19

	Всего	Основная группа (COVID-19 «+»)		p	Всего	Группа сравнения (COVID-19 «-»)		p
		Умершие	Выжившие			Умершие	Выжившие	
Число пациентов	634	84	550		127	28	99	
Возраст, годы		63 (59,3–66,6)	59 (57,1–59,9)	0,02		63 (51,7–65,2)	61 (54,8–61,7)	0,90
Ферритин, мкг/л		285,9 (309,9–628,9)	295,2 (353,8–449,1)	0,956		197,7 (110,3–529,0)	267,2 (268,2–526,0)	0,159

Исходы у госпитализированных пациентов в зависимости от концентрации сывороточного ферритина и статуса COVID-19

	Всего	Основная группа (COVID-19 «+»)		Всего	Группа сравнения (COVID-19 «-»)	
		Умершие	Выжившие		Умершие	Выжившие
Число пациентов	634	84	550	127	28	99
Ферритин выше 500 мкг/л, n (%)	49 (7,7%)	8 (9,5%)	41 (7,5%)	6 (4,4%)	1 (0,4%)	5 (5,1%)
Ферритин выше 1500 мкг/л, n (%)	34 (5,4%)	6 (7,1%)	28 (5,1%)	6 (4,4%)	1 (0,4%)	5 (5,1%)

концентрации сывороточного ферритина. По результатам метаанализа публикаций, отражающих роль сывороточного ферритина как предиктора неблагоприятных исходов при COVID-19, установлено, что концентрации ферритина в выбранных исследованиях имеют сходную траекторию. Уровень сывороточного ферритина у пациентов в тяжелом и критическом состояниях выше, чем у пациентов категорий легкой и средней степени тяжести; концентрация ферритина в сыворотке крови умерших пациентов выше, чем у выживших. При этом в изучаемых публикациях отмечается значительная неоднородность концентраций ферритина. Высокая гетерогенность данных в разных исследованиях может быть связана с различием характеристик среднего возраста, доли мужчин и женщин, распространенности сопутствующих заболеваний, т. е. факторов, которые значительно влияют на уровень ферритина в сыворотке [5]. Например, в работе Qeadan F. и соавт. оптимальные дискриминационные значения для госпитальной смертности при COVID-19 для женщин (433 нг/мл) были ниже, чем для мужчин (740 нг/мл). Такой же тренд отмечен и в отношении дискриминационных значений ферритина как предиктора необходимости искусственной вентиляции легких: для женщин – 270 нг/мл и 860 нг/мл – для мужчин [6]. В то же время наши данные согласуются с ретроспективным анализом данных сывороточного ферритина почти 1000 пациентов с COVID-19, полученных в одном медицинском центре, который показал, что значения ферритина при госпитализации/максимальное значение при госпитализации не позволяют прогнозировать исходы, в том числе смертность от всех причин [7].

Отсутствие статистически значимых различий концентрации сывороточного ферритина между выжившими и умершими как в основной группе пациентов с COVID-19, так и в группе сравнения может быть связано с рядом потенциальных ограничений, вытекающих из ретроспективного дизайна исследования. В это исследование включены результаты ферритина в когорте пациентов, смешанных по возрасту и полу, также мы не оценивали влияние исходного уровня сывороточного ферритина до диагноза COVID-19. У некоторых пациентов содержание сывороточного ферритина могло быть повышенным из-за сопутствующих заболеваний, включая ранее существовавшие новообразования, аутоиммунные заболевания и инфекции.

Комплекс клинических и лабораторных признаков COVID-19 предлагается рассматривать как особую форму синдрома активации макрофагов [8]. Гиперферритинемические синдромы, включая синдром

активации макрофагов (САМ), синдром Стилла у взрослых, катастрофический антифосфолипидный синдром и септический шок изучали и до появления новой коронавирусной инфекции. Эти иммуопосредованные состояния имеют схожие клинические и лабораторные проявления, реакцию на проводимое лечение и характеризуются высоким содержанием ферритина в сыворотке крови. У больных в критическом состоянии гиперферритинемия связана с тяжестью основного заболевания [9].

Синдром активации макрофагов включает врожденные и приобретенные состояния, основой для которых является нарушение регуляции иммунного ответа, приводящее к аномальной активации цитотоксических Т-лимфоцитов и макрофагов, их аккумуляции в пораженных органах и развитию системного воспалительного ответа с переходом в цитокиновый шторм. Первичный САМ или гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз – наиболее тяжелое гиперовоспалительное состояние, вызванное в большинстве случаев инфекционными агентами. Он обусловлен генетически детерминированным дефектом механизмов клеточной цитотоксичности. При тяжелом течении COVID-19 также отмечены случаи обнаружения генетических форм, характерных для первичного САМ. Например, в работе Cabrera-Marante O. описаны летальные исходы у пациентов с тяжелым течением COVID-19 и вариантом с.272C>T (р.А91V; rs35947132) в гене *PRF1*, ассоциированным с семейным гемофагоцитарным лимфогистиоцитозом [10]. При многолетнем наблюдении, выполненном в отделении реанимации, установлено, что максимальные значения ферритина при первичном САМ могут достигать 31674 (15121–87975) мкг/л, а частота встречаемости этого состояния среди реанимационных пациентов составляет 1,5% [2]. Триггерными факторами для разворачивания клинической картины вторичного САМ выступают вирусные, бактериальные, паразитарные инфекции, возбудители микозов, сепсис, воспаление без инфекции, гематологические и негематологические злокачественные новообразования [4]. Также САМ может развиваться у реципиентов, которые перенесли трансплантацию, имеют аутоиммунные нарушения, острые и хронические заболевания печени и почек [2].

При оценке наших данных отмечается большая инцидентность высоких (выше 500 мкг/л) и очень высоких значений сывороточного ферритина (выше 1500 мкг/л) у пациентов основной группы по сравнению с пациентами группы сравнения (табл. 3). В когорте умерших высокие значения сывороточного ферритина при COVID-19 встре-

чались чаще в 23,75, а в когорте очень высоких – в 17,75 раз по сравнению с ферритином в группе стационарных пациентов без COVID-19. Для когорты выживших высокие значения при COVID-19 встречались чаще в 1,47 раза, а очень высокие значения сывороточного ферритина были сопоставимы с результатами группы госпитализированных без COVID-19.

Это согласуется с данными Vardi M. и соавт., которые обнаружили, что у стационарных пациентов инфекционные заболевания являются ведущими состояниями, связанными с повышенным уровнем ферритина, в то время как злокачественные новообразования, повторные переливания крови и недавняя химиотерапия встречались достоверно чаще в группе с очень высоким уровнем ферритина [11]. В другом исследовании также самые высокие значения ферритина при COVID-19 были выявлены у пациентов с вторичным инфекционным процессом [7].

Большой объем накопленных за пандемию данных позволил выделить САМ-подобный синдром, который развивается вследствие повреждения легких при COVID-19 и является триггером иммунного ответа, схожего с синдромом активации макрофагов [8]. Мы предполагаем, что SARS-CoV-2 увеличивает вероятность развития САМ-подобного синдрома, презентующего высокие значения сывороточного ферритина, в то время как наличие генетической детерминации и сопутствующих факторов у части пациентов связано с переходом гипервоспаления в классический синдром активации макрофагов.

Настоящий анализ дополняет информацию о прогностическом значении высоких и очень высоких уровней ферритина у госпитализированных больных. Вероятно, что ферритин выступает как суррогатный маркер тяжелого заболевания, одновременно являясь участником патологического процесса. В литературе отражена связь повышенного риска краткосрочной и долгосрочной смертности в когорте с более высоким уровнем ферритина при госпитализации [11]. При том, что в нашем анализе не удалось получить результаты, поддерживающие целесообразность измерения сывороточного ферритина для всех стационарных пациентов, доля пациентов с повышением ферритина выше уровня 500 мкг/л у нас согласуется с 5,45% пациентов в отделении реанимации до пандемии COVID-19, у которых концентрация ферритина превышает указанное

дискриминационное значение [2]. Следовательно, селективное измерение сывороточного ферритина у пациентов с тяжелым течением различных заболеваний позволяет выявить категорию пациентов с высоким риском развития гипервоспаления. Использование 500 мкг/л в качестве дискриминационного значения сывороточного ферритина значительно увеличивает специфичность исследования, в связи с тем, что повышение концентрации ферритина при других воспалительных состояниях обычно менее выражено. Определение сывороточного ферритина является доступным исследованием, результат которого помогает выявить состояния, особенно опасные для жизни, а также инфекционные осложнения основного заболевания в когорте взрослых пациентов в отделении интенсивной терапии.

Список литературы / References

1. Хронология действий ВОЗ по борьбе с COVID-19. <https://www.who.int/ru/news/item/29-06-2020-covid-timeline>.
2. Lachmann G., Knaak C., Vorderwülbecke G. et al. Hyperferritinemia in Critically Ill Patients. *Crit Care Med.* 2020; 48(4):459–465. doi: 10.1097/CCM.0000000000004131.
3. Sang L., Teng W., Zhao M., et al. Association between serum ferritin and outcomes in critically ill patients: a retrospective analysis of a large intensive care unit database. *Chinese Medical Journal.* 2022; 135(00). doi: 10.1097/CM9.0000000000002019.
4. Rosado FGN, Kim A. S. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: an update on diagnosis and pathogenesis. *Am J Clin Pathol* 2013; 139:713–727. doi: 10.1309/AJCP4ZDKJ4ICOUAT.
5. Kaushal K., Kaur H., Sarma Ph. et al. Serum ferritin as a predictive biomarker in COVID-19. A systematic review, meta-analysis and meta-regression analysis. *Journal of Critical Care.* 2020; 67:172–181. doi.org/10.1016/j.jccr.2021.09.0230883–944.1.
6. Qeadan F.; Tingey, B.; Gu, L.Y.; Packard, A.H.; Erdei, E.; Saeed, A. I. Prognostic Values of Serum Ferritin and D-Dimer Trajectory in Patients with COVID-19. *Viruses.* 2021; 13: 419. <https://doi.org/10.3390/v13030419>.
7. Feld J., Tremblay D., Thibaud S., Kessler A., Naymagon L. Ferritin levels in patients with COVID-19: A poor predictor of mortality and hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Int J Lab Hematol.* 2020; 42(6):773–779. doi: 10.1111/ijlh.13309.
8. Алексеева Е.И., Тепаев Р.Ф., Шилкрот И.Ю., Дворяковская Т.М., Сурков А.Г., Криулин И.А. COVID-19-индуцированный («цитокиновый шторм») – особая форма синдрома активации макрофагов. *Вестник РАМН.* 2021; 76(1):51–66. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn1410>.
9. Alexeeva EI, Tepaev RF, Shilkrot IY, Dvoryakovskaya TM, Surkov AG, Kriulin IA. COVID-19-Induced “Cytokine Storm” – a Unique Form of Macrophage Activation Syndrome. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2021;76(1):51–66. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn1410>.
10. Rosário et al. The Hyperferritinemic Syndrome: macrophage activation syndrome, Still's disease, septic shock and catastrophic antiphospholipid syndrome. *BMC Medicine* 2013, 11:185. doi: 10.1186/1741-7015-11-185.
11. Cabrera-Marante O., Rodríguez de Frías E., Pleguezuelo D. E., et al. Perforin gene variant A91V in young patients with severe COVID-19. *Haematologica.* 2020; 105(12): 2844–2846. doi: 10.3324/haematol.2020.260307.
12. Vardi M., Hogerat T., Cohen S., Cohen Sh. Significance of Extremely Elevated Ferritin Level in Medical Inpatients. *Cent. Eur. J. Med.* 2014, 9(1), 115–120. doi: 10.2478/s11536-013-0256-4.

Статья поступила / Received 23.03.2022

Получена после рецензирования / Revised 25.03.2022

Принята в печать / Accepted 25.03.2022

Сведения об авторах

Ковальчук Марина Сергеевна, врач клинической лабораторной диагностики, зав. клинико-диагностической лабораторией¹. ORCID: 0000-0002-9105-9803

Берестовская Виктория Станиславовна, к.м.н., доцент². ORCID: 0000-0001-5916-8076

Власов Владимир Сергеевич, аспирант². ORCID: 0000-0003-0530-0929

Жилenkova Юлия Исмаиловна, к.м.н., доцент². ORCID: 0000-0003-2756-0334

¹СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница», Санкт-Петербург

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Автор для переписки: Берестовская Виктория Станиславовна.
E-mail: viksta@inbox.ru

About authors

Kovalchuk Marina S., laboratory clinician, head of Clinical Laboratory¹. ORCID: 0000-0002-9105-9803

Berestovskaya Victoria S., PhD Med, associate prof². ORCID: 0000-0001-5916-8076

Vlasov Vladimir S. postgraduate student². ORCID: 0000-0003-0530-0929

Zhilenkova Iuliia I., PhD Med, associate prof. ² ORCID: 0000-0003-2756-0334

¹City Mariinsky Hospital, Saint-Petersburg, Russia

²National Medical Research Centre n.a. V. A. Almazov, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author: Berestovskaya Victoria S. E-mail: viksta@inbox.ru

Для цитирования: Ковальчук М.С., Берестовская В.С., Власов В.С., Жилenkova Ю.И. Повышенный уровень ферритина у стационарных пациентов. *Медицинский алфавит.* 2022; (6): 25–29. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-25-29>.

For citation: Kovalchuk M.S., Berestovskaya V.S., Vlasov V.S., Zhilenkova Yu.I. Elevated serum ferritin level in inpatients. *Medical alphabet.* 2022; (6): 25–29. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-25-29>.



Методологические аспекты обеспечения и повышения диагностической эффективности количественных иммунохемилюминесцентных исследований. Модель «клинической неопределенности» в составе лабораторных модулей клинических рекомендаций и образовательных программ

Н. А. Ковязина¹, С. С. Алексанин¹, А. Г. Чуновкина^{2,3}, В. Л. Эмануэль^{3,4}

¹ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

²ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии имени Д.И. Менделеева», Санкт-Петербург, Россия

³Межрегиональное общественное объединение «Метрологическая академия», Санкт-Петербург, Россия

⁴ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

РЕЗЮМЕ

Технологические возможности позволяют повышать диагностическую эффективность количественных иммунохемилюминесцентных исследований, но требуют расширения глоссария клиничко-лабораторного консилиума с учетом метрологических подходов к обеспечению качества. Предложены варианты количественной оценки «клинической неопределенности оценки состояния пациента на основании лабораторного теста», сформированные с учетом моделей требований к аналитическому качеству. Продемонстрирована клиническая значимость внедрения метрологических подходов к обеспечению и выражению точности в практику количественных иммунохемилюминесцентных исследований с целью снижения рисков и повышения безопасности медицинской деятельности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: система менеджмента качества, аналитическое качество, клиническая информативность, клиническая неопределенность, аналитическая надежность, неопределенность, метрологическая прослеживаемость.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Methodological aspects of ensuring and improving diagnostic effectiveness of quantitative immunochemiluminescent studies. Model of 'clinical uncertainty' as part of laboratory modules of clinical recommendations and educational programs

N. A. Kovyazina¹, S. S. Aleksanin¹, A. G. Chunovkina^{2,3}, V. L. Emanuel^{3,4}

¹All-Russian Centre for Emergency and Radiation Medicine n.a. A.M. Nikiforov, Saint Petersburg, Russia

²All-Russian Scientific Research Institute for Metrology n.a. D. I. Mendeleev, Saint Petersburg, Russia

³Interregional Public Association 'Metrological Academy', St. Petersburg, Russia

⁴First Saint Petersburg State Medical University n.a. academician I.P. Pavlov, Saint Petersburg, Russia

SUMMARY

Technological capabilities make it possible to increase the diagnostic efficiency of quantitative immunochemiluminescent studies but require expanding the glossary of the clinical and laboratory consultation, taking into account metrological approaches to quality assurance. The variants of quantitative assessment of the "clinical uncertainty of assessing the patient's condition based on a laboratory test", formed taking into account the models of analytical quality requirements, are proposed. The clinical significance of the introduction of metrological approaches to ensuring and expressing accuracy in the practice of quantitative immunochemiluminescent studies in order to reduce risks and improve the safety of medical activities is demonstrated.

KEY WORDS: quality management system, analytical quality, clinical informativeness, clinical uncertainty, analytical reliability, uncertainty, metrological traceability.

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

Financing. The study was not sponsored.

Государственная социальная политика ориентирована на повышение качества и безопасности медицинской деятельности. Стратегическим вектором совершенствования системы здравоохранения являются меры сформулированные приказом МЗ РФ №№ 103н от 28 февраля 2019 года «Об утверждении порядка и сроков разработки клинических рекомендаций, их пересмотра, типовой формы клинических рекомендаций и требований к их структуре, составу и научной обоснованности включаемой в клинические рекомендации информации», которые гармонизированы актуализацией нормативных требований к организации и проведению внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности, согласно приказу МЗ РФ от 31 июля 2020 г. № 785н.

Клинико-диагностические лаборатории медицинских организаций, согласно требованиям этого приказа, должны «...обеспечивать прослеживаемость результатов». Однако клиническая суть и реализация истинного содержания этого тезиса требуют профессионального обсуждения. Действительно, современные технологические возможности позволяют повышать диагностическую эффективность иммунохемилюминесцентных исследований, но предполагают расширение глоссария клинико-лабораторного консилиума с учетом метрологических подходов к обеспечению качества. Метрологическая прослеживаемость описывает свойство результата измерения, в соответствии с которым результат может быть соотнесен с основой для сравнения через документированную непрерывную цепь калибровок, каждая из которых вносит вклад в неопределенность измерений. Процесс обеспечения метрологической прослеживаемости результатов в лабораторной медицине является многовариантным и подробно не рассматривается в данной статье. Важно, что реализация той или иной схемы метрологической прослеживаемости позволяет в итоге рассчитать неопределенность выдаваемых результатов и тем самым повысить диагностическую эффективность иммунохемилюминесцентных исследований.

Будет преувеличением утверждать, что СМК принята всеми практикующими специалистами лабораторий, а ее настройка под нужды конкретных отечественных медицинских учреждений проходит беспрепятственно. Существует некоторый параллелизм между изложенными в ГОСТах обобщенными правилами организации лабораторных процессов и рутинной практической деятельностью лабораторий. Во многом это обусловлено новой для специалистов с медицинским образованием специфической терминологией стандартов, но немаловажную роль играет также отсутствие простых, конкретизированных для каждого аналитического метода алгоритмов, практический результат от применения которых был бы очевиден. Тем не менее в международном лабораторном сообществе уже наступил этап доказательной переоценки, научной систематизации и информационной глобализации накопленного опыта в этой области медицинских знаний.

Одним из важнейших, на наш взгляд, результатов систематизации стал сформированный Европейской федерацией клинической химии и лабораторной медицины (EFLM) алгоритм определения модели требований к аналитиче-

скому качеству [1]. Согласно этому алгоритму, показатели качества лабораторного определения аналита могут считаться удовлетворительными, если соотнесены с известными данными об их влиянии на клинические исходы. Эта модель требований является идеальной, поскольку напрямую связывает показатели аналитической точности с их клинической значимостью. В то же время эта модель является редкой, поскольку соответствующие исследования клинических исходов выполнены лишь для ограниченного перечня аналитов (например, для тропонина). Вторая модель требований к качеству ориентирована на данные о биологической вариации. Предполагается, что наличие достоверных сведений о величине биологической вариации позволяет рассчитать максимально допустимую общую аналитическую ошибку, которая не будет клинически значима. Однако эта модель также имеет существенное ограничение в практическом использовании. Так, по состоянию на сентябрь 2019 года глобализованная база EFLM, содержащая достоверные данные об источнике, методе и объекте получения сведений о биологической вариации, насчитывает лишь 78 аналита. Причем их случайная стратификация (по полу, возрасту, диагнозу и т.п.) не позволяет гарантированно подобрать сведения, подходящие под конкретную клиническую задачу. Третьей, и основной в современных условиях моделью требований, является модель, основанная на текущем достижимом аналитическом качестве (state of the art). Модель подразумевает, что аналитическое качество будет доведено до максимального в имеющихся условиях уровня.

В ожидании получения данных о связи аналитического качества с клиническими исходами и стратифицированных достоверных сведений о биологической вариации аналитов к большинству аналитов в клинико-диагностических лабораториях применима именно третья модель. При ее принятии принцип СМК о постоянном улучшении остается краеугольным, а принцип ориентации на потребителя нуждается в разработке способа реализации. Общим для принятия всех трех типов моделей является условие, что показатели аналитического качества должны быть, как минимум, известны.

Занимаясь в течение 20 лет вопросами качества количественных иммунохемилюминесцентных исследований (КИХИ) в клинико-диагностической лаборатории, а также проводя научно-исследовательские работы в области ранней диагностики и профилактики заболеваний, специалисты лаборатории ВЦЭРМ получили возможность сформировать определенный взгляд на проблему и ее решение. Основной задачей было определить объект, а затем и пути постоянного улучшения.

