

Серии научно-практических рецензируемых журналов



Медицинский алфавит

№ 19 / 2022



Modern
LABORATORY

MEDICAL ALPHABET
Russian Professional Medical Journal

Современная ЛАБОРАТОРИЯ (2)



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



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

Научный сайт журнала
www.med-alfavit.com

Медицинский портал
издательства
www.medalfavit.ru

Издательство медицинской
литературы

ООО «Альфамед»
+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 25.08.2022.

Формат А4. Цена договорная.

© Медицинский алфавит, 2022

Содержание

- 7 **Технология оценки неопределенности измерения: обоснование, условия и опыт внедрения в медицинскую практику**
Н.А. Ковязина, Н.А. Алхутлова, А.Г. Чуновкина, В.Л. Эмануэль
- 12 **Использование канала PLT-F и параметров фракции незрелых тромбоцитов в дифференциальной диагностике тромбоцитопений**
О.Ю. Дорн, Т.В. Клинова, О.З. Легачева, Е.А. Цикаленко
- 18 **Миелопероксидаза, тропонин I и С-реактивный протеин в крови у пациентов до и после аортокоронарного шунтирования**
Т.А. Шешурина
- 22 **Повышение информативности определения N-телопептида молекул коллагена I типа в комплексе показателей водно-электролитного обмена**
А.В. Соломенников, С.Л. Богданова, А.И. Тюкавин, Н.А. Арсениев
- 28 **Значение цитологического исследования в диагностике патологии эндометрия**
А.Е. Карпова, И.П. Шабалова, К.Т. Касоян, Л.Г. Созаева, О.Б. Шахова, А.В. Миронов, Р.Э. Кузнецов
- 33 **Анализ уровней аннексина V и цитокинового статуса у больных с острым инфарктом миокарда**
А.В. Наумов, Т.В. Прокофьева, О.С. Полупина, Л.В. Сароянц
- 38 **Тромбозы на фоне COVID-19 у лиц среднего возраста**
Л.Д. Хидирова, Н.П. Ильных, П.Г. Мадонов
- 44 **Возможности и ограничения методов подсчета тромбоцитов**
Т.Г. Цветкова, А.А. Калашикова
- 50 **Лабораторная оценка состояния поствакцинального гуморального иммунитета к инфекциям с аэрозольным механизмом передачи**
А.А. Ереценко, О.А. Гусаква
- 55 **Модели машинного обучения при анализе биомаркеров хронического пародонтита**
В.П. Мудров
- 60 **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:

- 14.01.06 Психиатрия (медицинские науки);
- 14.03.09 Клиническая иммунология, аллергология (медицинские науки);
- 14.01.13 Лучевая диагностика, лучевая терапия (медицинские науки);
- 14.01.28 Гастроэнтерология (медицинские науки);
- 3.1.4 Акушерство и гинекология (медицинские науки);
- 3.1.6 Онкология, лучевая терапия (медицинские науки);
- 3.1.7 Стоматология (медицинские науки);
- 3.1.9 Хирургия (медицинские науки);
- 3.1.18 Внутренние болезни (медицинские науки);
- 3.1.20 Кардиология (медицинские науки);
- 3.1.23 Дерматовенерология (медицинские науки);
- 3.1.24 Неврология (медицинские науки);
- 3.1.27 Ревматология (медицинские науки);
- 3.1.29 Пульмонология (медицинские науки);
- 3.2.1 Гигиена (медицинские науки);
- 3.2.2 Эпидемиология (медицинские науки);
- 3.3.8 Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки);

- 3.1.2 Челюстно-лицевая хирургия (медицинские науки);
- 3.1.17 Психиатрия и наркология (медицинские науки);
- 3.1.19 Эндокринология (медицинские науки);
- 3.1.21 Педиатрия (медицинские науки);
- 3.1.22 Инфекционные болезни (медицинские науки);
- 3.1.25 Лучевая диагностика (медицинские науки);
- 3.1.30 Гастроэнтерология и диетология (медицинские науки);
- 3.1.33 Восстановительная медицина, спортивная медицина, лечебная физкультура, курортология и физиотерапия (медицинские науки).

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

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



Journal's Website

www.med-alphabet.com

Publishing House's Website

www.medalfavit.ru

Founder and Editor-in-Chief

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: 25 August 2022.

© 2022 Medical Alphabet

Contents

- 7 **Measurement uncertainty estimation technology: Justification, conditions and experience of implementation in medical practice**
N. A. Kovyazina, N. A. Alkhutova, A. G. Chunovkina, V. L. Emanuel
- 12 **Use of PLT-F channel and immature platelet fraction parameters in differential diagnosis of thrombocytopenia**
O. Yu. Dorn, T. V. Klinova, O. Z. Legacheva, E. A. Tsikalenko
- 18 **Myeloperoxidase, troponin I and C-reactive protein in blood of patients before and after coronary artery bypass grafting**
T. A. Sheshurina
- 22 **Improvement of information in determination of N-telopeptide of type 1 collagen molecules in complex of indicators of water-electrolyte metabolism**
A. V. Solomennikov, S. L. Bogdanova, A. I. Tyukavin, N. A. Arseniev
- 28 **Evaluation of exfoliative cytology in endometrial pathology**
A. E. Karpova, I. P. Shabalova, K. T. Kasoyan, L. G. Sozaeva, O. B. Shahova, A. V. Mironov, R. E. Kuznezov
- 33 **Analysis of annexin V levels and cytokine status in patients with acute myocardial infarction**
A. V. Naumov, T. V. Prokofieva, O. S. Polunina, L. V. Saroyants
- 38 **Thrombosis on background of COVID-19 in middle-aged people**
L. D. Khidirova, N. P. Ilyinykh, P. G. Madonov
- 44 **Possibilities and limitations of platelet counting methods**
T. G. Tsvetkova, A. A. Kalashnikova
- 50 **Laboratory assessment of state of post-vaccination humoral immunity to infections with aerosol transmission mechanism**
A. A. Ereshchenko, O. A. Gussyakova
- 55 **Machine learning models for analysis of biomarkers of chronic periodontitis**
V. P. Mudrov
- 60 **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 PhD and Doctor of Sciences in the following specialties:

- 14.01.06 Psychiatry (Medical sciences);
- 14.03.09 Clinical Immunology, Allergology (Medical sciences);
- 14.01.13 Radiation Diagnostics, Radiation Therapy (Medical sciences);
- 14.01.28 Gastroenterology (Medical sciences);
- 3.1.4 Obstetrics and Gynecology (Medical sciences);
- 3.1.6 Oncology, radiation therapy (Medical sciences);
- 3.1.7 Dentistry (Medical sciences);
- 3.1.9 Surgery (Medical sciences);
- 3.1.18 Internal medicine (Medical sciences);
- 3.1.20 Cardiology (Medical sciences);
- 3.1.23 Dermatovenereology (Medical sciences);
- 3.1.24 Neurology (Medical sciences);
- 3.1.27 Rheumatology (Medical sciences);
- 3.1.29 Pulmonology (Medical sciences);
- 3.2.1 Hygiene (Medical sciences);
- 3.2.2 Epidemiology (Medical sciences);
- 3.3.8 Clinical Laboratory Diagnostics (Medical sciences);

- 3.1.2 Oral and Maxillofacial Surgery (Medical sciences);
- 3.1.17 Psychiatry and Narcology (Medical sciences);
- 3.1.19 Endocrinology (Medical sciences);
- 3.1.21 Pediatrics (Medical sciences);
- 3.1.22 Infectious Diseases (Medical sciences);
- 3.1.25 Radiation Diagnostics (Medical sciences);
- 3.1.30 Gastroenterology and Dietology (Medical sciences);
- 3.1.33 Rehabilitation Medicine, Sports Medicine, Exercise Therapy, Balneology and Physiotherapy (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., Sevrak Z. V., Kopaeva L. B., Skibo I. I., Vavilova T. V. Determination of cut-off threshold of normalized ratio for determining lupus anticoagulant in normal plasma of donors – healthy volunteers (large network laboratory study results). *Medical alphabet*. 2020; (5): 34–37. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-5-34-37>

Главный редактор журнала

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., акад. 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., ФГБУ «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 ФПФОВ 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., акад. 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, акад. 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 последипломного 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. I. (*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

Технология оценки неопределенности измерения: обоснование, условия и опыт внедрения в медицинскую практику

Н. А. Ковязина¹, Н. А. Алхутова¹, 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

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

³Межрегиональное общественное объединение «Метрологическая академия», Россия

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

РЕЗЮМЕ

В соответствии с ГОСТ Р ИСО 15189–2015 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности» для отчета о значении измеренной величины в пробах пациента лаборатория должна определить и использовать неопределенность измерения в аналитической фазе. В статье подробно рассмотрены различия между общей аналитической ошибкой и неопределенностью измерения. Авторами выполнена апробация типового алгоритма оценивания неопределенности измерения. Представлены обязательные условия и алгоритм вычисления неопределенности измерения (на аналитическом этапе) в медицинских лабораториях, использующих количественный иммунохемилюминесцентный анализ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: неопределенность измерения, количественный иммунохемилюминесцентный анализ, контроль качества.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Measurement uncertainty estimation technology: justification, conditions and experience of implementation in medical practice

N. A. Kovyazina¹, N. A. Alkhutova¹, A. G. Chunovkina^{2,3}, V. L. Emanuel^{2,3}

¹The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine EMERCOM of Russia, Saint Petersburg, Russia

²D. I. Mendeleyev Institute for Metrology, Saint Petersburg, Russia

³Interregional Public Association 'Metrological Academy', Russia

⁴Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

SUMMARY

In accordance with GOST R ISO 15189–2015 'Medical laboratories. Particular requirements for quality and competence' for the report on the values of the measured value in the patient's samples, the laboratory must determine and use the measurement uncertainty in the analytical phase. The article discusses in detail the differences between the general analytical error and measurement uncertainty. The authors have tested a typical algorithm for estimating measurement uncertainty. Mandatory conditions and an algorithm for calculating measurement uncertainty (at the analytical stage) in medical laboratories using quantitative immunochemiluminescence analysis are presented.

KEY WORDS: measurement uncertainty, total error, quantitative immunochemiluminescence analysis, quality control.

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

Funding. The study had no sponsor support.

Введение

Общепризнанная клиническая ценность достоверной лабораторной информации послужила причиной того, что в мире и с конца 90-х годов в России беспрецедентно большое внимание стало уделяться формированию требований к качеству лабораторных исследований. В новейшей редакции ГОСТ Р ИСО 15189–2015 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности» указано, что «для отчета о значениях измеренной величины в пробах пациента»

лаборатория должна определить и использовать неопределенность измерения (НИ) в аналитической фазе [1].

Одним из наиболее распространенных методов определения уровня гормонов, иммуноглобулинов и онкомаркеров является количественный иммунохемилюминесцентный анализ (КИХЛА). КИХЛА – лабораторный метод косвенного количественного измерения концентрации искомого вещества, основанный на формировании и выявлении иммунного комплекса с применением хемилюминесцентной

метки. Среди преимуществ КИХЛА – высокий уровень стандартизации процесса и выдача результата в интервальной шкале, что создает возможность лабораторного мониторинга, а также клинической интерпретации с использованием медицинских стандартов оказания лечебной помощи и клинических рекомендаций, содержащих целевые /пороговые значения и референтные интервалы лабораторных показателей. В силу перечисленных преимуществ КИХЛА является на сегодняшний момент одним из немногих клинико-лабораторных методов, в отношении которых может быть применена оценка НИ в аналитической фазе.

Термин «неопределенность измерения» можно трактовать в смысловом и математическом аспектах. Так, в широком смысле неопределенность измерения понимается как сомнение в значении измеряемой величины; для медицинской лаборатории – сомнение в определении истинной концентрации аналита. Математически понятию НИ соответствует параметр, относящийся к результату измерения и характеризующий разброс значений, которые могли бы быть обоснованно приписаны измеряемой величине на основе всей доступной информации [ГОСТ 34100.3–2017].

Указание НИ создает условия для максимально обоснованного сопоставления результата клинико-лабораторного исследования с референтными значениями при принятии клинических решений. НИ также является инструментом, позволяющим оценивать наличие значимых аналитических различий между последовательными результатами лабораторного исследования, полученными в динамике.

В лабораторной медицине НИ как показатель точности измерения является относительно новым понятием и служит альтернативой общей аналитической ошибке (TE_a) [1, 5, 8]. По большому счету, как при оценивании НИ, так и при расчете TE_a в медицинской лаборатории используется один и тот же массив данных. Между тем понятия НИ и TE_a различаются.

TE_a – это установленный (считающийся известным) интервал значений, в котором находится погрешность измерения концентрации аналита [2]. TE_a представляет собой сумму двух величин – систематической и случайной погрешностей (ошибок) измерения, которые условно рассматриваются как известные. TE_a рассчитывается по формуле [2, 3]

$$TE_a\% = |\text{Bias}| \% + 1,96 CV\%,$$

где: Bias – систематическая погрешность / среднее относительное смещение метода, полученное не менее чем по 20 результатам измерения аттестованного контрольного материала, в котором паспортные данные аналита установлены по результатам межлабораторного эксперимента с участием не менее 50 лабораторий, использующих один и тот же метод; CV – статистическая характеристика распределения случайных погрешностей; коэффициент межсерийной вариации, рассчитанный по результатам не менее 50 аналитических серий внутрилабораторного контроля качества (ВКК); 1,96 – Z-множитель для двухстороннего 95%-ного доверительного интервала; 1,96 CV – интервал, поглощающий 95 % случайных погрешностей.

В медицинской лаборатории систематическая погрешность / смещение может быть рассчитана при наличии контрольных материалов для оценки правильности и выражается в единицах измерения или процентах со знаком «–» (занижение) или «+» (завышение). Для оценивания случайной погрешности используют ряд повторных результатов измерений концентрации аналита в контрольном материале, предназначенном для оценки прецизионности. Для полученного ряда рассчитывают стандартное отклонение и (или) коэффициент вариации, которые позволяют определить доверительный интервал, содержащий значение измеряемой величины с заданной вероятностью.

На практике TE_a может применяться двумя путями.

Во-первых, TE_a может фигурировать в диалоге специалиста лаборатории и клинициста при обсуждении достоверности конкретного результата лабораторного исследования. Однако к слабым местам такого применения можно отнести следующие. Так, систематическая погрешность, которая рассчитана в системе внешней оценки качества (ВОК) на основании межлабораторного эксперимента без аттестованного контрольного материала с установленным значением измеряемой величины, является изменчивым параметром, информация о котором поступает в лабораторию с месячным перерывом. Это не позволяет автоматически включить значение текущей систематической погрешности в TE_a . Для того чтобы на долгий срок отнести TE_a ко всему потоку результатов измерения (находящихся в определенном диапазоне и полученных определенным методом), необходимо выбирать наибольшее значение смещения из полученных за период участия в ВОК. Кроме того, при расчете TE_a не учитывается знак (+/–) смещения. Следовательно, TE_a ориентирована более на формирование максимальной (с запасом) ошибки метода (аналитической системы), чем на выражение точности конкретного результата измерения. Вероятно, в связи с этим TE_a не получила широкого практического применения в диалоге между лабораторией и клинической медициной – совместное обсуждение достоверности конкретных лабораторных результатов происходит редко, а для использования в качестве долгосрочного показателя точности лабораторных результатов TE_a недостаточно стабильна и универсальна. Также вызывает сомнение корректность суммирования при вычислении TE_a разнородных величин: границ систематической погрешности и доверительных границ случайной погрешности.

Во-вторых, допустимо использование TE_a в качестве критерия приемлемости метода измерения для клинических целей. В этом случае в отношении каждого аналита проводят сравнение TE_a с максимальной допустимой аналитической ошибкой (TE_{max}). Величины TE_{max} – это условные значения, которые устанавливаются консенсусом (стандартом) на основании значений индивидуальной и межиндивидуальной биологической вариации уровня аналита. Следует отметить, что такой способ оценки имеет ориентировочное предназначение. С одной стороны, он позволяет установить в лаборатории цель аналитического качества [3, 4]. С другой – «неизвестные и непознаваемые» [5] погрешности метода сравниваются со значениями биологической вариации. В то же время достоверность имеющихся данных о биологической вариации на сегодняшний день проблематична: они могут быть получены аналитически невалидными методами и в иной

популяционной выборке. «Устаревание», неполнота и неустановленная достоверность справочных данных о биологической вариации уровня аналитов потребовали их обновления (с указанием информации об источнике, методе и объекте их получения) в рамках проекта 2014 года Европейской федерации клинической химии и лабораторной медицины (EFLM). Однако опубликованных сведений еще недостаточно для установления требований к качеству измерений во всем разнообразии аналитов и клинических задач.

НИ представляет собой совокупность неопределенностей, обусловленных неправильностью (правильностью) и непрецизионностью (прецизионностью), вносимых элементами процесса измерения (средствами измерений, методами измерений, участниками, условиями измерений, неполным определением измеряемой величины и т.п.) и доступных для оценивания в реальных условиях. Прежде всего принимается гипотеза, что истинное значение измеряемой величины неизвестно, поскольку для его измерения должен существовать метод, не имеющий погрешностей. Тем не менее истинное значение не отрицается. Напротив, его получение принимается в качестве наилучшей цели измерения. При этом акцент переносится на важность поиска и учета всех возможных факторов, влияющих на результат измерения и подлежащих количественной оценке в реальных условиях. Затем при выявлении систематической погрешности метода устанавливается поправка (поправка на смещение), которая применяется ко всем результатам выполненных измерений. В дальнейшем измеренное с учетом поправки на смещение значение измеряемой величины принимается в качестве наилучшей оценки измеряемой величины. Наконец, для обеспечения полноты этой оценки рассчитывают НИ, указывающую на существующие обоснованные сомнения в значении измеряемой величины [ГОСТ Р 54500.3–2011], которую представляет собой результат лабораторного теста. Уместно отметить, что стандартная неопределенность, обусловленная прецизионностью, выражается стандартным отклонением (SD) или CV% (при этом SD или CV% входят в расчет и TE_a , характеризующая случайную погрешность). Кроме того, при введении поправки на смещение метода в суммарную НИ включают неопределенность, обусловленную этой поправкой. Это связано с тем, что поправка является всего лишь оценкой систематической погрешности и также не рассматривается в качестве известной величины из-за неполного знания о всех систематических эффектах.

Среди преимуществ НИ можно отметить следующие. Во-первых, теоретически результат лабораторного исследования может быть включен в иерархические схемы измерений с дальнейшим суммированием неопределенностей. Во-вторых, НИ – это гибкий и емкий параметр, количество компонентов в котором может варьировать в зависимости от реальных условий и по мере увеличения объема информации о процессе измерения. В-третьих, вынос систематической ошибки за пределы суммы однородных величин позволяет лаборатории дифференцированно оценивать приемлемость систематической ошибки и при необходимости вводить поправку на смещение, в то же время применять НИ в отношении крупных потоков результатов измерений и автоматически включать НИ в отчет о выполненном лабораторном тесте. Наконец, оценивание

и предоставление клиницисту НИ согласуется с первой и третьей моделями требований к качеству лабораторных исследований, установленными в 2014 году на Первой стратегической конференции EFLM [6].

Варианты расчета НИ изложены в ГОСТ 34100.3–2017 [6], который является аутентичным переводом международного документа JCGM 100:2008 (GUM) [8]. GUM устанавливает основные принципы оценивания НИ, в то время как в конкретных областях измерений подходы к ее оценке требуют уточнения с учетом специфики метода и условий реализации. Для медицинской лаборатории, выполняющей измерения, особую роль в формировании подходов к оценке НИ играет ее практическая, клинко-лабораторная значимость в диалоге специалиста лаборатории и врача-клинициста [9].

Цель исследования – оценить возможность реализации типового подхода и разработать алгоритм вычисления НИ (на аналитическом этапе) в медицинских лабораториях, использующих КИХЛА.

Материалы и методы исследования

Выполнена апробация типового алгоритма оценивания НИ в условиях медицинской лаборатории. Материалом для исследования служила многолетняя база результатов калибровочных и контрольных измерений методом КИХЛА.

Результаты и их анализ

Типовой алгоритм расчета НИ в аналитической фазе представлен на *рисунке 1* [7].

Основными источниками информации для реализации типового алгоритма служат: сведения о метрологической прослеживаемости калибраторов; данные внутреннего контроля качества, полученные с применением аттестованных контрольных материалов для оценки прецизионности и правильности; отчеты участия лаборатории в системах внешней оценки качества и данные систем межлабораторных сличений. Алгоритмы учета всех перечисленных источников информации и методика оценивания неопределенности при КИХЛА подробно изложены в опубликованных методических рекомендациях Государственной системы единства измерений [10]. Не все из перечисленных источников информации в настоящее время доступны в практике КИХЛА. Существуют объективные сложности обеспечения метрологической прослеживаемости как при разработке, так и при реализации аналитических систем и стандартных образцов. В связи с этим в медицинских лабораториях отсутствуют сведения о неопределенности калибраторов и контрольные материалы для оценки правильности, что не позволяет оценить все компоненты суммарной неопределенности. Рассчитанная в отсутствие этих данных НИ является условно заниженной, ее оценивание производится по формуле

$$u(x) = \sqrt{S_R^2(x)} \text{ в абсолютном виде}$$

$$\text{или } u(x) = CV(x) \text{ в относительном виде,}$$

где CV – коэффициент вариации в условиях долгосрочной промежуточной прецизионности.

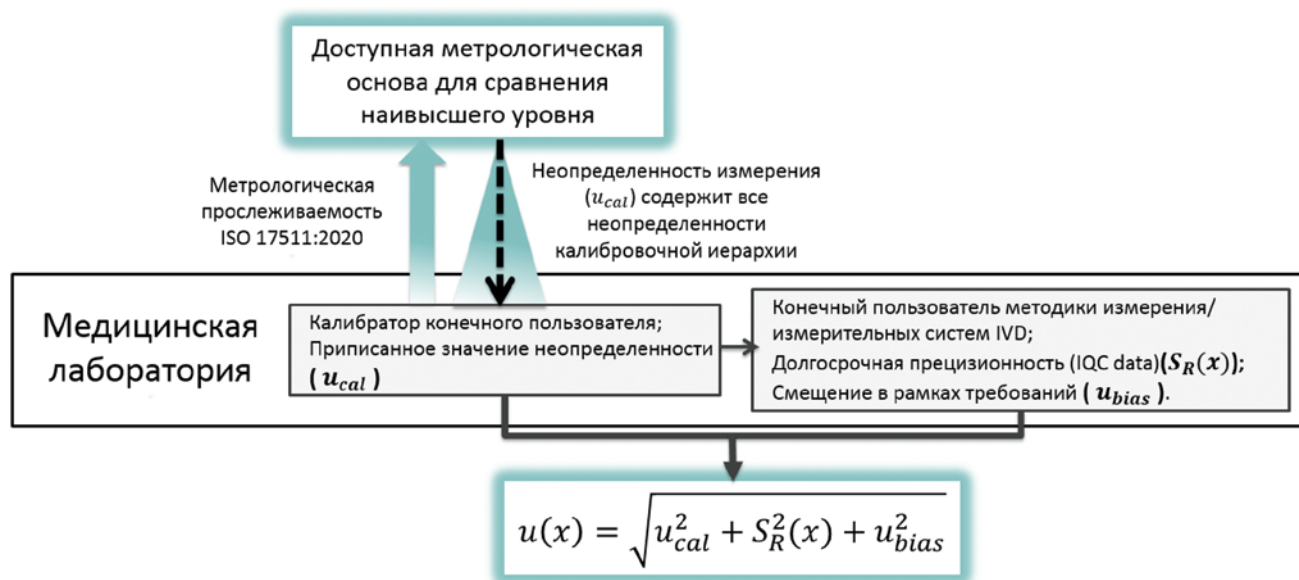


Рисунок 1. Типовой алгоритм оценивания и расчета неопределенности измерения. Примечание: u_{cal} – неопределенность калибратора, u_{bias} – неопределенность смещения, S_R – стандартное отклонение,

IQC – внутренний контроль качества.

Важно отметить, что в этой связи очевидную значимость в обеспечении качества лабораторных исследований приобретают достижение максимально низкого CV, подтверждение его валидности на основании данных производителя и межлабораторных сличений, а также поддержание его долгосрочной стабильности.