В качестве объекта постоянного улучшения была принята клиническая информативность лабораторного теста, которую ГОСТ Р 53022.3–2008 трактует как «способность лабораторного теста на основе информации, полученной в результате исследования определенного аналита в биологическом материале, характеризовать состояние внутренней среды организма у обследуемого лица и выявлять патологические отклонения». Была создана модель «клинической неопределенности оценки

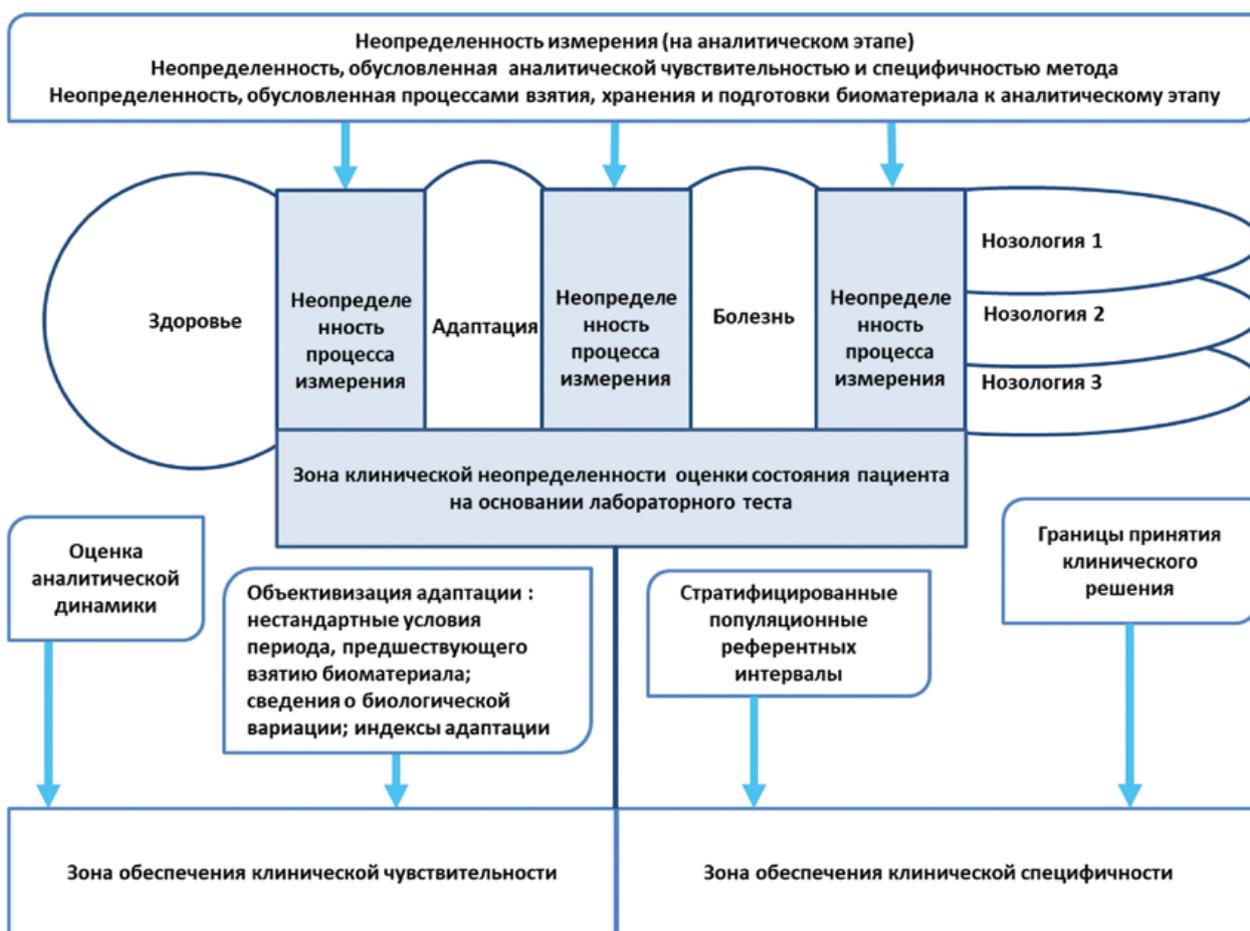


Рисунок 1. Модель клинической неопределенности оценки состояния пациента на основании лабораторного теста.

состояния пациента на основании лабораторного теста» (КН), состоящей из неопределенности процесса измерения концентрации аналита в крови пациента и биологически обусловленной неопределенности разграничения здоровья и болезни (рис. 1).

Неопределенность процесса измерения в широком смысле рассматривается как неуверенность в точности определения измеряемой величины в крови пациента посредством всех составляющих процесса. В соответствии с ГОСТ 51088–2013 процесс лабораторного измерения включает в себя этапы от получения биоматериала до обработки результата измерения. Таким образом, суммарная неопределенность процесса измерения складывается из всех неопределенностей при реализации этого процесса:

- дефинициальной неопределенности, обусловленной неспецифичностью метода: неполным определением измеряемой величины, химической интерференцией и др.;
- неопределенности измерения, обусловленной точностью применяемого на аналитическом этапе оборудованием, калибраторами и др.;
- неопределенности, обусловленной аналитической чувствительностью метода;
- неопределенностями, обусловленными процессами взятия, хранения и подготовки биоматериала к аналитическому этапу (в основном, смещений).

Следовательно, актуальна разработка способов оценки и уменьшения всех перечисленных неопределенностей.

Биологически обусловленная неопределенность разграничения здоровья и болезней – это неопределенность, не имеющая отношения к процессу лабораторного измерения. Она обусловлена тесной связью между здоровьем и болезнью, характеризующейся наличием переходов из одного состояния в другое посредством процессов адаптации. В том числе ее могут формировать изменения истинной концентрации аналитов в биоматериале за счет приема фармацевтических препаратов или индивидуальных особенностей режима. Важная роль в уменьшении этой неопределенности, по нашему мнению, принадлежит взаимодействию лаборатории и клиники. Один из путей уменьшения этого компонента КН заключается в объективизации адаптации. Для этой цели в настоящее время применяются лабораторные индексы, которые на основании расчета соотношения взаимозависимых показателей позволяют выявить предвестники патологии раньше, чем уровни аналитов выйдут за границы референтного диапазона. Актуальным является получение достоверных данных об индивидуальной биологической вариации аналитов. Перспективной представляется также условная персонализация периода, предшествующего взятию биоматериала (ППВБ). Это позволит выполнять лабораторное исследование в стандартных для конкретного пациента условиях, а постаналитическую оценку проводить относительно медицинской нормы (индивидуального переменчивого оптимума) в отличие от биостатистической, к которой относятся популяционные референтные интервалы.

На основе разработанной модели клинической неопределенности оценки состояния пациента предложен практический подход к оценке удовлетворенности потребителя (врача или пациента, выполняющих клиническую интерпретацию) качеством лабораторного результата. Была сформирована форма развернутого отчета о выполненном КИХИ, которая включает в себя следующие компоненты уменьшения КН:

1. название аналитического метода и контейнера для биологического образца;
2. предел количественного обнаружения (LoQ) аналитического метода;
3. информация об аналитической специфичности метода исследования, в том числе количественные сведения о химической интерференции;
4. неопределенность результата измерения и оценка достоверности аналитической динамики (с учетом предела внутрилабораторной прецизионности);
5. справочные сведения об индивидуальной биологической вариации аналита (без интеграции в коэффициент референсных различий);
6. графы для указания сведений о нестандартных условиях ППВБ;
7. комплекс известных референтных сведений (границы и медианы популяционных и стратифицированных референтных интервалов, пороговые значения и др.);
8. лабораторные индексы адаптации (при возможности).

Трансляция на этап клинической интерпретации всей известной информации об аналитическом качестве и вариантах постаналитической оценки результата позволяет получить обратную связь, которая необходима лаборатории для оценки и коррекции качества исследований. В качестве существенного преимущества развернутого отчета мы видим возможность использования его компонентов в зависимости от диагностического приоритета. Так, для выявления лиц без искомой патологии важны компоненты КН, входящие в зону обеспечения клинической специфичности. Если приоритетом является ранняя диагностика заболеваний и их профилактика, то значимость приобретают компоненты, повышающие клиническую чувствительность (рис. 1).

Реализуя принцип постоянного улучшения качества и уделяя профессиональное внимание путям уменьшения КН, в лаборатории ВЦЭРМ был получен ряд практических результатов. Так, был обоснован способ расчета неопределенности процесса измерения в условиях отсутствия информации о метрологической прослеживаемости, включая неопределенность значений калибраторов [2]; адаптированы к использованию в медицине алгоритмы сравнения результатов исследований, выполненных с использованием разных аналитических систем (методов и средств анализа) [3, 4], обоснована необходимость внутрилабораторной верификации условий подготовки биологического образца в условиях несогласованности и недостаточности данных о стабильности аналита [5, разработан способ объективной оценки адаптационных резервов организма [6].

В целом хочется отметить, что на сегодняшний день уже имеется разнообразие ресурсов СМК КЛД для повышения клинической информативности КИХИ. Это обусловлено сформированными предпосылками для ре-

шения обозначенной проблемы, а именно: глобализацией профессионального информационного пространства, доступностью многофункциональных клиничко-лабораторных и межлабораторных медицинских информационных систем, автоматизацией большинства лабораторных процессов, внедрением соответствующих ГОСТов, направленных на обеспечение метрологической прослеживаемости и сопоставимости результатов измерений, реализацией системы внешней оценки качества и практики межлабораторных сличений, а также возросшей компетентностью специалистов лаборатории в сфере СМК.

Тем не менее на пути совершенствования качества КИХИ специалисты КЛД столкнулись с рядом препятствий, которые, на наш взгляд, нуждаются в совместном обсуждении в профессиональном лабораторном сообществе. Так, необходимость сообщать неопределенность измерения при выдаче результата КИХИ побудила обращаться к производителям систем реагентов для получения информации о прослеживаемости калибраторов, а в лучшем случае – для получения данных об их неопределенности. К сожалению, такая информация для КЛД в настоящее время в большинстве случаев недоступна. Следовательно, сообщаемая неопределенность измерения является заниженной. Мы выражаем надежду, что введение в действие в РФ нового стандарта ИСО (ISO/TS 20914:2019 Medical laboratories – Practical guidance for the estimation of measurement uncertainty) по оцениванию неопределенности измерения медицинской лаборатории позволит поступательно решить обозначенную проблему, повысит значимость систем внешней оценки качества и межлабораторных сличений в нашей стране, послужит стимулом для внедрения доступных алгоритмов оценки аналитического качества в рутинную деятельность отечественных лабораторий. Полная оценка неопределенности требует метрологической прослеживаемости результатов измерений. Поэтому ожидаемым шагом на пути решения проблемы оценки неопределенности и обеспечения единства измерений в лабораторной медицине является формирование сети калибровочных (референтных) лабораторий, применяющих референтные методики измерений, аккредитованных на соответствие требованиям ISO 15195–2018 и уполномоченных Росздравнадзором обеспечивать прослеживаемость измерений в клиничко-диагностических лабораториях практического здравоохранения [7]. Шесть основных схем метрологической прослеживаемости до наивысшего доступного уровня описаны в ИСО 17511. При реализации этих схем целесообразно опираться на потенциал национальных метрологических институтов Росстандарта в той части, где они имеют международно признанные измерительные и калибровочные возможности, подтвержденные международными сличениями национальных эталонов.

Нами также было отмечено, что КЛД, как структурный элемент системы здравоохранения, не имеет возможности объективно оценивать качество ППВБ, а следовательно, им управлять и его улучшать. Возможно, целесообразной мерой совершенствования качества КИХИ станет делегирование полномочий оценки качества ППВБ лечащим врачом, принимающим клиническое решение.

Существенным фактором, затрудняющим гарантирование аналитического качества во многих клинико-лабораторных случаях, послужило отсутствие регламентированного права получать от производителя исчерпывающую информацию об аналитической специфичности и аналитической чувствительности метода, в том числе сведения об антигенном составе. Конечно, в этой проблеме присутствует компонент коммерческой тайны производителя. Однако в некоторых случаях информация была предоставлена, что оставляет надежду улучшить состояние этого проблемного вопроса путем межотраслевого согласования требований к объему и форме предоставления сведений о функциональных характеристиках метода.

Также, специалисты лаборатории столкнулись с несогласованностью между разными источниками справочных данных о стабильности аналитов, скудностью данных о количественной мере влияния химических интерферентов на результаты КИХИ, а также неполнотой сведений о биологической вариации аналитов. Перечисленная информация необходима КЛД для гарантирования аналитической надежности системы измерения, а также для повышения диагностической эффективности тестов на основании постаналитической оценки. Следовательно, представляются перспективными исследования, направленные на формирование и пополнение соответствующих информационных баз справочных данных.

Изложенный материал демонстрирует, что обеспечение и повышение диагностической эффективности количественных иммунохемилюминесцентных исследований представляет собой многокомпонентный и многофакторный процесс, требующий кооперации специалистов клинического и лабораторного медицинского профиля. К решению данной проблемы целесообразно привлекать специалистов, работающих над созданием систем реагентов и медицинского оборудования (производителей), а также метрологов, имеющих опыт обеспечения единства измерений (метрологической прослеживаемости результатов измерений) и оценивания точности (неопределенности) измерений. Перспективным в этой связи является комплексное и методически конкретизи-

рованное изложение аспектов обеспечения диагностической эффективности количественных иммунохемилюминесцентных исследований в лабораторных модулях клинических рекомендаций по различным клиническим профилям.

Список литературы / References

1. F.Cerriotti, P. Fernandez-Calle, G. G. Klee, G. Nordin, S. Sandberg, T. Streichert, J.-L. Vives-Corrons, M. Panteghini, on behalf of the EFLM Task and Finish Group on Allocation of laboratory tests to different models for performance specifications (TFG-DM). *Clin Chem Lab Med.* 2017;55(2):189–194. <https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0091>
2. Ковязина Н.А., Н.А. Алхутова, Н.А. Бардышева, Н.Н. Зыбина, Н.М. Калинина. От теории к практике. Роль контроля качества аналитического этапа исследований в повышении клинической информативности лабораторных тестов. Клиническая лабораторная диагностика. 2016. № 3. С. 188–192. Kovyazina N.A., Alkhutova N.A., Bardysheva N.A., Zybinina N.N., Kalinina N.M. From theory to practice. The role of quality control of analytical stage of studies in increasing clinical informativeness of laboratory tests. [Of teoriya k praktike. Rol kontrolya kachestva analiticheskogo etapa issledovaniy v povyshenii klinicheskoy informativnosti laboratornyy x testov]. *Russian clinical laboratory diagnostic.* 2016. Vol.3. P. 188–192. (in Russian)
3. Ковязина Н.А., Н.А. Алхутова. Лабораторные аспекты стандартизации преаналитического этапа исследования гомоцистеина. Справочник заведующего КДЛ. 2017 г. № 11. С. 20–32. Kovyazina N.A., N.A. Alkhutova. Laboratornyye aspekty standartizatsii preanaliticheskogo etapa issledovaniya gomocisteina. *Spravochnik zaveduyushchego KDL.* 2017 g. № 11. S. 20–32. (in Russian)
4. Алхутова Н.А., Ковязина Н.А., Бояркина М.П., Зыбина Н.Н., Калинина Н.М., Григорьева Т.А. «Процедура валидации как инструмент расширения диагностических возможностей лаборатории на примере тестов Ca125 «Access2», Beckman Coulter, США и белка HE4 «Fujirebio», Швеция в расчете индекса ROMA при диагностике эпителиального рака яичников» Части 2. Процедура валидации теста Ca125 «Access2», Beckman Coulter, США в расчете индекса ROMA. Медицинский алфавит. № 13. 2016. Т. 1. С. 50–56. Alkhutova N.A., Kovyazina N.A., Boyarkina M.P., Zybinina N.N., Kalinina N.M., Grigor'eva T.A. «Procedura validatsii kak instrument rasshirennya diagnosticheskikh vozmozhnostey laboratorii na primere testov Sa125 «Access2», Beckman Coulter, SSHA i belka HE4 «Fujirebio», SHveciya v raschete indeksa ROMA pri diagnostike epiteliyal'nogo raka yaichnikov» CHasti 2. Procedura validatsii testa Sa125 «Access2», Beckman Coulter, SSHA v raschete indeksa ROMA. *Medicinskij alfavit.* № 13. 2016. T. 1. S. 50–56. (in Russian)
5. Ковязина Н.А., Алхутова Н.А., Бардышева Н.А. Валидация преаналитического этапа исследования гастринов. Справочник заведующего КДЛ. 2017 г. № 1. С. 35–51. Kovyazina N.A., Alkhutova N.A., Bardysheva N.A. Validatsiya preanaliticheskogo etapa issledovaniya gastrinov. *Spravochnik zaveduyushchego KDL.* 2017 g. № 1. S.35–51. (in Russian)
6. Патент № 2679906 Российская Федерация. Способ оценки адаптационных резервов организма человека: № 2018119064: заявлено 23.05.2018: опубликовано 14.02.2019/ Алхутова Н.А., Ковязина Патент № 2679906 Rossijskaya Federatsiya. Sposob ocenki adaptatsionnykh rezervov organizma cheloveka: № 2018119064: zayavleno 23.05.2018: opublikovano 14.02.2019/ Alkhutova N.A., Kovyazina N.A.; patentoobladatel' FGBU VCERM im. A.M. Nikiforova MCHS Rossii. H.A.; patentoobladatel' FGBU VLEZPM im. A.M. Nikiforova MCHS Rossii.
7. В.Л. Эмануэль, А.Н. Пронин, М.С. Вонский, А.Г. Чуновкина, В.Н. Кустова, Т.С. Мартынова, И.В. Иванов. На пути к Концепции обеспечения единства измерений в лабораторной медицине. Мир измерений. 2 (192) 2021. С.22–26. V.L. Emanuel' V.L., A.N. Pronin, M.S. Vonskiy, A.G. Chunovkina, V.N. Kustova, T.S. Martynova, I.V. Ivanov. Towards the Concept of ensuring the uniformity of measurements in laboratory medicine. [Na puti k Konceptcii obespecheniya edinstva izmereniy v laboratornoj medicinie] *Mir Izmereniy (Measurements World).* 2 (192) 2021. S.22–26. (in Russian)

Статья поступила / Received 01.02.2022

Получена после рецензирования / Revised 15.02.2022

Принята в печать / Accepted 25.03.2022

Сведения об авторах

Ковязина Надежда Алексеевна, к.м.н., зав. лабораторией серологических исследований и аллергодиагностики отдела лабораторной диагностики¹. E-mail: nakovzn@gmail.com

Александр Сергей Сергеевич, д.м.н., проф., член-корреспондент РАН, директор¹. E-mail: medicine@nrcerm.ru

Чуновкина А.Г., д.тех.н., руководитель НИЛ^{2,3}. E-mail: A.G.Chunovkina@vniim.ru

Эмануэль Владимир Леонидович^{2,4}, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, директор научно-методического центра молекулярной медицины Минздрава России, академик Метрологической академии. E-mail: vladimirem1@gmail.com. ORCID: 0000-0002-2079-0439

¹ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

²ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им. Д.И. Менделеева», Санкт-Петербург, Санкт-Петербург, Россия

³Межрегиональное общественное объединение «Метрологическая академия», Россия

⁴ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Автор для переписки: Ковязина Надежда Алексеевна. E-mail: nakovzn@gmail.com

About authors

Kovyazina Nadezhda A., PhD Med, head of the Laboratory for Serological Research and Allergy Diagnostics, Dept of Laboratory Diagnostics¹. E-mail: nakovzn@gmail.com

Aleksanin Sergey Sergeevich, DM Sci (habil.), pofessor, Corresponding Member of RAS, director¹. E-mail: medicine@nrcerm.ru

Chunovkina A.G., D.Tech. Sic, head of the Research Laboratory^{2,3}. E-mail: A.G.Chunovkina@vniim.ru

Emanuel Vladimir L.^{2,4}, DM Sci (habil.), professor, head of Dept of Clinical Laboratory Diagnostics with a Course in Molecular Medicine, director of Scientific and Methodological Center for Molecular Medicine, academican of Metrological Academy. E-mail: vladimirem1@gmail.com. ORCID: 0000-0002-2079-0439

¹All-Russian Centre for Emergency and Radiation Medicine n.a. A.M. Nikiforov, Saint Petersburg, Russia

²All-Russian Scientific Research Institute for Metrology n.a. D. I. Mendeleev, Saint Petersburg, Russia

³Interregional Public Association 'Metrological Academy', St. Petersburg, Russia

⁴First Saint Petersburg State Medical University n.a. academican I.P. Pavlov, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author: Kovyazina Nadezhda A. E-mail: nakovzn@gmail.com

Для цитирования: Ковязина Н.А., Александрин С.С., Чуновкина А.Г., Эмануэль В.Л. Методологические аспекты обеспечения и повышения диагностической эффективности количественных иммунохемилюминесцентных исследований. Модель («клинической неопределенности» в составе лабораторных модулей клинических рекомендаций) и образовательных программ. *Медицинский алфавит.* 2022; (6): 30–34. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-30-34>.

For citation: Kovyazina N.A., Aleksanin S.S., Chunovkina A.G., Emanuel V.L. Methodological aspects of ensuring and improving diagnostic effectiveness of quantitative immunochemiluminescent studies. Model of 'clinical uncertainty' as part of laboratory modules of clinical recommendations and educational programs. *Medical alphabet.* 2022; (6): 30–34. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-30-34>.



Клинический случай криптогенного сепсиса под маской лимфопролиферативного заболевания

И. Б. Барановская, К. А. Котивец, И. П. Сысоева

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

РЕЗЮМЕ

В статье представлен клинический случай сепсиса, протекающий под маской лимфопролиферативного заболевания.

Цель исследования. Обосновать необходимость анализа всей совокупности лабораторных и клинических данных для интерпретации результатов автоматизированного анализа биологических жидкостей.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе Клинической краевой больницы № 2 г. Краснодара. В динамике на анализаторе Sysmex XN анализировались асцитическая жидкость и образцы крови пациента П. с подозрением на лимфопролиферативное заболевание. Результаты автоматизированного анализа выпота из брюшной полости сопоставлялись с результатами цитологических исследований, а также другими лабораторными и клиническими данными. Установлена информативная ценность лейкоцитарных показателей воспаления (реактивность нейтрофилов – Neut-RI, гранулярность нейтрофилов – Neut-GI), получаемых в режиме CBC+Diff анализатора Sysmex XN, для диагностики сепсиса. Согласно полученным данным, прогностическая ценность параметра автоматизированного анализа биологических жидкостей HF-BF (высокофлуоресцентные мононуклеары) в плане дифференциальной диагностики доброкачественной и злокачественной природы выпота носит вероятностный характер.

Заключение. Для верификации диагноза необходимо учитывать полный спектр показателей автоматизированного анализа биологических жидкостей, сопоставляя их с клиническими данными, а также результатами гематологических и биохимических тестов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: биологические жидкости, автоматизированный анализ, высокофлуоресцентные мононуклеары, реактивность нейтрофилов, гранулярность нейтрофилов, сепсис, лимфопролиферативное заболевание.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Clinical case of cryptogenic sepsis disguised as lymphoproliferative disease

I. B. Baranovskaya, K. A. Kotivets, I. P. Sysoeva

Regional Clinical Hospital No. 2, Krasnodar, Russia

SUMMARY

The article presents a clinical case of sepsis occurring under the "mask" of a lymphoproliferative disease.

The purpose of the study is to substantiate the need to analyze the entire set of laboratory and clinical data for the interpretation of the results of automated analysis of biological fluids.