В медицинской практике клиническое значение имеет расширенная НИ, а именно: интервал, в котором с определенной вероятностью находится концентрация определяемого аналита. Именно расширенную неопределенность целесообразно указывать рядом с результатом измерения в отчете о выполненном лабораторном исследовании. Расширенная НИ вычисляется по формуле

$$U_P(x) = k_P \cdot u(x),$$

где k – коэффициент охвата.

При нормальном распределении вероятностей (случай, наиболее часто встречающийся на практике) коэффициент охвата принимают равным $k = 2$ для вероятности 0,95 (95 %) и $k = 3$ для вероятности 0,99 (99 %).

Примеры отчетов о выполненном лабораторном исследовании с указанием расширенной неопределенности измерения представлены на рисунке 2. Такие варианты отчета соответствует ГОСТ Р ИСО 15189–2015.

Несмотря на то что в настоящее время не решена проблема оценки правильности метода КИХЛА в медицинских лабораториях, существуют определенные пути, позволяющие косвенно удостовериться в отсутствии значимого систематического смещения. Так, оценить приемлемость правильности метода можно на основании результатов участия в системе внешней оценки качества (ВОК). В ВОК для контрольных материалов, используемых в КИХЛА, в качестве опорного значения устанавливается среднее значение результатов межлабораторных сличений.

Поэтому оценка приемлемости правильности результата, полученного в конкретной лаборатории, возможна при соблюдении следующих условий:

- распределение результатов в группе близко к нормальному или, по крайней мере, является одномодальным;
- количество участников в группе сравнения достаточно для статистической обработки результатов;
- уровень концентрации искомого вещества в контрольном материале соответствует диапазону концентраций, для которого требуется оценить приемлемость правильности измерений;
- участие лаборатории в системе внешней оценки качества является регулярным. Желательно наличие ежемесячных результатов участия за длительный (не менее года) период.

Только отсутствие значимого систематического смещения ($Z\text{-score} < |2.0|$) позволяет медицинской лаборатории условно считать правильность измерения приемлемой (то есть не вносящей существенный вклад в суммарную неопределенность измерения) и выполнять расчет НИ по представленной выше формуле.

Заключение

Представленный в статье алгоритм оценивания неопределенности измерения может быть применен в каждой медицинской лаборатории, использующей КИХЛА, при

Тиреотропный гормон (ТТГ) $0,391 \pm 0,039$ мМЕ/л,

где 0,039 мМЕ/мл – расширенная неопределенность результата измерения для 95% доверительного интервала, выраженная в абсолютном виде.

Тиреотропный гормон (ТТГ) $0,391$ мМЕ/л, $U_{95} = 10\%$,

где 10% – расширенная неопределенность результата измерения для 95% доверительного интервала, выраженная в относительном виде.

Рисунок 2. Примеры отчетов о выполненном лабораторном исследовании с указанием неопределенности измерения.

соблюдении следующих условий: проведение внутрилабораторного контроля качества исследований и регулярное участие в системе внешней оценки качества. Принципиальными аспектами реализации алгоритма служат поддержание долгосрочного коэффициента промежуточной прецизионности (межсерийной вариации) и достижение стабильных удовлетворительных результатов участия в системе внешней оценки качества ($Z\text{-score} < |2.0|$). Важное значение имеют условия межлабораторных сличений при внешней оценке качества: соответствие уровней контрольных материалов границам принятия клинического решения и достаточное количество участников в группе сличения, необходимое для формирования нормального распределения и корректной статистической обработки результатов.

Нерешенная многофакторная проблема обеспечения метрологической прослеживаемости калибраторов и контрольных материалов может приводить к недооценке или занижению неопределенности измерений и, как следствие, снижению качества лабораторных исследований.

Уместно отметить, что поскольку клинично-лабораторное измерение (исследование) включает в себя все этапы от момента взятия биологического материала до окончания аналитической фазы [11], то дальнейшее расширение понятия о неопределенности клинично-лабораторного измерения несет в себе перспективы оценки таких ее компонентов, как неопределенность, обусловленная специфичностью (в том числе химической интерференцией) метода, и неопределенность, вносимая средствами и условиями взятия, хранения и подготовки биоматериала.

Список литературы / References

- ГОСТ Р ИСО 15189–2015. Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности: национальный стандарт Российской Федерации. Москва: Стандартинформ, 2015. 45 с.
E-mail: nakovzn@gmail.com. ORCID: 0000-0002-0482-0802
- ГОСТ Р ИСО 15189–2015. Medical laboratories. Particular requirements for quality and competence: National standard of the Russian Federation. Moscow: Standartinform, 2015. 45 p.
- ГОСТ Р 53133.1–2008. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Часть 1. Пределы допускаемых погрешностей результатов измерения аналитов в клинично-диагностических лабораториях: национальный стандарт Российской Федерации. Москва: Стандартинформ, 2009. 28 с.

- ГОСТ Р 53133.1–2008. Clinical laboratory technologies. Quality control of clinical laboratory tests. Part 1. Limits of allowable errors of the results of the analyte measurements in clinical-diagnostics laboratories: national standard of the Russian Federation. Moscow: Standartinform, 2009. 29 p.
- О. А. Клименкова, Г. А. Иванов, Г. С. Турковский, А. В. Эмануэль. Выбор стандартов (целевой) аналитического качества как первый этап его создания в медицинских лабораториях. Лабораторная служба. 2014. № 4. С. 31–38.
- О. А. Клименкова, Г. А. Иванов, Г. С. Турковский, А. В. Эмануэль. Choice of standards (purposes) of analytical quality as the first stage of its creation in medical laboratories. Laboratory service. 2014. No. 4. P. 31–38.
- Арефьева И. А., Федорова М. М., Мошкин А. В. Планирование аналитического качества количественных лабораторных исследований с использованием коммерческих контрольных материалов: методические рекомендации. М. Тверь: ООО «Издательство «Трида», 2013. 63 с.
Arefieva I. A., Fadeev M. M., Moshkin A. V. Planning analytical quality of the quantitative laboratory studies using commercial control materials: methodical recommendation. Moscow: Tver. Triada, 2013. 63 p. (in Russ.).
- ГОСТ 34100.3–2017/ISO/IEC Guide 98–3: 2008. Неопределенность измерения. Часть 3. Руководство по выражению неопределенности измерения: межгосударственный стандарт. Москва: Стандартинформ, 2019. 105 с.
GOST 34100.3–2017/ISO/IEC Guide 98–3: 2008. Uncertainty of measurement. Part 3. Guide to the expression of uncertainty in measurement (ISO/IEC Guide 98–3: 2008, IDT). Moscow: Standartinform, 2019. 105 p.
- F. Ceriotti, P. Fernandes-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>
- ISO/TS 20914: 2019. Medical laboratories – Practical guidance for the estimation of measurement uncertainty. <https://cdn.standards.iteh.ai/samples/69445/052a72b353ed4a9b90a418211d087b0f/ISO-TS-20914-2019.pdf>
- JCGM 100: Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM:1995) <https://www.bipm.org/documents>
- Ковязина Н. А., Алхутова Н. А., Бардышева Н. А. [и др.]. 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. [et al.]. From theory to practice. The role of quality control of analytical stage of studies in increasing clinical informativeness of laboratory tests. Russian Clinical Laboratory Diagnostic. 2016. Vol. 3. P. 188–192 (in Russ.).
- МИ 3664–2022: рекомендация Государственной системы обеспечения единства измерений «Медицинские лаборатории. Оценивание неопределенности измерения при количественном иммунохемилюминесцентном анализе. Практическое руководство». 2022.
MI 3664–2022: Recommendation of the State System for ensuring the Uniformity of Measurements 'Medical laboratories. Estimation of measurement uncertainty in quantitative immunochemiluminescence analysis. Practical guide'. 2022.
- ГОСТ Р 51088–2013. Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации: национальный стандарт Российской Федерации. Москва: Стандартинформ, 2014. 21 с.
GOST R 51088–2013. In vitro diagnostic medical devices. Reagents, kits, the test-systems, control materials, culture media. Requirements to devices, and to supporting documentation: national standard of the Russian Federation. Moscow: Standartinform, 2014. 21 p.

Статья поступила / Received 28.07.2022

Получена после рецензирования / Revised 01.08.2022

Принята в печать / Accepted 01.08.2022

Сведения об авторах

Ковязина Надежда Алексеевна, к.м.н., зав. лабораторией серологических исследований и алергодиагностики отдела лабораторной диагностики¹.
E-mail: nakovzn@gmail.com. ORCID: 0000-0002-0482-0802

Алхутова Наталья Александровна, к.б.н., с.н.с. лаборатории серологических исследований и алергодиагностики отдела лабораторной диагностики¹.
E-mail: nalhutova@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-6268-8969

Чуновкина Анна Гурьевна, д.т.н., рук. метрологического отдела².
E-mail: A. G. Chunovkina@vniim.ru

Эмануэль Владимир Леонидович, д.м.н., проф., академик³, директор научно-методического центра молекулярной медицины Минздрава России, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины⁴. E-mail: vladimirem1@gmail.com. ORCID: 0000-0002-2079-0439

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

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

³Межрегиональное общественное объединение «Метрологическая академия», Россия

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

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

About authors

Kovyazina Nadezhda A., PhD Med, head of Laboratory of Serological Research and Allergy Diagnostics of Dept of Laboratory Diagnostics¹. E-mail: nakovzn@gmail.com. ORCID: 0000-0002-0482-0802

Alkhutova Natalya A., PhD Bio Sci, senior researcher at Laboratory of Serological Research and Allergy Diagnostics of Dept of Laboratory Diagnostics¹. E-mail: nalhutova@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-6268-8969

Chunovkina Anna G., DTech Sci, head of Metrological Dept². E-mail: A. G. Chunovkina@vniim.ru

Emanuel Vladimir L., DM Sci, professor, academician³, director of Scientific and Methodological Centre for Molecular Medicine of the Ministry of Health of Russia, head of Dept of Clinical Laboratory Diagnostics with a Course in Molecular Medicine⁴. E-mail: vladimirem1@gmail.com. ORCID: 0000-0002-2079-0439

¹The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine EMERCOM of Russia, Saint Petersburg, Russia

²D. I. Mendeleev Institute for Metrology, Saint Petersburg, Russia

³Interregional Public Association 'Metrological Academy', Russia

⁴Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

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

Для цитирования: Ковязина Н. А., Алхутова Н. А., Чуновкина А. Г., Эмануэль В. А. Технология оценки неопределенности измерения: обоснование, условия и опыт внедрения в медицинскую практику. Медицинский алфавит. 2022; (19): 7–11. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-7-11>.

For citation: Kovyazina N. A., Alkhutova N. A., Chunovkina A. G., Emanuel V. L. Measurement uncertainty estimation technology: Justification, conditions and experience of implementation in medical practice. Medical alphabet. 2022; (19): 7–11. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-7-11>.

Использование канала PLT-F и параметров фракции незрелых тромбоцитов в дифференциальной диагностике тромбоцитопений

О. Ю. Дорн^{1,2}, Т. В. Клинова¹, О. З. Легачева¹, Е. А. Цикаленко^{1,2}

¹ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 1», г. Новосибирск

²ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск

РЕЗЮМЕ

Установление истинных причин тромбоцитопении имеет первостепенное значение, так как от этого зависит тактика ведения больных. Получение информации об активности тромбоцитопоэза до недавнего времени было возможно только после исследования костного мозга, но современные возможности лабораторной диагностики позволяют оценить тромбоцитопоэз по комплексному клиническому анализу крови, проведенному на гематологическом анализаторе с помощью флуоресцентно-оптического метода (PLT-F). При этом, кроме количества тромбоцитов в периферической крови, доступна информация о количестве незрелых тромбоцитов (IPF) в абсолютном и относительном значении. Цель исследования: оценить возможность использования канала PLT-F и параметров IPF в дифференциальной диагностике тромбоцитопений. Нами рассмотрены три клинических случая с различными патогенетическими вариантами тромбоцитопений (иммунная тромбоцитопения, тромбоцитопения при ДВС-синдроме и тромбоцитопения, связанная с поражением костного мозга). Во всех случаях проводилось исследование клинического анализа крови на гематологическом анализаторе Sysmex XN 1000 с использованием канала PLT-F. При использовании канала PLT-F доступны параметры, позволяющие дифференцировать тромбоцитопении по механизму патогенеза. Абсолютное значение IPF является критерием активности тромбоцитопоэза в костном мозге, тогда как относительное значение IPF, а именно повышение этого параметра – критерием потери тромбоцитов в периферическом русле (разрушение или повышенное потребление тромбоцитов). Доступность получения диагностической информации об активности тромбоцитопоэза и потери тромбоцитов в периферическом русле по клиническому анализу крови с использованием канала PLT-F на гематологических анализаторах Sysmex XN имеет важное клиническое значение, так как клинический анализ крови, являясь рутинным исследованием, не требует особых условий для забора биоматериала и может быть выполнен не только на этапе постановки диагноза, но и при мониторинговании терапии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тромбоцитопения, лабораторная диагностика, флуоресцентно-оптический метод (PLT-F), незрелая фракция тромбоцитов, (IPF).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Use of PLT-F channel and immature platelet fraction parameters in differential diagnosis of thrombocytopenia

O. Yu. Dorn^{1,2}, T. V. Klinova¹, O. Z. Legacheva¹, E. A. Tsikalenko^{1,2}

¹City Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

SUMMARY

Establishing the true causes of thrombocytopenia is of paramount importance, since the tactics of managing patients depend on it. Obtaining information about the activity of thrombocytopoiesis until recently was possible only after examining the bone marrow, but modern laboratory diagnostic capabilities make it possible to evaluate thrombocytopoiesis by a comprehensive clinical blood test performed on a hematology analyzer using a fluorescent optical method (PLT-F). At the same time, in addition to the number of platelets in peripheral blood, information is available on the number of immature platelets (IPF) in absolute and relative terms. Objective: to evaluate the possibility of using the PLT-F channel and IPF parameters in the differential diagnosis of thrombocytopenia. We reviewed three clinical cases with different pathogenetic variants of thrombocytopenia (immune thrombocytopenia, thrombocytopenia in DIC and thrombocytopenia associated with bone marrow damage). In all cases, a clinical blood test was performed on a Sysmex XN 1000 hematology analyzer using the PLT-F channel. When using the PLT-F channel, parameters are available to differentiate thrombocytopenia according to the mechanism of pathogenesis. The absolute value of IPF is a criterion for the activity of thrombocytopoiesis in the bone marrow, while the relative value of IPF, namely the increase in this parameter, is a criterion for the loss of platelets in the peripheral bloodstream (destruction or increased consumption of platelets). The availability of obtaining diagnostic information about the activity of thrombocytopoiesis and loss of platelets in the peripheral bloodstream using a clinical blood test using the PLT-F channel on Sysmex XN hematology analyzers is of great clinical importance, since a clinical blood test, being a routine study, does not require special conditions for sampling biomaterial, and can be performed not only at the stage of diagnosis, but also during therapy monitoring.

KEY WORDS: thrombocytopenia, laboratory diagnostics, fluorescent optical method (PLT-F), immature platelet fraction (IPF).

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

Тромбоцитопения является часто встречающимся гематологическим синдромом при различных заболеваниях, отличающихся как патогенетически, так и клинически, что требует проведения расширенного диагностического поиска. Термин «тромбоцитопения» подразумевает обязательное изолированное снижение уровня тромбоцитов ниже $150,0 \times 10^9/\text{л}$ [1], что может сопровождаться или не сопровождаться геморрагическим синдромом. Установление истинных причин тромбоцитопении имеет первостепенное значение, так как от этого зависит тактика ведения больных.

В зависимости от патогенеза выделяют иммунные и неиммунные тромбоцитопении. Иммунная тромбоцитопения обусловлена разрушением тромбоцитов в периферической крови антитромбоцитарными антителами. Первичная иммунная тромбоцитопения является аутоиммунным заболеванием, характеризующимся изолированной тромбоцитопенией, при отсутствии других причин или нарушений, которые могут быть связаны с тромбоцитопенией. Иммунная реакция, лежащая в основе развития таких тромбоцитопений, является сложным многоступенчатым циклическим процессом, в котором принимают участие В-лимфоциты, Т-лимфоциты, NK-клетки, макрофаги, цитокины. Антитромбоцитарные антитела ускоряют клиренс тромбоцитов из циркуляции. Связывание антител с тромбоцитами приводит к опосредованному рецептором Fc γ разрушению тромбоцитов фагоцитами [2, 3]. Вторичная иммунная тромбоцитопения является симптомом других аутоиммунных заболеваний – системной красной волчанки, антифосфолипидного синдрома, ревматоидного артрита и др.

Неиммунные тромбоцитопении могут быть обусловлены двумя механизмами: повышенным потреблением тромбоцитов в результате спонтанной агрегации в терминальных артериолах и капиллярах, при заболеваниях, сопровождающихся повреждением эндотелия либо нарушением тромбоцитопоэза в костном мозге вследствие медикаментозного, токсического, радиационного воздействия и других причин. Также к неиммунным тромбоцитопениям относят наследственные варианты, которые характеризуются не только снижением числа тромбоцитов, но и их врожденной дисфункцией. Неиммунные тромбоцитопении могут стимулировать и запускать и иммунные механизмы в результате образования антитромбоцитарных или антимидаментозных антител. В таких случаях патогенез тромбоцитопении носит сочетанный характер [4].

Один из основных вопросов, возникающих у лечащего врача пациента с критическим уровнем тромбоцитопении, – вопрос о целесообразности переливания тромбоцитарной массы. Согласно клиническим рекомендациям по трансфузионной терапии, переливание тромбоцитарной массы наиболее эффективно у пациентов с нарушением образования тромбоцитов в костном мозге, тогда как у пациентов с иммунной тромбоцитопенией такая терапия вовсе может не оказать положительно-го эффекта. Переливание тромбоцитного концентрата

при повышенном разрушении тромбоцитов иммунного генеза не показано, так как циркулирующие у реципиента антитромбоцитарные антитела быстро (в течение нескольких минут) лизируют донорские тромбоциты. Таким образом, лечащему врачу необходима не только информация о количестве тромбоцитов у пациента, но и данные, указывающие на патогенез выявленной тромбоцитопении. А именно за счет чего снижено количество тромбоцитов в периферической крови: из-за недостаточной выработки их в костном мозге или из-за их потери в периферическом русле (разрушение или повышенное потребление). Получение информации об активности тромбоцитопоэза до недавнего времени было возможно только после исследования костного мозга, что предполагает сложную процедуру забора биологического материала и трудоемкое лабораторное исследование. Но современные возможности клинической лабораторной диагностики позволяют оценить тромбоцитопоэз по комплексному клиническому анализу крови, проведенному на гематологическом анализаторе, а именно при проведении анализа тромбоцитов с помощью флуоресцентно-оптического метода (PLT-F) [5–7]. При данном методе анализа тромбоцитов проба крови предварительно окрашивается флуоресцентным красителем, который связывается с нуклеиновыми кислотами тромбоцитов, затем пропускается через проточную кювету с направленным на нее лазерным лучом. Для фокусировки клеток в потоке жидкости используется гидродинамическое фокусирование, с помощью которого клетки выстраиваются в потоке в ряд одна за другой. При проточной цитометрии измеряются следующие параметры: прямое светорассеяние для определения относительного размера клеток или частиц; боковое светорассеяние для оценки неоднородности внутриклеточного содержимого клетки (например, размеры ядра и гранулярность цитоплазмы); интенсивность флуоресценции для изучения клеточных маркеров меченных флуорохромными красителями. С помощью этого метода возможно получение максимально точной информации о количестве тромбоцитов в крови пациента, сравнимой только с эталонным методом определения количества тромбоцитов по проточной цитометрии с CD41 / CD61 [8, 9]. Кроме того, по интенсивности флуоресценции доступна информация о количестве незрелых тромбоцитов в абсолютном и относительном значении.

По зрелости тромбоциты периферической крови неоднородны. В норме зрелые тромбоциты составляют 93,9–99,0 %, соответственно фракция незрелых тромбоцитов (IPF) в норме составляет 1,0–6,1 %. Нормальный диапазон IPF в абсолютном количестве составляет $2,5\text{--}14,0 \times 10^9/\text{л}$ [10–14]. Хорошая работа костного мозга с адекватной продукцией тромбоцитов характеризуется постоянным пополнением незрелых тромбоцитов в периферической крови, которые в течение 2–3 суток созревают до зрелых тромбоцитов. Тромбоциты, вышедшие из синусов костного мозга, циркулируют в периферическом русле примерно 10 суток, при этом соотношение зрелых и незрелых тромбоцитов остается

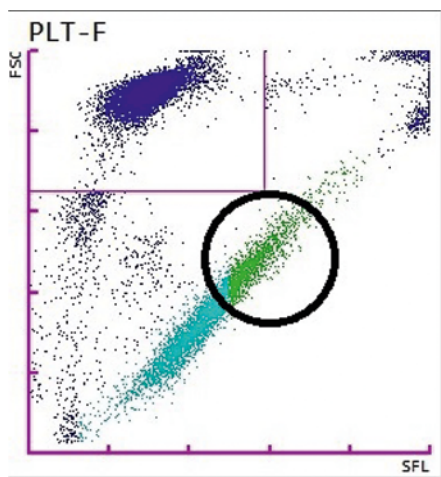


Рисунок 1. Изображение распределения тромбоцитов на скатерограмме в канале PLT-F пациента № 1. Окружностью обозначена увеличенная IPF.

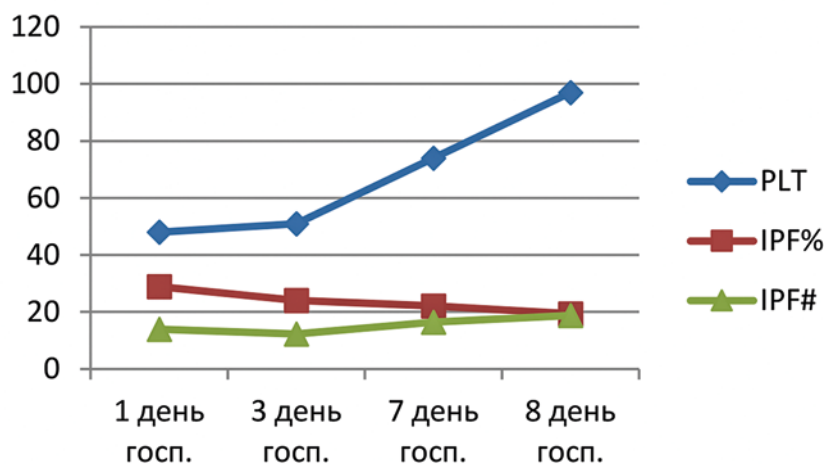


Рисунок 2. Динамика тромбоцитов (PLT), фракции незрелых тромбоцитов в относительном значении (IPF%) и в абсолютном значении (IPF#) на фоне терапии основного заболевания у пациента с аутоиммунным тиреоидитом и иммунной тромбоцитопенией.

на постоянном уровне, так как по закону клеточной кинетики одновременно с поступлением из костного мозга новых тромбоцитов утилизируется пропорциональное количество старых. Если в организме возникают условия для повышенного потребления тромбоцитов или их разрушения, то соотношение зрелых и незрелых тромбоцитов будет меняться в сторону увеличения IPF [15–18].

Цель исследования: оценить использование канала PLT-F и IPF в дифференциальной диагностике тромбоцитопений.

Материалы и методы

Нами рассмотрены три клинических случая. Во всех случаях проводилось исследование клинического анализа крови на гематологическом анализаторе Sysmex XN 1000. Исследование количества тромбоцитов проводилось импедансным методом, при обнаружении количества тромбоцитов менее $100 \times 10^9/\text{л}$ дополнительно проводилось исследование в канале PLT-F с одновременным анализом параметров IPF в абсолютном

и относительном значении. Разрешение пациентов на анонимное представление результатов лабораторных исследований получено.

Результаты

Клинический случай № 1

Пациент 20 лет проходил лечение в стационаре с диагнозом «аутоиммунный тиреоидит». Предъявлял жалобы, характерные для основного заболевания, а также жалобы на носовые кровотечения (раз в неделю). При исследовании клинического анализа крови обнаружена тромбоцитопения (количество тромбоцитов – $48 \times 10^9/\text{л}$), IPF 28 % – в относительном количестве и $13,9 \times 10^9/\text{л}$ – в абсолютном количестве. Скатерограмма распределения тромбоцитов представлена на рисунке 1. Остальные параметры клинического анализа крови были в пределах нормы.

Консультирован гематологом по поводу тромбоцитопении неясного генеза. Назначено дообследование, по результатам которого были выявлены положительные антитела к тромбоцитам (IgG), а также антитела к $\beta 2$ -гликопротеину (IgG), подтверждающие аутоиммунный патогенез

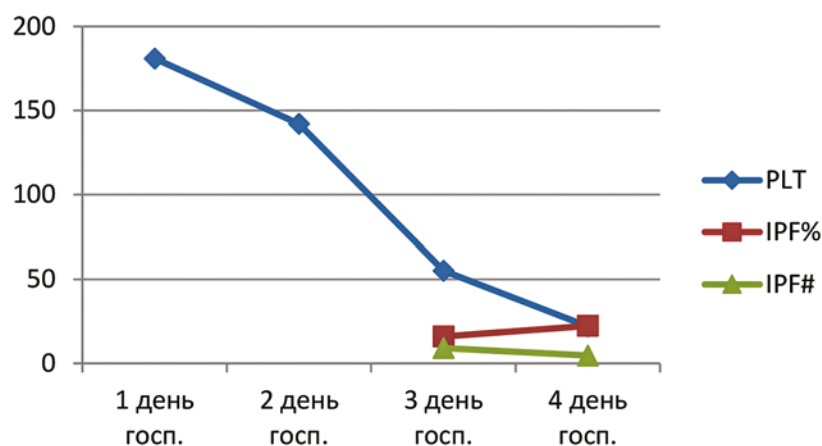
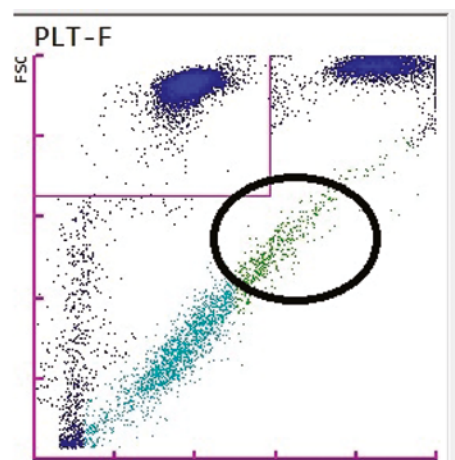


Рисунок 3. А. Изображение распределения тромбоцитов на скатерограмме в канале PLT-F пациента № 2. Окружностью обозначена увеличенная IPF. Б. Динамика тромбоцитов (PLT), фракции незрелых тромбоцитов в относительном значении (IPF%) и в абсолютном значении (IPF#) на фоне течения основного заболевания у пациента с мезентериальным тромбозом.

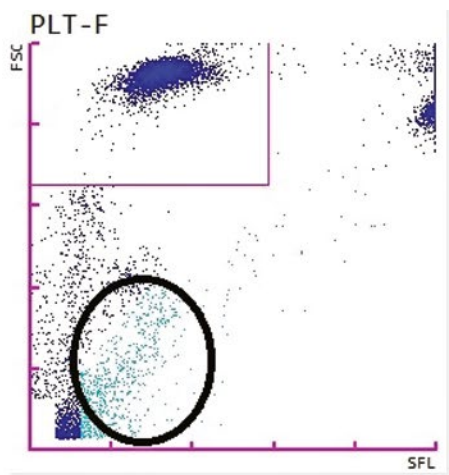


Рисунок 4. Изображение распределения тромбоцитов на скатерограмме в канале PLT-F пациентки № 3. Окружностью обозначено разреженное облако зрелых тромбоцитов. IPF практически отсутствует.

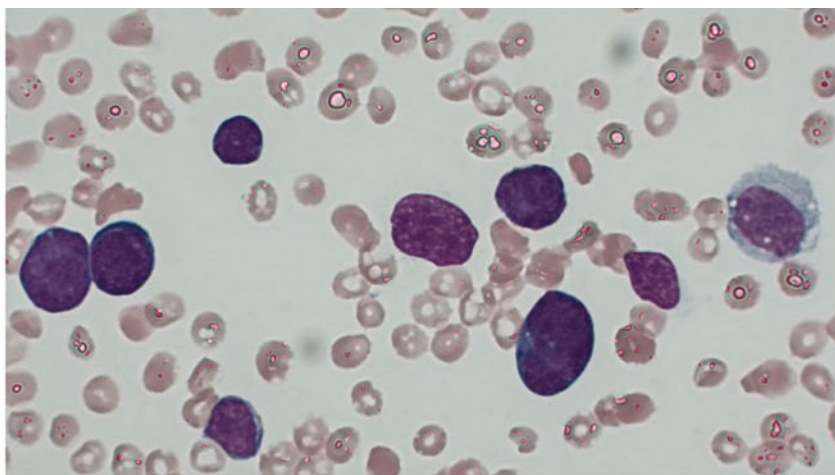


Рисунок 5. Мазок периферической крови пациентки № 3. На фоне присутствия бластных клеток отмечается отсутствие тромбоцитов в мазке крови.

заболевания. Уточненный диагноз после дообследования: «аутоиммунный тиреоидит, иммунная тромбоцитопения». На фоне проводимой терапии по основному заболеванию была получена положительная динамика по количеству тромбоцитов и соотношению зрелых и незрелых тромбоцитов (рис. 2).

Клинический случай № 2

Пациент 76 лет, поступил в стационар с острым нарушением кровообращения в бассейне верхней брыжеечной артерии. В клиническом анализе крови при поступлении обнаружено: лейкоциты $8,6 \times 10^9/\text{л}$, присутствие незрелых нейтрофилов (миелоцитов и метамиелоцитов), тромбоциты $181 \times 10^9/\text{л}$ импедансным методом. На фоне течения основного заболевания отмечалось прогрессирующее снижение количества тромбоцитов, на третий день госпитализации количество тромбоцитов снизилось до $55 \times 10^9/\text{л}$ (PLT-F). IPF относительное количество – 16% и абсолютное количество – $9,1 \times 10^9/\text{л}$. На четвертый день госпитализации количество тромбоцитов снизилось до $21 \times 10^9/\text{л}$, IPF составляла 22,3% и $4,7 \times 10^9/\text{л}$. Скатерограмма распределения тромбоцитов на четвертый день госпитализации и динамика тромбоцитов по дням госпитализации представлена на рисунке 3.

Биохимические параметры крови свидетельствовали о септическом осложнении. Д-димеры на четвертый день госпитализации – 1800 нг/мл (норма до 250 нг/мл), что свидетельствовало о развитии у пациента синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания. На фоне коагулопатии потребления состояние пациента осложнилось желудочным кровотечением. На четвертые сутки был зафиксирован летальный исход.

Клинический случай № 3

Пациентка 78 лет поступила в стационар с носовым кровотечением. В клиническом анализе крови обнаружено: лейкоциты – $51,4 \times 10^9/\text{л}$, тромбоциты – $9 \times 10^9/\text{л}$, IPF относительное количество – 3,8% и абсолютное количество – $0,2 \times 10^9/\text{л}$. Скатерограмма распределения тромбоцитов представлена на рисунке 4.

При микроскопии мазка крови обнаружены бласты в количестве 85% (рис. 5). Консультирована гематологом, с предварительным диагнозом «острый лейкоз» переведена в гематологический центр.

Обсуждение и выводы

Во всех клинических случаях представлены пациенты с тромбоцитопенией, сопровождающейся геморрагическим синдромом. Но патогенез заболеваний и тромбоцитопений в представленных случаях различный. В клиническом случае № 1 тромбоцитопения имеет доказанную иммунную природу. Костный мозг у пациента работает активно, что подтверждается нормальным абсолютным значением IPF, кроме того, его работа настроена на компенсацию постоянной потери тромбоцитов в периферической крови за счет действия антитромбоцитарных антител, при этом изменяются соотношения зрелых и незрелых тромбоцитов в сторону увеличения IPF (в 4,5 раза выше нормальных значений).

В клиническом случае № 2 патогенез тромбоцитопении связан с повышенным потреблением тромбоцитов из-за развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания. Продукция тромбоцитов в костном мозге у пациента была на нормальном уровне, что мы констатируем по нормальному абсолютному значению IPF, но из-за постоянной потери зрелых тромбоцитов в периферическом русле по мере прогрессирования тромбоцитарных осложнений относительное значение IPF увеличивалось.

В клиническом случае № 3 патогенез тромбоцитопении связан с поражением костного мозга и отсутствием нормального тромбоцитопоэза. В данном случае основополагающим критерием работы костного мозга является абсолютное значение IPF, которое ниже нормального значения в 10 раз. Относительное значение IPF у пациентки в пределах нормы, так как тромбоциты, вышедшие из костного мозга, проходят свой обычный жизненный цикл, не покидая периферическое русло преждевременно.

Таким образом, в клиническом анализе крови при использовании канала PLT-F, кроме точного анализа количества тромбоцитов, доступны еще два важных параметра, позволяющие дифференцировать тромбоцитопению по механизму патогенеза. Абсолютное значение IPF (IPF#) является критерием активности тромбоцитопоза в костном мозге, тогда как относительное значение IPF (IPF%), а именно повышение этого параметра – критерием потери тромбоцитов в периферическом русле (разрушение или повышенное потребление тромбоцитов). Знание механизмов патогенеза тромбоцитопении дает ценную информацию для лечащего врача, так как позволяет с высокой точностью дифференцировать клинический вариант тромбоцитопении и решить вопрос выбора адекватной терапии в каждом клиническом случае, протекающем с геморрагическим синдромом. Доступность получения диагностической информации об активности тромбоцитопоза и потери тромбоцитов в периферическом русле по клиническому анализу крови с использованием канала PLT-F на гематологических анализаторах Sysmex XN имеет важное клиническое значение, так как клинический анализ крови, являясь рутинным исследованием, не требует особых условий для забора биоматериала и может быть выполнен не только на этапе постановки диагноза, но и при мониторинге терапии.

Список литературы / References

1. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению идиопатической тромбоцитопенической пурпуры у взрослых (2018). Стр. 6. National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults (2018). Page 6.
2. Ковалева Л. Г. Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП) взрослых. Первичная иммунная тромбоцитопения (ИТП) взрослых. Болезнь Верльгофа. Л. Г. Ковалева, Е. И. Пустовая, Т. И. Сафонова. Москва: Гематологический научный центр, 2014. 131 с. ISBN 978-5-4253-0793-4. EDN ZBDGDV.
Kovaleva L. G. Idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) in adults. Primary immune thrombocytopenia (ITP) in adults. Werlhof disease. L. G. Kovaleva, E. I. Pustovaya, T. I. Safonov. Moscow: Hematological Scientific Centre, 2014. 131 p. ISBN 978-5-4253-0793-4. EDN ZBDGDV.
3. Е. А. Цикаленко, С. А. Песков, Е. Л. Потеряева [и др.] Биохимические и гемокоталационные критерии оценки риска развития нефропатии у рабочих пылеопасных профессий. Медицина труда и промышленная экология. 2010. № 1. С. 27–31. EDN LATBIF.
E. A. Tsikalenko, S. A. Peskov, E. L. Poteryaeva [et al.] Biochemical and hemocoagulation criteria for assessing the risk of developing nephropathy in workers in dust-hazardous professions. Occupational Medicine and Industrial Ecology. 2010. No. 1. P. 27–31. EDN LATBIF.
4. Войцеховский В. В. Тромбоцитопения. В. В. Войцеховский, Т. В. Заболотских, С. С. Целуйко. Амурский медицинский журнал. 2018. № 2 (18). С. 7–25. DOI: 10.22448/AMJ.2017.2.7–25. EDN ZDWNBF.
Voitsekhovsky V. V. thrombocytopenia. V. V. Voitsekhovsky, T. V. Zabolotskikh, S. S. Tseluiko. Amur Medical Journal. 2018. No. 2 (18). pp. 7–25. DOI: 10.22448/amj.2017.2.7–25. EDN ZDWNBF.
5. С. А. Песков, О. Ю. Дорн, Е. А. Цикаленко [и др.]. Вопросы автоматизации и сложности выполнения современного анализа крови. Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. Новосибирск: Артлайн, 2010. С. 165–170. EDN ZHASOZ.
S. A. Peskov, O. Yu. Dorn, E. A. Tsikalenko [et al.]. Issues of automation and complexity of performing a modern blood test. Molecular biological technologies in medical practice. Novosibirsk: ArtLine, 2010, pp. 165–170. EDN ZHASOZ.
6. Ю. И. Бравве, Е. Ю. Агеева, Л. А. Аргунова [и др.]. Современные диагностические технологии в амбулаторно-поликлинической практике: главное управление охраны здоровья населения Новосибирской области. Новосибирск: Сибмедицдат, 2004. 168 с. ISBN 5-85979-102-X. EDN CZHSBG.
Yu. I. Bravve, E. Yu. Ageeva, L. A. Argunova [et al.]. Modern diagnostic technologies in outpatient practice: Main Department of Public Health Protection of the Novosibirsk Region. Novosibirsk: Sibmedizdat, 2004. 168 p. ISBN 5-85979-102-X. EDN CZHSBG.
7. Е. Ю. Агеева, Л. А. Аргунова, Г. П. Ахременко [и др.]. Доказательная клиническая диагностика в амбулаторно-поликлинической практике. Новосибирск: Новосибирский государственный технический университет, 2010. 312 с. ISBN 978-5-7782-1402-6. EDN XZFQXZ.
E. Yu. Ageeva, L. A. Argunova, G. P. Akhremenko [et al.]. Evidence-based clinical diagnostics in outpatient practice. Novosibirsk: Novosibirsk State Technical University, 2010. 312 p. ISBN 978-5-7782-1402-6. EDN XZFQXZ.
8. Tanaka Y. et al. (2014): Performance Evaluation of Platelet Counting by Novel Fluorescent Dye Staining in the XN-Series Automated Hematology Analyzers. J Clin Lab Anal. 28 (5): 341–8.
9. Park S. H., Park C.-J., Kim M.-J. et al. The Sysmex XN-2000 hematology autoanalyzer provides a highly accurate platelet count than the former Sysmex XE-2100 system based on comparison with the CD 41/CD 61 immunoplatelet reference method of flow cytometry. Annals of Laboratory Medicine. 2014; 34 (6): 471–4.
10. Zucker MJ et al. (2006): Immature platelet fraction as a predictor of platelet recovery following hematopoietic progenitor cell transplantation. Lab Hematol. 12 (3): 125–30.
11. Cho YG et al. (2007): Clinical usefulness of the simple technique to diagnose thrombocytopenia using immature platelet fraction. Korean J Lab Med. 27(1): 1–6.
12. Pekelharin JM et al. (2010): Haematology reference intervals for established and novel parameters in healthy adults. Sysmex J Int. 20(1): 1–11.
13. Ko YJ et al. (2013): Establishment of reference interval for immature platelet fraction. Int J Lab Hematol. 35(5): 528–33.
14. Sysmex Corporation (2014): Reference ranges analysis document for XN series.
15. Seo A et al. (2015): Reference intervals for immature platelet fraction and immature platelet count. Int J Lab Hematol. 37(1): e1–2.
16. Briggs C et al. (2004): Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia. Br J Haematol. 126 (1): 93–9.
17. Kickler T et al. (2006): A clinical evaluation of high fluorescent platelet fraction percentage in thrombocytopenia. Am J Clin Pathol. 125(2): 282–7.
18. Jung H et al. (2010): Immature platelet fraction: establishment of a reference interval and diagnostic measure for thrombocytopenia. Korean J Lab Med. 30 (5): 451–9.

Статья поступила / Received 04.08.2022
Получена после рецензирования / Revised 08.08.2022
Принята в печать / Accepted 08.08.2022

Сведения об авторах

Дорн Ольга Юрьевна, к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики¹, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики².
E-mail: olga_dorn@ngs.ru. ORCID: 0000-0002-1570-6810

Клинова Татьяна Витальевна, к.м.н., зав. отделением лабораторной диагностики¹. E-mail: klinova55@mail.ru. ORCID: 0000-0002-3901-1183

Легачева Олеся Захаровна, врач клинической лабораторной диагностики¹. E-mail: olesya.legachyova1994@mail.ru. ORCID: 0000-0002-6894-0176

Цикаленко Елена Александровна, к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики¹, ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики². E-mail: kld54kafedra@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-8989-4028

¹ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 1», г. Новосибирск

²ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск

Автор для переписки: Дорн Ольга Юрьевна. E-mail: olga_dorn@ngs.ru

About authors

Dorn Olga Yu., PhD Med, doctor of Clinical Laboratory Diagnostics¹, associate professor at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics².
E-mail: olga_dorn@ngs.ru. ORCID: 0000-0002-1570-6810

Klinova Tatyana V., PhD Med, head of Dept of Laboratory Diagnostics¹.
E-mail: klinova55@mail.ru. ORCID: 0000-0002-3901-1183

Legacheva Olesya Z., doctor of Clinical Laboratory Diagnostics¹.
E-mail: olesya.legachyova1994@mail.ru. ORCID: 0000-0002-6894-0176

Tsikalenko Elena A., PhD Med, doctor of Clinical Laboratory Diagnostics¹, Assistant at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics². E-mail: kld54kafedra@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-8989-4028

¹City Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

Corresponding author: Dorn Olga Yu. E-mail: olga_dorn@ngs.ru

Для цитирования: Дорн О.Ю., Клинова Т.В., Легачева О.З., Цикаленко Е.А. Использование канала PLT-F и параметров фракции незрелых тромбоцитов в дифференциальной диагностике тромбоцитопений. Медицинский алфавит. 2022; (19): 12–16. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-12-16>.

For citation: Dorn O. Yu., Klinova T. V., Legacheva O. Z., Tsikalenko E. A. Use of PLT-F channel and immature platelet fraction parameters in differential diagnosis of thrombocytopenia. Medical alphabet. 2022; (19): 12–16. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-12-16>.



Миелопероксидаза, тропонин I и С-реактивный протеин в крови у пациентов до и после аортокоронарного шунтирования

Т. А. Шешурина^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Национальный государственный университет физической культуры спорта и здоровья имени П. Ф. Лесгафта», Санкт-Петербург

²ГБУЗ «Городской врачебно-физкультурный диспансер», Санкт-Петербург

РЕЗЮМЕ

Изучение динамики лабораторных маркеров до и после проведения операций на сердце позволяет прогнозировать риски развития послеоперационных осложнений. Тропонин I является «золотым стандартом» диагностики острого инфаркта миокарда, но при повышении маркера после операции на сердце трактовка результатов может представлять сложности. Поэтому поиск новых комбинаций лабораторных маркеров может помочь в оценке степени повреждения миокарда после оперативного вмешательства, а также рисков развития осложнений. Миелопероксидаза, как новый лабораторный показатель, представляет интерес, так как существует много исследований о прогностическом значении повышения этого маркера у пациентов с ишемической болезнью сердца в развитии сердечно-сосудистых осложнений. В настоящем исследовании произведена оценка динамики миелопероксидазы, тропонина I и С-реактивного протеина у пациентов с подтвержденным диагнозом «ишемическая болезнь сердца» до и после плановой операции аортокоронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения. Получены следующие результаты: повышенный уровень миелопероксидазы плазмы крови у пациентов до операции является дополнительным показателем в оценке риска послеоперационных осложнений независимо от концентрации С-реактивного протеина. Выявлена корреляционная связь между концентрацией тропонина I и уровнем миелопероксидазы в крови, а также между длительностью искусственного кровообращения и уровнем МПО через 24 часа после оперативного вмешательства.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тропонин I, миелопероксидаза, С-реактивный протеин, ишемическая болезнь сердца, аортокоронарное шунтирование.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Myeloperoxidase, troponin I and C-reactive protein in blood of patients before and after coronary artery bypass grafting

T. A. Sheshurina^{1,2}

¹National State University of Physical Culture, Sports and Health n.a. P. F. Lesgaft, Saint Petersburg, Russia

²City Medical and Physical Education Dispensary, St. Petersburg, Russia

SUMMARY

The study of dynamics of laboratory markers before and after heart surgery makes it possible to predict the risks of postoperative complications. Troponin I is 'the gold standard' for diagnosing acute myocardial infarction, but with an increase in the marker after heart surgery, the interpretation of the results can be difficult. Therefore, the search for new combinations of laboratory markers can help in assessing the degree of myocardial damage after surgery, as well as the risk of complications. Myeloperoxidase as a new laboratory indicator is of interest, since there are many studies on the prognostic value of an increase in this marker in patients with coronary heart disease in the development of cardiovascular complications. In the present study, the dynamics of myeloperoxidase, troponin I, and C-reactive protein in patients (n = 60) with a confirmed diagnosis of coronary heart disease before and after elective coronary artery bypass grafting under cardiopulmonary bypass was assessed. The following results were obtained: an increased level of myeloperoxidase in blood plasma in patients before surgery is an additional indicator in assessing the risk of postoperative complications, regardless of the concentration of C-reactive protein. A correlation was found between the concentration of troponin I and the level of myeloperoxidase in the blood, as well as between the duration of cardiopulmonary bypass and the level of MPO 24 hours after surgery.

KEY WORDS: troponin I, myeloperoxidase, C-reactive protein, coronary heart disease, coronary artery bypass grafting.

CONFLICT OF INTEREST. The author declares no conflict of interest.

Введение

В настоящее время в лабораторной медицине активно идет поиск новых лабораторных маркеров. Из широкого спектра изученных биомаркеров воспаления высокочувствительный С-реактивный протеин (CRP) получил наибольшее распространение в скрининге риска сердечно-сосудистых осложнений (ССО), а также для оценки клинического ответа на терапию препара-

тами из группы статинов ишемической болезни сердца (ИБС) [1]. Несмотря на многочисленные исследования о том, что CRP участвует в иммунных реакциях, которые связаны с повышенным риском сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), окончательных доказательств его роли в качестве причинного фактора развития атеросклероза недостаточно, поэтому одним из претендентов

на новый воспалительный маркер ССЗ является уровень миелопероксидазы в крови. Миелопероксидаза (МПО) – это внутриклеточный фермент, который в большом количестве содержится в лейкоцитах [2]. Особенностью этого фермента является наличие железа гема в составе простетической группы, за счет этого фермент способен участвовать в окислительных реакциях в присутствии перекиси водорода, в результате образуются гипохлорная кислота и ее производные, которые обладают бактерицидным действием [3]. Реакции воспаления, в которых участвуют лейкоциты, играют ключевую роль в возникновении ССЗ. Литературные данные свидетельствуют, что катализируемые МПО реакции задействованы во всех стадиях патогенеза ИБС – от начальной эндотелиальной дисфункции до развития зрелой атеросклеротической бляшки [4] из-за повреждающего действия на мембраны клеток вторичных продуктов окисления гипохлорной кислоты, таких как 3-хлортирозин, тирозильные радикалы, гидроксифенилацетальдегид, которые инициируют перекисное окисление липидов и запускают модификацию мембранных протеинов [5]. Имеются данные о том, что МПО изменяет скорость метаболизма оксида азота, поэтому у пациентов с высокой концентрацией маркера в плазме чаще наблюдаются признаки эндотелиальной дисфункции [6]. Фермент участвует в окислении липопротеидов низкой плотности, которые активно поглощаются макрофагами в отличие от неокисленных, вследствие чего формируются пенные клетки [4], в цитоплазме которых накапливается МПО и при нарушении стабильности бляшки фермент в большом количестве попадает в кровь. Повышенный уровень маркера у пациента может прогнозировать разрыв атеросклеротической бляшки и связанные с этим осложнения [7]. По литературным данным, отмечена корреляция уровня МПО и степени поражения сосудов у пациентов с ангиографически подтвержденным атеросклерозом коронарных артерий [6, 8]. Показано, что концентрация МПО помогает прогнозировать развитие острого инфаркта миокарда даже при отрицательном значении тропонина Т [9]. В других исследованиях также выявлено, что миелопероксидаза может использоваться в качестве диагностического маркера для стратификации риска у пациентов и оценки тяжести ИБС [4, 10, 11, 12]. Работ, посвященных исследованию диагностической ценности этого лабораторного показателя, в кардиохирургии крайне мало. В исследовании S. R. Alam *et al.* показано, что МПО может использоваться для оценки степени ишемически-реперфузионного повреждения сердца во время операции [13]. По данным S. Stankovic *et al.*, определение МПО совместно с тропонином Т эффективно для прогноза неблагоприятных исходов после операций на сердце [14]. Одной из проблем применения МПО на практике являются различия в референтных диапазонах, единицах измерения в разных клинических исследованиях, что связано с аналитическими проблемами определения, так как существует большое количество тест-систем для иммуноферментного метода определения, где используют различные моноклональные антитела

к разным антигенным участкам маркера [15]. Кроме того, для правильной оценки результатов очень важен преаналитический этап, так как концентрация МПО в плазме увеличивается со временем, а также концентрация маркера значительно выше в сыворотке крови, чем в плазме [15].