Materials and methods. The study was conducted on the basis of the Clinical Regional Hospital No. 2 in Krasnodar (Russia). In dynamics, the ascitic fluid and blood samples of patient P. with suspected lymphoproliferative disease were analyzed on the Sysmex XN analyzer. The results of automated analysis of abdominal effusion were compared with the results of cytological studies, as well as other laboratory and clinical data. The informative value of leukocyte indicators of inflammation (neutrophil reactivity – Neut-RI, granularity of neutrophils – Neut-GI) obtained in the 'CBC+Diff' mode of the Sysmex XN analyzer for the diagnosis of sepsis has been established. According to the data obtained, the predictive value of the parameter of automated analysis of biological fluids HF-BF (high fluorescent mononuclear cells) in terms of differential diagnosis of benign/malignant nature of the effusion is probabilistic.

Conclusion. To verify the diagnosis, it is necessary to take into account the full range of indicators of automated analysis of biological fluids, comparing them with clinical data, as well as the results of hematological and biochemical tests.

KEY WORDS: biological fluids, automated analysis, highly fluorescent mononuclear cells, neutrophil reactivity, neutrophil granularity, sepsis, lymphoproliferative disease.

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

В настоящее время автоматизированный анализ выпотных жидкостей из серозных полостей (плевральная, асцитическая) является первым этапом скрининга на атипичные клетки. В этом плане диагностические возможности цитологической службы существенно расширились благодаря внедрению в рутинную лабораторную практику анализатора серии Sysmex XN, оснащенного блоком анализа биологических жидкостей. В результате исследования Sysmex XN производит ряд параметров, включая показатель HF-BF, – высокофлуоресцентные мононуклеары или клетки с высокой метаболической активностью (подозрительные на злокачественные).

Что касается cut-off – точки отсчета содержания HF-BF, начиная с которой можно судить о наличии неогене-

за, однозначного мнения нет. Например, по данным [1], проанализировавших 924 образцов выпотных жидкостей, при наличии злокачественного новообразования показатель HF-BF составил $24,8 \pm 72,5\%$ ($0,329 \pm 0,932 \times 10^9/\text{л}$), в то время как при доброкачественном выпоте значение HF-BF не превышало $4,4 \pm 8,1\%$ ($0,196 \pm 0,620 \times 10^9/\text{л}$). В соответствии с результатами работы [2] (анализ проанализировавших 1224 биологических образцов) оптимальное пороговое значение абсолютного содержания высокофлуоресцентных клеток HF-BF – $0,108 \times 10^9/\text{л}$ (чувствительность – 66,7%; специфичность – 93,6%). При этом авторы делают оговорку: указанный cut-off работает в условиях дополнительного использования клинической информации. Очевидно, несмотря на то что чувствитель-

ность показателя HF-BF недостаточно высока, чем выше содержание высокофлуоресцентных мононуклеаров, тем больше данных за неогенез. Высокий коэффициент стандартного отклонения свидетельствует о наличии выраженной «серой зоны», где одно и то же значение HF-BF может означать альтернативные прогнозы.

Итак, отсутствие в биологическом образце клеток с высокой метаболической активностью ($HF-BF \approx 0$) свидетельствует в пользу доброкачественного характера процесса. Любое значение $HF-BF \neq 0$ должно настораживать цитолога. Данное обстоятельство обусловлено тем, что популяция мононуклеаров HF-BF гетерогенна и может соответствовать как неопухольевым клеткам (пролиферирующий мезотелий, плазмоциты, реактивно-активированные лимфоциты), так и клеткам со злокачественным потенциалом. Необходимо иметь в виду возможность наличия у пациента системного воспалительного процесса, обуславливающего, в свою очередь, морфологические и качественные изменения лейкоцитарных популяций. Ниже мы представим клинический случай, демонстрирующий, что для интерпретации результатов автоматизированного анализа биологических жидкостей необходимо учитывать особенности метаболического фона пациента.

Цель исследования: обосновать необходимость учета всей совокупности лабораторных и клинических данных для интерпретации результатов автоматизированного анализа биологических жидкостей.

Материалы и методы

Исследование производилось на базе Клинической краевой больницы № 2 г. Краснодара.

В динамике на анализаторе Sysmex XN исследовались асцитическая жидкость и образцы крови пациента П. с подозрением на лимфопролиферативное заболевание.

Оценивались следующие показатели автоматизированного анализа биологических жидкостей: показатель общего цитоза (TC-BF, $10^9/л$); содержание лейкоцитов (WBC, $10^9/л$), количество эритроцитов (RBC-BF, $10^{12}/л$); абсолютное и относительное количество мононуклеарных клеток (MN-BF, $10^9/л$ и MN-BF%); абсолютное и относительное количество полисегментоядерных клеток (PMN-BF, $10^9/л$ и PMN-BF%); абсолютное и относительное количество мононуклеарных клеток с высокой флуоресценцией (HF-BF $10^9/л$ и HF-BF%); абсолютное и относительное количество нейтрофилов (NE-BF, $10^9/л$ и NE-BF%); абсолютное и относительное количество лимфоцитов (LY-BF, $10^9/л$ и LY-BF%); абсолютное и относительное количество моноцитов (MO-BF, $10^9/л$ и MO-BF%); абсолютное и относительное количество эозинофилов (EO-BF, $10^9/л$ и EO-BF%). Концентрация общего белка (г/л) в асцитической жидкости определялась на анализаторе «Белур».

Определялись лейкоцитарные показатели воспаления (анализатор Sysmex XN): реактивность нейтрофилов – Neut-RI, гранулярность нейтрофилов – Neut-GI.

Анализировались клинические данные, результаты цитологических исследований, пункции костного мозга, значения традиционных биохимических параметров.

Результаты и обсуждение

Пациент П. экстренно поступил в гастроэнтерологическое отделение ККБ № 2 г. Краснодара. Жалобы на слабость, утомляемость, снижение работоспособности, повышение температуры до субфебрильных величин, боли в эпигастрии, отсутствие аппетита. Считал себя больным в течение 2 недель (повышение температуры, сухой кашель). Самостоятельно принимал Амоксиклав 1000 мг два раза в день в течение 2 дней.

Инструментальные исследования: рентгенография – признаки плеврита, левосторонний малый гидроторакс; УЗИ ОБП (обзорное брюшной полости): гидроперитоний, лимфоаденопатия в области ворот печени, гепатомегалия, спленомегалия.

Общий анализ крови: лейкоциты – $6,77 \times 10^9/л$, эритроциты – $3,9 \times 10^{12}/л$, гемоглобин – 11,5 г/дл, тромбоциты – $84 \times 10^9/л$, нейтрофилы – 75%.

Биохимический анализ крови: Алт – 273,4 Ед/л, Аст – 123,8 Ед/л, ГГТ – 189 ЕД/л, общий билирубин – 25,5 мкмоль/л, СРБ – 62,57 мг/мл, ЩФ – 335 ЕД/л, общий белок – 53 г/л, альбумин – 32 г/л, прокальцитонин – 0,48 нг/мл.

Маркеры гепатита В и С – отрицательные. В диагностических и лечебных целях больному трижды бралась пункция асцитической жидкости. В *таблице* представлены результаты автоматизированного анализа биологических образцов.

В соответствии с данными автоматизированного анализа (см. *табл.*), в исследовании № 1 зарегистрировано высокое количество высокофлуоресцентных клеток – 57% ($0,258 \times 10^9/л$), что могло свидетельствовать о злокачественном характере выпота. Другие данные (низкий общий цитоз, невысокий общий белок) не вписывались в картину метастатического неогенеза. В дальнейшем (исследования № 2 и 3) показатель общего цитоза снижался параллельно с уменьшением содержания высокофлуоресцентных мононуклеаров (HF-BF↓). В образце № 3 количество высокофлуоресцентных клеток в 16 раз меньше, чем в образце № 1 (3,5%). Также в образцах № 2 и 3 не зарегистрировано эозинофилов, что также, по нашим данным, являлось косвенным признаком доброкачественного характера выпота [3].

Ниже приводятся результаты цитологических исследований № 1–3, выполненных цитологами КДЛ ККБ № 2, и экспертное заключение, касающееся исследования № 1.

Цитологическое заключение исследования № 1. Преимущественно разрозненно лежащие клетки злокачественного новообразования с низкой степенью дифференцировки. Дифференциально-диагностический ряд: 1) лимфома; 2) рак с низкой степенью дифференцировки.

Рисунок 1 представляет собой микрофотографию препарата, где на фоне умеренно выраженной нейтрофильной инфильтрации отмечаются лимфоцитоподобные клетки с выраженной атипией (нежный хроматин, высокое ядерно-цитоплазматическое соотношение, неровный контур ядер, вакуолизация ядра и цитоплазмы).

Препараты исследования № 1 проанализированы в Краевом онкологическом диспансере.

Результаты экспертного цитологического заключения. Элементы крови, элементы хронического воспаления, реактивно-измененный мезотелий. Встречаются клетки с выраженной дистрофией, подозрительные на злокачественные.

Цитологическое заключение исследования № 2. Выпот с незначительно-выраженной смешанной клеточностью

(нейтрофилы, лимфоциты, гистиоциты). Встречаются лимфоидные клетки с базофилией цитоплазмы, лопастными ядрами, дистрофическими изменениями. Вероятно, реактивно-измененные лимфоциты. Реактивно-воспалительный транссудат.

Цитологическое заключение исследования № 3. Выпот с умеренно выраженной клеточностью, представленной преимущественно лимфоцитарной инфильтрацией. Встречаются лимфоидные клетки с атипией ядер и цитоплазмы. Вероятно, реактивно-измененные лимфоциты. На *рисунке 2* представлена микрофотография препарата.

На *рисунке 2* – смешанно-клеточная популяция широкоплазменных неэпителиальных клеток. Часть из них, вероятно, – гистиоциты (бобовидное ядро). Другие – лимфоциты с признаками атипии (увеличенное ядерно-цитоплазматическое соотношение, неровный контур ядер, просматриваются нуклеолы).

Для исключения гемобластоза в Краевом онкологическом диспансере пациенту *П.* выполнена пункция костного мозга. Помимо ручного подсчета миелограммы, произведена иммунофенотипическая характеристика клеток костного мозга на проточном цитометре FC 500 с использованием моноклональных антител фирмы Beckman Coulter.

Заключение гематолога. Нео-клеток не обнаружено. Данных за гемобластоз нет.

Итак, с большой долей вероятности можно предполагать, что, несмотря на высокое значение показателя HF-BF (57%) в исследовании № 1 и результаты цитологического заключения асцитической жидкости (клетки злокачественного новообразования?), данных за неогенез у пациента *П.* нет. Однако остается открытым вопрос о природе высокофлуоресцентных клеток в образце № 1. Для ответа на вопрос проанализируем динамику избранных лабораторных показателей.

В первую очередь мы ориентировались на параметры воспаления Neut-RI (реактивность нейтрофилов) и Neut-GI (гранулярность нейтрофилов), которые анализатор Sysmex XN выполняет в рутинном режиме при дифференцировке лейкоформулы (режим SVC+Diff). В настоящее время накапливается все больше данных, свидетельствующих о том, что данные показатели (и особенно Neut-RI) могут использоваться в качестве косвенных маркеров бактериального инфицирования и (или) сепсиса.

Итак, при поступлении в стационар у пациента *П.* показатель реактивности нейтрофилов (Neut-RI), соответствующий их метаболической активности, составлял 49,2 Fl (норма: 36,0–62,4). К концу периода пребывания в стационаре он достиг 86,2 Fl. В то же время параметр гранулярности нейтрофилов (Neut-GI) – реакция на воспалительные процессы – за тот же временной интервал снизился с 156,7 до 153,7 SI (норма: 154,0–163,2). *Рисунок 3* демонстрирует динамику параметров Neut-RI и Neut-GI.

В соответствии с *рисунком 3* значение показателя Neut-RI увеличивалось по экспоненте, достигая критически высокой величины (Neut-RI=82,6 Fl) к концу периода наблюдения. При этом показатель гранулярности нейтрофилов снижался (Neut-GI↓). Высокое значение Neut-RI свидетельствовало о бактериальном инфицировании (бактериемия?). Отрицательная динамика Neut-GI могла быть обусловлена снижением фагоцитарной активности нейтрофильной популяции на фоне истощения функциональных резервов адаптации.

Таблица
Результаты автоматизированного анализа асцитической жидкости пациента *П.*

Показатели	Исследование № 1	Исследование № 2	Исследование № 3
TC-BF [#] , 10 ⁹ /л	0,711	0,278	0,238
WBC-BF, 10 ⁹ /л	0,453	0,254	0,230
RBC-BF, 10 ¹² /л	0,003	0,003	0,002
MN-BF [#] , 10 ⁹ /л	0,407	0,184	0,212
PMN-BF [#] , 10 ⁹ /л	0,046	0,070	0,018
MN-BF%	89,800	72,400	92,100
PMN-BF%	10,200	27,600	7,000
HF-BF [#] , 10 ⁹ /л	0,258	0,024	0,008
HF-BF%	57,000	9,400	3,500
NE-BF [#] , 10 ⁹ /л	0,045	0,070	0,018
NE-BF%	10,000	27,600	7,900
LY-BF [#] , 10 ⁹ /л	0,122	0,111	0,162
LY-BF%	26,900	43,700	70,400
MO-BF [#] , 10 ⁹ /л	0,285	0,073	0,050
MO-BF%	62,900	28,700	21,700
EO-BF [#] , 10 ⁹ /л	0,001	0,000	0,000
EO-BF%	0,200	0,000	0,000
Общий белок, г/л	18	14	23

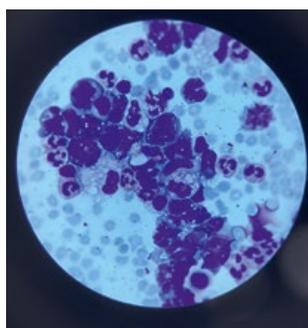


Рисунок 1. Микрофотография исследования 1.

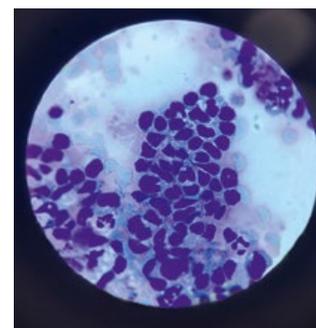


Рисунок 2. Микрофотография исследования 2.

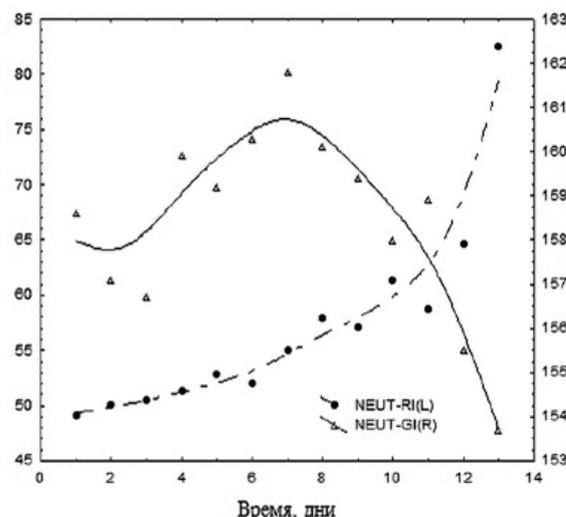


Рисунок 3. Динамика показателей реактивности и гранулярности нейтрофилов пациента *П.*

На *рисунке 4* представлена динамика ретикулоцитов (Ret) и дельта-гемоглобина (Dhe). Ретикулоциты – юные эритроциты; Dhe – разница между гемоглобином ретикулоцитов и эритроцитов. В норме содержание ретикулоцитов составляет 0,6–2,0%, а дельта-гемоглобин – около 2 пг.

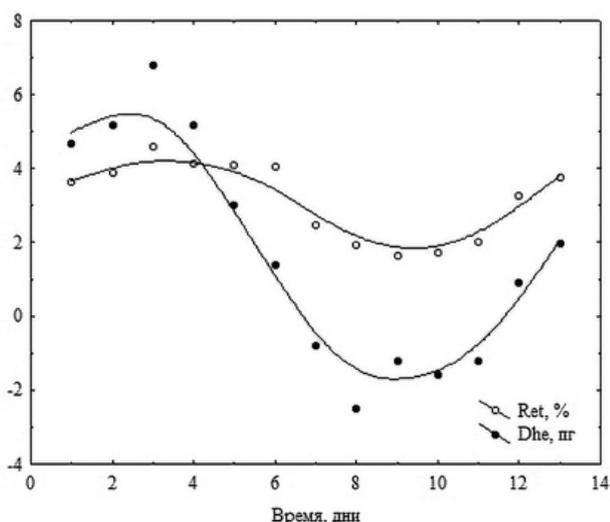


Рисунок 4. Динамика относительного количества ретикулоцитов и дельта-гемоглобина пациента П.

Из рисунка 4 следует, что содержание ретикулоцитов незначительно флуктуировало в течение анализируемого периода в диапазоне умеренно-повышенных величин ($\approx 3\%$). В то же время показатель дельта-гемоглобина характеризовался тенденцией к снижению, достигая в ряде случаев отрицательных значений. Повышенное содержание ретикулоцитов мы интерпретируем как маркер напряжения резервов адаптации к гипоксии (на фоне воспаления?). Отрицательные значения показателя Dhe могли свидетельствовать о выраженном воспалительном процессе (сепсисе?).

Анализ традиционных биохимических маркеров, в свою очередь, подтверждал развитие полиорганной недостаточности (сепсис?). На 14-й день наблюдения уровень общего белка снизился до 33,1 г/л; концентрация альбумина уменьшилась до 14 г/л; активность Алт и Аст увеличилась до 46,5 и 63,5 ЕД/л соответственно; уровни мочевины и креатинина возросли до 32,9 и 161 мкмоль/л соответственно; концентрация СРБ достигла 269,3 мг/л, а уровень прокальцитонина – 18,4 мкг/л.

При ретроспективном анализе истории болезни установлено, что *основной диагноз* был сформулирован следующим образом: цирроз печени неуточненной этиологии – класс С по Чайлд-Пью. Синдром печеночно-клеточной недостаточности – III стадия (коагулопатия, гипербилирубинемия, гипоальбунемия), портальная гипертензия (спленомегалия, дилатация печеночной и селезеночной вен). Асцит. Двусторонний гидроторакс. Гиперспленизм. *Сопутствующий диагноз*: криптогенный сепсис.

Сведения об авторах

Барановская Ирина Борисовна, к.б.н. E-mail: irina.baranovskaya@yandex.ru.

ORCID: 0000-0002-6188-1548

Котивец Кристина Андреевна, врач клинической лабораторной диагностики.

E-mail: kkoifivets23@mail.ru. ORCID: 0000-0002-0455-0386

Сысоева Ирина Петровна, зав. клинико-диагностической лабораторией.

E-mail: sysoeva_ip@mail.ru. ORCID: 0000-0002-0430-0241

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

Автор для переписки: Барановская Ирина Борисовна.

E-mail: irina.baranovskaya@yandex.ru

Для цитирования: Барановская И.Б., Котивец К.А., Сысоева И.П. Клинический случай криптогенного сепсиса под маской лимфопролиферативного заболевания. *Медицинский алфавит*. 2022; (6): 35–38. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-35-38>.

Заключение

Возвращаясь к исследованию асцитической жидкости № 1 (автоматизированный анализ), можно сделать вывод, что высокое значение HF-BF (57%) в данном случае было обусловлено реактивным выпотом, связанным с инфильтрацией серозной оболочки активированным В-лимфоцитам (и, возможно, гистиоцитами низкой степени зрелости). Активированные клетки лимфоидно-гистиоцитарного ряда настолько имитировали клетки опухоли, что результаты цитологического исследования, произведенные в двух различных лабораториях, не исключали неогенез. Обратим внимание, что косвенным признаком доброкачественного характера выпота служили относительно низкие общий цитоз и концентрация общего белка в биологическом образце. Использование дополнительного диагностического метода (иммунофенотипирование лимфоцитов, полученных при костномозговой пункции), анализ асцитической жидкости и лабораторных показателей в динамике позволили исключить метастатический неогенез.

Таким образом, приведенный выше клинический случай еще раз подтвердил, что прогностическая ценность показателя HF-BF (высокофлуоресцентные мононуклеары) в плане дифференциальной диагностики доброкачественной и злокачественной природы выпота носит вероятностный характер. Установлена информативная ценность лейкоцитарных показателей воспаления (реактивность нейтрофилов – Neut-RI, гранулярность нейтрофилов – Neut-GI), получаемых в режиме CBC+Diff анализатора Sysmex XN в качестве маркеров сепсиса. Таким образом, для верификации диагноза необходимо учитывать полный спектр показателей автоматизированного анализа биологических жидкостей (общий цитоз, наличие эозинофилов, концентрация белка) сопоставляя их с клиническими данными, а также результатами гематологических и биохимических тестов.

Список литературы / References

- Rastogi L., Dass J., Arya V., Kotwal J. Evaluation of high-fluorescence body fluid (HF-BF) parameter as a screening tool of malignancy in body fluids. *Indian J Pathol Microbiol*. 2019 Oct-Dec; 62 (4): 572–577. DOI: 10.4103/IJPM.IJPM_802_18.
- Favresse J., Boland L., Schellen M., Fervaille C., Wuestenberghs F., Camboni A., Chatelain B., Mullier F., Defour J.P., Jacqmin H. Two-site evaluation of a new workflow for the detection of malignant cells on the Sysmex XN-1000 body fluid analyzer. *Int J Lab Hematol*. 2020 Oct; 42 (5): 544–551. DOI: 10.1111/ijlh.13187.
- Барановская И.Б., Самохина О.Ф., Демидченко Г.А., Сысоева И.П. Оценка метастатического неогенеза в асцитическом выпоте путем автоматизированного анализа биологических жидкостей. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2019; 26. (1): 58–66.
Baranovskaya I.B., Samokhina O.F., Demidchenko G.A., Sysoeva I.P. Assessment of metastatic neogenesis in ascitic effusion by automated analysis of biological fluids. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2019; 26 (1): 58–66.

Статья поступила / Received 05.02.2022

Получена после рецензирования / Revised 10.03.2022

Принята в печать / Accepted 15.03.2022

About authors

Baranovskaya Irina B., PhD Bio. E-mail: irina.baranovskaya@yandex.ru.

ORCID: 0000-0002-6188-1548

Kotivets Christina A., doctor of clinical laboratory diagnostics.

E-mail: kkoifivets23@mail.ru. ORCID: 0000-0002-0455-0386

Sysoeva Irina P., head of clinical diagnostic laboratory. E-mail: sysoeva_ip@mail.ru.