Цель работы: оценить клиническую значимость определения миелопероксидазы, тропонина I и С-реактивного протеина у пациентов с ИБС до и после проведения аортокоронарного шунтирования.

Материалы и методы

60 пациентов мужского пола, возраст 56 ± 11 лет, ИБС с доказанным поражением коронарного русла, гипертоническая болезнь III степени, ХСН по NYHA (классификации Нью-Йоркской кардиологической ассоциации) III функциональный класс – $n = 17$ (28%), II функциональный класс – $n = 43$ (72%), острый инфаркт миокарда в анамнезе имели 38 (63%) пациентов. Всем пациентам проводили плановую операцию аортокоронарного шунтирования (АКШ). Операцию проводили с использованием ауто-артериальных трансплантатов и аутовенозных шунтов в условиях искусственного кровообращения и кровяной изотермической кардиopleгии. Длительность операции в среднем составила 175 ± 28 минут, длительность искусственного кровообращения – 90 ± 28 минут.

Кровь для исследования забирали из локтевой вены до операции, через 2, 6, 12, 24, 48 часов после операции в вакуумные системы с активатором свертывания для получения сыворотки и с ЭДТА для получения плазмы. Для измерения концентрации миелопероксидазы и тропонина I использовали тест-системы Architect i2000 (Abbott Laboratories, США), хемилюминесцентный метод иммуноанализа. Для измерения концентрации С-реактивного протеина использовали наборы того же производителя с использованием высокочувствительного иммунотурбидиметрического метода. Для статистической обработки результатов использовали программы Microsoft Excel и SPSS Statistics 22. Для описания количественных признаков использовали медиану, 25 и 75 перцентиль Me [Q1–Q3], среднее арифметическое значение и стандартное отклонение $M \pm SD$. Для изучения корреляционных взаимодействий использовался коэффициент линейной корреляции Пирсона (r). Для сопоставления показателей – U-критерий Манна – Уитни.

Результаты исследования

Произведена оценка уровня тропонина I до и после операции. По данным производителя тест-системы, 99-й перцентиль для мужчин равен 33 нг/л. До операции уровень тропонина I у пациентов не превышал 99-й перцентиль – 0 [0; 10] нг/л. Через два часа после операции отмечали резкий подъем концентрации тропонина I до 1065 [870; 1714] нг/л, через 6 часов – до 1203 [887; 1714] нг/л, через 12 часов – 1292 [1027; 1875] нг/л, через 24 часа – 1351 [929; 2030] нг/л, через 48 часов отмечали тенденцию к снижению – 763 [541; 1190] нг/л.

По данным производителя, 95-й перцентиль для МПО у мужчин составил 354,3 пмоль/л, 99-й перцентиль – 664,8 пмоль/л. Для оценки дооперационного уровня CRP использовали клинические рекомендации American Heart Association, в которых концентрация CRP ниже 1,0 мг/л расценивается как низкий риск ССО, концентрация CRP от 1 до 3 мг/л – средний риск, концентрация CRP выше 3 мг/л указывает на повышенный риск в будущем [15]. До операции уровень МПО у пациентов составил менее 95-го перцентиль – 145 [115; 206] пмоль/л, уровень С-реактивного протеина составил 2,8 [1,9; 3,8] мг/л. Через 24 часа после операции отмечено повышение уровня МПО более чем в два раза по отношению к дооперационному уровню – 415 [303; 520] пмоль/л. Концентрация CRP также повысилась до 49 [38; 77] мг/л, что более чем в 10 раз превышает дооперационный уровень (см. табл.).

Оперативное вмешательство стимулирует воспалительный ответ организма, что вызывает повышение концентрации как CRP, так и миелопероксидазы в крови у всех пациентов после операции. Между уровнем CRP и МПО корреляционной связи как до, так и после оперативного вмешательства не обнаружено. Несмотря на то что дооперационный уровень МПО не превышал 95-й перцентиль (354,3 пмоль/л), у 4 пациентов отмечено превышение этого уровня ($357,9 \pm 66,1$ пмоль/л). Из анамнеза известно, что эти пациенты длительно болели ишемической болезнью сердца, перед операцией уровень CRP составил менее 3 мг/л. В отделении интенсивной терапии все пациенты с уровнем МПО выше 95-го перцентиль до операции получали инотропную поддержку, отмечено более длительное время госпитализации за счет возникновения осложнений в послеоперационном периоде выраженная сердечно-сосудистая недостаточность ($n = 3$) и острое нарушение мозгового кровообращения ($n = 1$), чем у пациентов с уровнем МПО ниже 95-го перцентиль ($p = 0,002$). Таким образом, можно сделать вывод о том, что миелопероксидаза является полезным дополнительным лабораторным показателем в оценке риска развития послеоперационных осложнений вне зависимости от уровня С-реактивного протеина до операции, так как у наших пациентов с длительным течением ИБС низкий уровень CRP обусловлен рациональной терапией ИБС статинами. Выявлена корреляционная связь между концентрацией тропонина I через 24 часа после операции и МПО ($r = 0,411$; $p = 0,009$). Установлена корреляция между площадью под кривой концентрации TnI за 48 часов ($r = 0,45$; $p = 0,008$) и уровнем МПО через 24 часа после операции. Отмечена также корреляция между длительностью искусственного кровообращения ($r = 0,74$; $p = 0,002$), временем пережатия аорты ($r = 0,57$; $p = 0,026$) и временем реперфузии ($r = 0,72$; $p = 0,029$) и уровнем МПО через 24 часа после операции.

Обсуждение результатов

Во время проведения оперативного вмешательства на сердце всегда происходит повреждение кардиомиоцитов. Механизм этого повреждения многообразен, это

Таблица
Динамика концентрации МПО и CRP до и после проведения аортокоронарного шунтирования

Время	МПО пмоль/л, Me [Q1; Q3]	CRP мг/л, Me [Q1; Q3]
До операции	145 [115; 206]	2,8 [1,9; 3,8]
Через 24 ч после операции	415 [303; 520]	49 [38; 77]

и механическая травма миокарда, и последствия использования искусственного кровообращения (перфузия и реперфузия), и воспалительный ответ организма на само оперативное вмешательство. Целью нашего исследования было выявить связь между маркерами повреждения миокарда и воспалительной реакцией организма на операцию, а также пользу лабораторных маркеров в оценке риска развития осложнений. В клинической практике распространенным является применение определения CRP, но маркер не обладает кардиоспецифичностью и всегда повышается в острой фазе любого воспалительного процесса [16]. Кроме того, применение липидснижающих препаратов оказывает влияние на уровень С-реактивного протеина, снижая прогностическую ценность показателя. Поэтому применение дополнительного лабораторного маркера, такого как МПО, для оценки риска ССО у пациентов до операции может быть целесообразно. В нашем исследовании мы получили данные о тенденции к возникновению риска осложнений в послеоперационном периоде у пациентов с уровнем МПО выше 95-го перцентиль (354,3 пмоль/л) до операции. Получены данные, свидетельствующие о влиянии искусственного кровообращения на концентрацию МПО в крови. Также обнаружено, что повышенная концентрация МПО после операции коррелирует с уровнем тропонина I через 24 часа после операции. Таким образом, можно предположить, что постишемическое воспаление, возникающее в миокарде в результате интраоперационного повреждения, влияет на степень повышения МПО после операции. Таким образом, применение МПО в клинической практике может быть перспективным для выявления пациентов группы риска по развитию послеоперационных осложнений, а также для оценки степени повреждения миокарда в результате ишемии – реперфузии, возникающей во время проведения операции.

Выводы

Повышенный уровень миелопероксидазы плазмы крови у пациентов с длительным течением ИБС является дополнительным показателем в оценке риска послеоперационных осложнений независимо от концентрации CRP. Выявлены корреляционная связь между концентрацией тропонина I и уровнем миелопероксидазы в крови через сутки после операции, а также влияние длительности искусственного кровообращения на уровень маркера после проведения оперативного вмешательства на сердце.

Список литературы / References

1. Yousuf O. High-sensitivity C-reactive protein and cardiovascular disease: a resolute belief or an elusive link? O. Yousuf, B.D. Mohanty, S.S. Martin [et al.]. J Am Coll Cardiol. 2013. Vol. 62, No. 5. P. 397–408.

2. Singh U. C-Reactive Protein stimulates myeloperoxidase release from polymorphonuclear cells and monocytes: Implications for acute coronary syndromes U. Singh, S. Devaraj, I. Jialal *Clin Chem.* 2009. Vol. 55, No. 2. P. 36–364
3. Nussbaum C. Myeloperoxidase: a leukocyte-derived protagonist of inflammation and cardiovascular disease C. Nussbaum, A. Klinke, M. Adam [et al.]. *Antioxid Redox Signal.* 2013. Vol. 18, No. 6. P. 692–713.
4. Teng N. The roles of myeloperoxidase in coronary artery disease and its potential implication in plaque rupture, N. Teng, G. J. Maghazal, J. Talib, I. Rashid [et al.]. *Redox Rep.* 2017. Vol. 22, No. 2. P. 51–73.
5. Patel A. A. The fate and lifespan of human monocyte subsets in steady state and systemic inflammation A. A. Patel, Y. Zhang, J. N. Fullerton, L. Boelen [et al.]. *J Exp Med.* 2017. Vol. 214, P. 1913–1923.
6. Koeth R. A. Chapter one – myeloperoxidase in cardiovascular disease R. A. Koeth, V. Haselden, W. H. Tang *Adv Clin Chem.* 2013. Vol. 62, P. 1–32.
7. Narula J. Histopathologic characteristics of atherosclerotic coronary disease and implications of the findings for the invasive and noninvasive detection of vulnerable plaques J. Narula, M. Nakano, R. Virmani [et al.]. *J Am Coll Cardiol.* 2013. Vol. 61, No. 10, P. 1041–1051.
8. Baseri M. Myeloperoxidase levels predicts angiographic severity of coronary artery disease in patients with chronic stable angina M. Baseri, R. Heidari, B. Mahaki [et al.]. *Adv Biomed Res.* 2014. Vol. 3, P. 137.
9. Rebeiz A. G. Plasma myeloperoxidase concentration predicts the presence and severity of coronary disease in patients with chest pain and negative troponin-T. A. G. Rebeiz, H. M. Tamim, R. M. Sleiman [et al.]. *Coron Artery Dis.* 2011. Vol. 22, No. 8, P. 553–558.
10. Oyenu A. O. Association of monocyte myeloperoxidase with incident cardiovascular disease: The Atherosclerosis Risk in Communities Study A. O. Oyenu, D. Couper, K. Matsushita K. [et al.]. *PLoS ONE.* 2018. Vol. 13, No. 10, P. 1–9.
11. Rashid I. Myeloperoxidase is a potential molecular imaging and therapeutic target for the identification and stabilization of high-risk atherosclerotic plaque I. Rashid, G. J. Maghazal [et al.]. *European Heart Journal.* 2018. Vol. 39, No. 35, P. 3301–3310.
12. Samsamshariat S. Z. Elevated plasma myeloperoxidase levels in relation to circulating inflammatory markers in coronary artery disease S. Z. Samsamshariat, G. Basati, A. Movahedian [et al.]. *Biomark Med.* 2011. Vol. 5, P. 377–385.
13. Alam S. R. Perioperative elafin for ischaemia-reperfusion injury during coronary artery bypass graft surgery: a randomised-controlled trial. S. R. Alam, S. C. Lewis, V. Zamvar. *Heart.* 2015. Vol. 101, No. 20, P. 1639–1645.
14. Stankovic S. The usefulness of myeloperoxidase in prediction of in-hospital mortality in patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated by primary percutaneous coronary intervention S. Stankovic, M. Asanin, N. Majkic-Singh [et al.]. *Clin Lab.* 2012. Vol. 58, No. 1–2, P. 125–131.
15. Chang P. Y. Development of an ELISA for myeloperoxidase on microplate: normal reference values and effect of temperature on specimen preparation P. Y. Chang, T. L. Wu, C. C. Hung, K. C. Tsao [et al.]. *Clin Chim Acta.* 2006. Vol. 373, No. 1–2, P. 158–163.
16. Ruparel N. Inflammatory processes in cardiovascular disease: a route to targeted therapies N. Ruparel, J. T. Chai, E. A. Fisher, R. P. Choudhury *Nat Rev Cardiol.* 2017. Vol. 14, No. 3, P. 133–144.

Статья поступила / Received 28.04.2022

Получена после рецензирования / Revised 12.05.2022

Принята в печать / Accepted 01.08.2022

Сведения об авторе

Шешурина Татьяна Андреевна, ст. преподаватель кафедры биохимии¹, врач клинической лабораторной диагностики², ORCID: 0000-0003-1221-2396.

¹ФГБОУ ВО «Национальный государственный университет физической культуры, спорта и здоровья имени П. Ф. Лесгафта», Санкт-Петербург
²ГБУЗ «Городской врачебно-физкультурный диспансер», Санкт-Петербург

Для переписки: Шешурина Татьяна Андреевна. E-mail: mitralis@list.ru

Для цитирования: Шешурина Т. А. Миелопероксидаза, тропонин I и C-реактивный белок в крови у пациентов до и после аортокоронарного шунтирования. *Медицинский алфавит.* 2022; (19): 18–21. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-18-21>.

About author

Sheshurina Tatiana A., lecturer at Dept of Biochemistry¹, doctor of clinical laboratory diagnostics², ORCID: 0000-0003-1221-2396

¹National State University of Physical Culture, Sports and Health n.a. P. F. Lesgaft, Saint Petersburg, Russia
²City Medical and Physical Education Dispensary, St. Petersburg, Russia

For correspondence: Sheshurina Tatiana A. E-mail: mitralis@list.ru

For citation: Sheshurina T. A. Myeloperoxidase, troponin I and C-reactive protein in blood of patients before and after coronary artery bypass grafting. *Medical alphabet.* 2022; (19): 18–21. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-18-21>

Развитие отечественного медпрома в современных условиях обсудили на форуме «Армия-2022»

В рамках деловой программы Международного военно-технического форума «Армия-2022» состоялась конференция «Диверсификация оборонно-промышленного комплекса в интересах национального проекта „Здравоохранение“ в условиях введения в отношении Российской Федерации ограничительных мер экономического характера».

В мероприятии приняли участие представители регуляторных органов власти, научного и врачебного сообщества, военных структур, профильных организаций, а также российские производители медицинских изделий.

В ходе конференции эксперты обсудили ситуацию, сложившуюся на российском рынке медпрома в новых экономических условиях, оценили риски возникновения дефектуры медтехники и возможности ее предотвращения силами предприятий оборонно-промышленного комплекса.

Директор департамента развития фармацевтической и медицинской промышленности Минпромторга России Дмитрий Галкин отметил, что совместно с Росздравнадзором и подведомственными учреждениями проведена объемная работа по анализу рынка медицинских изделий, выявлению наиболее востребованных системой здравоохранения медицинских изделий.

В работу с возможной дефектурой вовлекаются смежные отрасли промышленности. Благодаря эффективному межотраслевому взаимодействию реализуются проекты

по организации производства рентгеновской пленки, медицинских полимеров, медицинского стекла, алюминиевой упаковки, материалов для стоматологии. Дмитрий Галкин также обозначил ряд актуальных направлений – это и медицинские изделия, например, для сердечно-сосудистой хирургии, неврологии, *in vitro* – диагностики.

Спикер напомнил производителям о действующих мерах господдержки, как отраслевых, так и общесистемных. Это широкая линейка финансовых и нефинансовых инструментов для разработчиков новой медпродукции, а также для развития действующих производств.

В ходе конференции участники выступили с предложениями по обеспечению устойчивой работы предприятий медицинской промышленности и ускоренному выводу на рынок высокотехнологичных медицинских изделий для нужд здравоохранения и Вооруженных сил Российской Федерации. Рекомендации касались оптимизации взаимодействия между всеми участниками процесса, где драйвером выступает медицинское сообщество, проведения централизованных госзакупок медицинских изделий.

На полях форума при участии российских производителей медизделий также состоялось обсуждение актуальных вопросов медико-социальной реабилитации военнослужащих, протезно-ортопедических изделий и технологий их производства, производства компонентов и препаратов крови в интересах национальной обороны.

Повышение информативности определения N-телопептида молекул коллагена I типа в комплексе 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

В настоящей работе представлены результаты экспертного анализа лабораторных данных пациентов с патологией опорно-двигательного аппарата, полученных с использованием экспертно-аналитической системы. Проанализированы персональные данные пациентов, у которых определялся показатель N-телопептида молекул коллагена I типа (TP1NP). Комплекс TP1NP-связей в персональных наблюдениях устанавливали путем сопоставления структурных особенностей формирования панели соотношений показателей водно-электролитного обмена на фоне динамики анализируемых остеомаркеров. При этом выделены из общего массива и персонально проанализированы два типа влияния роста TP1NP на «конечную» структуру панели соотношений электролитов – высокое влияние комплекса TP1NP-ассоциированных связей на межсистемном уровне и при абсолютных значениях TP1NP, выходящих за пределы $> M + G$. Приводится подробный анализ регистрируемых связей с обоснованием ведущих механизмов формирования TP1NP-ассоциированных комплексов с использованием литературных источников. Авторы приходят к заключению, что в условиях «возмущающих» воздействий на организм достижение выраженной реакции может осуществляться, в частности, за счет взаимной мультипликации (умножения) эффективности различных механизмов без выраженных сдвигов абсолютных значений анализируемого показателя. В то же время нарастание количественного показателя TP1NP при слабой выраженности его влияния на конечную структуру панели соотношений электролитов может соответствовать преимущественному влиянию на обмен костной ткани других факторов, выходящих за рамки анализируемых в статье остеомаркеров, тем самым определяя необходимость продолжения поиска и расшифровки отличающихся комплексов. Вместе с тем приведенные и проанализированные в настоящей работе наблюдения, демонстрирующие высокую степень влияния на интегральную ПСЭ TP1NP-ассоциированного комплекса, могут быть занесены в архив базы знаний и распознаваться при рутинной расшифровке получаемых лабораторных данных водно-электролитного обмена.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: обмен костной ткани, лабораторные показатели, экспертно-аналитическая система.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Improvement of information in determination of N-telopeptide of type 1 collagen molecules in complex of indicators of water-electrolyte metabolism

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

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

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

SUMMARY

This paper presents the results of an expert analysis of laboratory data of patients with pathology of the musculoskeletal system, obtained using an expert analytical system. The personal data of patients who had the index of N-telopeptide of type I collagen molecules (TP1NP) were analyzed. The complex of TP1NP connections in personal observations was established by comparing the structural features of the formation of a panel of ratios of indicators of water-electrolyte metabolism against the background of the dynamics of the analyzed osteomarkers. At the same time, two types of influence of TP1NP growth on the 'final' structure of the panel of electrolyte ratios were singled out from the general array and personally analyzed – a high influence of the complex of TP1NP-associated bonds at the intersystem level and at absolute values of TP1NP that go beyond $> M + G$. A detailed analysis of the recorded relationships is presented with the substantiation of the leading mechanisms for the formation of TP1NP-associated complexes using literary sources. The authors come to the conclusion that under conditions of 'disturbing' effects on the body, a pronounced reaction can be achieved, in particular, due to mutual multiplication (multiplication) of the effectiveness of various mechanisms without pronounced shifts in the absolute values of the analyzed indicator. At the same time, the increase in the quantitative indicator of TP1NP with a weak expression of its effect on the final structure of the panel of electrolyte ratios may correspond to the predominant effect on bone metabolism of other factors that go beyond the osteomarkers analyzed in the article, thereby determining the need to continue the search and deciphering different complexes. At the same time, the observations presented and analyzed in this work, which demonstrate a high degree of influence on the integral PSE of the TP1NP-associated complex, can be entered into the archive of the knowledge base and recognized in the routine interpretation of the obtained laboratory data on water-electrolyte metabolism.

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

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

Funding. The authors declare no funding while preparing this material.

Введение

Оценка процессов метаболизма костной ткани необходима клиницисту для определения особенностей нарушений обмена, выбора стратегии индивидуальной терапии, оценки результатов лечения [1].

Определение N-телопептидов молекул коллагена I типа (TP1NP) в крови является одним из часто используемых показателей при оценке состояния обмена костной ткани [2].

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

Эти положения обуславливают необходимость продолжения поиска и разработки методов, способных повышать информативность получаемых лабораторных данных. Так, в частности, авторы предложили новый метод определения связей динамики целевых (анализируемых) показателей с динамикой других лабораторных данных на основе использования экспертно-аналитических систем [4, 5].

Цель исследования

Повышение информативности определения N-телопептида молекул коллагена I типа (TP1NP) в комплексе показателей водно-электролитного обмена при использовании экспертно-аналитической системы.

Материалы и методы исследований

Материал настоящего исследования основан на результатах архивных данных обследования 82 пациентов (обозначенных как № 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.

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, $Ca_{\text{общ}}$ (Ca общего), Ca_i (Ca ионизированного), F (фосфатов), Cl (хлоридов) K_г (креатинина), Ur (мочевины), Lact (лактата), Ca мочи (определялись с использованием анализатора AVL9180 и AU 480 Beckman Coulter). Значения витамина D (VitD), паратиреоидного гормона (ПТГ), TP1NP, B-crossLaps и остеокальцина (ОК) определялись на анализаторе cobas c411 (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].

Оценивали совпадения (коэффициенты корреляции; ККр) особенностей структурной деформации панели соотношений на фоне роста влияния показателей определявшихся аналитов. При этом предполагалось, что их совпадение (структуры панели соотношений) свидетельствует о едином участии в формировании фиксируемых изменений [5].

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

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 результатов для последующего персонального анализа из всего массива наблюдений можно было выделить два типа отличительных особенностей показателя TP1NP: 1) пациенты, показатель TP1NP которых демонстрировал высокое абсолютное значение ($> M + G$; $M = 520,5$ нг/мл; $G = 407,5$ нг/мл; № 2, 10, 16, 17, 20, 21, 24 и 48; $n = 8$) и 2) пациенты, у которых ПСЭ по TP1NP с ККр $> +0,7$ (коэффициент детерминации более 50 %) совпадал со структурой интегральной ПСЭ, отражающей конечную конфигурацию ПСЭ, то есть влияние TP1NP-комплекса являлось доминирующим (№ 10, 14, 19, 27, 28, 30, 66; $n = 7$).

Отметим, что только в пяти наблюдениях у пациентов с высокими абсолютными значениями TP1NP совпадения структуры интегральной ПСЭ и ПСЭ, соответствовавшей росту TP1NP, превышали ККр $> [0,5]$, то есть оказывали на нее значимое влияние, демонстрируя как положительные, так и отрицательные значения. В то же время среди выделенных пациентов с выраженным положительным влиянием TP1NP на формирование интегральной ПСЭ только в одном наблюдении его абсолютное значение выходило за рамки стандартного отклонения.

Исходя из этого представлялось целесообразным анализ полученных результатов разделить на два раздела: анализ данных пациентов с высокими значениями TP1NP и анализ данных пациентов, демонстрировавших высокосвязное влияние TP1NP-ассоциированного комплекса на интегральную ПСЭ.