ORCID: 0000-0002-0430-0241

Regional Clinical Hospital No. 2, Krasnodar, Russia

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

For citation: Baranovskaya I.B., Kotivets K.A., Sysoeva I.P. Clinical case of cryptogenic sepsis disguised as lymphoproliferative disease. *Medical alphabet*. 2022; (6): 35–38. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-35-38>



XN

Безграничные возможности
для вашей лаборатории

Знать больше. Действовать уверенно.
Реагировать быстро.



Диагностическое значение выявления аутоантител и современные автоматизированные методы их исследования

О. Ю. Ткаченко, С. В. Лапин, А. В. Мазинг, Т. В. Блинова,
А. Н. Мошникова, Д. А. Кузнецова, И. В. Холопова

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

РЕЗЮМЕ

Аутоантитела (ААТ) представляют собой иммуноглобулины человека, способные специфически связываться с антигенными эпитопами молекул собственного организма. Многие ААТ имеют диагностическое значение и являются серологическими маркерами, а также отражают основные механизмы потери толерантности и воспаления у пациентов с аутоиммунными заболеваниями. Метод непрямой иммунофлуоресценции (НИФ) был первым методом, применяемым для обнаружения ААТ. В течение 1970-х и 1980-х годов произошла эволюция в качественных методах с введением иммуноблоттинга или дот-блоттинга, а также были введены количественные иммунометрические анализы (ИМА) второго поколения (радиоиммуноанализ, иммуноферментный анализ, флюороиммунологический анализ, иммунохемилюминесцентный анализ). Растущий спрос на исследование ААТ в целом способствовал развитию автоматизированного и мультиплексного тестирования. Примером является мультипараметрическая автоматическая станция Chorus trio (Cormay Group, Швейцария), объединяющая ИФА метод и реакцию связывания комплемента (РСК) на одной платформе. К преимуществам данного прибора относятся широкая панель востребованных тестов, минимальные трудозатраты сотрудников лаборатории, возможность использования анализатора для выполнения анализов в режиме «cito», выполнение РСК-тестов в автоматическом режиме, высокая точность и воспроизводимость результатов, компактный дизайн анализатора. Мультипараметрическая автоматическая станция Chorus trio была внедрена в рутинную практику нашей лаборатории для диагностики аутоиммунных заболеваний в качестве подтверждающего тестирования. Таким образом, эффективность новых технологий, возможности автоматизации и повышение скорости и качества тестирования, а также обширная информация, предоставляемая с помощью инновационных мультипараметрических систем, принесет значительные преимущества для врачей клинической лабораторной диагностики и врачей-клиницистов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аутоантитела, иммуноферментный анализ, автоматизированные методы

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Diagnostic value of autoantibodies and novel automated methods of their detection

O. Yu. Tkachenko, S. V. Lapin, A. V. Mazing, T. V. Blinova,
A. N. Moshnikova, D. A. Kuznetsova, I. V. Kholopova

First St. Petersburg State Medical University n. a. academician I. P. Pavlov, St. Petersburg, Russia

SUMMARY

Autoantibodies (aAb) are human immunoglobulins that can specifically bind to antigenic epitopes of molecules of their own body. Most of AATs have diagnostic value and are serological markers, as well as reflect the main mechanisms of loss of tolerance and inflammation in patients with autoimmune diseases. Indirect immunofluorescence (IIF) was the first method used to detect aAb. During the 1970s and 1980s, there was an evolution in qualitative methods with the introduction of immunoblotting or dot blotting, and second generation quantitative immunometric assays (radioimmunoassay, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), fluoroimmunoassay, immunochemiluminescence assay) were suggested. The growing number of aAbs, as well as the growing request for aAb research in general, has fueled the development of automated and multiplex testing. An example is the Chorus trio multi-parameter automatic station (Italy), which combines the ELISA method and the complement fixation reaction (CFR) on one platform. The advantages of this device include a large panel of tests, minimal labor costs, the ability to use the analyzer to perform analyzes in the "cito" mode, perform CFR tests in an automatic mode, high accuracy and reproducibility of results, and a compact design of the analyzer. The Chorus trio multi-parameter automatic station has been implemented into the routine practice of our laboratory for the diagnosis of autoimmune diseases as a confirmatory test. Thus, the effectiveness of new technologies, the possibility of automation and an increase in the speed and quality of testing, as well as the extensive information provided by innovative multi-parameter systems, will bring significant benefits for clinical laboratory diagnostics and clinicians.

KEY WORDS: autoantibodies, enzyme-linked immunosorbent assay, automated methods.

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

Введение

Аутоантитела (ААТ) представляют собой иммуноглобулины человека, способные специфически связываться с антигенными эпитопами молекул собственного организма. Присутствие ААТ, высокоспецифичных для определенного типа клеток при органоспецифических аутоиммунных заболеваниях, таких как тиреоидит, сахарный диабет 1 типа

и первичный билиарный цирроз, свидетельствует о том, что синтез ААТ обусловлен воспалительными процессами в органах-мишенях. При системных аутоиммунных заболеваниях, таких как системная волчанка (СКВ), выработка ААТ индуцируется чрезмерным высвобождением внутриклеточных антигенов в результате апоптоза, а также

аномальными иммунными ответами В- или Т-лимфоцитов. Многие ААТ имеют диагностическое значение, а также отражают основные механизмы потери толерантности и воспаления у пациентов с аутоиммунными заболеваниями [1].

Хотя некоторые ААТ, вероятно, не обладают патогенными эффектами, прямое участие других ААТ в повреждении тканей/клеток наблюдается при многих аутоиммунных заболеваниях. К механизмам патологического воздействия ААТ относятся связывание с мембранами и последующее разрушение клеток, взаимодействие с рецепторами и последующая модификация их биологической активности, формирование иммунных комплексов в тканях (локальное отложение или циркуляция), перекрестные реакции между внутриклеточными и мембранными антигенами, перемещение внутриклеточного антигена к мембране после повреждения или активации клетки [2].

Важно отметить, что любая человеческая сыворотка содержит широкий спектр ААТ, который в норме представлен так называемыми природными или натуральными ААТ, которые играют важную роль в первичной линии защиты от инфекции, в развитии профиля распознаваемых антигенов и гомеостазе иммунной системы [3]. Выявление ААТ в низком титре без клинической значимости у здоровых людей или лиц с другими заболеваниями неаутоиммунного генеза – относительно частое явление. Также титры некоторых ААТ например, антифосфолипидные антитела (АФА), повышаются при инфекционных заболеваниях, и их синтез носит транзиторный характер. При обнаружении подобных ложноположительных результатов разработаны ряд подходов и алгоритмов для их корректной интерпретации [4].

Таким образом, ААТ, обнаруженные в образцах сыворотки крови пациентов с аутоиммунными заболеваниями, представляют собой гетерогенную смесь полиреактивных низкоаффинных природных ААТ класса IgM и монореактивных высокоаффинных патогенных ААТ классов IgG и IgA [5]. Методы, обычно используемые в лабораторной диагностике, не способны различать эти два типа ААТ, так что дифференциальная диагностика проводится на основе истории болезни пациента, симптомов и уровней (титров) ААТ в сыворотке крови. Аутоиммунные заболевания характеризуются наличием более высоких титров ААТ. Некоторые ААТ имеют важное клиническое значение в качестве ранних индикаторов заболевания и могут обнаруживаться задолго до клинических проявлений [6, 7]. Например, антитела к центромерным белкам могут выявляться задолго до постановки диагноза системной склеродермии, а антитела к Scl-70 (топоизомераза I) ассоциированы с развитием легочным фиброзом и более высоким уровнем смертности [8].

Таким образом, в качестве серологических маркеров аутоиммунных заболеваний все чаще используется спектр ААТ. Это особенно актуально сегодня, когда новые диагностические платформы (мультиплексные иммуноферментный анализ, иммуноблоттинг, хемилуминисцентный анализ) достигли более высокой чувствительности, чем

устаревшие технологии. Следовательно, появляющиеся в настоящее время новые методы исследования позволяют выявлять более широкие профили ААТ и, таким образом, меняют подходы к диагностике и терапии аутоиммунных заболеваний.

Семейства аутоантител

Так как ААТ связываются с молекулами сходной структуры или молекулами в составе одной ткани, клетки, органеллы или молекулярного комплекса, их делят на семейства (*табл. 1*). Диагноз системных заболеваний соединительной ткани (СЗСТ) основывается на клинических данных и результатах серологических исследований, среди которых ключевую роль играет исследование антител к ядерным и цитоплазматическим антигенам, так называемых антинуклеарных антител (АНА)[9]. Большинство АНА, вероятно, не играют роль в патогенезе аутоиммунных воспалительных процессов СЗСТ, но могут быть ассоциированы с поражением органов-мишеней и тяжестью заболевания. По данным специального комитета по иммунологическому тестированию Американского колледжа ревматологии, исследование АНА крайне информативно для диагностики системной красной волчанки (СКВ) и системной склеродермии (ССД), в некоторой степени информативно для диагностики первичного синдрома Шегрена (СШ) и полимиозита/дерматомиозита (ПМ/ДМ), очень важно для мониторинга или прогноза ювенильного идиопатического артрита (ЮИА) (для стратификации риска увеита), и значимо для диагностики лекарственной волчанки, смешанного заболевания соединительной ткани (СЗСТ) и аутоиммунного гепатита [10]. АНА имеют множество антигенных мишеней, включая SSA/Ro, SSB/La, центромеры, двуспиральную ДНК, Jo1, RNP, Sm, топоизомеразы, гистоны, gp210, sp100, PM-Scl, OJ. Антинейтрофильные антитела (АНЦА) представляют собой группу ААТ, которые направлены против цитоплазматических антигенов нейтрофильных гранулоцитов. Выделяют цитоплазматические АНЦА (ц-АНЦА), которые направлены против протеиназы-3 и ассоциированы с гранулематозом с полиангиитом (болезнь Вегенера), перинуклеарные АНЦА (п-АНЦА), направленные против миелопероксидазы и связанные с эозинофильным гранулематозом с полиангиитом (синдром Черджа – Стросса [11]. Нетипичные п-АНЦА часто выявляются при воспалительных заболеваниях кишечника и аутоиммунной патологии печени [12]. Антифосфолипидные антитела всегда встречаются при антифосфолипидном синдроме (АФС), который клинически проявляется рецидивирующими артериальными/венозными тромбозами и/или патологией беременности [13]. В соответствии с классификационными критериями 2006 года, стойко персистирующие средние и высокие уровни ААТ, а также положительный волчаночный антикоагулянт при повторном выявлении через 12 недель позволяют поставить диагноз АФС [14]. Антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) и модифицированному цитруллинированному виментину (АМЦВ) характеризуются очень высокой специфичностью и широко используются для диагностики ревматоидного

Таблица 1
Аутоантитела и их клинические ассоциации

Семейство антител	Аутоантиген	Клинические ассоциации
Антиядерные антитела	дсДНК	СКВ с почечной недостаточностью
	RNP	смешанное заболевание соединительной ткани, синдром Шарпа, 30% больных с СКВ, 10% случаев ССД
	Scl-70 (топоизомераза I)	ССД, ассоциированы с неблагоприятным течением
	Центромеры	CREST-синдром при ССД
	tРНК-синтетазы: гистидил (Jo-1), треонил, аланил, изолейцил, глицил, лейцил, аспартил и др.	Миозит с «антисинтетазным синдромом» (миозит, интерстициальное заболевание легких, воспалительный артрит, феномен Рейно, руки механика)
	SRP	Миозит с тяжелым течением
Антинейтрофильные антитела	Ro60 (SS-A)/ La (SS-B), Ro52	Сухой синдром при первичном или вторичном СШ, неонатальная волчанка, блокада сердца
	Миелопероксидаза	Микроскопический полиангиит (70–90%), быстро прогрессирующий олигоиммунный гломерулонефрит с полулуниями (60%), синдром Чарга-Стросса (30–50%), синдром Гудпасчера (20–30%), редко при гранулематозе Вегенера, у больных ВЗК
	Протеиназа-3	Активный гранулематоз Вегенера (90–98%)
Антинейтрофильные антитела	Эластаза, LAMP-2, лактоферрин, белок BP1, катепсин G	ВЗК, аутоиммунные заболевания печени, аутоиммунный панкреатит, редко – системные васкулиты и др. СЗСТ, муковисцидоз, активный фокально-некротизирующий гломерулонефрит
	Циклический цитруллинированный пептид, модифицированный цитруллинированный виментин	Ревматоидный артрит, редко – псориатический артрит
Антифосфолипидные антитела	Кардиолипин Бета-2-гликопротеин	Антифосфолипидный синдром, СКВ, СЗСТ
Антимитохондриальные антитела	PDC-E2/M2, BCOADC-E2, OGDC-E2, E1a субъединица PDC, E3BP	Первичный билиарный цирроз, ССД, редко при СЗСТ
Антитела к щитовидной железе	Тиреопероксидаза	Тиреоидит Хашимото, диффузный токсический зоб (болезнь Грейвса/Базедова), микседема
	Антитела к рецептору тиреотропного гормона	Диффузный токсический зоб (болезнь Грейвса/Базедова)
Антитела островковым клеткам поджелудочной железы	Две изоформы глутамат-декарбоксилазы – GAD 65kDa и GAD 67kDa, островковый антиген 2 (IA-2)	Сахарный диабет I типа, скрытый аутоиммунный диабет взрослых (LADA), гестационный диабет у беременных, тиреоидит Хашимото, болезнь Грейвса, первичная надпочечниковая недостаточность, синдром «ригидного человека», паранеопластическая мозжечковая атаксия, эпилепсия, миастения, лимбический энцефалит, паранеопластический энцефалит и синдром Ламберта-Итона.
Антиганглиозидные антитела	GM1, GM2, GM3, GM4, GD1a, GQ1b, GD2, GD3, GT1a, GT1b, GD1b	Острая моторная аксональная невропатия, синдром Гийена-Барре
Антитела к ацетилхолиновому рецептору	Альфа-субъединица никотинного ацетилхолинового рецептора	Генерализованная форма (80–90% больных), паранеопластическая (70–80% больных), окулярная (40–50% больных) миастения
Антинейрональные антитела	NMDA, LG1, CASPR2, Hu, Ri, Yo и др.	Лимбический энцефалит, церебеллярная дегенерация, подострая сенсорная нейропатия, автономная нейропатия, паранеопластический энцефаломиелит, паранеопластическая сенсорная нейропатия, паранеопластическая мозжечковая дегенерация, паранеопластическая атаксия опсоклонус-миоклонус, синдром «ригидного человека»
Антитела к аквапору 4	Аквапорин 4 – белок семейства аквапоринов, преобладающий в водных каналах клеток мозга	Оптиконеуромиелит, азиатский (оптикоспинальный) тип рассеянного склероза
Антитела к эндомизию	Тканевая трансглутаминаза 2 типа	Целиакия, герпетиформный дерматит (дерматит Дюринга)
Антитела к базальной мембране клубочка	Неколлагеновый участок альфа 3 цепи коллагена IV типа	Синдром Гудпасчера (пневмонит и быстро прогрессирующий гломерулонефрит), быстро прогрессирующий гломерулонефрит и системный васкулит
Антитела к десмосомам кожи	Десмоглеин-1 и десмоглеин-3	80–90% больных вульгарной пузырчаткой
Антитела к базальной мембране кожи	Гемидесмосомы, белки BP180 и BP210	70–75% больных буллезным пемфигоидом, у 30–60% больных рубцующимся пемфигоидом, приобретенный буллезный эпидермолиз и пемфигоид беременных

Примечание: СКВ – системная красная волчанка, дсДНК – двуспиральная ДНК, ССД – системная склеродермия, СЗСТ – системные заболевания соединительной ткани, ВЗК – воспалительные заболевания кишечника.

артрита (РА). Эти ААТ, как и ревматоидный фактор, могут быть идентифицированы за 10 лет до постановки диагноза, и их присутствие ассоциировано с более агрессивным течением заболевания и худшим прогнозом.

Антимитохондриальные антитела (АМА) направлены против антигенных компонентов митохондрий в различных органах и тканях человека и являются маркером первичного билиарного цирроза (ПБЦ), хронического

холестатического заболевания печени, поскольку они обнаруживаются примерно в 90–95 % случаев задолго до клинических проявлений [15]. ААТ к щитовидной железе связываются с компонентами щитовидной железы, включая тиреоидную пероксидазу (ТПО), рецептор тиреотропного гормона и тиреоглобулин. Эти ААТ ассоциированы с диффузным токсическим зобом (болезнь Грейвса) и тиреоидитом Хашимото [16, 17]. ААТ к островковым клеткам поджелудочной железы тесно связаны с развитием диабета 1 типа [18]. Появление ААТ к одному или нескольким аутоантигенам – GAD 65, IA-2 или инсулину – свидетельствует об аутоиммунном генезе уничтожения бета-клеток.

Антиганглиозидные антитела направлены против собственных ганглиозидов, включая GD3, GM1 и GQ1b, и ассоциированы с синдромом Гийена – Барре [19]. Как правило, ААТ класса IgG к ганглиозидам возникают после острых инфекций, особенно энтерита, вызванного *Campylobacter jejuni*. Кроме того, хронические аутоиммунные невропатии связаны с антителами IgM, направленными против многих гликолипидов, включая ганглиозиды. Обнаружение ААТ к нервно-мышечному никотиновому рецептору ацетилхолина (аАХР) оказалось полезным при диагностике миастении гравис (МГ). Пациенты с МГ без аАХР часто имеют антитела к другим белкам нервно-мышечного соединения, таким как мышечно-специфическая киназа, которая выявляется примерно у 70 % серонегативных пациентов с МГ [20]. Антитела к поверхностным/синаптическим рецепторам нейрональных клеток (NMDA, LG1, CASPR, AMPA, GABA и др.) вызывают дисфункцию нейронов путем прямого взаимодействия со своим антигеном-мишенью и являются причиной развития аутоиммунных энцефалитов. Энцефалит, вызванный антителами к NMDA-рецептору, является наиболее частым ААТ-опосредованным энцефалитом и второй по частоте причиной иммуно-опосредованного энцефалита после острого диссеминированного энцефаломиелимита [21]. Анти-LG1 ассоциированный энцефалит преимущественно встречается у пожилых мужчин (средний возраст 60 лет), у которых развиваются потеря памяти, спутанность сознания и судорожный синдром. Антитела против внутриклеточных нейрональных антигенов (Hu, PNMA, Ri, амфифизин) часто выявляются при паранеопластических энцефалитах и могут встречаться при мелкоклеточных новообразованиях легкого и нейроblastоме, карциноме яичка и карциноме молочных желез. Антитела к Hu-антигену направлены против РНК-содержащих антигенов ядер нейронов I типа центральной и периферической нервной системы и ассоциированы с лимбическим энцефалитом. Антитела к Ri антигену направлены к ядрам нейронов II типа центральной нервной системы, и их выявление характерно для пациентов с энцефалитом ствола мозга, мозжечковой дегенерацией и нарушением мышечного тонуса (опсоклонус-миоклонус). Антитела к аквапорину 4 являются высокоспецифичным маркером оптиконефритомиелимита, клиническая специфичность составляет 90–98 %.

Антитела к эндомизию, основным антигеном которых является тканевая трансглутаминаза 2 типа, являются чувствительным и специфическим серологическим маркером целиакии (рекомендации Европейского общества педиатрической гастроэнтерологии, гепатологии и питания [ESPGHAN, 2019]) и клинические рекомендации Союза педиатров России [2016]) [22]. Антитела к эндомизию отмечаются практически у всех пациентов с атрофией ворсинок тонкого кишечника, то есть клинически значимой целиакией, а также у лиц с герпетиформным дерматитом (дерматитом Дюринга). Антитела к базальной мембране клубочка (БМК) направлены против неколлагенового участка альфа-3 цепи коллагена IV типа, антиген которого может быть обнаружен в базальной мембране почек и легких. Выявление антител к БМК является диагностическим маркером для синдрома Гудпасчера (пневмонит и быстро прогрессирующий гломерулонефрит). Основной причиной возникновения пузырчатки является наличие ААТ против основных гликопротеинов десмосом – десмоглеина-1 и десмоглеина-3. Повышение титров антител к базальной мембране кожи отмечается при буллезном пемфигоиде (в крови 70–75 % больных), рубцующемся пемфигоиде (у 30–60 % больных), приобретенном буллезном эпидермолизе (в 100 % случаев) и пемфигоиде беременных (в 25 % случаев) [23]. При пемфигоиде появляются антитела к гемидесмосомам, функция которых состоит в связывании эпителиальных клеток с внеклеточным матриксом. Основными антигенами ААТ к базальной мембране кожи являются белки BP180 и BP210. Таким образом, выявление ААТ является ключевым аспектом диагностики большинства орган-специфических аутоиммунных заболеваний и СЗСТ.

Методы детекции аутоантител

Метод непрямой иммунофлюоресценции (НРИФ) был первым методом, применяемым для обнаружения ААТ. Помимо НРИФ, к методам первого поколения, относятся другие качественные иммунохимические методы (иммунодиффузия, фиксация комплемента, пассивная агглютинация, иммуноэлектрофорез, иммунопреципитация), разработанные в 1957 году («золотой год иммунодиагностики») [24–27]. В течение 1970-х и 1980-х годов произошла эволюция в качественных методах с введением иммуноблоттинга или дот-блоттинга, а также были введены количественные иммунометрические анализы второго поколения (радиоиммуноанализ, иммуноферментный анализ, флюороиммунологический анализ, иммунохемилюминесцентный анализ). Включение измерения ААТ в диагностические критерии, а также развитие биоинженерии и разработка протеомных технологий привели к наступлению новой эры в измерении ААТ с экспоненциальным увеличением аналитической способности и соответствующим увеличением объема запросов на исследования. Эта эволюция привела к отказу от методов иммуноанализа 1-го и 2-го поколения в пользу автоматизированных методов иммуноанализа 3-го поколения (рис. 1). Далее в нашем обзоре мы рассмотрим ключевые особенности моно- и мультиплексных методов.



Рисунок 1. Эволюция технологий обнаружения аутоантител: роль автоматизации.

Иммуноферментный анализ

Иммуноферментный анализ (ИФА) представляет собой высокочувствительный и быстрый метод обнаружения ААТ. Метод ИФА был разработан путем модификации радиоиммуноанализа, что было достигнуто путем конъюгирования меченого антигена и антитела с ферментами, а не с радиоактивным йодом. Обнаружение ААТ осуществляется путем образования комплекса антиген-антитело для получения измеримого результата. ИФА тестирование проводят в полистироловых 96-луночных планшетах. Процедура ИФА тестирования заключается в том, что сыворотки инкубируют в лунках, предварительно покрытых очищенным антигеном, и связанные антитела выявляют с помощью конъюгированных с ферментом антител против иммуноглобулина человека с последующей цветовой визуализацией с соответствующим ферментным субстратом. Коммерческая доступность наборов ИФА позволяет быстро обрабатывать большое количество клинических образцов при умеренно низких затратах. Однако вследствие низкого уровня стандартизации существует множество возможных источников ошибок, например, высокие фоновые сигналы, высокая межпостановочная вариабельность, концентрация ААТ или антигена, взаимодействие «антиген – аутоантитело», состав буфера, время и температура инкубации или стадии промывки. Поскольку при разработке ИФА тест-систем могут использоваться денатурированные аутоантигены, данный метод может давать ложноположительные результаты. Хотя второе многоцентровое европейское исследование показало, что методы ИФА улучшаются, Bizzaro et al. полагает, что проблема ложноположительных результатов в ИФА по-прежнему широко распространена [28, 29]. Было также обнаружено, что методы ИФА пропускают сыворотки с положительным АНФ в низком титре, а также сыворотки со специфическими АНА. Таким образом, в настоящее время тесты ИФА могут быть адекватными для скрининга сывороток только со средними и высокими титрами. Эти обстоятельства стимулировали разработку более простых и высокопроизводительных анализов, которые можно автоматизировать и стандартизировать.

Иммуноблоттинг

Вестерн-блот был разработан в 1980-х годах и был крайне информативен для выявления спектра ААТ. В этом методе сначала ядерный и цитоплазматический антигены разделяются в соответствии с их молекулярной массой с помощью электрофореза в полиакриламидном геле, а затем переносятся на мембрану или стрипы. Хотя этот метод считается высокочувствительным к выявлению антител к растворимым антигенам, антитела против конформационных эпитопов не обнаруживаются [30]. *Метод дот-блоттинга* – это качественный анализ, в котором используются полоски нитроцеллюлозы, на которых очищенные антигены наносятся на заранее расположенные точки. Полоски инкубируют с 50-кратным разведением сыворотки пациента с последующей инкубацией с конъюгатом, содержащим щелочную фосфатазу и протеин А. Наконец, тест-полоски окрашивают 5-бром-4-хлор-3-индолилфосфатом. Положительные полоски окрашиваются в виде синего пятна [48]. *Метод лайн-блоттинга* – это еще один качественный тест, который выявляет реактивность антител к антигенам, нанесенным в виде отдельных линий на мембрану. Как и дот-блот, лайн-блот прост в использовании, требует меньше времени на обработку результатов и сравним с ИФА по чувствительности и специфичности. Возможна также автоматизация и стандартизация интерпретации результатов [31].

Автоматизированные методы исследования аутоантител

Мультиплексные методы исследования ААТ – это анализы, которые могут обнаруживать множество специфических ААТ за один запуск, тогда как традиционный ИФА использует один антиген для обнаружения только одной специфичности ААТ [32]. Таким образом, в мультиплексном анализе комбинация рекомбинантных/нативных антигенов или антигенного пептида используется для одновременного обнаружения комбинации специфических ААТ. Примером является мультипараметрическая автоматическая станция Chorus trio (Италия), объединяющая ИФА метод и реакцию связывания комплемента (РСК) на одной платформе. Данная методика позволяет выполнять более 30 тестов в ИФА формате для диагностики аутоиммунных заболеваний, а также более 20 тестов в РСК формате для диагностики инфекционных заболеваний. Производительность данной аналитической системы составляет 30 тестов. Автоматическая станция Chorus trio допускает любую комбинацию тестов, включая одновременное выполнение РСК и ИФА. Готовый к использованию стрип для проведения одного теста содержит все необходимые реагенты (рис. 2). Пробоподготовка в ИФА-тестах не требуется: в стрип вносят цельную сыворотку. В РСК-тестах необходима только тепловая инактивация собственных компонентов комплемента сыворотки. В зависимости от теста, результаты анализа представляются в качественном, полуколичественном и количественном форматах. Высокую точность исследования обеспечивают содержащие все необходимые реагенты

стрипы, отсутствие пробоподготовки (в стрип вносят цельную сыворотку), точное дозирование проб и реагентов благодаря наличию датчика уровня и мониторингу добавления пробы, калибровочные пробы, контрольные образцы. Таким образом, к преимуществам данного прибора относятся широкая панель востребованных тестов, минимальные трудозатраты сотрудников лаборатории, возможность использования анализатора для выполнения анализов в режиме *cito*, выполнение РСК-тестов в автоматическом режиме, высокая точность и воспроизводимость результатов, компактный дизайн анализатора.

Мультипараметрическая автоматическая станция Chorus trio была внедрена в рутинную практику нашей лаборатории для диагностики аутоиммунных заболеваний в качестве подтверждающего тестирования. Были обследованы 67 больных с ССД, 31 больной с синдромом Шегрена (СШ), а также 30 здоровых доноров. Для определения антител к Scl-70, CENP-B, SSa и SSB с помощью метода лайн-блоттинга использовались диагностические наборы фирмы Euroimmun (Германия). Также были измерены антитела к Scl-70, CENP-B, SSa и SSB с использованием реагентов Chorus (Италия) на платформе Chorus trio. Аналитические характеристики представлены в таблице 2. Для оценки сходимости тест-систем разных производителей был использован коэффициент Каппа Коэна. Коэффициент < 0 расценивался как «нет сходимости», между 0,00 и 0,20 – «слабая сходимость», между 0,21 и 0,40 – «низкая сходимость», между 0,41 и 0,60 – «удовлетворительная сходимость», между 0,61 и 0,80 – «хорошая сходимость», между 0,81 и 1,00 – «почти идеальная сходимость». При сопоставлении результатов лайн-блоттинга и реагентов Chorus значения каппа/коэффициента Коэна составили 1,00 для aScl-70, 1,00 – для aCENP-B и продемонстрировали «почти идеальную сходимость». В группе СШ сходимость тест-систем для aSSa и aSSB составила 0,737 и 0,345 соответственно, что свидетельствует о хорошей и удовлетворительной сходимости соответственно.



1. Лунка для образца
2. Лунка с конъюгатом
3. Лунка с разбавителем
4. Лунка с субстратом
5. Лунка без антител
6. Лунка с антителами
7. Свободная лунка



Рисунок 2. Стрип для проведения одного теста на мультипараметрической автоматической станции Chorus trio (Италия).

Таблица 2
Аналитические характеристики тест-систем CHORUS

Реагент	ЧВ, %	95% ДИ	СП, %	95% ДИ	ОППР	95% ДИ	ОПОР	95% ДИ
Пациенты с системной склеродермией (n=67)								
a-Scl-70	16,42	8,49–27,48	100,00	96,38–100,00	–	–	0,84	0,75–0,93
aCENPB	35,82	24,47–48,47	100,00	96,38–100,00	–	–	0,64	0,54–0,77
Пациенты с синдромом Шегрена (n=31)								
aSSa	77,42	58,9–90,41	95,34	83,47–99,36	–	–	0,87	0,77–0,99
aSSB	46,67	28,34–65,67	97,50	86,84–99,94	–	–	0,97	0,94–1,00

Примечание: ЧВ – диагностическая чувствительность, СП – диагностическая специфичность, ДИ – доверительный интервал, ОППР – отношение правдоподобности положительного результата исследования, ОПОР – отношение правдоподобности отрицательного результата исследования, a-Scl-70 – антитела к Scl70, aCENPB – антитела к CENP B, aSSa – антитела к SSa-антигену, aSSB – антитела к SSB-антигену.

Заключение

Спектр лабораторных методов, используемых для определения ААТ, резко изменился за последние десятилетия. Первые лабораторные методы определения ААТ (гемагглютинация, иммуноэлектрофорез) отличаются трудоемкостью и низкой скоростью выполнения, имеют более высокую диагностическую специфичность, но более низкую диагностическую чувствительность, чем современные подходы, основанные на твердофазных тестах (ИФА, лайн-блот). Современные методы позволяют количественно измерить уровни ААТ и лучше подходят для диагностики и мониторинга заболеваний. Новые твердофазные иммунологические исследования, создавшие основу для различных коммерческих платформ, были разработаны и внедрены в рутинные лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний. Следующим этапом ААТ тестирования стало развитие мультиплексных технологий, которые позволяют улучшить и ускорить лабораторное обследование. В ближайшем будущем будут внедрены дополнительные технологии, а разработка новых рекомбинантных белков еще больше расширит число выявляемых аналитов. Эффективность данных технологий, возможности автоматизации и повышение скорости и качества тестирования, а также обширная информация, предоставляемая с помощью инновационных мультипараметрических систем, принесет значительные преимущества для врачей клинической лабораторной диагностики и врачей-клиницистов.

Список литературы / References

1. Elkon K., Casali P. Nature and functions of autoantibodies. *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.* 2008; (4): 491–498. <https://doi.org/10.1038/ncprheum0895>.
2. Ludwig R. J., Vanhoorelbeke K., Leyboldt F., Kaya Z., Bieber K., McLachlan S.M., Komorowski L., Luo J., Cabral-Marques O., Hammers C.M., Lindstrom J.M., Lamprecht P., Fischer A., Riemekasten G., Tersteeg C., Sondermann P., Rapoport B. t., Wandinger K.-P., Probst C., Beidag A. El, Schmidt E., Verkman A., Manz R.A., Nimmerjahn F. Mechanisms of Autoantibody-Induced Pathology, *Front. Immunol.* 2017; (8). doi:10.3389/fimmu.2017.00603.
3. Pashnina I. A., Krivolapova I. M., Fedotkina T. V., Ryabkova V. A., Cheresheva M. V., Churilov L. P., Chereshev V. A. Antinuclear Autoantibodies in Health: Autoimmunity Is Not a Synonym of Autoimmune Disease, *Antibodies.* 2021; (10):9. doi:10.3390/antib10010009.
4. Pengo V., Banzato A., Denas G., Jose S.P., Bison E., Hoxha A., Ruffatti A. Correct laboratory approach to APS

- diagnosis and monitoring, *Autoimmun. Rev.* 2013; (12): 832–834. doi:10.1016/j.autrev.2012.11.008.
5. Hang L., Nakamura R.M., Tubbs R. Current Concepts and Advances in Clinical Laboratory Testing for Autoimmune Diseases, *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 1997; (34):275–311. <https://doi.org/10.3109/10408369708998095>.
 6. Bizzaro N., Tozzoli R., Shoenfeld Y. Are we at a stage to predict autoimmune rheumatic diseases? *Arthritis Rheum.* 2007; (56): 1736–1744. <https://doi.org/10.1002/art.22708>.
 7. Fritzler M. J. Challenges to the use of autoantibodies as predictors of disease onset, diagnosis and outcomes, *Autoimmun. Rev.* 2008; (7):616–620. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2008.06.007>.
 8. Shero J., Bordwell B., Rothfield N., Earnshaw W. High titers of autoantibodies to topoisomerase I (Scl-70) in sera from scleroderma patients, *Science.* 1986; (231): 737–740. <https://doi.org/10.1126/science.3003910>.
 9. Agmon-Levin N., Damoiseaux J., Kallenberg C., Sack U., Witte T., Herold M., Bossuyt X., Musset L., Cervera R., Plaza-Lopez A., Dias C., Sousa M. J., Radice A., Eriksson C., Hultgren O., Viander M., Khamashita M., Regenass S., Andrade L.E.C., Wiik A., Tincani A., Rönnelid J., Bloch D.B., Fritzler M. J., Chan E.K.L., Garcia-De La Torre L., Konstantinov K.N., Lahita R., Wilson M., Vainio O., Fabien N., Sinico R.A., Meroni P., Shoenfeld Y. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies, *Ann. Rheum. Dis.* 2014; (11):17–23. doi:10.1136/annrheumdis-2013-203863.
 10. D. H. Solomon, A. J. Kavanaugh, P. H. Schur, Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: Antinuclear antibody testing, *Arthritis Rheum.* 47 (2002) 434–444. doi:10.1002/art.10561.
 11. Savige J. A., Paspaliaris B., Silvestrini R., Davies D., Nikoloutsopoulos T., Sturgess A., Neil J., Pollock W., Dunster K., Hendle M. A review of immunofluorescent patterns associated with antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and their differentiation from other antibodies., *J. Clin. Pathol.* 1998; (51):568–575. <https://doi.org/10.1136/jcp.51.8.568>.
 12. Mitsuyama K. Antibody markers in the diagnosis of inflammatory bowel disease, *World J. Gastroenterol.* 2016; (22): 1304. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i3.1304>.
 13. Favalaro E. J., Wong R. C.W. Antiphospholipid antibody testing for the antiphospholipid syndrome: a comprehensive practical review including a synopsis of challenges and recent guidelines., *Pathology.* 2014; (46): 481–95. <https://doi.org/10.1097/PAT.0000000000000142>.
 14. Miyakis S., Lockshin M.D., Atsumi T., Branch D.W., Brey R.L., Cervera R., Derksen R.H.W.M., De Groot P.G., Koike T., Meroni P.L., Reber G., Shoenfeld Y., Tincani A., Vlachoyiannopoulos P.G., Krihis S.A. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS), *J. Thromb. Haemost.* 2006; (4): 295–306. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2006.01753.x>.
 15. Muratori L., Granito A., Muratori P., Pappas G., Bianchi F.B., Antimitochondrial Antibodies and Other Antibodies in Primary Biliary Cirrhosis: Diagnostic and Prognostic Value, *Clin. Liver Dis.* 2008; (12): 261–276. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2008.02.009>.
 16. Ragusa F., Fallahi P., Elia G., Gonnella D., Paparo S.R., Giusti C., Churilov L.P., Ferrari S.M., Antonelli A. Hashimoto's thyroiditis: Epidemiology, pathogenesis, clinic and therapy, *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2019; (33): 101367. doi:10.1016/j.beem.2019.101367.
 17. Bartalena L. Diagnosis and management of Graves disease: a global overview, *Nat. Rev. Endocrinol.* 2013; (9): 724–734. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2013.193>.
 18. Knip M., Siljander H. Autoimmune mechanisms in type 1 diabetes, *Autoimmun. Rev.* 2008; (7): 550–557. doi:10.1016/j.autrev.2008.04.008.
 19. Kusunoki S., Kaida K. Antibodies against ganglioside complexes in Guillain-Barré syndrome and related disorders, *J. Neurochem.* 2011; (116): 828–832. <https://doi.org/10.1111/j.1471-1418.2010.07029.x>.
 20. Haven T.R., Astill M.E., Pasi B.M., Carper J.B., Wu L.L., Tebo A.E., Hill H.R. An Algorithm for Acetylcholine Receptor Antibody Testing in Patients with Suspected Myasthenia Gravis, *Clin. Chem.* 2010; (56): 1028–1029. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2009.140392>.
 21. Granerod J., Ambrose H.E., Davies N.W., Clewley J.P., Walsh A.L., Morgan D., Cunningham R., Zuckerman M., Mufson K.J., Solomon T., Ward K.N., Lunn M.P., Irani S.R., Vincent A., Brown D.W., Crowcroft N.S. Causes of encephalitis and differences in their clinical presentations in England: a multicentre, population-based prospective study, *Lancet Infect. Dis.* 2010; (10): 835–844. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70222-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70222-X).
 22. Husby S., Koletzko S., Korponay-Szabó I., Kurppa K., Mearin M.L., Ribes-Koninckx C., Shamir R., Troncone R., Auricchio R., Castillejo G., Christensen R., Dolinsek J., Gillett P., Hróbjartsson A., Koltai T., Maki M., Nielsen S.M., Popp A., Størdal K., Werkstetter K., Wessels M. European Society Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Guidelines for Diagnosing Coeliac Disease 2020, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2020; (70): 141–156. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002497>.
 23. E. Schmidt, M. Kasperkiewicz, P. Joly, Pemphigus, *Lancet.* 2019; (394): 882–894. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31778-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31778-7).
 24. R. Tozzoli, C. Bonaguri, A. Melegari, A. Antico, D. Bassetti, N. Bizzaro, Current state of diagnostic technologies in the autoimmune laboratory, *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013; (51): 1437–4331 <https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0191>.
 25. Robbins W. C., Holman H. R., Deicher H., Kunkel H. G. Complement Fixation with Cell Nuclei and DNA in Lupus Erythematosus, *Exp. Biol. Med.* 1957; (96): 575–579. <https://doi.org/10.3181/00379727-96-23545>.
 26. Anderson J. R., Goudie R. B., Gray K., Timbury G. C. Auto-antibodies in Addison's disease, *Lancet.* 1957; (26919): 1123–1124. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(57\)91687-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(57)91687-2).
 27. Ceppellini R., Polli E., Celada F. A DNA-Reacting Factor in Serum of a Patient with Lupus Erythematosus Diffusus., *Exp. Biol. Med.* 1957; (96): 572–574. <https://doi.org/10.3181/00379727-96-23544>.
 28. Charles P. J., van Venrooij W. J., Maini R. N. The Consensus Workshops for the Detection of Autoantibodies to Intracellular Antigens in Rheumatic Diseases: 1989–1992., *Clin. Exp. Rheumatol.* 1989 (10): 507–11. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1458707>.
 29. Bizzaro N., Tozzoli R., Tonutti E., Piazza A., F. Manoni, A. Ghirardello, D. Bassetti, D. Villalta, M. Pradella, P. Rizzotti, Variability between methods to determine ANA, anti-dsDNA and anti-ENA autoantibodies: a collaborative study with the biomedical industry, *J. Immunol. Methods.* 1998; (219): 99–107. [https://doi.org/10.1016/S0022-1759\(98\)00140-9](https://doi.org/10.1016/S0022-1759(98)00140-9).
 30. Boire G., Lopez-Longo F.-J., Lapointe S., Ménard H.-A. Sera from patients with autoimmune disease recognize conformational determinants on the 60-kd ro/ssa protein, *Arthritis Rheum.* 1991; (119434): 722–730. <https://doi.org/10.1002/art.1780340613>.
 31. J.W.C.T.J. Damoiseaux, K. Boesten, J. Giesen, J. Austen, Evaluation of a Novel Line-Blot Immunoassay for the Detection of Antibodies to Extractable Nuclear Antigens, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2005; (1050): 340–347. <https://doi.org/10.1196/annals.1313.036>.
 32. Pollard K.M., Casiano C.A., Muro Y., Satoh M., Tanaka S., Chan E.K.L. The uses and misuses of multiplex autoantibody assays in systemic autoimmune rheumatic diseases, *Front. Immunol.* 2015; (6): 181. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00181>.

Статья поступила / Received 05.10.2021
 Получена после рецензирования / Revised 17.10.2021
 Принята в печать / Accepted 10.03.2022

Сведения об авторах:

Ткаченко Ольга Юрьевна, к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики клинико-диагностической лаборатории НМЦ по молекулярной медицине. E-mail: tkachenie@mail.ru. eLibrary SPIN: 6593-8770. ORCID: 0000-0002-1479-6551

Лапин Сергей Владимирович, к.м.н., зав. лабораторией диагностики аутоиммунных заболеваний, НМЦ по молекулярной медицине. E-mail: svlapin@bolmail.ru. eLibrary SPIN: 9852-7501. ORCID: 0000-0002-4998-3699

Мазинг Александра Васильевна, к.м.н., в.н.с. лаборатории молекулярной диагностики, НМЦ по молекулярной медицине. E-mail: alex_mazing@mail.ru. eLibrary SPIN: 4458-4633. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3055-6507>

Блинова Татьяна Владимировна, к.м.н., с.н.с. лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний, НМЦ по молекулярной медицине. E-mail: tvblinova@list.ru. eLibrary SPIN: 1637-4357. ORCID: 0000-0003-4896-3319

Мошник Анна Николаевна, врач клинической лабораторной диагностики, клинико-диагностическая лаборатория, НМЦ по молекулярной медицине. E-mail: moshnikova-anna@mail.ru. eLibrary SPIN: 7252-3525. ORCID: 0000-0002-4604-0660

Кузнецова Дарья Александровна, к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики, клинико-диагностическая лаборатория, НМЦ по молекулярной медицине. E-mail: lariwar@mail.ru. eLibrary SPIN: 6110-6168. ORCID: 0000-0001-5318-354X

Холопова Ирина Валерьевна, врач клинической лабораторной диагностики, клинико-диагностическая лаборатория, НМЦ по Молекулярной Медицине. E-mail: irinakhlopova@yandex.ru. eLibrary SPIN: 8964-4523. ORCID: 0000-0001-9520-453X

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Автор для переписки: Ткаченко Ольга Юрьевна. E-mail: tkachenie@mail.ru

Для цитирования: Ткаченко О.Ю., Лапин С.В., Мазинг А.В., Блинова Т.В., Мошник Анна А.Н., Кузнецова Д.А., Холопова И.В. Диагностическое значение выявления аутоантител и современных автоматизированные методы их исследования. Медицинский алфавит. 2022; (6): 40–46. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-40-46>.