Таблица 1

Абсолютные значения и значения совпадения (ККр) структурных особенностей деформации панели соотношений электролитов (ПСЭ) на фоне динамики анализируемых аналитов и TP1NP у пациентов с высоким показателем положительного влияния TP1NP-комплекса на формирование интегральной ПСЭ

Инд. №	№ 10		№ 19		№ 27	
	Абсолютное значение	TP1NP ПСЭ (ККр)	Абсолютное значение	TP1NP ПСЭ (ККр)	Абсолютное значение	TP1NP ПСЭ (ККр)
Интегр.		0,95		0,92		0,90
Ca _{общ} , ммоль/л	2,53	-0,93	2,49	-0,15	2,33	0,91
Ca _{св} , ммоль/л	1,20	-0,89	1,32	0,73	1,17	0,93
F, ммоль/л	1,91	-0,79	1,38	0,82	1,52	-0,77
НСТ	0,39	0,84	0,37	-0,82	0,39	-0,89
Na, ммоль/л	142	-0,27	144	-0,57	1,42	-0,89
Lact, ммоль/л	1,64	0,84	1,34	-0,79	1,30	-0,92
B-cross Laps, нг/мл	1,58	-0,80	1,04	0,98	0,54	-0,84
TP1NP, нг/мл	1005	1	686	1	338,40	1
VitD, нг/мл	11,29	-0,92	24,40	-0,52	17,20	0,94
ПТГ, нг/мл	24,01	0,92	22,10	-0,87	28,01	-0,90
ОК, нг/мл	118,10	0,96	77,40	0,84	71,70	-0,86
pH мочи	5,00	0,93	6,00	0,70	6,00	0,93
Ca мочи, ммоль/л	0,75	-0,94	2,48	-0,60	0,88	-0,91

Примечание: полужирным выделены значения выше ККр [0,5].

1. TP1NP-ассоциированные комплексы в показателях пациентов, демонстрировавших значимое влияние накопления TP1NP на «интегральную» ПСЭ

Анализ наблюдений, демонстрировавших высокосignificant участие процессов, обеспечивающих рост TP1NP в формировании интегральной ПСЭ (ККр > +0,70), предполагал выявление наиболее демонстративных связей влияния TP1NP-комплекса на ПСЭ, тем самым позволяя определять особенности его формирования при минимальном «искажении» общей «картины» за счет влияния других факторов.

Так, наиболее значимо с ККр: + 0,95 рост значений TP1NP отражался на структуре интегральной ПСЭ в лабораторных данных *пациента № 10*. При этом изменения структуры ПСЭ по TP1NP положительно совпадали с ее (ПСЭ) деформацией, соответствовавшей росту НСТ (ККр: +0,84), Lact (ККр: +0,84), ПТГ (ККр: +0,92), ОК (ККр: +0,96), pH мочи (ККр: +0,93) и отрицательно с влиянием Ca_{общ} (ККр: -0,93), Ca_{св} (ККр: -0,89), Ca_{св}% (ККр: -0,85), B-cross Laps (ККр: -0,80), VitD (ККр: -0,92), F (ККр: -0,79), Ca_{мочи} (ККр: -0,94) (*табл. 1*).

Следующим наблюдением, отличавшимся высокой степенью влияния TP1NP-ассоциированного комплекса на интегральную ПСЭ (ККр: +0,92), являлось наблюдение № 19.

В этом случае (№ 19) комплекс TP1NP-ассоциированных связей по ПСЭ включал в себя значимые положительные значения ККр Ca_{св} (ККр: +0,73), Ca_{св}% (ККр: +0,81), F (ККр: +0,82), B-cross Laps (ККр: +0,98), ОК (ККр: +0,84), pH_{мочи} (ККр: +0,70) и отрицательные: НСТ (ККр: -0,84), Lact (ККр: -0,79), Ca мочи (ККр: -0,60), VitD (ККр: -0,52), ПТГ (ККр: -0,87) (*табл. 1*).

Также TP1NP-ассоциированный комплекс высокосignificant проявлялся в интегральной ПСЭ *пациента № 27* (ККр: +0,90). В этом наблюдении TP1NP-ассоциированный комплекс включал в себя значимые положительные совпадения в трансформации ПСЭ с Ca_{общ} (ККр: +0,91), Ca_{св} (ККр: +0,93), VitD (ККр: +0,94), pH_{мочи} (ККр: +0,93) и отрицательные с Ca_{св}% (ККр: -0,87), НСТ (ККр: -0,89), Lact (ККр: +0,92), F (ККр: -0,77), B-cross Laps (ККр: -0,84), ПТГ (ККр: -0,90), ОК (ККр: -0,86), Ca мочи (ККр: -0,91) (*табл. 1*).

Результаты остальных (4 из 7) наблюдений в этой группе (демонстрировавших высокое положительное влияние TP1NP-ассоциированного комплекса на интегральную ПСЭ) далее отдельно не анализировались, поскольку в соответствии с конечным распределением ККр по анализируемым показателям полностью совпадали с наблюдением № 27.

2. TP1NP-ассоциированные комплексы в показателях пациентов, имевших высокий абсолютный показатель TP1NP

Следующим этапом настоящей работы являлся анализ результатов, полученных у пациентов с высокими абсолютными значениями TP1NP ($n = 8$).

Как было указано, только в одном случае (пациент № 10) зафиксировано сочетание высокого значения TP1NP и его решающего влияния на формирование интегральной ПСЭ (ККр: +0,95). Персональное распределение значений ККр по определявшимся показателям в этом наблюдении приведено выше (*табл. 1, 2*).

Значимым, но не определяющим являлось влияние накопления TP1NP (ККр: +0,65; коэффициент детер-

Таблица 2

Абсолютные значения и значения совпадения (ККр) структурных особенностей деформации панели соотношений электролитов (ПСЭ) на фоне динамики анализируемых аналитов и TP1NP у пациентов с высоким показателем TP1NP

Инд. №	№ 10		№ 16		№ 20		№ 21		№ 24	
	Абсолютное значение	TP1NP ПСЭ (ККр)	Абсолютное значение	TP1NP ПСЭ (ККр)	Абсолютное значение	TP1NP ПСЭ (ККр)	Абсолютное значение	TP1NP ПСЭ (ККр)	Абсолютное значение	TP1NP ПСЭ (ККр)
Интегр.		0,95		0,65		-0,84		-0,51		0,07
Ca _{общ} , ммоль/л	2,53	-0,93	2,32	0,24	2,66	-0,83	2,17	0,69	2,58	0,17
Ca _i , ммоль/л	1,20	-0,89	1,23	0,66	1,27	-0,85	1,18	0,65	1,21	0,85
F, ммоль/л	1,91	-0,79	1,62	0,26	2,10	-0,76	1,89	0,67	1,50	0,77
НСТ	0,39	0,84	0,41	0,84	0,34	0,82	0,39	-0,79	0,37	-0,39
Na, ммоль/л	142	-0,27	143	-0,77	136	-0,47	145	-0,56	140	-0,41
Lact, ммоль/л	1,64	0,84	1,50	0,29	1,60	0,83	1,49	-0,59	2,50	-0,56
Gl, ммоль/л	4,40	0,91	4,30	0,34	4,80	0,89	5,00	-0,60	4,40	-0,48
B-cross Laps, нг/мл	1,58	-0,80	1,50	0,69	1,40	-0,81	3,10	0,75	2,10	-0,55
TP1NP, нг/мл	1005	1	946,90	1	2338	1	1820	1	1371	1
VitD, нг/мл	11,29	-0,92	7,36	-0,20	67,50	-0,93	12,60	0,65	16,30	0,29
ПТГ, нг/мл	24,01	0,92	31,50	-0,53	31,30	0,93	75,70	-0,70	154	0,00
OK, нг/мл	118,10	0,96	91,20	-0,07	146	0,96	403	-0,33	277,10	0,59
pH _{мочи}	5,00	0,93	5,00	0,76	6,00	0,92	6,00	-0,13	6,00	0,05
Ca мочи, ммоль/л	0,75	-0,94	3,97	-0,11	1,11	-0,92	1,26	0,53	0,23	-0,28

Примечание: полужирным выделены значения ККр выше [0,5].

минации – 42,3 %) на формирование конечной интегральной ПСЭ в показателях *пациента № 16*. При этом TP1NP-ассоциированный комплекс включал в себя значимые положительные связи TP1NP с ростом влияния Ca_i (ККр: +0,66) Ca_i% (ККр: +0,50), B-cross Laps (ККр: +0,69), pH_{мочи} (ККр: +0,76) и отрицательные по ПТГ (ККр: -0,53) (табл. 2).

В показателях *пациента № 17* TP1NP-ассоциированный комплекс проявлялся в интегральной ПСЭ с ККр: +0,52. На этом фоне фиксировали по ПСЭ значимые совпадения с ростом TP1NP влияние B-cross Laps (ККр: +0,77), OK (ККр: +0,89), pH_{мочи} (ККр: +0,55) (табл. 2).

Особый интерес представляли результаты расчетов данных *пациента № 20*, поскольку, несмотря на высокое абсолютное значение TP1NP, его комплекс ассоциированных связей по ПСЭ проявлялся в интегральной ПСЭ с высоко значимым, но отрицательным значением ККр (ККр: -0,84). При этом TP1NP-комплекс включал в себя значимые положительные совпадения по ПСЭ с НСТ (ККр: +0,82), Lact (ККр: +0,83), ПТГ (ККр: +0,93), OK (ККр: +0,96), pH_{мочи} (ККр: +0,92) и отрицательные с активным влиянием на ПСЭ Ca_{общ} (ККр: -0,83), Ca_i (ККр: -0,85), Ca_i% (ККр: -0,80), F (ККр: -0,76), B-cross Laps (ККр: -0,81), VitD (ККр: -0,93), Ca мочи (ККр: -0,92) (табл. 2).

Также отрицательное значение влияния TP1NP-ассоциированного комплекса (ККр: -0,56) в интегральной ПСЭ демонстрировало и *наблюдение № 21*. При этом значимые положительные значения в комплексе связей TP1NP фиксировали для Ca_{общ} (ККр: +0,69), Ca_i (ККр: +0,65), F (ККр: +0,67), B-cross Laps (ККр: +0,75),

VitD (ККр: +0,65), Ca мочи (ККр: +0,53) и значимое отрицательное НСТ (ККр: -0,79), Na (ККр: -0,56), Lact (ККр: -0,59), ПТГ (ККр: -0,70) (табл. 2).

И последним наблюдением, требовавшим персонального анализа, являлось *наблюдение № 24*, поскольку распределение значений ККр по анализируемым показателям в этом случае не имело аналогов среди рассмотренных выше. В этом случае комплекс значимо проявляющихся TP1NP-ассоциированных связей включал в себя с положительным знаком ККр Ca_i (ККр: +0,85), F (ККр: +0,77) и отрицательные: Lact (ККр: -0,56) и B-cross Laps (ККр: -0,55) при общем проявлении в интегральной с ККр: +0,17 (табл. 2).

Наблюдения № 2, 24 и 48, также демонстрировавшие высокие абсолютные значения в крови TP1NP, не фиксировали значимого влияния TP1NP комплекса на интегральную ПСЭ (ККр: +0,17; +0,07; -0,18), что могло свидетельствовать об определенном равновесии активности прямых и альтернативных механизмов, соответствующих росту TP1NP, или более значимом влиянии на формирование интегральной ПСЭ других факторов.

Однако используемый алгоритм расчетов позволял выявлять ведущие ассоциированные связи его (TP1NP) роста в полученных лабораторных показателях и этих пациентов.

Вместе с тем распределение значений ККр по ряду анализируемых показателей в этих наблюдениях совпадало с другими наблюдениями, рассмотренными выше, в которых TP1NP-ассоциированный комплекс проявлялся в интегральной с большей силой, что свидетельствовало об их идентичности и отдельно в настоящей работе не рассматривалось.

Обсуждение результатов

В наблюдении № 10 хорошо выраженное влияние роста TP1NP на ПСЭ в сочетании с ростом активности ОК сопровождалось смещением вектора плазменного уровня $Ca_{\text{общ}}$ и Ca_i в сторону снижения их значений, а также снижением уровня F, что могло свидетельствовать о выраженном образовании гидроксиапатитов в костной ткани и процессов образования коллагена первого типа (TP1NP) а фоне соответствующего роста активности и активности ОК.

Согласно полученным результатам, в этом наблюдении снижение уровня Ca сопровождалось снижением активности всасывания Ca в ЖКТ VitD (ККр VitD / $Ca_{\text{общ}}$ +0,97), остеолитиза (ККр B-cross Laps/ $Ca_{\text{общ}}$ +0,84). Поясним: отрицательное значение ККр $Ca_{\text{общ}}$ / TP1NP в этом наблюдении придают этим связям отрицательное значение.

По-видимому, не компенсировала снижение Ca и поддержка его экскреции с мочой. Отметим, что в этом наблюдении (№ 10), несмотря на нарастание влияния Lact, следовало защелачивание мочи, что могло сопровождать усиление реабсорбции Ca в почках [6].

Вместе с тем рост активности ПТГ на фоне снижения влияния B-cross Laps и снижения влияния Ca сопровождался признаками снижения $Ca_{\text{общ}}$ (ККр $Ca_{\text{общ}}$ / ПТГ: -0,93), что могло свидетельствовать о накоплении в крови не полноразмерных молекул гормона (1–84 ПТГ), а фрагментов, в которых отсутствуют N-концевые аминокислоты, включая молекулу 7–84 ПТГ, которая может являться частичным антагонистом 1–84 ПТГ, противодействуя биологической активности последнего [7].

Таким образом в этом наблюдении усиление остеобразования сопровождается торможением остеолитиза с высокой интенсивностью эндогенного потребления Ca и F, слабо компенсируемого процессами его восполнения, на фоне усиления лактоацидоза с преимущественным образованием фрагментов 7–84 ПТГ.

Полной противоположностью этому наблюдению (№ 10) являлись данные, полученные в наблюдении № 20. Т.е. структура влияния на ПСЭ TP1NP-ассоциированных связей в этом наблюдении полностью соответствовала структуре описанной выше (№ 10), но в интегральной панели проявлялась с ККр: -0,84. Исходя из этого был сделан вывод, что в этом случае накопление TP1NP сопровождалось значимым нарастанием активности межсистемных механизмов, направленных на торможение этого процесса.

У пациента № 27 в комплексе TP1NP-ассоциированных связей превалировали признаки нарастания $Ca_{\text{общ}}$, чему способствовали активность VitD и накопление жидкости в сосудистом русле (всасывание в ЖКТ; НСТ) и снижение потерь иона с мочой при недостаточной активности восполнения плазменного F. Учитывая снижение активности ПТГ и высокую активность VitD, можно полагать, что этот дисбаланс (рост влияния Ca и снижение F) связан с ограничениями всасывания F в ЖКТ [8].

Таким образом, показатели пациента № 27 соответствовали активному остеосинтезу, обеспечиваемому Ca прежде всего за счет эффективности механизмов всасывания в ЖКТ.

Для последующего обсуждения было выбрано *наблюдение № 19*. Это наблюдение отличало нарастание влияния на ПСЭ Ca_i без роста влияния $Ca_{\text{общ}}$ и сочетанное нарастание влияния на нее TP1NP и B-cross Laps, что могло свидетельствовать об интенсивности процессов ремоделирования костного матрикса. Причем нарастание процессов лизиса костной ткани (B-cross Laps) не было связано с активностью ПТГ. Полагаем, что в этом случае активация процессов остеолитиза осуществлялась прежде всего с участием местной системы RANK/RANKL/OPG [9].

Наблюдение № 16 также характеризовалось значимым, но не доминирующим положительным влиянием TP1NP-ассоциированного комплекса на интегральную ПСЭ (ККр: +0,65). При этом влияние на ПСЭ TP1NP значимо совпадало с влиянием на нее B-cross Laps, что свидетельствовало об активности ремоделирования на фоне роста влияния Ca_i , сопровождавшегося торможением активности ПТГ, изменением водного баланса (НСТ и Na) и ростом pH мочи, что, по-видимому, предупреждало потери Ca_i с мочой.

Влияние TP1NP-ассоциированного комплекса в наблюдении № 21 частично совпадало с предыдущим наблюдением (№ 16), включая связь с активностью остеолитиза, но на фоне снижения НСТ и накопления Ca в плазме, сопровождающегося его частичной потерей с мочой. В то же время, несмотря на высокое абсолютное значение TP1NP, влияние TP1NP-ассоциированного комплекса на интегральную ПСЭ демонстрировало значимую отрицательную величину (ККр: -0,51). Это свидетельствовало о преобладании на межсистемном уровне альтернативных TP1NP-комплексам процессов. В наблюдении № 24 практически отсутствовали признаки проявления TP1NP-ассоциированного комплекса в интегральной ПСЭ (ККр: +0,07), но при этом демонстрировал свою связь с усилением влияния Ca_i и F на фоне торможения лизиса и смещения pH крови в щелочную сторону.

Заключение

Основываясь на изложенном выше материале, можно сделать следующие обобщения.

1. В условиях «возмущающих» воздействий на организм достижение выраженной реакции может осуществляться за счет взаимной мультипликации (умножения) эффективности различных механизмов без выраженных сдвигов абсолютных значений анализируемого показателя, о чем свидетельствуют наблюдения, в которых влияние процессов, сопровождающих нарастание TP1NP, являлось определяющим в формировании конечной структуры ПСЭ на фоне нормальных значений показателя. Можно предположить, что в этих персонализированных наблюдениях (высокое влияние того или иного комплекса связей на конечную структуру соотношений выбранных лабораторных показателей), несмотря на сохранение абсолютных значений определяемых данных в пределах референсных значений, имеет

место высокая напряженность конкретной адаптивно-приспособительной реакции, соответствующей ее значительному преобладанию над другими, что в конечном счете при достаточно длительной реализации способна обретать патологические черты и может рассматриваться как «доклинические» признаки того или иного расстройства.

2. Высокие значения TR1NP не гарантируют преобладания в интегральной ПСЭ проявлений TR1NP-ассоциированных связей по показателям водно-электролитного обмена. Вместе с тем, несмотря на отсутствие значимого проявления TR1NP-ассоциированного комплекса в интегральной ПСЭ, высокие значения TR1NP в плазме пациентов свидетельствовали о высокой интенсивности процессов образования коллагена I типа и в этих случаях. Полагаем, что это несоответствие в наших наблюдениях может быть связано с важной дополнительной ролью в обмене костной ткани и влияния на интегральную ПСЭ и особенностями накопления TR1NP таких факторов, как воспаление, специфическое действие гормонов, специфическая активация / торможение отдельных субпопуляций лейкоцитов и т.д. и т.п., не учитываемыми в представленном анализе [10]. Это обосновывает перспективность продолжения работы по установлению связей динамики маркеров остеобласта с этими факторами при экспертном анализе в рамках соотношений показателей других функциональных кластеров [5], тем самым выявляя образы отличительных расстройств с учетом влияния и этих показателей.

Вместе с тем приведенные и проанализированные в настоящей работе наблюдения, демонстрирующие высокую степень влияния на интегральную ПСЭ TR1NP-ассоциированного комплекса, могут быть занесены в архив базы знаний и распознаваться при рутинной расшифровке получаемых лабораторных данных [11].

Так, возвращаясь к общему массиву данных ($n = 82$), было установлено, что образ TR1NP-ассоциированного комплекса пациента № 10 встречался в 5 (6,1%) случаях, образ пациента № 19 – в 8 (9,8%), а № 27 – в 7 (8,5%) наблюдениях.

Это обосновывает включение эти наблюдений в качестве отличающихся образов в базу знаний экспертно-аналитической системы, тем самым открывая возможность их быстрого опознания в индивидуальных наблюдениях.

Список литературы / References

1. Баранова И., Зыкова Т. Результаты скрининга на гиперкальциемию у населения областного центра европейского Севера России. Врч., 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. Березовская Г. А., Эмануэль В. А. Возможности лабораторной оценки состояния соединительной ткани. Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова., 2015., том XXII., № 2., с. 37–41. Berzovskaya G. A., Emanuel V. A. Possibilities of laboratory assessment of connective tissue states. Scientific notes of St. Petersburg State Medical University. Acad. I. P. Pavlova., 2015., Volume XXII., No. 2., p. 37–41.
3. Markus J. Seibel Biochemical Markers of Bone Turnover Part I: Biochemistry and Variability. Clin Biochem Rev. 2005 Nov; 26 (4): 97–122.
4. Соломенников А. В., Тюкавин А. И., Арсениев Н. А. Новый подход к разработке методов персонализированного экспертного анализа лабораторных данных. Медицинский совет. 2019; 6: 164–168. 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. Medical Advice. 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. C. Vahe, K. Benomar, S. Espiard, L. Coppin, A. Jannin, M. F. Odou, and M. C. Vantighem. Diseases associated with calcium-sensing receptor. Orphanet J Rare Dis. 2017; 12: 19. Published online 2017 Jan 25. DOI: 10.1186/s13023-017-0570-z.
7. Scillitani A, Guarnieri V, Battista C, Chiodini I, Salcuni AS, Minisola S, Francucci CM, Carnevale V. Carboxyl-terminal parathyroid hormone fragments: biologic effects. J Endocrinol Invest. 2011 Jul; 34 (7 Suppl): 23–6.
8. Смирнов В. В., Рылькова А. А. Гиперпаратиреоз в детском и подростковом возрасте. Лечащий врач, 2018. № 12. С. 30–37. Smirnov V. V., Rylkova A. A. Hyperparathyroidism in childhood and adolescence. Attending physician, 2018. No. 12. P. 30–37.
9. Герштейн Е. С., Тимофеев Ю. С., Зуев А. А., Кушлинский Н. Е. Лиганд-рецепторная система RANK/RANKL/OPG и ее роль при первичных новообразованиях костей (анализ литературы и собственные результаты). Успехи молекулярной онкологии 2015., Том 2., № 3, с. 52–59. Gerstein E. S., Timofeev Yu. S., Zuev A. A., Kushlinsky N. E. Ligand-receptor system RANK/RANKL/OPG and its role in primary bone neoplasms (literature analysis and own results)/Advances in Molecular Oncology 2015, vol. 2., No. 3., p. 52–59.
10. Peter Pietschmann, Diana Mechtcheriakova, Anastasia Meshcheryakova, Ursula Föger-Samwald, and Isabella Ellinger Gerontology/ Immunology of Osteoporosis: A Mini-Review 2016; 62 (2): 128–137. Published online 2015 Jun 17. DOI: 10.1159/000431091.
11. Бурцева А. Л., 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. L., 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 11.04.2022
Получена после рецензирования / Revised 18.04.2022
Принята в печать / Accepted 15.07.2022

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 лабораторией. E-mail: svetlanabogdanova1969@mail.ru

Тюкавин Александр Иванович, д.м.н., проф., зав. кафедрой физиологии и патологии¹. E-mail: alexander.tukavin@pharmnotech.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. Повышение информативности определения N-телопептида молекул коллагена I типа в комплексе показателей водно-электролитного обмена. Медицинский алфавит. 2022; (19): 22–27. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-22-27>.

About authors

Solomennikov Alexander V., DM Sci (habil.), associate professor at Dept of Physiology and Pathology¹. E-mail: solomen33@mail.ru. Author ID SPIN: 2255–5204

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

Tyukavin Alexander I., DM Sci (habil.), professor, head of Dept of Physiology and Pathology¹. E-mail: alexander.tukavin@pharmnotech.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 and Pharmaceutical University, St. Petersburg, Russia

²National Medical Research Centre for Pediatric Traumatology and Orthopedics n.a. G. I. Turner, 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. Improvement of information in determination of N-telopeptide of type I collagen molecules in complex of indicators of water-electrolyte metabolism. Medical alphabet. 2022; (19): 22–27. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-22-27>.

Значение цитологического исследования в диагностике патологии эндометрия

А. Е. Карпова¹, И. П. Шабалова¹, К. Т. Касоян¹, Л. Г. Созаева¹, О. Б. Шахова²,
А. В. Миронов³, Р. Э. Кузнецов⁴

¹ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

²ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения Москвы»

³Гинекологическое отделение ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 13 Департамента здравоохранения Москвы»

⁴Гинекологическое отделение ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина Департамента здравоохранения Москвы»

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Определение значения цитологических методов исследования в диагностике неопухолевых поражений и опухолей эндометрия.

Материалы и методы. 69 пациенток, которым проведено оперативное лечение в объеме гистерэктомии или гистероскопии с раздельным диагностическим выскабливанием слизистой оболочки цервикального канала и полости матки. Соскоб с поверхности эндометрия получали с помощью цитощетки Cytobrush. Часть материала наносили на предметное стекло для традиционной цитологии (ТЦ), остальной материал помещали в контейнер (вials) со средой для жидкостной цитологии (ЖЦ). Анализ результатов проводили с использованием статистического пакета SPSS Statistics (SPSS: An IBM Company).

Результаты. При гистологическом исследовании биопсийного материала установлена гиперплазия эндометрия без атипии (20 пациенток), атипичная гиперплазия эндометрия (2), аденокарцинома эндометрия (11). Чувствительность ТЦ и ЖЦ в отношении гиперплазии эндометрия без атипии оценена в 100%, специфичность – в 88 и 94% соответственно, положительная прогностическая ценность – в 77 и 87% соответственно, и отрицательная прогностическая ценность – в 100%. Чувствительность ТЦ и ЖЦ в отношении атипичной гиперплазии и аденокарциномы эндометрия была оценена в 100%, специфичность – в 96%, положительная прогностическая ценность – в 87%, и отрицательная прогностическая ценность – в 100%.

Выводы. Цитологический метод исследования материала из полости матки можно рассматривать в качестве информативного метода выявления рака и гиперплазии эндометрия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рак эндометрия, гиперплазия эндометрия, цитологическое исследование эндометрия.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Evaluation of exfoliative cytology in endometrial pathology

А. Е. Karpova¹, I. P. Shabalova¹, K. T. Kasoyan¹, L. G. Sozaeva¹, O. B. Shahova²,
A. V. Mironov³, R. E. Kuznezov⁴

¹Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia;

²Research Institute for Emergency Medicine n.a. N.V. Sklifosovsky, Moscow, Russia

³Department of Gynecology, City Clinical Hospital No. 13, Moscow, Russia

⁴Department of Gynecology, City Clinical Hospital n.a. S.P. Botkin, Moscow, Russia

SUMMARY

Objective. Determination of the significance of cytological methods in the diagnosis of non-tumor lesions and endometrial tumors.

Materials and Methods. 69 patients who underwent surgical treatment of hysterectomy or hysteroscopy with separate diagnostic scraping of the cervical mucosa and uterine cavity. The endometrial surface was scraped by Cytobrush. Part of the material was applied to a slide for conventional cytology (CC); the remaining material was placed into the vial for liquid-based cytology (LBC). The results were analyzed using SPSS Statistical Package (SPSS: An IBM Company).

Results. Histological examination of biopsy material revealed endometrial hyperplasia without atypia (20), atypical hyperplasia (2) and adenocarcinoma (11). The sensitivity of CC and LBC for hyperplasia without atypia was estimated at 100%, the specificity at 88% and 94%, respectively; the positive predictive value at 77% and 87%, respectively, and the negative predictive value at 100%. The sensitivity of CC and LBC for atypical hyperplasia and adenocarcinoma was estimated at 100%, specificity at 96%; positive predictive value at 87% and negative predictive value at 100%.

Conclusions. Exfoliative cytology of material from the uterine cavity can be used as an informative method for detecting endometrial cancer and hyperplasia.

KEY WORDS: endometrial cancer, endometrial hyperplasia, endometrial cytology.

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

Введение

Рак тела матки занимает третье место среди онкологических заболеваний женской репродуктивной системы [1]. По данным ВОЗ, в 2020 году в мире зарегистрировано 417367 новых случаев, а смертность от данного заболевания составила более 97 тысяч наблюдений [1]. В России также отмечается неуклонный рост заболеваемости злокачественными новообразованиями тела матки – так, с 2011 по 2021 год произошло увеличение с 143,2 до 191,6 новых случая рака матки на 100 тысяч женской популяции. Число первично выявленных злокачественных опухолей тела матки, вне зависимости от стадии, в России в 2021 году превысило 24 тысячи [2]. Для повышения эффективности лечения различных видов патологии эндометрия необходимы определение характера его изменений на ранних этапах развития заболевания и своевременное начало лечения.

Наиболее простым и доступным методом выявления патологии органов малого таза является ультразвуковое исследование (УЗИ). Выполнение этого исследования позволяет оценить структуру и размеры матки, распространенность опухолевого процесса в пределах матки, глубину возможной инвазии в миометрий, переход на цервикальный канал, состояние придатков матки, регионарных лимфатических узлов и возможное метастатическое поражение органов брюшной полости [3]. Применение УЗИ органов малого таза повышает точность диагностики, однако не позволяет получить морфологическое заключение.

«Золотым стандартом» верификации патологического процесса считают гистологическое исследование биопсийного (операционного) материала [3].

Получение материала из полости матки для исследования предполагает применение инвазивных технологий: аспирационную биопсию эндометрия и (или) раздельное диагностическое выскабливание полости матки под контролем гистероскопии или без нее.

Расширение цервикального канала и кюретаж полости матки под контролем гистероскопии считают наиболее информативным методом диагностики патологии эндометрия. Однако данная операция сопряжена с хирургическим и анестезиологическим риском, часто проводится в условиях стационара, а также имеет высокую стоимость [4].

Все большую популярность приобретают амбулаторные (офисные) процедуры отбора проб, так как они более просты в исполнении, менее затратны для медицинского учреждения и лучше переносятся пациентками [4, 5]. К безопасным и информативным методам диагностики относят малоинвазивные технологии, включающие офисную гистероскопию с использованием миниатюрных эндоскопических инструментов для прицельной биопсии эндометрия.

Быстрым, эффективным, экономичным методом постановки морфологического диагноза по клеточному составу материала, полученному из патологического очага, является цитологический метод.

Для цитологического исследования эндометрия материал можно получать в амбулаторных условиях под местной анестезией или без нее.

Помимо классического (традиционного) метода приготовления и окрашивания препаратов – традиционной цитологии (ТЦ), в последние десятилетия используют метод жидкостной цитологии (ЖЦ) [6]. Метод основан на технологии приготовления стандартных тонкослойных цитологических препаратов из жидкой клеточной суспензии. Метод ЖЦ приобретает все большее значение в морфологической диагностике реактивных изменений и злокачественных новообразований. Монослойные препараты в сравнении с традиционным методом приготовления мазков для цитологического исследования более информативны, и качество их не зависит от квалификации лаборанта [6, 7]. ЖЦ в настоящее время используют при поражении различных органов, однако возможности метода при патологии эндометрия изучены недостаточно.

Цель исследования

Определение значения цитологических методов исследования в диагностике неопухолевых поражений и опухолей эндометрия. Задачи, поставленные в данном исследовании: сравнить результаты цитологической диагностики неопухолевых поражений и опухолей эндометрия по традиционным мазкам и препаратам, приготовленным методом жидкостной цитологии; сопоставить результаты цитологической диагностики с результатами гистологического исследования операционного материала при неопухолевых поражениях и опухолях эндометрия.

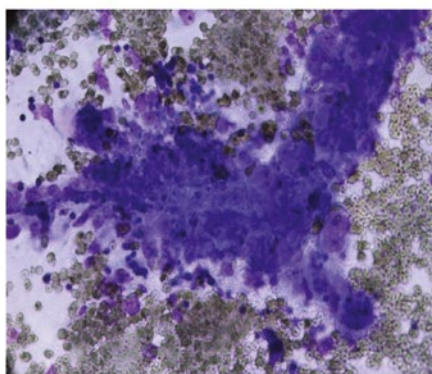
Материалы и методы

В исследование включены 69 пациенток в возрасте от 29 до 79 лет, госпитализированных с жалобами на аномальные маточные кровотечения или нарушение менструального цикла. Всем больным установлены предварительные диагнозы неопухолевых поражений и опухолей эндометрия, определены показания для оперативного лечения в объеме экстирпации матки или гистероскопии с раздельным диагностическим выскабливанием слизистой цервикального канала и полости матки. Все пациентки предоставили информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

При исследовании операционного материала эндометрий для цитологического исследования брали с помощью щетки Cytobrush. Часть полученного материала сначала наносили на предметное стекло для ТЦ-исследования, остальной материал помещали в вialу с консервирующей средой для ЖЦ. Препараты ЖЦ готовили с использованием ручного метода ЖЦ ClearPrep (Resolution Biomedical, США), а также на процессоре CellPrep Plus (Biodyne (Корея) и цитоцентрифуге Cellspin II (Tharmac, Германия). Препараты для ТЦ окрашивали методом Мая – Грюнвальда – Гимзы (по Паппенгейму), для ЖЦ – по Папаниколу на аппарате для окрашивания АФОМК-16 ПРО («МЛТ», Россия).

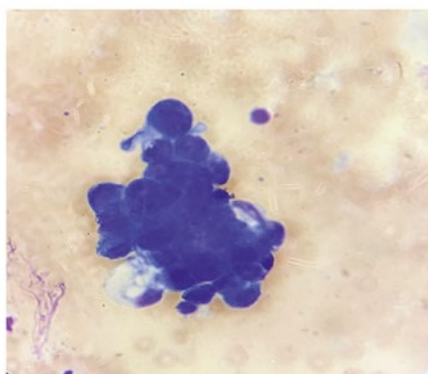
Цитологические и гистологические заключения были даны цитологами и гистологами независимо друг от друга. Цитологические препараты считались неадекватными,

Традиционная цитология

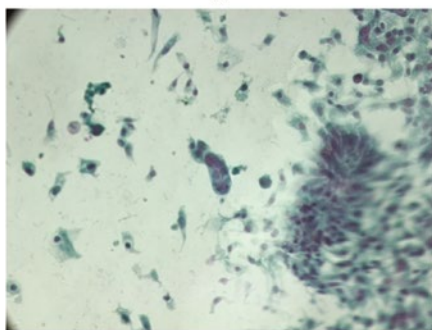


А

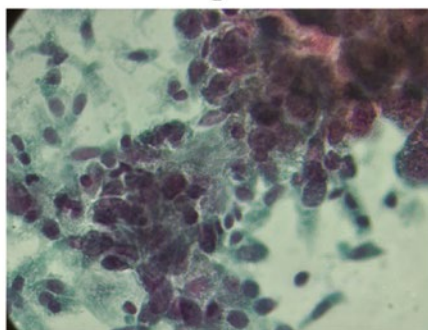
Жидкостная цитология



Б



В



Г

Рисунок 1. Сравнение традиционной и жидкостной цитологии на примере клинического случая.

Пациентка Л. 68 лет. Постменопауза. Клинический диагноз: полип эндометрия. Проведена гистероскопия с раздельным диагностическим выскабливанием (РДВ). А, Б – отпечатки с материала, полученного при РДВ. Окрашивание по Романовскому (модификация Мая – Грюнвальда – Гимза [метод Паленгейма]). В, Г – материал, полученный при РДВ и помещенный в транспортную среду (ClearPrep). Приготовление препарата – метод ClearPrep. Окрашивание по Папаниколу (АФОМК-16 ПРО). А, В – рыхлые полосы из клеток эндометрия, клетки «вылетают» из структур. Б – сосочкоподобная структура. Г – клетки эндометрия с признаками структурной и ядерной атипии. А, В – ув. 400х; Б, Г – ув. 1000х.

Цитологическое заключение: атипическая гиперплазия эндометрия, встречаются структуры крайне подозрительные по принадлежности к аденокарциноме.

Гистологическое заключение: умеренно-низкодифференцированная аденокарцинома эндометрия. Фиброзно-железистый полип эндометрия.

если было менее пяти оцениваемых структур из клеток эндометрия. Если первый цитологический слайд был неадекватным, то готовили второй. В случае, если второй слайд также был неудовлетворительным, принимали решение о неадекватности материала. Формулировали четыре варианта цитологического заключения: норма (пролиферативный, секреторный, атрофический эндометрий), гиперплазия эндометрия без атипии, атипическая гиперплазия эндометрия, аденокарцинома эндометрия.

Цитологическое заключение, подтвержденное гистологическим, принимали за истинное.

Чувствительность метода определяли как частное количества истинных цитологических заключений об определенной патологии и общего числа пациенток с патологией эндометрия, умноженное на 100

Специфичность высчитывали как частное числа истинно отрицательных цитологических заключений и общего числа пациенток, у которых не было заболеваний эндометрия, умноженное на 100.

Положительную прогностическую ценность определяли как частное числа истинно патологических заключений и суммы общего количества истинно положительных и ложноположительных цитологических заключений, умноженное на 100. Негативную прогностическую ценность определяли как частное числа истинно отрицательных случаев и суммы общего количества истинно отрицательных и ложноотрицательных цитологических заключений, умноженное на 100.

Статистическую значимость оценивали как $p < 0,05$. Анализ данных проводили с использованием статистического пакета SPSS Statistics (SPSS: An IBM Company).

Результаты

При проведении цитологического исследования учитывали характер структур (пласты, полосы, сосочкоподобные структуры), расположение клеток, размер ядер, характер распределения хроматина (рис. 1). Три образца для ТЦ и два для ЖЦ признаны неадекватными. Результаты гистологического исследования биопсийного материала: у 20 женщин диагностирована гиперплазия эндометрия без атипии, у двух – атипическая гиперплазия эндометрия и у 11 – аденокарцинома. При ТЦ исследовании эндометрия в 26 наблюдениях дано заключение о гиперплазии эндометрия без атипии, в 12 – атипическая гиперплазия, и в 3 – аденокарцинома. При исследовании методом ЖЦ в 23 наблюдениях дано заключение о гиперплазии эндометрия без атипии, в 9 – об атипической гиперплазии и в 6 – об аденокарциноме. В 2 наблюдениях имело место несовпадение результатов (гистологически – гиперплазия эндометрия без атипии, по результатам ЖЦ и ТЦ – атипическая гиперплазия эндометрия) (табл. 1). Статистические показатели результатов ТЦ исследования и метода ЖЦ указаны в таблице 2.

Сравнительный анализ диагностической информативности цитологических препаратов показал лучшие результаты при использовании ЖЦ. В препаратах ТЦ присутствовали элементы крови и слизи, затрудняющие оценку клеточного состава, чаще встречались структуры из плохо просматриваемых деформированных и поврежденных клеток. При этом отмечены объективные сложности дифференциальной диагностики атипической гиперплазии и аденокарциномы эндометрия, связанные с нерезко выраженной атипией клеток и структур в части наблюдений.

Обсуждение

Увеличение заболеваемости РЭ продолжается во всем мире. Одной из возможных причин этой тенденции

является увеличение средней продолжительности жизни населения. РЭ чаще диагностируют в постменопаузе. Также отмечен рост частоты факторов риска развития аденокарциномы, таких как ожирение, артериальная гипертензия, сахарный диабет, поздняя менопауза, длительная эстрогенная стимуляция [8]. Факторы риска определены как дополнительные факторы, ответственные за увеличение числа пациенток с аденокарциномой. В связи с этим активно идет поиск надежных способов выявления и уточняющей диагностики злокачественных опухолей полости матки и предшествующих им состояний эндометрия. Ранняя диагностика опухолевых поражений и своевременное начало лечения являются эффективными мерами борьбы с РЭ.

Аномальные маточные кровотечения в репродуктивном возрасте и особенно постменопаузальные кровотечения являются прямым показанием для обязательной патоморфологической верификации диагноза. Однако только у небольшого числа женщин выявляют предраковое или злокачественное заболевание. РЭ у пациенток в менопаузе без маточного кровотечения диагностируют только в 0,07–0,60% случаев [9]. Частота указанной патологии выше у женщин при наличии факторов риска развития пролиферативных состояний эндометрия. Таким образом, пациенток с наличием факторов риска развития рака эндометрия необходимо выделить в особую группу – группу риска, требующую тщательного динамического наблюдения.

Для получения материала используют различные лечебно-диагностические процедуры – гистероскопию, раздельное диагностическое выскабливание слизистой тела и шейки матки, аспирационную биопсию эндометрия. Применение этих методов сопряжено с хирургическим и анестезиологическим риском, что особенно актуально для пациенток в постменопаузе, как правило, имеющих сопутствующие соматические заболевания.

УЗИ органов малого таза, определение толщины и структуры эндометрия не позволяет установить морфологический диагноз, однако его использование способно повысить

Таблица 1
Результаты гистологического, традиционного цитологического исследований и метода жидкостной цитологии

Гистологическое исследование	Традиционная цитология					Жидкостная цитология				
	Неинформативный материал	Пролиферативный эндометрий, секреторный эндометрий, атрофия	Гиперплазия без атипии	Атипическая гиперплазия	Аденокарцинома	Неинформативный материал	Пролиферативный эндометрий, секреторный эндометрий, атрофия	Гиперплазия без атипии	Атипическая гиперплазия	Аденокарцинома
Неинформативный материал										
Пролиферативный эндометрий, секреторный эндометрий, атрофия, полип, доброкачественные опухоли	3	25	6			2	29	3		
Гиперплазия без атипии			20	2				20	2	
Атипическая гиперплазия				2					2	
Аденокарцинома				8	3				5	6

Таблица 2
Статистические показатели результатов традиционного цитологического исследования и метода жидкостной цитологии

	Традиционная цитология		Жидкостная цитология	
	Гиперплазия	Атипическая гиперплазия и аденокарцинома	Гиперплазия	Атипическая гиперплазия и аденокарцинома
Чувствительность, %	100	100	100	100
Специфичность, %	88	96	94	96
Положительная прогностическая ценность, %	77	87	87	87
Отрицательная прогностическая ценность, %	100	100	100	100

точность диагностики. При наличии кровянистых выделений у пациенток в постменопаузе показана биопсия при любой толщине эндометрия. Однако при толщине эндометрия менее 4–5 мм риск злокачественного процесса минимален. При отсутствии аномальных маточных кровотечений у пациенток в менопаузе биопсия эндометрия показана при толщине эндометрия, по данным УЗИ органов малого таза, ≥ 5 мм [10]. Отмечено, что оценка толщины эндометрия менее важна, чем определение его структуры [11]. В ретроспективном когортном исследовании С. Yasa и соавт. было указано, что регулярное использование измерения толщины эндометрия с помощью УЗИ не является эффективным диагностическим инструментом для диагностики РЭ, поскольку имеет низкие диагностические показатели у женщин в постменопаузе без кровотечения [12]. Результаты исследования убедили авторов сделать заключение о том, что ультразвуковое исследование имеет ограниченную прогностическую ценность для случаев гиперплазии эндометрия или аденокарциномы.

Технические особенности в виде неравномерного нанесения мазка, попадания фоновых элементов искажали результаты ТЦ исследования. Поэтому для выявления предраковых состояний эндометрия и опухолевых поражений целесообразно использовать ТЦ в сочетании с методом ЖЦ. В результате применения метода ЖЦ получают препарат с распределением клеток тонким слоем, удаляются затрудняющие оценку кровь и примеси, а также имеется возможность получения более одного слайда. Использование материала из транспортной среды для проведения им-

муноцитохимического, гистологического и иммуногистохимического (после приготовления клеточного блока) исследований способно расширить возможности данного вида диагностики.

В метаанализе, проведенном в Китае в 2019 году, а также в исследованиях S. Lv, Q. Wang и соавт. (2020) отмечен диагностический потенциал цитологического исследования эндометрия [13, 14]. В нашей работе сравнительный анализ результатов цитологического исследования, выполненного различными методами, показал сопоставимые результаты как по препаратам, приготовленным методом ЖЦ на процессоре, так и с использованием ручного метода.

Заключение

Цитологическое исследование является перспективным методом диагностики гиперпластических и злокачественных состояний эндометрия и может применяться как самостоятельный метод диагностики, так и в сочетании с ультразвуковым исследованием с целью стратификации пациенток на амбулаторном этапе для определения дальнейшей тактики лечения. Внедрение ЖЦ в рутинную практику способно улучшить результаты цитологической диагностики патологии эндометрия. Сочетание ТЦ и ЖЦ для диагностики различных видов патологии эндометрия способствует совершенствованию диагностики пролиферативных процессов с позиции доступности и малой инвазивности. Возможность проведения цитологического исследования эндометрия в амбулаторных условиях имеет важное значение, особенно в период пандемии, когда сокращение числа госпитализаций для выполнения инвазивных процедур приобретает еще большую актуальность.

Список литературы / References

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021; 71 (3): 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>

2. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. илл. 239 с. ISBN 978–5–85502–255–1.
Ed. A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. The state of oncological care for the population of Russia in 2019. Moscow: MNIOL im. P.A. Herzen – branch of the Federal State Budgetary Institution 'NMTs of Radiology' of the Ministry of Health of Russia, 2020. ill. 239 p. ISBN 978–5–85502–255–1.
3. Клинические рекомендации «Рак тела матки и саркомы матки», 2020. *Clinical guidelines 'Cancer of the body of the uterus and sarcoma of the uterus'*, 2020.
4. Haimovich S, Tanvir T. A Mini-Review of Office Hysteroscopic Techniques for Endometrial Tissue Sampling in Postmenopausal Bleeding. *J Midlife Health*. 2021; 12 (1): 21–29. https://doi.org/10.4103/jmh.jmh_42_21
5. Behnamfar F, Arshad E. Diagnostic Values of Pipelle and Standard Curettage Compared to Hysterectomy Pathology in Postmenopausal Bleeding: A Comparative Study. *Adv Biomed Res*. 2020; 9: 58. https://doi.org/10.4103/abr.abr_28_20
6. Шабалова И.П. Клиническая цитология в 21 веке – тупик или развитие специальности? *Лаборатория*. 2015; 4–9.
Shabalova I.P. Clinical cytology in the 21st century – a dead end or a specialty development? *Laboratory*. 2015; 4–9.
7. Buccoliero AM, Gheri CF, Castiglione F, et al. Liquid-based endometrial cytology: cyto-histological correlation in a population of 917 women. *Cytopathology*. 2007; 18 (4): 241–249. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2303.2007.00463.x>
8. Giannella L, Cerami LB, Setti T, Bergamini E, Boselli F. Prediction of Endometrial Hyperplasia and Cancer among Premenopausal Women with Abnormal Uterine Bleeding. *Biomed Res Int*. 2019; 2019: 8598152. <https://doi.org/10.1155/2019/8598152>
9. Nagase E, Yasuda M, Kajiwara H et al. Uterine body cancer mass screening at Tokai University Hospital. *Tokai J Exp Clin Med* 2004; 29: 43–8.
10. ACOG Committee Opinion No. 734 Summary: The Role of Transvaginal Ultrasonography in Evaluating the Endometrium of Women with Postmenopausal Bleeding. *Obstet Gynecol*. 2018; 131 (5): 945–946. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002626>
11. Epstein E, Fischerova D, Valentin L, et al. Ultrasound characteristics of endometrial cancer as defined by International Endometrial Tumor Analysis (IETA) consensus nomenclature: prospective multicenter study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018; 51 (6): 818–828. <https://doi.org/10.1002/uog.18909>
12. Yasa, C. Evaluation of the diagnostic role of transvaginal ultrasound measurements of endometrial thickness for the detection of endometrial malignancies in asymptomatic postmenopausal women /C. Yasa, O. Dural, E. Bastu [et al.]. *Arch Gynecol Obstet*. 2016. 294 (2). P. 311–316. <https://doi.org/10.1007/s00404-016-4054-5>.
13. Wang Q, Wang Q, Zhao L, et al. Endometrial Cytology as a Method to Improve the Accuracy of Diagnosis of Endometrial Cancer: Case Report and Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2019; 9: 256. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00256>
14. Lv S, Wang Q, Li Y, Zhao L, Wang Y, Feng X, Han L, Zhang K, Yin P, Hou H, Shi G, Li Q. A Clinical Comparative Study of Two Different Endometrial Cell Samplers for Evaluation of Endometrial Lesions by Cytopathological Diagnosis. *Cancer Manag Res*. 2020; 12: 10551–10557 <https://doi.org/10.2147/CMAR.S272755>

Статья поступила / Received 28.01.2022

Получена после рецензирования / Revised 10.02.2022

Принята в печать / Accepted 28.06.2022

Сведения об авторах

Карпова Асель Ерсановна, аспирант кафедры клинической лабораторной диагностики¹. E-mail: aselique@gmail.com

Шабалова Ирина Петровна, д.м.н., проф., проф. кафедры клинической лабораторной диагностики¹. E-mail: irenshab@inbox.ru

Касоян Карине Тимуровна, к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики¹. E-mail: karishe@list.ru

Созаева Лариса Габиевна, к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии¹. E-mail: sozaewa@mail.ru

Шахова Ольга Борисовна, к.м.н., с.н.с. отделения острых гинекологических заболеваний². E-mail: obshakhova@gmail.com

Миронов Алексей Валентинович, д.м.н., врач-гинеколог³. E-mail: mironov75av@yandex.ru

Кузнецов Роман Эдуардович, д.м.н., рук. гинекологического отделения⁴. E-mail: kuznetsov@yandex.ru

About authors

Karpova Asel E., postgraduate student of Dept of Clinical Laboratory Diagnostics¹. E-mail: aselique@gmail.com

Shabalova Irina P., DM Sci (habil.), professor, professor at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics¹. E-mail: irenshab@inbox.ru

Kasoyan Karine T., PhD Med, associate professor at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics¹. E-mail: karishe@list.ru

Sozaeva Larisa G., PhD Med, associate professor at Dept of Obstetrics and Gynecology¹. E-mail: sozaewa@mail.ru

Shakhova Olga B., PhD Med, senior researcher at Dept of Acute Gynecological Diseases². E-mail: obshakhova@gmail.com

Mironov Aleksey V., DM Sci (habil.), gynecologist³. E-mail: mironov75av@yandex.ru

Kuznetsov Roman E., DM Sci (habil.), head of Gynecological Dept⁴. E-mail: kuznetsov@yandex.ru

¹Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

²Research Institute for Emergency Medicine n.a. N. V. Sklifosovsky, Moscow, Russia

³Department of Gynecology, City Clinical Hospital No. 13, Moscow, Russia

⁴Department of Gynecology, City Clinical Hospital n.a. S. P. Botkin, Moscow, Russia

Corresponding author: Karpova Asel E. E-mail: aselique@gmail.com

Для цитирования: Карпова А.Е., Шабалова И.П., Касоян К.Т., Созаева Л.Г., Шахова О.Б., Миронов А.В., Кузнецов Р.Э. Значение цитологического исследования в диагностике патологии эндометрия. *Медицинский алфавит*. 2022; (19): 28–32. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-28-32>.