About authors

Tkachenko Olga Yu., PhD Med, senior researcher of clinical diagnostic laboratory, Center for Molecular Medicine. E-mail: tkachenie@mail.ru. eLibrary SPIN: 6593-8770. ORCID: 0000-0002-1479-6551

Lapin Sergey V., PhD Med, head of the Laboratory for Diagnosis of Autoimmune Disease. E-mail: svlapin@mail.ru. eLibrary SPIN: 9852-7501. ORCID: 0000-0002-4998-3699

Mazing Alexandra V., PhD Med, leading research scientist, Laboratory for Molecular Diagnostics, Center for Molecular Medicine. E-mail: alex_mazing@mail.ru. eLibrary SPIN: 4458-4633. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3055-6507>

Blinova Tatyana V., PhD Med, senior research scientist, Laboratory for Diagnostics of Autoimmune Diseases, Center for Molecular Medicine. E-mail: tvblinova@list.ru. eLibrary SPIN: 1637-4357. ORCID: 0000-0003-4896-3319

Moshnikova Anna N., MD, clinical diagnostic laboratory, Center for Molecular Medicine. E-mail: moshnikova-anna@mail.ru. eLibrary SPIN: 7252-3525. ORCID: 0000-0002-4604-0660

Kuznetsova Daria A., PhD Med, clinical diagnostic laboratory, Center for Molecular Medicine. E-mail: lariwar@mail.ru. eLibrary SPIN: 6110-6168. ORCID: 0000-0001-5318-354X

Khlopova Irina V., MD, clinical diagnostic laboratory, Center for Molecular Medicine. E-mail: irinakhlopova@yandex.ru. eLibrary SPIN: 8964-4523. ORCID: 0000-0001-9520-453X

First St. Petersburg State Medical University n.a. Academician I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Tkachenko Olga Yu. E-mail: tkachenie@mail.ru

For citation: Tkachenko O. Yu., Lapin S. V., Mazing A. V., Blinova T. V., Moshnikova A. N., Kuznetsova D. A., Khlopova I. V. Diagnostic value of autoantibodies and novel automated methods of their detection. *Medical alphabet.* 2022; (6): 40–46. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-40-46>



Биомаркеры неспецифического воспаления и атеросклероза сонных артерий при синдроме обструктивного апноэ сна

Е. Л. Полонский, Н. Н. Зыбина, О. В. Тихомирова, И. П. Ломова

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

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Выявление значимых лабораторных маркеров развития атеросклероза (АС) сонных артерий (СА) у пациентов с синдромом обструктивного апноэ (СОАС).

Материалы и методы. Обследовано 152 пациента мужского пола, у 84 из которых, по данным полисомнографии (ПСГ), диагностирован СОАС. Диагностику АС СА проводили методом триплексного сканирования (ТС). Комплекс лабораторных исследований включал оценку показателей липидного обмена, концентрации высокочувствительного С-реактивного белка (вЧСРБ), интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β), интерлейкина-6 (ИЛ-6) и интерлейкина-10 (ИЛ-10) в сыворотке крови.

Результаты. У пациентов с СОАС обнаружено статистически значимое увеличение комплекса проатерогенных факторов: вЧСРБ, провоспалительных цитокинов, соотношения апобелков и коэффициента атерогенности по сравнению с пациентами без СОАС не смотря на отсутствие различий по выраженности атеросклеротического поражения сонных артерий в этих группах.

Заключение. Развитие СОАС ассоциировано с выраженными нарушениями липидного обмена и активацией неспецифического воспаления, что определяет повышенный риск развития атеросклероза в данной группе пациентов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: синдром обструктивного апноэ сна, атеросклероз сонных артерий, дислипидемия, маркеры воспаления.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Biomarkers of non-specific inflammation and atherosclerosis of carotid arteries in obstructive sleep apnea syndrome

E. L. Polonskiy, N. N. Zyбина, O. V. Tikhomirova, I. P. Lomova

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

SUMMARY

Purpose of study. Identification of significant laboratory markers for the development of atherosclerosis (AS) of the carotid arteries (CA) in patients with obstructive sleep apnea syndrome (OSAS).

Materials and methods. 152 male patients were examined, 84 of whom, according to polysomnography (PSG), were diagnosed with OSAS. Diagnosis of AS CA was performed by triplex scanning. The complex of laboratory studies included the assessment of lipid metabolism, the concentration of highly sensitive C-reactive protein (hsCRP), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-10 (IL-10) in blood serum.

Results. In patients with OSAS, a statistically significant increase in the complex of proatherogenic factors was found: hsCRP, pro-inflammatory cytokines, ratio of apoproteins and atherogenic coefficient compared with patients without OSAS despite the absence of differences in the severity of atherosclerotic lesions of the carotid arteries in these groups.

Conclusion. The development of OSAS is associated with severe lipid metabolism disorders and activation of nonspecific inflammation, which determines an increased risk of atherosclerosis in this group of patients.

KEY WORDS: obstructive sleep apnea syndrome, carotid atherosclerosis, dyslipidemia, inflammatory markers.

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

Введение

На сегодня окончательно сформировался взгляд на синдром обструктивного апноэ сна (СОАС) как на один из корригируемых факторов риска развития цереброваскулярных заболеваний [1]. Так, по данным 18-летнего Висконсинского исследования, проведенного у 1522 мужчин и женщин, у пациентов с дыхательными расстройствами во сне чаще, чем у лиц без них, встречались артериальная гипертензия (АГ), сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), сахарный диабет (СД) и инсульты. При этом отмечалась прямая зависимость частоты данных патологий от степени тяжести СОАС [2]. Однако до сих пор нет окончательного ответа на вопрос о том, связан ли СОАС с повышенным

риском развития атеросклероза (АС) сонных артерий (СА). Результаты многих исследований демонстрируют увеличение толщины комплекса интима-медиа (КИМ) СА при СОАС по сравнению с лицами без СОАС [3,4]. Meng S. с соавт. в 2009 году при обследовании 123 пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) определили у 76 из них наличие СОАС. Толщина КИМ СА коррелировала у пациентов с ОКС с тяжестью СОАС [5]. Drager L. с соавт. в 2005 году пришли к выводу, что СОАС является независимым фактором риска АС СА [6]. В противоположность этому Kim J. с соавт. в 2017 году на основании изучения 206 взрослых с СОАС не выявили связи СОАС с утолщением КИМ

СА [7]. Точный механизм возникновения ССЗ при апноэ во сне не известен, хотя есть данные, что СОАС связан с группой провоспалительных и протромботических факторов, которые важны для развития АС [5]. В обзоре эпидемиологических исследований Bounhoure J. P. с соавт. (2005) приводят данные о том, что СОАС связан с эндотелиальной дисфункцией, повышением экспрессии С-реактивного белка (СРБ) и цитокинов [8]. Периодическая гипоксия при СОАС может вызывать воспалительные процессы в СА с повышением уровня провоспалительных цитокинов, хотя данные литературных источников не являются однозначными. СОАС следует рассматривать как хроническое воспалительное заболевание низкой степени тяжести. [9]. В то же время хорошо известно, что АС также представляет собой хроническое неспецифическое воспалительное заболевание артериальной стенки с отложением холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС-ЛПНП) в интима артерий, вызывающее несколько важных неблагоприятных сосудистых событий, включающих ишемическую болезнь сердца (ИБС), инфаркт миокарда, инсульт и заболевание периферических артерий [10]. По данным 52 проспективных исследований, в которых приняли участие 246669 участников без ССЗ в анамнезе, маркеры воспаления, в частности СРБ, позволяют прогнозировать сердечно-сосудистый риск [11]. Наиболее широко используется в современной клинической практике высокочувствительный С-реактивный белок (вЧСРБ), уровень которого, в сыворотке крови воспроизводимо предсказывает риск инсульта [12]. Более высокий уровень вЧСРБ в сыворотке крови может быть маркером наличия атеросклеротических бляшек (АСБ) в СА и ассоциирован с утолщением КИМ [4, 13, 14, 15]. Одним из сывороточных воспалительных маркеров, предложенных в качестве инструмента для оценки риска у пациентов с атеросклеротическим поражением СА, является интерлейкин-6 (ИЛ-6) [12]. Уровень ИЛ-6 в плазме коррелирует с эндотелиальной дисфункцией, ригидностью артерий и величиной субклинического АС [9]. Его повышение ассоциировано с бессимптомным стенозом СА [14, 15, 16]. Провоспалительным медиатором при остром и хроническом воспалении является также интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β) [17, 18].

Таким образом, многочисленные данные свидетельствуют о связи провоспалительных маркеров как с АС, так и с СОАС, при этом данные о непосредственном вкладе СОАС в развитие АС противоречивы.

Целью нашего исследования было выявление значимых лабораторных маркеров развития АС у пациентов с СОАС.

Материалы и методы

Была обследована группа из 152 мужчин, у которых имелись факторы риска цереброваскулярной патологии: гипертоническая болезнь (ГБ), увеличение массы тела и ожирение, СД, нарушение толерантности к глюкозе (НТГ), дислипидемия. Все они были обследованы в отделении клинической неврологии ФГБУ «Всероссийский

центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России. У большинства из них была диагностирована дисциркуляторная энцефалопатия (ДЭ) I–III стадий на основании критериев предложенных Шмидтом Е. В. и соавт. [19]. Диагностику СОАС проводили при помощи полисомнографии (ПСГ), применяя критерии американской академии медицины сна (AASM) 2020 года [20]. Ночное полисомнографическое исследование проводилось в условиях лаборатории сна на приборе Nicolet one с регистрацией электроэнцефалограммы в 6 отведениях, электроокулограммы, электромиограммы, положения тела в постели, ороназального потока воздуха, дыхательных движений брюшной и грудной стенок, уровня насыщения крови кислородом (сатурации) и ЭКГ. Продолжительность исследования составляла 8 часов.

До начала исследования никому из пациентов диагноз СОАС не выставлялся. После анализа ПСГ общую группу разделили на основную – с наличием СОАС ($n=84$) и группу сравнения – без СОАС ($n=68$). Важнейшим показателем для диагностики СОАС является индекс апноэ-гипопноэ (ИАГ), который рассчитывали делением количества апноэ и гипопноэ на общее время сна в часах [21]. ИАГ от 5 до 14,9 указывал на наличие СОАС легкой степени, от 15 до 29,9 – СОАС средней степени, ≥ 30 – СОАС тяжелой степени [22].

В зависимости от наличия гипоксии во сне (падение сатурации ниже 90%) пациентов разделили на две подгруппы: с ночной гипоксией и без ночной гипоксии.

Диагностика АС СА проводилась методом ультразвукового дуплексного сканирования, которое было выполнено 147 пациентам. Для этой цели использовали диагностическую ультразвуковую систему APLIO 300 (модель TUS – A 300 фирмы Toshiba). Признаками макроангиопатии сонных артерий мы считали наличие АСБ в просвете артерий и/или патологическое утолщение КИМ $>0,9$ мм [23, 24]. АС изменения СА были разделены на три типа. Первый тип – диффузный: КИМ $>0,9$ мм, с нарушением его структуры. Второй тип – локальный: наличие АСБ. Третий тип – смешанный: АСБ с утолщением КИМ.

Комплекс лабораторных исследований включал оценку показателей липидного обмена с определением холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС-ЛПНП), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП), холестерина липопротеидов очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП), триглицеридов (ТГ), коэффициента атерогенности (КА), аполипопротеидов А и В (апоА и апоВ), измерение концентрации вЧСРБ, провоспалительных цитокинов – ИЛ-1 β , ИЛ-6 и противовоспалительного интерлейкина-10 (ИЛ-10). Биохимические исследования были выполнены в отделе лабораторной диагностики ФГБУ «ВЦЭРМ имени А. М. Никифорова» МЧС России на анализаторах UniCel DxС 600 (Beckman Coulter, США) и Immulite 2000 (Siemens, США). Определение цитокинов проводили методом ИФА с использованием тест-систем «Вектор Бест».

Статистические методы

Полученные в исследовании клинические результаты обрабатывали с использованием программной системы Statistica for Windows (версия 13.3). Лицензия АХА009К287210ФААСД-В.

Описательные статистики количественных показателей рассчитывали по традиционному набору характеристик: среднее значение и стандартное отклонение – М (SD), медиана и межквартильный интервал – Me [Q25; Q75]. Для качественных параметров определяли абсолютные значения и процентные доли в соответствующих задачах работы группах и подгруппах. Сопоставление частотных (%) характеристик проводили с помощью непараметрических методов χ^2 , χ^2 с поправкой Йетса (для малых групп), критериев Фишера, Пирсона. Сравнение количественных параметров, в исследуемых группах осуществляли с использованием критериев Манна – Уитни, медианного хи-квадрата и модуля ANOVA. Рассчитывали ранговые корреляции Спирмена, т.к. распределение исследуемых показателей не соответствовало нормальному [25]. Статистически значимыми мы считали уровень $p < 0,05$.

Результаты

В общей группе обследованных ($n = 152$) СОАС был диагностирован у 84 пациентов (55%). СОАС легкой степени выявлен у 38 человек (45%), СОАС средней степени – в 30 случаях (36%), СОАС тяжелой степени – в 16 случаях (19%). Пациенты с СОАС и без СОАС значимо не отличались по возрасту. Средний возраст пациентов с СОАС составил 64 (8,1), без СОАС – 62,9 (8,2), ($p = 0,25$).

При сравнении частоты встречаемости факторов риска сосудистой патологии у пациентов с СОАС и без СОАС АГ была выявлена соответственно в 73 случаях (87%) и 58 случаях (85%) ($p = 0,78$). Статистически значимых различий по частоте различных степеней АГ в группах с СОАС и без СОАС найдено не было. Не было обнаружено отличий по наличию дислипидемии (КА > 3) ($p = 1,0$), НТГ ($p = 0,41$), СД 2 типа ($p = 0,8$). Не различалась частота повышения индекса массы тела (ИМТ) > 25 кг/м²: соответственно в 65 (77%) случаях и 46 (72%) случаях ($p = 0,2$). Увеличение окружности талии (ОТ) более 94 см в группе с СОАС зафиксировано в 62 случаях (75%), в группе без СОАС – 38 (59%) случаев ($p = 0,021$).

В группах пациентов с СОАС и без СОАС не было выявлено статистически значимых различий по частоте разных типов поражения сосудистой стенки СА. Первый тип поражения СА был представлен у пациентов с СОАС в 16 (19%) случаях, без СОАС – в 10 (16%) случаях ($p = 0,67$). Второй и третий типы поражения СА встречались, соответственно: в 22 (27%) и 14 (22%) случаях ($p = 0,57$) и в 35 (42%), и 30 (47%) случаях ($p = 0,41$). Частота множественных АСБ и стенозов СА $\geq 50\%$ не различались ($p = 0,87$ и $p = 0,66$). Отсутствие поражения СА регистрировалось приблизительно с одинаковой частотой в обеих группах ($p = 0,63$).

Таблица 1
Сравнительные характеристики состояния СА и центрального ожирения в группах СОАС и без СОАС

Показатель (норма)	Пациенты без СОАС (n=68)	Пациенты с СОАС (n=84)	p
ОТ, см (<94)	98 [88; 106]	103 [94; 110]	0,007
КИМ, мм ($\leq 0,9$)	1,0 [0,88; 1,1]	1,1 [0,9; 1,1]	0,750
Кол-во АСБ	1 [0; 2,5]	1 [0; 2]	0,520
Процент стеноза СА	30,0 [0; 40]	30,0 [0; 40]	0,920

Примечание: ОТ- окружность талии; КИМ-толщина комплекса интима-медиа сонных артерий; АСБ- атеросклеротические бляшки; СА- сонные артерии.

Таблица 2
Параметры состояния сонных артерий, антропометрии и артериального давления в зависимости от тяжести СОАС

Показатель (норма)	Пациенты с СОАС		
	СОАС легкой степени (n=38)	СОАС средней степени (n=30)	СОАС тяжелой степени (n=16)
Возраст	66,5 [60; 72]	63,0 [59; 66]	64,5 [56; 70]
ОТ, см (<94)	98,5 [94; 107]	102,5 [92; 112]	106,0 [103; 120] Δ
ИМТ, кг/м ² (<25)	27,3 [24,4; 29,4]	28,4 [25,3; 32,3] \blacksquare	30,5 [28; 34,5] $\Delta\Delta$
САД, мм.рт.ст (<140)	140 [130; 160]	140 [130; 155]	140 [130; 167]
ДАД, мм.рт.ст (<90)	82,5 [80; 90]	87,5 [80; 90]	87,5 [80; 90]
КИМ, мм ($\leq 0,9$)	1,0 [0,9–1,2]	0,9 [0,8–1,1]	1,0 [0,9; 1,2]
Количество АСБ	1 [0; 2]	1 [1; 2]	1 [0; 3]
Процент стеноза СА	27,5 [0; 40]	30,0 [20; 35]	25,0 [0; 40]

Примечание: ОТ – окружность талии; ИМТ – индекс массы тела; КИМ-толщина комплекса интима-медиа сонных артерий; АСБ – атеросклеротические бляшки; СА – сонные артерии; САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление.

Δ – $p < 0,05$ при сравнении СОАС легкой и тяжелой степени;

$\Delta\Delta$ – $p < 0,01$ при сравнении СОАС легкой и тяжелой степени;

\blacksquare – $p < 0,05$ при сравнении СОАС средней и тяжелой степени.

Сравнение количественных параметров, центрального ожирения и состояния СА в группах с СОАС и без СОАС показало наличие статистически значимых различий только по размерам ОТ (табл. 1).

Средние величины артериального давления (АД) в группах СОАС и без СОАС не отличались ($p = 0,15$).

Сравнение результатов количественных антропометрических показателей, систолического артериального давления (САД), диастолического артериального давления (ДАД) и показателей состояния СА в подгруппах с разной степенью СОАС представлено в табл. 2.

Выявлена статистическая тенденция к повышению возраста в подгруппе легкого СОАС (ИАГ 5–14,9) ($p = 0,06$) по сравнению с подгруппой с СОАС средней тяжести (ИАГ 15–29,9). ИМТ у пациентов с тяжелым СОАС (ИАГ ≥ 30) статистически значимо превышал показатели подгруппы СОАС средней тяжести ($p = 0,02$) и подгруппы легкого СОАС ($p = 0,003$). ОТ в подгруппе тяжелого СОАС также был больше чем у пациентов с легким СОАС ($p = 0,01$). Показатели АД значимо не различались в подгруппах пациентов с СОАС различной тяжести, также

Таблица 3
Сравнительные характеристики липидного обмена и неспецифического воспаления в зависимости от тяжести СОАС

Показатели	СОАС легкой степени (n=38) 1 подгруппа	СОАС средней степени (n=30) 2 подгруппа	СОАС тяжелой степени (n=16) 3 подгруппа
ХС-ЛПВП, ммоль/л (1,03–2,00)	1,2 [1,0; 1,4]	1,1 [0,9; 1,3]	1,0 [0,9; 1,1] Δ
АпоА, г/л (0,73–2,1)	1,5 [1,2; 1,7]	1,4 [1,2; 1,6] ■	1,2 [1,2; 1,3] ΔΔ
АпоВ, г/л (0,46–1,42)	1,05 [0,79; 1,31]	1,12 [0,83; 1,35]	1,02 [0,85; 1,58]
АпоА/АпоВ, (>1,50)	1,4 [1,0; 1,7]	1,2 [1,0; 1,6]	1,1 [1,0; 1,4] Δ
ХС-ЛПНП, ммоль/л (2,50–4,00)	3,47 [2,68; 3,94]	3,18 [2,82; 3,83]	3,84 [3,12; 4,01]
ХС-ЛПОНП, ммоль/л (0,27–1,04)	0,6 [0,35; 0,8]	0,5 [0,5; 0,9]	0,7 [0,5; 1,0]
ТГ, ммоль/л (0,60–2,28)	1,2 [0,8; 1,3]	1,2 [1,0; 2,0]	1,4 [1,0; 2,1]
КА <3	3,3 [2,7; 4,4]	3,6 [3,0; 4,5]	4,7 [3,7; 5,6]
ИЛ-1 β, пг/мл (0–11)	1 [1,0; 2,0]	1,0 [1,0; 1,0]	1,0 [1,0; 31,5] ■
ИЛ-6, пг/мл (0–10)	1,0 [1,0; 1,0]	1,0 [1,0; 1,0]	1 [1; 3]
вСРБ, мг/л (0–14)	2,85 [0,95; 6,35]	2,25 [0,8; 3,95]	3,2 [2,2; 7,5]

Примечание: ХС – холестерин; ЛПВП – липопротеиды высокой плотности; Апо-А – аполипопротеин А1; Апо-А/Апо-В – соотношение аполипопротеина А1 к аполипопротеину В; ЛПОНП – липопротеиды очень низкой плотности; ТГ – триглицериды; КА – коэффициент атерогенности; ИЛ-1β – интерлейкин-1β; ИЛ-6 – интерлейкин-6. Δ – $p < 0,05$ при сравнении 1 и 3 подгруппы; ΔΔ – $p < 0,01$ при сравнении 1 и 3 подгруппы; ■ – $p < 0,05$ при сравнении 2 и 3 подгруппы.

Таблица 4
Показатели липидного обмена и неспецифического воспаления у пациентов с СОАС с наличием и отсутствием ночной гипоксии

Показатели	Пациенты с отсутствием гипоксии (n=22)	Пациенты с наличием гипоксии (n=62)	p
ХС-ЛПВП, ммоль/л (1,03–2,28)	1,2 [1,08; 1,4]	1,05 [0,9; 1,3]	0,074
КА (<3)	3,1 [2,3; 4,4]	3,7 [3,0; 5,2]	0,049
вСРБ, мг/л (0–14)	1,4 [0,6; 5,8]	2,7 [1,1; 7,1]	0,013
ИЛ-10, пг/мл (0–31)	6 [1; 10]	3 [1; 8]	0,050

Примечание: ХС – холестерин; ЛПВП – липопротеиды высокой плотности; КА – коэффициент атерогенности; вСРБ – высокочувствительный С-реактивный белок; ИЛ-10 – интерлейкин-10.

как и количество АСБ, и процент стеноза СА. Отмечалась тенденция к большей толщине КИМ в подгруппе лёгкого СОАС по сравнению с СОАС средней степени тяжести ($p = 0,06$), что может быть следствием аналогичной тенденции к более старшему возрасту в этой группе. Средние значения ИМТ, ОТ и САД в подгруппах с легким, средним, и тяжелым СОАС были выше нормативных.

Сравнение качественных показателей между подгруппами СОАС не выявило статистически значимых различий по частоте встречаемости утолщения КИМ, различных типов АС поражения СА, множественных АСБ СА и стеноза СА $\geq 50\%$.

При сравнении данных лабораторного обследования пациентов с СОАС и без СОАС было найдено статистически значимое различие по уровню вСРБ, который считается маркером неспецифического сосудистого воспаления. Его уровень составил 2,5 [1,0; 6,8] мг/л в группе с СОАС и 1,4 [0,7; 5,0] мг/л в группе без СОАС ($p = 0,021$). В группе СОАС уровень вСРБ был повышен в 55 (74,3%) случаях, против 34 (55,7%) случаев в группе без СОАС ($p = 0,029$).

Сравнение количественных лабораторных показателей в группе СОАС, разделенной по значению ИАГ, представлено в табл. 3.