For citation: Karpova A. E., Shabalova I. P., Kasoyan K. T., Sozaeva L. G., Shakhova O. B., Mironov A. V., Kuznetsov R. E. Evaluation of exfoliative cytology in endometrial pathology. *Medical alphabet*. 2022; (19): 28–32. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-28-32>.



Анализ уровней аннексина V и цитокинового статуса у больных с острым инфарктом миокарда

А. В. Наумов¹, Т. В. Прокофьева¹, О. С. Полунина¹, Л. В. Сароянц²

¹ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Астрахань

²ФГБУ «Научно-исследовательский институт по изучению лепры» Минздрава России, г. Астрахань

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучение уровней аннексина V и цитокинового статуса у больных с острым инфарктом миокарда.

Материалы и методы. Проведено обследование 27 больных с Q-образующим инфарктом миокарда. В качестве группы контроля обследованы 20 соматически здоровых лиц. Все больные инфарктом миокарда поступили в стационар в течение суток от развития клиники. Липидный спектр определяли на автоматическом анализаторе Humalizer-3000 (Human, Германия). Иммунологические исследования проводили на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США). Субпопуляции лимфоцитов оценивались с помощью моноклональных антител производства Immunotech (Coulter Corporation, США). Для выделения клеток, подвергшихся апоптозу, использовали набор ANNEXIN V-FITC/7 AAD (Beckman Coulter, США). Выделение мононуклеаров периферической крови проводили на градиенте плотности «Фикол-гипак» с помощью центрифугирования (Pharmacia Fine Chemicals, Швеция). Определение интерлейкина-1 β проводили с использованием тест-системы «Вектор-Бест» («Вектор-Бест», Россия), а фактора некроза опухоли- α – тест-системой RayBio Human TNF-alpha ELISA Kit (США). Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0.

Результаты исследования. На фоне нарушенного липидного профиля (повышение общего холестерина и холестерина ЛПНП, снижение содержания холестерина ЛПВП) у больных острым инфарктом миокарда отмечено достоверное снижение общего числа Т-лимфоцитов (CD3⁺) ($p < 0,05$), Т-супрессоров (CD8⁺) ($p < 0,01$), повышение числа В-клеток (CD19⁺) ($p < 0,05$) и соотношения CD4⁺/CD8⁺ – лимфоцитов. У больных инфарктом миокарда наблюдалось достоверное повышение в крови апоптотических клеток и провоспалительных цитокинов, участвующих в апоптозе (ИЛ-1 β и ФНО- α), по сравнению с контролем.

Заключение. Усиление спонтанного апоптоза лимфоцитов периферической крови у пациентов с острым инфарктом миокарда является проявлением системного апоптоза при острых коронарных событиях. Вероятно, активизация аннексин-зависимого апоптоза Т-лимфоцитов обусловлена иммунным дисбалансом. Следствием данных изменений является активация цитокиновой системы с выбросом провоспалительных медиаторов (ФНО- α , ИЛ-1 β). Выявленные зависимости требуют дальнейшего изучения с перспективой разработки прогностических алгоритмов исходов острого инфаркта миокарда на основе показателей уровней аннексина V и провоспалительных цитокинов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: апоптоз, аннексин V, инфаркт миокарда, провоспалительные цитокины.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Analysis of annexin V levels and cytokine status in patients with acute myocardial infarction

A. V. Naumov¹, T. V. Prokofieva¹, O. S. Polunina¹, L. V. Saroyants²

¹Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

²Leprosy Research Institute, Astrakhan, Russia

SUMMARY

Aim. Study of annexin V levels and cytokine status in patients with acute myocardial infarction.

Materials and methods. We examined 27 patients with Q-forming myocardial infarction who were admitted 12–24 hours after the development of the clinic, and 20 individuals in the control group. The lipid spectrum was determined using an automatic analyzer Humalizer-3000 (Human, Germany). Immunological studies were performed on a flow cytometer Navios (Beckman Coulter, USA). Lymphocyte subpopulations were evaluated using monoclonal antibodies produced by Immunotech (Coulter Corporation, USA). A set of ANNEXIN V-FITC/7 AAD (Beckman Coulter, USA) was used to isolate cells that had undergone apoptosis. Isolation of peripheral blood mononuclears was performed by centrifugation on a density gradient Ficoll-hypac (Pharmacia Fine Chemicals, Sweden), interleukin-1 β was determined using the Vector-Best test system (Vector-Best, Russia), and the tumor necrosis factor was determined using the RayBio Human TNF-alpha ELISA Kit (USA). Statistical data processing was performed using the program package Statistica 10.0.

Results. In patients with acute myocardial infarction on the background of dyslipidemia (total cholesterol and LDL cholesterol increased, cholesterol-HDL reduced) showed a significant decrease in the total number of T-lymphocytes (CD3⁺) ($p < 0,05$), T-suppressor (CD8⁺) ($p < 0,01$), B-cells number (CD19⁺) and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ lymphocytes increased ($p < 0,05$). In patients with myocardial infarction there was a significant increase of apoptotic cells and pro-inflammatory cytokines involved in apoptosis (IL-1 β and TNF- α) in the blood compared with the control.

Conclusion. Increased spontaneous apoptosis of peripheral blood lymphocytes in patients with acute myocardial infarction indicates the systemic nature of apoptosis in acute coronary pathology, due to increased annexin-dependent apoptosis of T-lymphocytes as a result of immune disorders, which leads to activation of the cytokine system with an increased concentration of pro-inflammatory mediators (TNF- α , IL-1 β). The identified dependencies require further study with the prospect of developing predictive algorithms for myocardial infarction outcomes based on indicators of annexin V and pro-inflammatory cytokines.

KEY WORDS: apoptosis, annexin V, myocardial infarction, pro-inflammatory cytokines.

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

Введение

Существуют ряд заболеваний, важным компонентом патогенеза которых является апоптоз. Примером может служить инфаркт миокарда (ИМ), в ранний период которого происходит гибель кардиомиоцитов [1–5]. Исследования последних лет продемонстрировали, что недостаточно рассматривать апоптоз исключительно как программируемую гибель поврежденных клеток, так как его роль более значима. В ряде исследований подтверждено участие апоптотических процессов в удалении некротизированных и воспалительных клеток из инфарктированного участка, а также их участие в развитии атеросклероза [6].

Процесс апоптоза регулируется множеством внеклеточных или внутриклеточных факторов. Внутриклеточные действуют непосредственно в патологическом очаге. К ним относятся самые разнообразные агенты – продукты перекисного окисления белков и липидов, термическое воздействие, токсины. При инициации апоптотического пути внутренними факторами запускается так называемая митохондриальная клеточная гибель, при которой из митохондрий выходит цитохром С и связывается с фактором Араф-1, в результате чего высвобождаются проапоптотические факторы. Действие внешних регуляторов опосредуется через гормоны, цитокины и т.д. [7]. Внешний путь активизируется при связывании лиганда с Fas-рецептором (CD 95) через TNF-рецепторы [1]. Было продемонстрировано, что уровень TNF- α , а также полиморфизм генов, ответственных за экспрессию данного цитокина, может влиять на риск развития сосудистых и коронарных событий [8]. TNF- α обладает способностью инициировать цитокиновый каскад, стимулируя продукцию интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) и интерлейкина-6 (ИЛ-6). Последний принимает участие в регуляции апоптоза [9, 10].

Интерес к процессу апоптоза в последние десятилетия связан с рядом факторов. Появились новые методические возможности регистрации данного процесса в различных ситуациях и углубленного изучения его молекулярных механизмов. В частности, метод проточной цитофлуориметрии позволяет выявить максимально ранние этапы детерминации клеточной гибели [11]. Распознавание и последующая элиминация апоптотических клеток происходят благодаря появлению на их поверхности специфических молекул. Примером таких субстанций, в норме экспрессирующихся только на эндоцеллюлярной поверхности цитоплазматической мембраны, является фосфатидилсерин (ФС) [12, 13]. Его присутствие в клетках – характерный признак апоптоза [14].

В последние годы внимание исследователей привлекает семейство кальций-зависимых фосфолипид-связывающих белков, представителем которых является аннексин V. Не выделяясь из жизнеспособных клеток, аннексин V является достоверным тонким маркером апоптотических и некротизированных клеток [15]. Аннексин V обладает высоким сродством с ФС и фосфолипидам, принимая активное участие в процессах апоптоза [16]. Следует отметить, что экстернализации ФС предшествуют изменения мембранного потенциала митохондрий и активация каспазы-3, а перестройка цитоскелета клетки и нарушение

целостности мембраны клетки происходят несколько позднее. Экспрессия ФС на наружной поверхности мембраны наблюдается на всем протяжении апоптотического процесса – от самых ранних стадий до гибели клетки. Это позволяет дифференцировать нормальные клетки и клетки, находящиеся в апоптозе. Таким образом, понимание процессов регулируемости апоптоза, углубленное изучение процессов специфической активации апоптотических процессов при ИМ и изучение клеточных механизмов, контролирующих апоптоз, помогут в дальнейшем выработать алгоритмы по ограничению зоны повреждения тканей у пациентов с ИМ.

Цель исследования: изучение уровней аннексина V и цитокинового статуса у больных с острым инфарктом миокарда.

Материалы и методы

Обследовано 27 больных с инфарктом миокарда с зубцом Q (Q-ИМ) в возрасте $54,7 \pm 7,4$ года. Женщин было 5 (19%), мужчин – 22 (81%). Все больные поступили на стационарное лечение в течение первых суток от момента развития болевого приступа. У всех пациентов имел место ОИМ II типа. Диагноз ОИМ устанавливался в соответствии с клиническими рекомендациями «Четвертое универсальное определение инфаркта миокарда» (2019). Лечение пациентов с ИМ осуществлялось на базе ГБУЗ «АО «Александрo-Маринская областная клиническая больница» (г. Астрахань), период проведения исследования – 2019–20 гг. и проводилось в соответствии с клиническими рекомендациями «Острый инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST электрокардиограммы» (утв. Минздравом России, 2016 г.).

В группу сравнения вошли 20 жителей Астраханской области без значимой соматической патологии, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными пациентами.

Стандарты Good Clinical Practice и основные положения Хельсинской декларации были положены в основу данного исследования. Проведение исследования одобрено этическим комитетом (заседание РНЭК 15 сентября 2016 г., протокол № 3). Поправок к исходному протоколу РНЭК не было. Каждый обследованный перед включением в исследование дал письменное заключение о добровольном участии в нем.

Для оценки липидного спектра у больных определялись уровни общего холестерина, триглицеридов, холестерина липопротеинов высокой (ЛПВП) и низкой плотности (ЛПНП). Эти исследования проводились на автоматическом анализаторе Humalizer-3000 (Human, Германия).

Иммунологические исследования проводили на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США). Для оценки иммунного статуса образцы клеток крови человека окрашивали с помощью моноклональных антител производства Immunotech (Coulter Corporation, США) – anti-CD 3, конъюгированные с FITC (Fluorescein Isothiocyanate), anti-CD 4-FITC, anti-CD 8-FITC, anti-CD 56-FITC, anti-CD 19-FITC. В качестве контроля использовали изотипические контроли.

Для оценки количества апоптотических клеток использовался набор ANNEXIN V-FITC/7 AAD (Beckman Coulter, США). Принцип действия реагентов основан на высоком сродстве аннексина V и фосфатидилсерина (ФС) и специфичном связывании 7-аминоактиномицина (7AAD) с нуклеотидными парами гуанин – цитозин в ДНК.

Выделение мононуклеаров периферической крови осуществляли с помощью ее центрифугирования на градиенте плотности «Фикол-гипак» (Pharmacia Fine Chemicals, Швеция). Среди популяции лимфоцитов определяли удельный вес клеток, находящихся в апоптозе и (или) некрозе с помощью двумерных гистограмм.

Цитокины определялись в сыворотках крови методом твердофазного иммуноферментного анализа. Определение интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) проводили с использованием тест-системы «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия), а фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) – тест-системой RayBio Human TNF-alpha ELISA Kit (США). Для обработки результатов использовался планшетный фотометр Invitrologic (Новосибирск, Россия).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.0. Описательные характеристики представлены медианой, 25-м и 75-м перцентилями. Для сравнения двух независимых групп применялся анализ ранговых вариаций с использованием непараметрического критерия Вилкоксона – Манна – Уитни. Отличия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Корреляционные взаимосвязи между признаками проводили с использованием непараметрического критерия Спирмена.

Результаты

У больных с ОИМ отмечались нарушения липидного обмена: уровни общего холестерина и холестерина ЛПНП повышались, а содержание холестерина ЛПВП снижалось. Уровень триглицеридов не имел статистически значимых отличий по сравнению с группой контроля (рис. 1).

Далее у больных ИМ и в контрольной группе с помощью проточной цитофлуорометрии был исследован субпопуляционный состав лимфоцитов (табл. 1).

У больных ОИМ отмечены статистически значимое по отношению к контролю снижение общего количества Т-лимфоцитов (CD 3⁺) ($p < 0,05$) и повышение числа В-клеток (CD 19⁺) ($p < 0,05$), снижение числа Т-супрессоров (CD 8⁺) ($p < 0,01$) и вследствие этого – увеличение соотношения CD 4⁺/CD 8⁺ – лимфоцитов ($p < 0,05$).

При оценке уровня аннексина V, как маркера апоптоза, установлено, что у больных ОИМ наблюдалось достоверное ($p < 0,01$) повышение в крови апоптотических клеток по сравнению с контролем (рис. 2).

Внесение в клеточную суспензию метки 7AAD позволяет выявить некроз, а аннексина V – апоптоз. Будучи добавленными одновременно, данные маркеры позволяют оценить количество здоровых, апоптотических и некротических клеток в данной суспензии. Так, жизнеспособные клетки не связывают ни аннексин, ни 7AAD. На ранней стадии апоптоза клетки положительны по аннексину V и отрицательны по 7AAD. В позднюю стадию апоптоза и при некрозе клетки положительны по обоим маркерам. Погибшие клетки отрицательны по аннексину V и положительны по 7AAD.

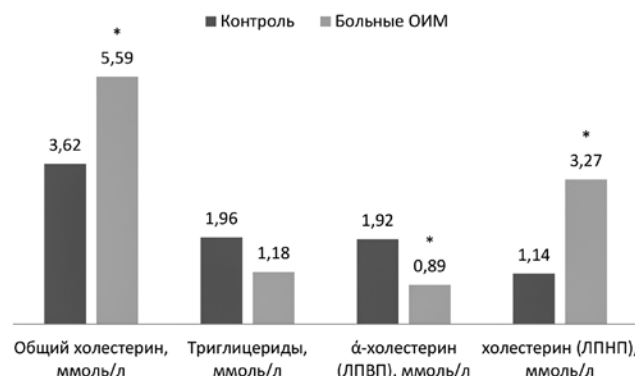


Рисунок 1. Показатели липидного обмена у больных с острым инфарктом миокарда.

Примечание: * – $p < 0,05$ – статистически достоверные различия по сравнению с группой контроля.

Таблица 1
Лимфоцитарные субпопуляции у больных с острым инфарктом миокарда

Показатель	Контроль, n = 27	ИМ, n = 20
CD 3 ⁺ (T-cells)	77,30 [74,20–81,20]	70,70 [60,90–78,30]*
CD 3 ⁺ /CD 4 ⁺ (Helper T-cells)	48,10 [42,40–53,50]	48,50 [41,10–55,90]
CD 3 ⁺ /CD 8 ⁺ (Suppressor T-cells)	27,13 [21,60–30,70]	21,20 [15,80–26,50]**
CD 3 ⁺ /CD 56 ⁺ (NK-cells)	11,98 [5,00–12,60]	9,67 [5,40–11,90]
CD 19 ⁺ (B-cells)	10,66 [7,60–12,90]	13,65 [11,10–15,30]*
CD 4 ⁺ /CD 8 ⁺ Ratio	1,84 [1,45–2,05]	2,57 [1,70–3,10]*

Примечание: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ – статистически достоверные различия по сравнению с группой контроля (в скобках: 25-й и 75-й перцентили).

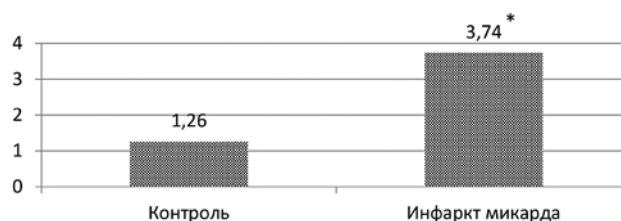


Рисунок 2. Содержание циркулирующих аннексин V-мононуклеаров (%) в периферической крови у больных и здоровых лиц.

Примечание: * – $p < 0,01$ – статистически достоверные различия по сравнению с группой контроля.

На рисунке 3 представлены индивидуальные гистограммы больного ОИМ и обследованного из группы контроля.

При анализе гистограммы здорового человека (рис. 3 а) видно, что процент апоптотических клеток составляет 0,5 %, а основная субпопуляция клеток (99,4 %) представлена жизнеспособными мононуклеарами. Такая же картина наблюдалась в целом в контрольной группе: процент жизнеспособных клеток составил 97,04 [95,90–99,40]%, а апоптотических клеток – 1,60 [0,80–2,40]%. В группе больных с ИМ содержание жизнеспособных клеток было снижено и составило 94,80 [92,80–96,90]% при достоверно ($p < 0,01$) возросшем числе апоптотических клеток – 3,74 [2,10–4,90]%, что в качестве примера наглядно продемонстрировано на индивидуальной гистограмме (рис. 3 б).

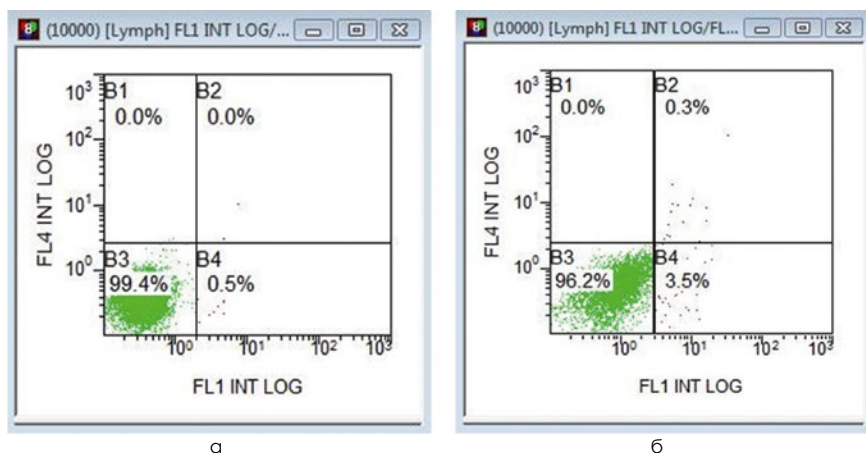


Рисунок 3 (а, б). Двумерная гистограмма распределения апоптотических и жизнеспособных клеток. Ось х – интенсивность флуоресценции аннексина V – FITC. Ось у – интенсивность флуоресценции 7 AAD: а – здоровый человек, б – пациент с ОИМ.

Таблица 2
Уровни провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β) у больных острым инфарктом миокарда

Параметр	Здоровые лица, n = 27	Больные ОИМ, n = 20
ФНО- α , пг/мл	51,50 [32,60–119,10]	272,10 [160,50–311,20]**
ИЛ-1 β , пг/мл	5,10 [4,70–6,90]	11,20 [9,60–17,40]*

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ – статистически достоверные различия по сравнению с группой контроля (в скобках: 25-й и 75-й перцентили).

В группе пациентов с ИМ отмечена положительная корреляция между уровнями аннексина V и общего холестерина ($r = 0,51$; $p < 0,05$), а также отрицательная корреляция между аннексином V и ЛПВП ($r = -0,49$; $p < 0,05$).

Таким образом, нами выявлено усиление спонтанного апоптоза лимфоцитов периферической крови у пациентов с ОИМ по сравнению с контролем, что может быть связано с апоптотическими процессами в кардиомиоцитах.

Ишемия миокарда является одним из тех стрессовых воздействий, которое ведет к выработке белков теплового шока [17], являющихся эндогенными лигандами для рецепторов врожденного иммунитета, в частности Toll-подобных рецепторов-4 (TLR-4). Связывание БТШ 70 с TLR-4 дает сигнал для транскрипции генов, ответственных за синтез провоспалительных цитокинов, что, в свою очередь, способствует развитию дисфункции эндотелия и повреждению сосудистой стенки.

Одними из таких провоспалительных цитокинов, играющих роль в процессе апоптоза, являются ИЛ-1 β и ФНО- α . При ОИМ нами было обнаружено достоверное повышение этих показателей по сравнению с контрольными значениями (табл. 2).

Заключение

В настоящее время с появлением новых методических подходов стало возможным изучение молекулярных основ патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний. Особенно это актуально в плане поиска маркеров риска развития такого серьезного осложнения ишемической болезни сердца, как инфаркт миокарда. ИМ сопровождается как ишемическими процессами, так и иммуновоспалительными реакциями, причинно-следственные связи данных процессов по-прежнему дискуссионны. При острой ишемии миокарда запускается транскрипция генов, в том числе связанных с апоптозом. Поскольку апоптоз является регулируемым процессом, лучшее понимание обстоятельств, запускающих апоптоз при инфаркте миокарда, и клеточных механизмов, контролирующих данный процесс, будет способствовать выработке терапевтических стратегий, направленных на ограничение повреждения тканей у пациентов с инфарктом миокарда [18, 19].