Сывороточный уровень ХС-ЛПВП был статистически значимо выше в подгруппе легкого СОАС по сравнению с пациентами с тяжелым СОАС ($p = 0,049$). Значение апоА в подгруппе с легким СОАС превышало его уровень в подгруппе с тяжелым СОАС ($p = 0,008$). В подгруппе с СОАС средней степени значение апоА было выше, чем у пациентов с тяжелым СОАС ($p = 0,022$). Соотношение апоА/апоВ было выше у пациентов с лёгким СОАС, по сравнению с пациентами с тяжелым СОАС ($p = 0,024$).

Отмечалась тенденция к более высоким значениям сывороточного уровня ХС-ЛПОНП ($p = 0,059$), и ТГ ($p = 0,058$) в подгруппе с тяжелым СОАС в сравнение с подгруппой СОАС средней тяжести.

Уровень ИЛ-1β в подгруппе тяжелого СОАС статистически значимо превышал значение в подгруппе СОАС средней тяжести ($p = 0,03$).

При сравнении подгруппы легкого СОАС с объединенной подгруппой среднего и тяжелого СОАС (ИАГ ≥ 15 , $n = 46$) обнаружены статистически значимо более высокие уровни ХС-ЛПВП ($p = 0,047$), апо-А ($p = 0,03$) при лёгком СОАС.

При сравнении подгруппы тяжелого СОАС с объединенной подгруппой СОАС легкой и средней степени тяжести (ИАГ = 5–29,9 $n = 68$), уровни ХС-ЛПОНП ($p = 0,018$), ТГ ($p = 0,017$), ИЛ-1β ($p = 0,009$), ИЛ-6 ($p = 0,03$) были выше при тяжелом СОАС. Значение КА также было выше при тяжёлом СОАС ($p = 0,037$).

Расчет ранговых корреляций Спирмена в объединенной подгруппе со средним и тяжелым СОАС показал отрицательные корреляции между толщиной КИМ и количеством дельта сна ($r = 0,41$; $p = 0,006$); количеством АСБ и временем бодрствования во сне ($r = 0,3$; $p = 0,07$), количеством АСБ и устойчивостью сна ($r = 0,4$; $p = 0,016$); процентом стеноза СА и латенцией первого пробуждения ($r = 0,31$; $p = 0,042$). Положительная корреляция получена между процентом стеноза СА и количеством апноэ во сне ($r = 0,31$; $p = 0,06$).

В группе СОАС ($n = 84$) ночная гипоксия была выявлена у 62 (74%) человек, отсутствовала у 22 (26%) пациентов. В группе с ночной гипоксией достоверно выше были значения ИМТ (28,4 [26,0; 32,6] / 26,4 [22; 28,3]) ($p = 0,002$) и ОТ (105 [95; 115] / 95 [86; 102]) ($p = 0,004$).

При сравнении обеих групп по количественным показателям состояния сонных артерий, таким, как: толщина КИМ, количество АСБ, степень стеноза СА, линейная средняя скорость кровотока СМА (ЛСК СМА), статистически значимых различий обнаружено не было.

Сравнительный анализ количественных параметров лабораторных показателей у пациентов с наличием либо отсутствием ночной гипоксии представлен в *таблице 4*.

В группе пациентов с СОАС и наличием ночной гипоксии (десатурацией менее 90% во сне) мы обнаружили тенденцию к более низкой концентрации противовоспалительного ИЛ-10 ($p = 0,05$) в сыворотке крови, статистически значимое повышение уровня вЧСРБ, КА по сравнению с лицами без гипоксии во сне. Уровень ХС-ЛПВП в крови имел тенденцию к более высоким значениям у пациентов без гипоксии ($p = 0,074$).

Обсуждение

Результаты проведенных нами исследований указывают на увеличение уровня маркеров неспецифического воспаления и дислипидемии у мужчин с СОАС, зависящие от его тяжести, нарушения структуры сна, наличия гипоксии во сне. Обнаружено увеличение уровня проатерогенных (в том числе ТГ и ЛПОНП) и снижение уровня антиатерогенных липидных фракций, достоверно ассоциированных с тяжестью СОАС и гипоксией во сне. Изменение соотношения апоБелков у пациентов с СОАС можно рассматривать в качестве факторов риска развития АС, так как повышение апоВ белка рассматривается как независимый маркер повреждения эндотелия. У пациентов с СОАС и ночной гипоксией нами обнаружено статистически значимое увеличение уровня вЧСРБ и более низкий уровень противовоспалительного ИЛ-10. Эти результаты коррелируют с литературными данными о том, что системное воспаление, дисфункция эндотелия, повышенная экспрессия СРБ и цитокинов в крови, могут играть важную роль в развитии АС СА при СОАС [10, 15]. То же касается и нарушения соотношения проатерогенных и антиатерогенных липидных фракций, которое было обнаружено нами у пациентов с более тяжелыми формами СОАС. Известно, что ХС-ЛПОНП является фактором риска атеросклеротических ССЗ. Это показано по результатам когортного исследования, в которое было включено 30 378 участников в возрасте от 35 до 64 лет [26]. ТГ также считаются независимым фактором риска ССЗ [27]. По данным исследования ARIC, толщина КИМ общей СА у мужчин оказалась отрицательно связана с повышением уровня ХС-ЛПВП и положительно – с повышением ХС-ЛПНП и ТГ в крови у мужчин и женщин [28].

Анализ состояния СА в нашем исследовании не показал значимых статистических различий у пациентов основной группы и группы сравнения ни по частоте развития АС СА, ни по тяжести поражения сосудистой стенки СА.

Из литературных данных известно, что степень поражения СА при СОАС связана со степенью его тяжести [3, 5]. Chen В. С. и соавт. утверждают, что увеличение толщины КИМ СА прямо пропорционально величине ИАГ [4]. Метаанализ данных за 1960–2012 годы показал, что, по результатам большинства исследований, у субъектов с СОАС наблюдается увеличение КИМ по сравнению с контролем, при этом КИМ положительно коррелировал с тяжестью заболевания [29]. При сравнении 120 лиц

с СОАС и 40 без СОАС, толщина КИМ СА оказалась значительно выше у пациентов с СОАС, достоверно коррелируя при этом, с величиной ИАГ ($p = 0,037$) [30]. Также имеются исследования о корреляции тяжести СОАС с образованием и прогрессированием АСБ СА [31, 32].

Заключение

Результаты нашего исследования свидетельствуют о независимом влиянии СОАС на формирование комплекса атерогенных сдвигов лабораторных показателей, которые являются маркерами риска развития АС. Отсутствие в нашем исследовании статистически значимых различий количественных и качественных показателей АС поражения СА у пациентов с СОАС и без СОАС может быть связано с преобладанием в нашей группе пациентов с СОАС легкой и средней степени тяжести. А также с наличием в обеих группах одинаковой распространенности других, не связанных с апноэ сосудистых факторов риска (АГ и СД).

Список литературы / References

1. Yaggi H.K., Concato J., Kernan W.N. et al. Obstructive sleep apnea as a risk factor for stroke and death. *N. Engl. J. Med.* 2005; 10(353):2034–2041. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043104>.
2. Young T., Finn L., Peppard P.E. et al. Sleep disordered breathing and mortality: eighteen-year follow-up of the Wisconsin sleep cohort. *Sleep.* 2008; 31(8): 1071–1078.
3. Allin R., Ozdemir H., Mahmutyazicioglu K. et al. Evaluation of carotid artery wall thickness with high-resolution sonography in obstructive sleep apnea syndrome. *J. Clin. Ultrasound.* 2005; 33(2): 80–86. <https://doi.org/10.1002/jcu.20093>.
4. Chen B., Zhang W., Chen Y. et al. Association of obstructive sleep apnea hypopnea syndrome with carotid atherosclerosis and the efficacy of continuous positive airway pressure treatment. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2015; 95(34): 2791–2795.
5. Meng S., Fang L., Wang C.Q. et al. Impact of obstructive sleep apnoea on clinical characteristics and outcomes in patients with acute coronary syndrome following percutaneous coronary intervention. *J. Int. Med. Res.* 2009; (37): 1343–1353 <https://doi.org/10.1177/1473-2300-0903-70-05-09>.
6. Drager L.F., Bortolotto L.A., Lorenzi M.C. et al. Early signs of atherosclerosis in obstructive sleep apnea. *Amer. J. of Resp. and Crit. Care Med.* 2005; 172(5):613–618. <https://doi.org/10.1164/rccm.200503-3400C>.
7. Kim J., Mohler E.R., Keenan B.T. et al. Carotid Artery Wall Thickness in Obese and Nonobese Adults With Obstructive Sleep Apnea Before and Following Positive Airway Pressure Treatment. *Sleep.* 2017; 40(9). <https://doi.org/10.1093/sleep/zsx126>.
8. Bounhoure J.P., Galinier M., Didier A. et al. Sleep apnea syndromes and cardiovascular disease. *Bull. Acad. Natl. Med.* 2005; 189 (3): 445–459.
9. Kheirandish-Gozal L., Gozal D. Obstructive Sleep Apnea and Inflammation: Proof of Concept Based on Two Illustrative Cytokines. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(3): 459. <https://doi.org/10.3390/ijms2003-0459>
10. Taleb S. Inflammation in atherosclerosis. *Arch. Cardiovasc. Dis.* 2016; 109(12):708–715. <https://doi.org/10.1016/j.acvd.2016.04.002>.
11. Kaptoje S., Angelantonio E.D., Pennells L. et al. The Emerging Risk Factors Collaboration C-reactive protein, fibrinogen, and cardiovascular disease prediction. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367(14):1310–20. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1107477>.
12. Ammirati E., Moroni F., Norata G.D. et al. Markers of Inflammation Associated with Plaque Progression and Instability in Patients with Carotid Atherosclerosis. *Mediators of Inflamm.* 2015; 2015(718329): 1–15. <https://doi.org/10.1155/2015/718329>.
13. Willeit P., Thompson, S.G., Agewall, S. et al. Inflammatory markers and extent and progression of early atherosclerosis: Meta-analysis of individual-participant-data from 20 prospective studies of the PROG-IMT collaboration. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2016; 23 (2): 194–205. <https://doi.org/10.1177/2047-4873-1456-06-64>.
14. Debing E., Peeters E., Demanet C., de Waele M., van den Brande P. Markers of inflammation in patients with symptomatic and asymptomatic carotid artery stenosis: a case-control study. *Vasc. and Endovasc. Surg.* 2008; 42 (2):122–127. <https://doi.org/10.1177/1538-5744-0730-74-06>
15. Puz P., Lasek-Bal A., Ziaja D. et al. Inflammatory markers in patients with internal carotid artery stenosis. *Arch. of Med. Sci.* 2013; 9(2):254–260. <https://doi.org/10.5114/aoms.2013.34533>
16. Chapman C.M. L., Beilby J.P., McQuillan B. M. et al. Monocyte count, but not C-reactive protein or interleukin-6, is an independent risk marker for subclinical carotid atherosclerosis. *Stroke.* 2004; 35(7):1619–1624. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000130857.19423.ad>.
17. Dewberry R., Holden H., Crossman D. et al. Interleukin-1 receptor antagonist expression in human endothelial cells and atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000; (20):2394–2400. <https://doi.org/10.1161/01.atv.20.11.2394>.
18. Dinarello C.A. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood.* 2011; 117(14):3720–3732. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-07-237417>.
19. Шмидт Е.В. Классификация сосудистых поражений головного и спинного мозга. *Ж. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 1985; 85(9):1281–1288.

20. Berry R.B., Quan S.F., Abreu A.R. et al. for the American Academy of Sleep Medicine. The AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events: Rules, Terminology and Technical Specifications. Version 2.6 Darien, IL: American Academy of Sleep Medicine; 2020 p.94
21. Sateia M. J. American Academy of Sleep Medicine. International classification of sleep disorders -third edition highlights and modifications. Chest. 2014; 146(5):1387–1394. <https://doi.org/10.1378/chest.14-0970>.
22. Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. The Report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force. Sleep. 1999; 22 (5): 667–689.
23. Куликов В.П., Основы ультразвукового исследования сосудов. С 235. М. «Видар-М» 2015. 392с.
Kulikov V. P. Fundamentals of ultrasound examination of blood vessels. P 235. M. "Vidar-M" 2015. 392s.
24. Spence J.D. Measurement of intima-media thickness vs carotid plaque: uses in patient care, genetic research and evaluation of new therapies. Int J Stroke 2006; 1(4):216–221. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4949.2006.00068.x>.
25. Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica.– М.: ГОЭТАР-Медиа, 2013.– 384 с.
Trukhacheva N. V. Mathematical statistics in biomedical research using the Statistica package. - M.: GOETAR-MEDIA, 2013. - 384 p.
26. Ren J., Grundy S.M., Liu J., et al. Long-term coronary heart disease risk associated with very-low-density lipoprotein cholesterol in Chinese: the results of a 15-year Chinese Multi-Provincial Cohort Study (CMCS). Atherosclerosis. 2010;211(1):327–332. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2010.02.020>.
27. McBride P. Triglycerides and risk for coronary artery disease. Curr Atheroscler Rep. 2008; 10(5):386–390. <https://doi.org/10.1007/s11883-008-0060-9>.
28. Chambless L.E., Folsom A.R., Davis V. et al. Risk factors for progression of common carotid atherosclerosis: the Atherosclerosis Risk in Communities Study, 1987–1998. Am. J. Epidemiol. 2002; 155 (1): 38–47. <https://doi.org/10.1093/aje/155.1.38>.
29. Nadeem R., Harvey M., Singh M. et al. Patients with obstructive sleep apnea display increased carotid intima media: a meta-analysis. Int. J. Vasc. Med. 2013; 2013 (839582):1–8. <https://doi.org/10.1155/2013/839582>.
30. Jiang Y.Q., Xue J.S., Xu J. et al. Efficacy of continuous positive airway pressure treatment in treating obstructive sleep apnea hypopnea syndrome associated with carotid arteriosclerosis. Exp. Ther. Med. 2017; 14(6):6176–6182. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.5308>.
31. Kundel V., Trivieri M.G., Karakatsani N.A. et al. Assessment of atherosclerotic plaque activity in patients with sleep apnea using hybrid positron emission tomography/magnetic resonance imaging (PET/MRI): a feasibility study. Sleep Breath. 2018; 22(4):1125–1135. <https://doi.org/10.1007/s11325-018-1646-2>.
32. Kyllintreas I, Craig S, Neithononda R, Kohler M, Francis J, Choudhury R, Stradling J, Neubauer S. Atherosclerosis and arterial stiffness in obstructive sleep apnea – a cardiovascular magnetic resonance study. Atherosclerosis. 2012; 222(2):483–489. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.03.036>

Статья поступила / Received 08.02.2022
Получена после рецензирования / Revised 18.02.2022
Принята в печать / Accepted 10.03.2022

Сведения об авторах

Полонский Евгений Львович, врач невролог отделения клинической неврологии отдела клинической неврологии и медицины сна. E-mail: limbuss1@rambler.ru. ORCID: 0000-0002-0574-8064

Тихомирова Ольга Викторовна, д.м.н., доцент, зав. отделом клинической неврологии и медицины сна. E-mail: Olivtikhomirova@gmail.com. ORCID: 0000-0003-4722-0900

Зыбина Наталья Николаевна, д.б.н., проф., зав. отделом лабораторной диагностики. E-mail: zybina@inbox.ru. ORCID: 0000-0002-5422-2878

Ломова Ирина Павловна, к.м.н., с.н.с. НИЛ цереброваскулярной патологии научно-исследовательского центра. E-mail: irpalo@mail.ru. ORCID: 0000-0001-6411-1402

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

Автор для переписки: Полонский Евгений Львович. E-mail: limbuss1@rambler.ru

About authors

Polonsky Evgeniy L., neurologist of Dept of Clinical Neurology, Dept of Clinical Neurology and Sleep Medicine E-mail: limbuss1@rambler.ru. ORCID: 0000-0002-0574-8064

Tikhomirova Olga V., DM Sci (habil.), associate professor, head of Dept of Clinical Neurology and Sleep Medicine. E-mail: Olivtikhomirova@gmail.com. ORCID: 0000-0003-4722-0900

Zybina Natalia N., Dr Bio Sci, professor, head of Dept of Clinical Laboratory Diagnostics. E-mail: zybina@inbox.ru. ORCID: 0000-0002-5422-2878

Lomova Irina P., PhD Med, senior research of Cerebrovascular Disease Laboratory. E-mail: irpalo@mail.ru. ORCID: 0000-0001-6411-1402

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

Corresponding author: Polonsky Evgeniy L. E-mail: limbuss1@rambler.ru

Для цитирования: Полонский Е. Л., Зыбина Н. Н., Тихомирова О. В., Ломова И. П. Биомаркеры неспецифического воспаления и атеросклероза сонных артерий при синдроме обструктивного апноэ сна. Медицинский алфавит. 2022; (6): 47–52. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-47-52>.

For citation: Polonsky E. L., Zybina N. N., Tikhomirova O. V., Lomova I. P. Biomarkers of non-specific inflammation and atherosclerosis of carotid arteries in obstructive sleep apnea syndrome. Medical alphabet. 2022; (6): 47–52. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-47-52>





К 100-летию со дня рождения
Академик В.Д. Белякова

19 - 20 АПРЕЛЯ 2022 Г.

ВСЕРОССИЙСКАЯ МЕЖВЕДОМСТВЕННАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

«ОТ ТЕОРИИ САМОРЕГУЛЯЦИИ К МИРОВОЙ САМОИЗОЛЯЦИИ: СОВРЕМЕННЫЕ ВЫЗОВЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ НАУКЕ И ПРАКТИКЕ»

ПОСВЯЩЕННАЯ 100-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ АКАДЕМИКА В. Д. БЕЛЯКОВА

Документация по данному учебному мероприятию подана на аккредитацию в Комиссию по НМО.

Технический организатор:
ООО «ЭКСПО ПРЕСС»
По вопросам участия:
тел.: +7 (495) 617-36-79
E-mail: Lvov.m.g@inbox.ru
Львов Михаил Геннадьевич





РЕГИСТРАЦИЯ НА САЙТЕ WWW.EXPODATA.INFO ОБЯЗАТЕЛЬНА!

КОНГРЕССНЫЙ ЦЕНТР «ПЕТРОКОНГРЕСС», г. САНКТ-ПЕТЕРБУРГ, ЛОДЕЙНОПОЛЬСКАЯ УЛ., 5

Тактика опознания типовых патологических расстройств на фоне накопления C-терминального белкового фрагмента коллагена I типа в панели соотношений персональных показателей 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

Материал настоящего исследования основан на результатах архивных данных обследования 82 пациентов (№ 1–82) с различной патологией опорно-двигательной системы, имевших в истории болезни необходимый для анализа набор лабораторных показателей, отвечающих требованиям создания экспертно-аналитической системы. В настоящей работе для расчетов и построения панели соотношений использовали ряд, представленный показателями водно-электролитного обмена. Используя предложенную методику, авторы выявили в персональных лабораторных данных у пациентов с высоким показателем B-cross Lap отличающиеся комплексы B-cross Lap-ассоциированных связей, тем самым дифференцируя различные типы патологических расстройств и предлагая их в качестве образов типовых патологических нарушений, которые могут быть опознаны в персонализированных лабораторных данных. Авторы обращают внимание, что приведенные и описанные комплексы B-cross Lap-ассоциированных связей не исчерпывают все возможные варианты отличительных особенностей формирования панели соотношений электролитов, но позволяют разработчикам положить начало созданию архива базы знаний образов расстройств, которая будет пополняться по мере накопления клинического материала и использоваться в их опознании при оценке лабораторных данных в каждом конкретном случае. В перспективе авторы планируют к разработке экспертно-аналитические системы на основе рутинных лабораторных данных, которые будут способны дифференцировать, в частности, наиболее часто встречающиеся расстройства костного обмена, а также осуществлять мониторинг эффективности терапии без применения сложных и дорогостоящих иммунохимических методов в ЛПУ общего профиля.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: обмен костной ткани, лабораторная диагностика, экспертно-аналитическая система.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при подготовке данного материала.

Tactics of recognition of typical pathological disorders on background of accumulation of C-terminal protein fragment of collagen I type in panels of ratio of personal indicators of water-electrolyte metabolism

A. V. Solomennikov¹, S. L. Bogdanova², A. I. Tyukavin¹, N. A. Arseniev¹

¹St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, St. Petersburg, Russia

²Turner National Medical Research Center for Pediatric Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russia

SUMMARY

The material of this study is based on the results of archival examination data of 82 patients (No. 1–82) with various pathologies of the musculoskeletal system, who had a set of laboratory parameters necessary for analysis in their medical history that meets the requirements for creating an expert analytical system. In this work, for calculations and construction of a panel of ratios, we used a series represented by indicators of water-electrolyte exchange. Using the proposed method, the authors identified in personal laboratory data in patients with a high B-cross Lap index different complexes of B-cross Lap-associated connections, thereby differentiating various types of pathological disorders and offering them as images of typical pathological disorders that can be identified in personalized laboratory data. The authors note that the given and described complexes of B-cross Lap-associated bonds do not exhaust all possible variants of the distinctive features of the formation of an electrolyte ratio panel, but allow developers to start creating an archive of the knowledge base of images of disorders, which will be updated as it accumulates. clinical material and be used in their identification in the evaluation of laboratory data in each case. In the future, the authors plan to develop expert-analytical systems based on routine laboratory data that will be able to differentiate, in particular, the most common disorders of bone metabolism, as well as monitoring the effectiveness of therapy without the use of complex and expensive immunochemical methods in general hospitals.

KEY WORDS: bone tissue exchange, laboratory diagnostics, expert-analytical system.

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

Financing. The authors declare no funding for the preparation of this material.

Введение

Диагностика и понимание отличительных особенностей процессов метаболизма костной ткани необходимо клиницисту для оценки нарушений этого обмена, выбора стратегии индивидуальной терапии, оценки результатов лечения [1]. Однако клинические симптомы этих нарушений достаточно разнообразны и для своей дифференциальной диагностики требуют дополнительных инструментальных и лабораторных исследований [2]

Вместе с тем традиционный подход к анализу лабораторных данных, основанный на принципах выявления «норма / не норма», не раскрывает внутренней структуры связей динамики оцениваемого параметра с другими показателями, что существенно снижает диагностическую ценность проводимых дополнительных исследований [3]. Нами предложен новый метод оценки получаемых лабораторных данных, позволяющий выявлять скрытые связи между ними [4, 5].

Цель исследования

Обоснование метода повышения информативности клиничко-лабораторных исследований у пациентов с патологией опорно-двигательного аппарата на базе использования экспертно-аналитических систем и перспектив его применения в оценке персональных особенностей формирования патологии на фоне высоких показателей C-терминального фрагмента коллагена I типа (B-crossLaps).