Так, A. Saraste *et al.* [20] продемонстрировали, что в миокардиальных образцах, полученных от больных, умерших от ОИМ, в дополнение к открытому некрозу множество миоцитов подвергаются ишемическому и реперфузионному апоптозу. H. Fliss и D. Gattinger [21] в своих исследованиях показали, что апоптоз происходит исключительно в ишемизированном миокарде, а не в пограничных или отдаленных от ишемии регионах. В других исследованиях апоптотические миоциты выявлялись не только в пограничных зонах недавнего инфаркта [4], но и в «отдаленных от ишемии» областях [5]. Установлено, что процессы, развивающиеся при острой ишемии миокарда, представляют собой сложную цепь взаимопереплетающихся каскадов [22].

Одним из пусковых механизмов активации апоптоза является появление на поверхности клеток молекул ФС, которые переносятся с внутренней цитоплазматической мембраны благодаря образованию комплекса с белком аннексином V [12]. При ИМ происходит программируемая гибель эндотелиоцитов [11], что сопровождается увеличением содержания циркулирующих аннексина V – мононуклеаров в периферической крови, выявленным в нашем исследовании. Это в дальнейшем запускает процессы тромбогенеза и образование протромбиназного комплекса [23].

Изменения липидного спектра у больных ИМ, выявленные в данном исследовании, соответствуют литературным данным и проявлялись повышением атерогенных липопротеидов – общего холестерина и холестерина ЛПНП при одновременном снижении антиатерогенных ЛПВП. Снижение их уровня, по всей видимости, приводит к снижению защиты эндотелиальных клеток от апоптоза.

У больных ОИМ было выявлено статистически значимое, по сравнению с контролем, количество жизнеспособных мононуклеаров (CD 3⁺) и субпопуляции цитотоксических CD 3⁺CD 8⁺ – лимфоцитов в периферической крови, что, возможно, связано с их антагонистическим действием в отношении

гиперпродукции Fas/FasL – рецепторов. В литературе имеются сведения о стимулирующем влиянии окисленных ЛПНП на рецепторный и митохондриальный пути апоптоза (Fas/FasL, рецепторы ФНО-α I и II) [24]. После связывания рецепторов данного семейства с соответствующим лигандом происходит каскад реакций, приводящих к гибели активированных аутореактивных Т-лимфоцитов [25]. Аутоиммунный ответ инициируется ФНО-α и благодаря тому, что он способен повышать экспрессию молекул адгезии и некоторых матриксных металлопротеиназ [26].

В нашем исследовании у больных с ОИМ обнаружено более высокое содержание ФНО-α в крови, чем у здоровых людей. Увеличение концентрации ФНО-α в крови, вероятно, связано с индукцией апоптоза путем связывания данного цитокина со специфическим высокоаффинным рецептором к ФНО-α либо в связи со стимуляцией CD95⁺ – презентующей активности клеток и индукции Fas-зависимой тонотонической программы клеток [27].

ФНО-α стимулирует выработку другого медиатора воспаления – интерлейкина-1β. Увеличение концентрации ИЛ-1β, обнаруженное в данном исследовании, также было показано при развитии острой коронарной ишемии [28]. ФНО-α совместно с ИЛ-1β не только индуцируют лейкоцитарно-эндотелиальную адгезию, но и активируют ИЛ-8, способствующий миграции лейкоцитов из сосудистого русла в зону ишемического повреждения миокарда.

Многочисленные исследования показывают, что апоптоз может вызывать гибель клеток кардиомиоцитов после инфаркта миокарда, хотя точные механизмы апоптоза в сердце неизвестны и интерпретация исследований несколько затруднена из-за различных методов, используемых для определения апоптоза. Тем не менее процесс апоптоза в сердце занимает уникальную позицию в области теории и практики апоптоза, аналогичную другим процессам, вызывающим ишемическую болезнь сердца.

Таким образом, в нашем исследовании выявлено усиление спонтанного апоптоза лимфоцитов периферической крови у пациентов с ОИМ по сравнению с контролем. Это подтверждает предположение о системности апоптоза при ОИМ. Субстрат инфаркт-обусловленного апоптоза представлен аннексин-зависимым апоптозом Т-лимфоцитов вследствие иммунного дисбаланса. Это приводит к активации системы цитокинов с гиперпродукцией провоспалительных медиаторов (ФНО-α, ИЛ-1β). Выявленные зависимости требуют дальнейшего изучения с перспективой разработки прогностических алгоритмов исходов ОИМ на основе показателей уровней аннексина V и провоспалительных цитокинов.

Список литературы / References

- Петрищев Н.Н., Васина Л.В., Луговая А.В. Содержание растворимых маркеров апоптоза и циркулирующих аннексин V-связанных апоптотических клеток в крови больных острым коронарным синдромом. Вестник Санкт-Петербургского университета. 2008; 11 (1): 14–23.
Petrishev N.N. The content of soluble markers of apoptosis and circulating annexin V-linked apoptotic cells in the blood of patients with acute coronary syndrome. Bulletin of Saint Petersburg University. 2008; 11 (1): 14–23. (In Russ.).
- Palojoki M., Saraste A., Eriksson A. et al. Cardiomyocyte apoptosis and ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2001; 280 (6): 2726–2731. DOI: 10.1152/ajpheart.2001.280.6.H2726.

- Palojoki M., Saraste A., Eriksson A. et al. Cardiomyocyte apoptosis and ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2001; 280 (6): 2726–2731. DOI: 10.1152/ajpheart.2001.280.6.H2726.
- Nakajima H., Yanase N., Oshima K. et al. Enhanced expression of apoptosis inducing ligand TRAIL in mononuclear cells after myocardial infarction. *Jpn. Heart J.* 2003; 44: 833–844. DOI: 10.1536/jhj.44.8333.
- Шахнович Р.М. Острый коронарный синдром. В кн.: Кардиология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007. 692 с.
Shakhnovich R.M. Acute coronary syndrome. In book: *Cardiology: National guidelines*. Moscow: GEOTAR-Media; 2007. 692 c.
- Piro F.R., di Gioia C.R., Gallo P. et al. Is apoptosis a diagnostic marker of acute myocardial infarction? *Arch Pathol Lab Med.* 2000; 124: 827–831. DOI: 10.1043/0003-9985(2000)124<0827:IAADMO>2.0.CO;2.
- Залесский В.Н., Гавриленко Т.И., Фильченков А.А. Апоптоз при ишемии и реперфузии миокарда. *Врачебное Дело.* 2002; 1: 8–15.
Zalessky V.N., Gavrilenko T.I., Filchenkov A.A. Apoptosis in myocardial ischemia and reperfusion. *Physician's Business.* 2002; 1: 8–15.
- Москалева Е.Ю., Севрин С.Е. Возможные механизмы адаптации клетки к повреждению, индуцирующим программированную гибель. Связь с патологией. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2006; 2: 2–15.
Moskaleva E. Yu., Sevrin S. E. Possible mechanisms of cell adaptation to damage inducing programmed death. Relationship to pathology. *Pathological Physiology and Experimental Therapy.* 2006; 2: 2–15.
- Bennet A.M., van Maarle M.C., Hallqvist J. et al. Association of TNF-alpha serum levels and TNFA promoter polymorphisms with risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis.* 2006; 187 (2): 408–414. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2005.09.022.
- Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии. Иммунология. 1997; 5: 7–13.
Yarilin A.A. Cytokine system and principles of its functioning in norm and pathology. *Immunology.* 1997; 5: 7–13.
- Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Рубакова Э.И. Система цитокинов. М.: Янус-К, 2000. 64 с.
Kovalchuk L. V., Gankovskaya L. V., Rubakova E. I. Cytokine system. Moscow: Janus-K, 2000. 64 c.
- Петрищев Н.Н., Васина Л.В. Аннексин A5 и дисфункция эндотелия. Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. академика И.П. Павлова. 2004; XI (3): 45–47.
Petrishev N.N., Vasina L. V. Annexin A5 and endothelial dysfunction. *Scientific Notes of St. Petersburg State Medical University named after I.P. Pavlov.* 2004; XI (3): 45–47.
- Fadok V.A., Volker D.R., Campbell P.A. et al. Exposure of phosphatidylserine on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages. *J. Immunol.* 1992; 148: 2215–2216.
- Guillermo Mariño & Guido Kroemer. Mechanisms of apoptotic phosphatidylserine exposure. *Crit Research.* 2013; 23: 1247–1248. Doi: 10.1038/cr.2013.115.
- Vanags D.M., Coppola S., Burgess D.H. Protease involvement in fodrin cleavage and phosphatidylserine exposure in apoptosis. *Biol. Chem.* 1996; 271: 31075–31085. DOI: 10.1074/jbc.271.49.3107513
- Reutelingsperger C.P.M., van Heerde W.L. Annexin V, the regulator of phosphatidylserine-catalyzed inflammation and coagulation during apoptosis. *Cell. Mol. Life Sci.* 1997; 53: 527–532. <https://doi.org/10.1007/s00180050067>
- Кудрявцев И.В., Головкин А.С., Зурочка А.В., Хайдуков С.В. Современные методы и подходы к изучению апоптоза в экспериментальной биологии. Медицинская иммунология. 2012; 14 (6): 461–482.
Kudryavtsev I. V., Golovkin A. S., Zurochka A. V., Haidukov S. V. Modern methods and approaches to the study of apoptosis in experimental biology. *Medical Immunology.* 2012; 14 (6): 461–482.
- Williams R.S., Benjamin I. J. Protective responses in the ischemic myocardium. *J. Clin. Invest.* 2000; 106: 813–818. <https://doi.org/10.1172/JCI11205>
- Хусаинова Л.Н., Смакаева Э.Р., Садикова Р.И., Мингазетдинова Л.Н. Клеточные маркеры апоптоза при остром коронарном синдроме. Медицинский вестник Башкортостана. 2013; 8 (3): 78–81.
Khusainova L.N., Smakaeva E.R., Sadikova R.I., Mingazetdinova L.N. Cell markers of apoptosis in acute coronary syndrome. *Medical Bulletin of Bashkortostan.* 2013; 8 (3): 78–81.
- Тепляков А.Т., Гракова Е.В., Березикова Е.Н., Шилов С.Н., Копьева К.В., Калужин В.В. Ранние маркеры прогрессирования сердечной недостаточности и апоптоза: роль в прогнозировании риска развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у больных, перенесших инфаркт миокарда. Бюллетень сибирской медицины. 2016; 15 (1): 37–46. DOI: 10.20538/1682-0363-2016-1-37-46.
Teplyakov A.T., Grakova E.V., Berezikova E.N., Shilov S.N., Kopyeva K.V., Kalyuzhin V.V. Early markers of heart failure progression and apoptosis: role in predicting the risk of adverse cardiovascular events in patients with myocardial infarction. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2016; 15 (1): 37–46. DOI: 10.20538/1682-0363-2016-1-37-46.
- Saraste A., Pulkki K., Kallajoki M. et al. Apoptosis in human acute myocardial infarction. *Circulation* 1997; 95: 320–323. <http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.95.2.320>
- Fliss H., Gattlinger D. Apoptosis in ischemic and reperfused rat myocardium. *Circ Res.* 1996; 79: 949–956. DOI: 10.1161/01.res.79.5.949
- Константинова Е.В., Кочетов А.Г., Шостак Н.А. и др. Особенности иммунного ответа и воспалительной реакции при атеротромботическом инсульте и инфаркте миокарда. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2015; 115 (12): 48–53. DOI: 10.17116/jnevro201511512248-53.
Konstantinova E.V., Kochetov A.G., Shostak N.A. et al. Features of immune response and inflammatory response in atherothrombotic stroke and myocardial infarction. *Journal of Neurology and Psychiatry n.a. S.S. Korsakov.* 2015; 115 (12): 48–53. DOI: 10.17116/jnevro201511512248-53.
- Simak J., Holada K., Vostal J.G. Release of annexin A5-binding membrane microparticles from cultured human umbilical vein endothelial cells after treatment with camptothecin. *BMC Cell. Biol.* 2002; 3: 11. DOI: 10.1186/1471-2121-3-11.

24. Harada-Shiba M., Kinoshita M., Kamido H., Shimokado K. Oxidized low density lipoprotein induces apoptosis in cultured human umbilical vein endothelial cells by common and unique mechanisms. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 9681–9687. DOI: 10.1074/jbc.273.16.9681.
25. Портянко А. С., Черстой Е. Д. Система Fas/FasL и ее значение для регуляции взаимоотношений опухоли и иммунной системы при папиллярном раке щитовидной железы у детей и подростков. *Архив патологии.* 2003; 65 (4): 18–21.
- Portianko A. S., Cherstoy E. D. The Fas/FasL system and its significance for the regulation of tumor-immune system interactions in papillary thyroid cancer in children and adolescents. *Archives of Pathology.* 2003; 65 (4): 18–21.
26. Константинова Е. В., Хомякова Н. Ф., Константинова Н. А. и др. Взаимосвязь апоптоза и экспрессии белков теплового шока лимфоцитов периферической крови у больных с инфарктом миокарда. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2010; 12: 622–625.

Konstantinova E. V., Khomyakova N. F., Konstantinova N. A. et al. Relationship between apoptosis and heat shock protein expression of peripheral blood lymphocytes in patients with myocardial infarction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2010; 12: 622–625.

27. Ceconi C., Curello S., Bachetti T. et al. Tumor necrosis factor in congestive heart failure: a mechanism of disease for the new millennium. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 1998; 41 (1): 25–30.
28. Guillen I., Blanes M., Gomez-Lechon M. J., Castell J. V. Cytokine signaling during myocardial infarction: sequential appearance of IL-1 beta and IL-6. *Am. J. Physiol.* 1995; 269: 229–235. DOI: 10.1152/ajpregu.1995.269.2.R229.

Статья поступила / Received 18.01.22
Получена после рецензирования / Revised 28.01.22
Принята к публикации / Accepted 28.06.22

Сведения об авторах

Наумов Андрей Валентинович, ассистент кафедры профилактической медицины и здорового образа жизни¹. E-mail: andrey.naumov.93@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7874-7057

Прокофьева Татьяна Васильевна, к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней педиатрического факультета¹. E-mail: prokofeva-73@inbox.ru. ORCID: 0000-0002-3260-2677

Полунина Ольга Сергеевна, д.м.н., зав. кафедрой внутренних болезней педиатрического факультета¹. E-mail: admed@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-8299-6582

Сароянц Людмила Валентиновна, д.м.н., зав. лабораторно-экспериментальным отделом². E-mail: luda_saroyants@mail.ru. ORCID: 0000-0002-4426-3860

¹ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Астрахань

²ФГБУ «Научно-исследовательский институт по изучению лепры» Минздрава России, г. Астрахань

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

Для цитирования: Наумов А. В., Прокофьева Т. В., Полунина О. С., Сароянц Л. В. Анализ уровней аннексина V и цитокинового статуса у больных с острым инфарктом миокарда. *Медицинский алфавит.* 2022; (19): 33–38. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-33-38>.

About author

Naumov Andrei V., assistant at Dept of Preventive Medicine and Healthy Lifestyle¹. E-mail: andrey.naumov.93@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7874-7057

Prokofieva Tatyana V., PhD Med, associate professor at Dept of Internal Diseases, Faculty of Pediatrics¹. E-mail: prokofeva-73@inbox.ru. ORCID: 0000-0002-3260-2677

Polunina Olga S., DM Sci (habil.), head of Dept of Internal Diseases, Faculty of Pediatrics¹. E-mail: admed@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-8299-6582

Saroyants Lyudmila V., DM Sci (habil.), head of Laboratory-Experimental Dept². E-mail: luda_saroyants@mail.ru. ORCID: 0000-0002-4426-3860

¹Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

²Leprosy Research Institute, Astrakhan, Russia

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

For citation: Naumov A. V., Prokofieva T. V., Polunina O. S., Saroyants L. V. Analysis of annexin V levels and cytokine status in patients with acute myocardial infarction. *Medical alphabet.* 2022; (19): 33–38. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-33-38>.



DOI: 10.33667/2078-5631-2022-19-38-43

Тромбозы на фоне COVID-19 у лиц среднего возраста

Л. Д. Хидирова, Н. П. Ильиных, П. Г. Мадонов

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Новосибирск

РЕЗЮМЕ

В данном обзоре представлены особенности коагулопатии и тромботический риск при COVID-19 у лиц среднего возраста. Показано последовательное увеличение D-димера и наличие тромбоза и ТЭЛА у тяжелобольных пациентов среднего возраста с COVID-19 при снижении других параметров свертывания крови, таких как фибриноген, тромбоциты или антитромбин, которые связаны с ДВС-синдромом. Следовательно, есть потребность в выявлении повышенного риска тромботических событий на ранней стадии и предотвращении тромботических событий и повреждения органов, насколько это возможно. Также рассматривается применение тромболитической терапии. В настоящее время прилагаются большие усилия международных медицинских и научных сообществ новая короновирусная инфекция COVID-19 является глобальной проблемой и прогноз для госпитализированных пациентов с COVID-19, особенно при критической форме, продолжает оставаться неблагоприятным не только для пожилых и старых пациентов, но и для лиц среднего возраста. Несмотря на то что это заболевание считается многофакторным, тромботические осложнения играют важную роль в дальнейшем прогнозе у этой категории пациентов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: COVID-19, D-димер, SARS-CoV, тромботический риск, ARDS, ACE2.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Thrombosis on background of COVID-19 in middle-aged people

L. D. Khidirova, N. P. Ilyinykh, P. G. Madonov

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

SUMMARY

This review presents the features of coagulopathy and thrombotic risk in COVID-19 in middle-aged people. A consistent increase in the D-dimer and the presence of thrombosis and PE in seriously ill middle-aged patients with COVID-19 was shown with a decrease in other blood clotting parameters, such as fibrinogen, platelets or antithrombin, which are associated with DIC syndrome. Therefore, there is a need to identify an increased risk of thrombotic events at an early stage and prevent thrombotic events and organ damage as much as possible. The use of thrombolytic therapy is also being considered. Currently, great efforts are being made by the international medical and scientific communities, the new coronavirus infection COVID-19 is a problem and the prognosis for hospitalized patients with COVID-19, especially in the critical form, continues to be unfavorable not only for elderly and old patients, but also for middle-aged patients. age. Despite the fact that this disease is considered multifactorial, thrombotic complications play an important role in the further prognosis in this category of patients.

KEY WORDS: COVID-19, D-dimer, SARS-CoV, thrombotic risk, ARDS, ACE2.

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

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

CoV – коронавирус

ACE2 – ангиотензинпревращающий фермент 2

RAS – ренин-ангиотензиновая система

DIC (ABC) – диссеминированное внутрисосудистое свертывание

ARDS (ОРДС) – острый респираторный дистресс синдром

ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии

НМГ – низкомолекулярный гепарин

SIC – шкала индуцированной сепсисом коагулопатии

ISTH – руководство Международного общества по тромбозу и гемостазу

SOFA – шкала органной недостаточности

TGB – тромбоз глубоких вен

OR – отношение шансов смертности

Введение

Коронавирусы (CoV) состоят из большого семейства одноцепочечных РНК-вирусов, идентифицированных несколько десятилетий назад, но чье клиническое значение и эпидемический потенциал не были признаны до вспышки тяжелого острого респираторного синдрома CoV (SARS-CoV) и ближневосточного респираторного синдрома (MERS) в 2002 и 2012 годах соответственно [1]. Тяжелый острый респираторный синдром CoV-2, возбудитель COVID-19, является седьмым идентифицированным членом CoV и структурно похож на SARS-CoV, при этом два вируса имеют примерно 72 % общего генома. Тяжелый острый респираторный синдром CoV-2 представляет собой серьезную угрозу для здоровья во всем мире, которая выходит далеко за рамки распространения и рисков SARS-CoV и MERS [2].

Тяжелый острый респираторный синдром CoV-2 и другие CoV имеют сходства и различия. Оба вируса могут вызывать смертельные заболевания легких и особенно опасны для пожилых людей или людей с сопутствующими заболеваниями. Как и другие CoV, SARS-CoV-2 использует рецептор ангиотензина-2 (ACE2) для проникновения в клетки-мишени, но с более высоким сродством к ACE2 [3]. После связывания со своим рецептором ACE2 активирует ренин-ангиотензиновую систему (RAS), что приводит к подавлению экспрессии ACE2, что приводит к увеличению ангиотензина II (Ang II) и снижению его аналога ангиотензина [4]. Хотя у большинства пациентов проявляются только легкие симптомы, характерной чертой COVID-19 является то, что у части пациентов в течение короткого времени после инфицирования развиваются тяжелые осложнения, такие как респираторный синдром у взрослых (ARDS) или диссеминированное внутрисосудистое свертывание (DIC) с последующим сепсисом, органной недостаточностью и смертью. Коагулопатия и тромботические явления были описаны у пациентов с COVID-19, и в этом обзоре обобщены существующие отчеты и рекомендации по лечению у пациентов с инфекциями CoV [5].

Коагулопатия и тромботический риск при COVID-19

Подобно SARS и MERS, у пациентов с COVID-19 существует связь между воспалением и тяжелым поражением органов. Первичная патология – ОРДС, которая характеризуется диффузным поражением альвеол, включая гиалиновые мембраны [6]. Вирусный цитопатический эффект пневмоцитов подразумевает прямое вирусное повреждение. В настоящее время есть данные, свидетельствующие о том, что некоторые пациенты могут реагировать на COVID-19 с помощью обильной реакции цитокинового шторма [7]. Иммунологические исследования показали, что провоспалительные цитокины интерлейкина 6 (IL-6), IL-17A и фактора некроза опухоли α были повышены у большинства пациентов с тяжелыми исходами [8]. Гиперкоагуляция – важный признак воспаления. Провоспалительные цитокины критически вовлечены в патологическое образование сгустков и гиперактивацию тромбоцитов, а также играют важную роль в подавлении важных физиологических антикоагулянтных путей [9].

Другие факторы, связанные с пациентом, пневмонией и SARS-CoV-2, могут привести к значительно более высокому риску тромботических осложнений у пациентов с COVID-19 [10]. При COVID-19 факторами риска развития серьезных симптомов являются пожилой возраст, мужской пол и наличие сопутствующих заболеваний, особенно при гипертонии, где было продемонстрировано отношение рисков (HR) от 1,70 до 3,05 для смерти [11]. В целом артериальная гипертензия была идентифицирована как независимый фактор риска тромбоза глубоких вен в большом проспективном исследовании с участием более 18 тысяч пациентов. Известно, что пожилые пациенты с сопутствующими заболеваниями более склонны к развитию тяжелых осложнений инфекции COVID-19 и имеют более высокий риск тромбоза, однако у лиц среднего возраста довольно часто отмечаются коагулопатия и тромботические осложнения [12].

Заболеваемость тромбозом у пациентов с COVID-19

Коагулопатия описана в исследованиях, которые документируют клинические и лабораторные изменения у пациентов с COVID-19 у 50 % лиц среднего возраста с тяжелыми проявлениями [13]. Несколько исследований подтверждают актуальность повышенных концентраций D-димера при COVID-19. Помимо известной вариабельности у здоровых добровольцев и их тенденции к увеличению с возрастом, существует связь повышенных уровней D-димера и продуктов распада фибрина во всех условиях с активированной системой свертывания крови [14].

Молекула D-димера является продуктом распада белка фибрина. Он возникает после сшивания двух D-фрагментов белка фибрина после лизиса ферментами тромбина, плазмина и фактора XIIIa. В одном из проведенных исследований оценивалось роль D-димера в отношении клинического течения пациентов с COVID-19 [15]. Было высказано предположение, что уровни D-димера будут предсказывать худшие исходы у этих пациентов. Участники набирались при поступлении в больницу по поводу COVID-19 от средней до тяжелой степени [16, 17].

Значительные различия в уровнях D-димера при поступлении были отмечены у пациентов среднего возраста, которым потребовалась искусственная вентиляция легких (1250 ± 210 нг/мл), по сравнению с теми, кому не потребовалась (650 ± 175 нг/мл) соответственно ($p < 0,05$) [18]. Это особенно примечательно, учитывая, что группа без вентиляции, как правило, была старше, имела большее количество важных сопутствующих заболеваний и имела больший процент мужчин – все это факторы риска для более неблагоприятных исходов COVID-19 [19]. Результаты недавнего исследования показывают, что D-димер может предсказать, у каких пациентов с COVID-19 результаты будут хуже [20]. Это может существенно повлиять на способность клиницистов определять, у каких пациентов, вероятно, будут худшие результаты, и действовать профилактически, уменьшая бремя болезни