Материалы и методы исследований

Материал настоящего исследования основан на результатах архивных данных 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.

Сбор информации осуществлялся 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 электролитного состава плазмы: Na, K, Ca_{общ} (Ca общего), Ca_i (Ca ионизированного), F (фосфатов), Cl (хлоридов) K_r (креатинина), U_r (мочевины), Ca мочи (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.

Обработка полученных результатов

В основе метода, использовавшегося для индивидуальной обработки и анализа полученных лабораторных данных, лежит методика расчетов соотношений определенного кластера лабораторных показателей, характеризующего один из видов обмена или функциональную группу [4, 5].

Далее оценивали совпадения (коэффициенты корреляции; ККр) особенностей структурной деформации панели соотношений на фоне роста абсолютных показателей определявшихся аналитов между собой. При этом предполагалось, что их совпадение (структуры панели соотношений) свидетельствует о едином участии в формировании фиксируемых изменений, т. е. едином механизме возникающих расстройств [5].

В настоящей работе для расчетов и построения панели соотношений электролитов (ПСЭ) использовали ряд, способный характеризовать водно-электролитный обмен, который включал в себя значения НСТ, МСНС, Na, K, Ca, Cl, F, K_r, U_r. После построения соотношений второго уровня [5] ряд «опорных» точек (число рассчитанных соотношений) в панели достигало $n = 630$.

Согласно М. Б. Славину (1989) при таком числе наблюдений для подтверждения знака ККр с уровнем значимости $p < 0,01$ значение r (ККр) должно превышать [0,14]. Однако, учитывая достаточно вероятную, как прямую, так и опосредованную функциональную связь в целостном организме между различными показателями, при анализе полученных данных эмпирически было принято считать значимыми ККр $> [0,5]$ (коэффициент детерминации более 25%) и высокими ККр $> [0,7]$ (коэффициент детерминации более 50%).

Все расчеты осуществлялись на персональном компьютере в среде Excel.

Полученные результаты

После предварительного просмотра полученных данных для персонального анализа были выделены пациенты, демонстрировавшие высокие значения B-cross Laps ($> M + G$; $M = 1,37 \text{ ng/mL}$, $G = 0,65 \text{ ng/mL}$) составившие группу $n = 11$. При этом в трех наблюдениях (№ 7, 49 и 82) ККр влияния роста B-cross Laps на интегральную панель превышал значение [0,7], что свидетельствовало о высоком избирательном влиянии роста этого показателя на общую структуру ПСЭ. Это обосновывало их выделение в качестве наиболее «демонстративных», поскольку эти наблюдения сочетали в себе и высокие значения B-cross Laps, и ведущее влияние этого фактора (коэффициент детерминации $> 50\%$) на формирование «интегральной» ПСЭ при сравнительно низком влиянии на нее других факторов, что позволяло определять их конфигурацию, как специфически характерную для проявления B-cross Laps ассоциированного комплекса.

Так, в наблюдении № 49 высокие значения B-cross Laps сочетались со значимым положительным совпадением влияния на ПСЭ B-cross Laps: Lact (ККр: +0,94), F (ККр: +0,92), ПТГ (ККр: +0,95), ОК (ККр: +0,95), Ca_i% (ККр: –0,91), Ca мочи (ККр: +0,93) при отрицательных значениях Ca_{общ} (ККр: –0,89), Ca_i (ККр: –0,91), TP1NP (ККр: –0,77), VitD (ККр: –0,97), pH мочи (ККр: –0,96) (см. табл.).

В наблюдении № 82 также зарегистрировано высокое влияние B-cross Laps на формирование «интегральной» ПСЭ (ККр: +0,87) совпадающее с высокими абсолютными значениями самого показателя. В этом случае выраженные положительные совпадения влияния на ПСЭ B-cross Laps

Абсолютные показатели и коэффициенты корреляции (ККр) совпадения особенностей изменений структуры панели соотношений, определявших аналитов в выбранных для анализа наблюдениях

Инд. №	№ 49		№ 82		№ 7		Интегр.
	Показатели	Абс. значения	В-cross Laps-ассоц. связи по ПСЭ (ККр)	Абс. значения	В-cross Laps-ассоц. связи по ПСЭ (ККр)	Абс. значения	
Интегр		0,96		0,87		-0,90	1,00
Ca общ mmol/L	2,43	-0,89	2,45	0,84	2,40	0,94	-0,96
Ca i mmol/L	1,23	-0,91	1,28	0,78	1,15	0,82	-0,77
Ca i%	50,60	0,92	52,20	0,87	47,70	-0,90	0,94
Ca мочи mmol/L	1,35	0,93	7,12	0,82	1,75	0,94	-0,95
F mmol/L	1,51	0,92	1,82	0,97	1,87	0,95	-0,91
B-cross Laps ng/mL	2,30	1,00	2,35	1,00	2,14	1,00	-0,90
TR1NP ng/mL	778,10	-0,77	624,70	-0,74	758,40	0,92	-0,79
VitD ng/mL	24,90	-0,97	19,50	0,93	11,90	0,91	-0,91
ПТГ ng/mL	24,40	0,95	13,50	-0,85	23,00	-0,94	0,84
ОК ng/mL	140,90	0,95	73,00	-0,75	107,90	0,96	-0,89
Lact mmol/L	1,81	0,94	1,50	-0,57	1,60	0,89	-0,88
pH мочи	5,00	-0,96	5,00	-0,92	6,00	-0,05	0,75

Примечание. Полу жирным выделены значения ККр > [0,50] коэффициент детерминации > 25%.

демонстрировали: Ca_{общ} (ККр: +0,84), Ca_i (+0,87), Ca_i% (ККр: +0,87), F (ККр: +0,97), VitD (ККр: +0,93), Ca мочи (ККр: +0,83). Высоко значимые отрицательные значения ККр с влиянием B-cross Laps на ПСЭ в этом наблюдении (№ 82) демонстрировали: Lact (ККр: -0,57), ПТГ (ККр: -0,85), ОК (ККр: -0,75) (см. табл.).

В данных наблюдения № 7 влияние на ПСЭ роста B-cross Laps также достигало высоких значений, но демонстрировало отрицательную величину (ККр: -0,90). При этом комплекс B-cross Laps-ассоциированных связей включал в себя значимые положительные связи по ПСЭ Ca_{общ} (ККр: +0,94), Ca_i (ККр: +0,82), F (ККр: +0,95), VitD (ККр: +0,91), TR1NP (ККр: +0,92), ОК (ККр: +0,96), Ca мочи (ККр: +0,94) и отрицательные с влиянием на ПСЭ Ca_i% (ККр: -0,90), ПТГ (ККр: -0,94) (см. табл.).

Если сопоставить структуру B-cross Laps-ассоциированных комплексов в остальных наблюдениях, также демонстрировавших высокие значения анализируемого показателя (B-cross Laps) ($n=9$), но не оказывающие выраженного влияния на «интегральную» ПСЭ, то в шести из них они (комплексы) достоверно с ККр > +0,5 совпадали с одним из выше описанных. Это свидетельствовало об их частичной идентичности. Еще в трех наблюдениях совпадений не установлено, что создавало «перспективу» определения и создания других отличающихся «образов» в дальнейших исследованиях по мере накопления новых данных и расширения спектра определяемых лабораторных показателей.

Обсуждение полученных результатов

B-cross Laps (C-терминальный белковый фрагмент коллагена I типа) является признанным маркером резорбции костной ткани. Исходя из этого, описанные

выше наблюдения, демонстрирующие значимое влияние на структуру ПСЭ B-cross Laps, могли быть использованы для создания отличающихся «образов» типовых патологических состояний, манифестирующих лизис костного матрикса.

Так, B-cross Laps-ассоциированный комплекс пациента № 49 демонстрировал высокую активность ПТГ и ОК на фоне торможения остеосинтеза (TR1NP), снижения уровня Ca с его перераспределением в сторону Ca_i, сопровождаемым снижением Ca-всасывающей активности VitD и нарастанием потерь аналита (Ca) с мочой. Отметим, что в этом наблюдении зафиксирована связь нарастания B-cross Laps с ацидозом (рост влияния Lact и снижение pH мочи), что, по-видимому, и обуславливало нарастание потерь Ca с мочой [6].

Отличительными особенностями в формировании комплекса B-cross Laps-ассоциированных связей пациента № 82 являлось рост влияния на ПСЭ Ca_{общ} и Ca_i, торможения активности ПТГ и ОК, низким накоплением TR1NP на фоне определенного смещения pH в щелочную сторону (Lact), но сохранении тенденции снижения pH мочи и потерь Ca с мочой. Полагаем, что в этом случае высокоактивны механизмы лизиса костной ткани с участием системы RANK/RANKL/OPG [7], а высокая активность VitD за счет усиления всасывания обуславливала нарастание Ca и, соответственно, торможение выброса ПТГ [8].

Отдельно выделялись результаты, полученные в наблюдении № 7, поскольку демонстрировали высокозначимое отрицательное значение влияния роста B-cross Laps-ассоциированных связей на «интегральную» ПСЭ, что могло свидетельствовать о преобладании в балансе межсистемного ответа альтернативных механизмов ее формирования. Отметим, что приведенные в таблице

данные В-cross Laps-ассоциированных связей по ПСЭ демонстрируют отрицательные значения в «интегральной», т. е. динамика деформации ПСЭ на межсистемном уровне «тормозит» развертывание этого комплекса. Как следует из полученных данных, ведущими компонентами «альтернативного комплекса», проявляющимися в «интегральной» ПСЭ этого наблюдения (№ 7), являлись снижение интенсивности накопления Са в плазме при росте активности ПТГ и торможении активности VitD, защелачивания среды (Lact), снижение интенсивности «потерь» Са с мочой. Вместе с тем следует отметить, что в этом случае снижение влияния на ПСЭ В-cross Laps сопровождалось совпадением и с аналогичным эффектом TRiNP, что свидетельствовало об угнетении интенсивности ремоделирования костной ткани в целом.

Таким образом, можно полагать, что в этом случае накоплению В-cross Laps способствовала активность ПТГ, «спровоцированная» низкой активностью поступления Са из ЖКТ на фоне *торможения* интенсивности ремоделирования костного матрикса.

Отдельного внимания в этих наблюдениях заслуживает влияние ОК на ПСЭ при высоких значениях В-cross Laps. ОК секретируется исключительно остеобластами, но оказывает незначительное влияние на минерализацию и плотность костей. После синтеза белка пептид в ходе последующего ферментного воздействия становится γ -карбоксилированным, в результате чего обретает высокое сродство к кости и внеклеточному матриксу. Однако при низком значении pH ОК способен снова декарбоксилироваться, что снижает его сродство с костью и запускает выброс некарбоксилированного ОК в кровообращение. При этом существует обоснованное мнение, что некарбоксилированная форма ОК контролирует физиологические пути эндокринным путем [9].

В представленных наблюдениях хорошо отражается связь динамики pH (Lact) и особенностей влияния ОК в комплексе В-cross Lap на ПСЭ. Полагаем, что этот факт позволяет увидеть перспективу использования предложенной методики в исследованиях эндокринной функции ОК.

Последующее использование в опознании структурных изменений в ПСЭ по В-cross Lap описанных выше «образов» распределения ККр по использовавшимся биохимическим показателям в общем массиве пациентов ($n = 82$) выявляло совпадение с соответствующей структурой пациента № 49 с $ККр > +0,5$ в $n = 29$ (35,4%), из них 5 с $ККр > +0,7$ (6,1%). При этом «проявления» В-cross Lap в «интегральной» ПСЭ в этой группе колебались от $ККр -0,98$ до $+0,88$. Распределение ККр по ряду использовавшихся биохимических показателей («образ»), соответствующее наблюдению № 82, зафиксировано еще в 7 (6,1%) наблюдениях, при этом ККр совпадения во всех этих наблюдениях превышал значение $+0,70$. В этой группе наблюдений проявление влияния роста В-cross Lap в «интегральной» ПСЭ (ККр) колебалось от $-0,26$ до $+0,98$. Структура распределения ККр по показателям, соответствующая наблюдению № 7, лишь в 4

наблюдениях частично ($ККр > +0,5$ и $< +0,7$) совпадало с «искомым» (4,9%). Отметим, что в большинстве этих случаев абсолютный показатель В-cross Lap не выходил за пределы $M \pm G$.

Таким образом, высокая степень проявления В-cross Lap-ассоциированных связей, соответствующая высокой функциональной активности процесса, возможна и при нормальных абсолютных показателях В-cross Lap и может быть выявлена с использованием экспертно-аналитических систем.

Заключение

Использованная методика позволяет устанавливать в персональных лабораторных данных отличающиеся комплексы В-cross Lap-ассоциированных связей, тем самым дифференцировать различные типы патологических расстройств. Очевидно, что приведенные и описанные выше комплексы В-cross Lap-ассоциированных связей его роста не исчерпывают все возможные варианты формирования ПСЭ с участием этого показателя, но позволяют разработчикам положить начало созданию архива «базы знаний» «образов» типовых патологических расстройств, которая будет пополняться по мере накопления клинического материала и использоваться в их «опознании» при оценке лабораторных данных в каждом конкретном случае с применением экспертно-аналитических систем» [10]. По мере накопления общей архивной базы наблюдений и «базы знаний» с использованием различных панелей лабораторных данных, отражающих различные кластеры обмена или функциональных групп [5], в том числе представленных «рутинными» показателями, появляется возможность дифференцированной оценки, в частности, наиболее часто встречающихся расстройств костного обмена, а также мониторинга эффективности терапии без применения сложных и дорогостоящих иммунохимических методов в ЛПУ общего профиля.

Список литературы / References

1. Баранова И., Зыкова Т. Результаты скиннинга на гиперкальциемию у населения областного центра европейского севера России / Врaч., 2017., с 67–69
Baranova I., Zykova T. Results of skinning for hypercalcemia in the population of the regional center of the European North of Russia / Vrach., 2017., pp. 67–69. (In Russ.)
2. Васильева Т. Г., Трофимова А. А., Кочеткова Е. А., Гельцер Б. И., Бубнов О. Ю. Актуальные аспекты проблемы раннего выявления и профилактики нарушений кальций-фосфорного обмена у детей / Бюллетень ВСНЦ СО РАМН, 2005., № 4 (42), с. 163–166.
Vasil'eva T. G., Trofimova A. A., Kochetkova E. A., Geltser B. I., Bubnov O. Yu. Actual aspects of the problem of early detection and prevention of disorders of calcium-phosphorus metabolism in children / Bulletin of the All-Russian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, 2005., No. 4 (42), p. 163–166. (In Russ.)
3. Эмануэль В. Л. Лабораторная диагностика заболеваний почек. Изд. 2-е. СПб., Тверь: Триада, 2006:190–226.
Emanuel V. L. Laboratory diagnostics of kidney diseases. 2nd ed. St. Petersburg, Tver: Triad, 2006:190–226. (In Russ.)
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. DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-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. Meditsinsky Sovet. 2019; 6: 164–168. DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-6-164-168>. (In Russ.)

5. Соломенников А. В., Тюкавин А. И., Арсениев Н. А. Дополнительные возможности использования компьютерных технологий в экспертном анализе лабораторных данных. *Медицинский алфавит*. 2021; (41): 34–40. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-41-34-40>.
Solomennikov A. V., Tyukavin A. I., Arseniev N. A. Additional opportunities for using computer technologies in expert analysis of laboratory data. *Medical alphabet*. 2021; (41): 34–40. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-41-34-40>. (In Russ.)
6. R. Todd Alexander, Emmanuelle Cordat, Régine Chambrey, Henrik Dimke, and Dominique Eladari Acidosis and Urinary Calcium Excretion: Insights from Genetic Disorders / *J Am Soc Nephrol*. 2016 Dec; 27(12): 3511–3520. Published online 2016 Jul 28. doi: 10.1681/ASN.2016030305
7. Долженко А., Рихтер Т., Сагаловски С. Атеросклероз, кальцификация сосудов и понижение плотности костной ткани (остеопороз): общность патофизиологических механизмов развития заболеваний и поиск новых средств двойной терапии / *Атеросклероз/Научно-практический журнал*. 2016, Т. 12, № 4., с 44–67.
Dolzhenko A., Richter T., Sagalovsky S. Atherosclerosis, vascular calcification and low bone density (osteoporosis): commonality of pathophysiological mecha-

- nisms of disease development and the search for new dual therapy / *atherosclerosis / Scientific and Practical Journal*, 2016, V. 12, No. 4., p. 44–67. (In Russ.)
8. Vaishali Veldurthy, Ran Wei, Leyla Oz, Puneef Dhawan, Yong Heui Jeon, and Sylvia Christakos. Vitamin D, calcium homeostasis and aging / *Bone Res*. 2016; 4: 16041. 4: 16041. Published online 2016 Oct 18. doi: 10.1038/boneres.2016.41
9. Sarah C. Moser and Bram C. J. van der Eerden Osteocalcin – A Versatile Bone-Derived Hormone / *Front. Endocrinol.*, 10 January 2019 | <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00794>
10. Бурцева А. А., Берестнева Е. В., Степаненко Н. П. Создание базы знаний для медицинской экспертной системы / *Современные наукоемкие технологии*. – 2016. – № 3 (часть 1) – С. 14–17.
Burtseva A. A., Berestneva E. V., Stepanenko N. P. Creation of a knowledge base for a medical expert system / *Modern high technologies*. – 2016. – No. 3 (part 1) – P. 14–17. (In Russ.).

Статья поступила / Received 02.03.2022
Получена после рецензирования / Revised 10.03.2022
Принята в печать / Accepted 25.03.2022

Сведения об авторах

Соломенников Александр Васильевич, д.м.н., доцент кафедры физиологии и патологии¹. E-mail: solomen33@mail.ru. Author ID SPIN-код: 2255–5204

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. Author ID Scopus: 6603645369. Researcher ID WOS: 6699–2017

Арсениев Николай Анатольевич, к.б.н., доцент кафедры физиологии и патологии¹. E-mail: ars_nik@mail.ru

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. Тактика опознания типовых патологических расстройств на фоне накопления С-терминального белкового фрагмента коллагена I типа в панели соотношений персональных показателей водно-электролитного обмена. *Медицинский алфавит*. 2022; (6): 53–57. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-53-57>.

About authors

Solomennikov Alexander V., DM Sci (habil.), professor at Dept of Physiology and Pathology¹. E-mail: Solomen33@mail.ru

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. Author ID Scopus: 6603645369. Researcher ID WOS: 6699–2017

Arseniyev Nikolai A., PhD Med, associate professor at Dept of Physiology and Pathology¹. E-mail: ars_nik@mail.ru

¹St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, St. Petersburg, Russia

²Turner National Medical Research Center for Pediatric Traumatology and Orthopedics, St. 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. Tactics of recognition of typical pathological disorders on background of accumulation of C-terminal protein fragment of collagen I type in panels of personal indicators of water-electrolyte metabolism. *Medical alphabet*. 2022; (6): 53–57. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-6-53-57>



Подписка на журнал
2022 год



Медицинский
алфавит

«Медицинский алфавит». Серия «Современная лаборатория»

Печатная версия – 700 руб., электронная версия любого журнала – 500 руб. (за номер).
Присылайте, пожалуйста, запрос на адрес medalfavit@mail.ru.

ООО «Альфмед»

ИНН 7716213348

Рс № 40702810738090108773

ПАО «СБЕРБАНК РОССИИ» г. МОСКВА

К/с 30101810400000000225

БИК 044525225

Годовая подписка на журнал «Медицинский алфавит». Серия «Современная лаборатория» (2 выпуска в год).

Цена: 1 400 руб. в год (печатная версия) или 1 000 руб. (электронная версия).

Как подписаться

- 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.
- Оплата через онлайн-банки издательством принимается только на сайте <https://medalfavit.ru/podpiska-na-zhurnaly/> в разделе «Издательство медицинской литературы».

Конгресс с
международным участием



МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА И БИОБЕЗОПАСНОСТЬ - 2022

Документация по данному учебному мероприятию
подана на аккредитацию в Комиссию по НМО.

27-28 апреля 2022 г.

РЕГИСТРАЦИЯ НА САЙТЕ
WWW.EXPODATA.INFO
ОБЯЗАТЕЛЬНА!

г. Москва,
ул. Новый Арбат, д.36



Системный подход
для решения клинико-диагностических задач

Диакон



PATHFAST™ / Easy Reader+®

Иммунохемилюминесцентный и иммунохроматографический экспресс-анализаторы*

Point of care анализаторы широкого профиля

Кардиология • Реанимация • Ковидные госпитали

Диспансеризации взрослого населения

Модернизация первичного звена здравоохранения

* PATHFAST™ автоматический иммунологический анализатор (анализатор иммунохемилюминесцентный) с принадлежностями, производство LSI Medience Corporation, Япония; Easy Reader+® экспресс-анализатор иммунохроматографический с принадлежностями, производства VEDALAB, Франция.

Новая высота ваших возможностей

Модульные платформы cobas®

Концепция гибких и индивидуальных решений

Высокая эффективность – консолидация более чем 90% рутинных параметров

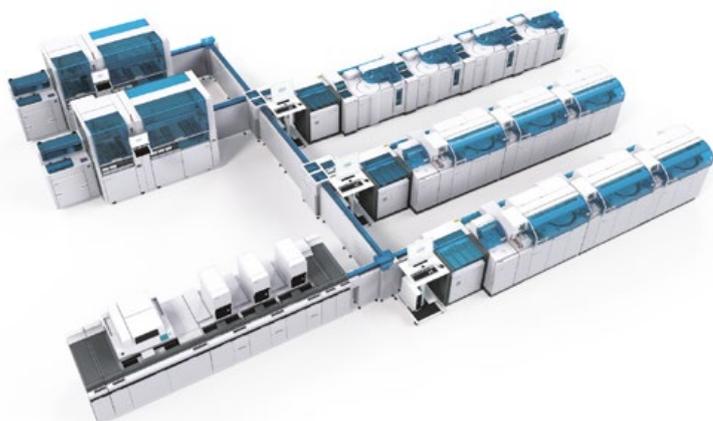
Легкость – единая концепция реагентов значительно облегчает их логистику

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>

diagnostics.roche.com
© ООО «Рош Диагностика Рус», 2021

ИНФОРМАЦИЯ ПРЕДНАЗНАЧЕНА ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ

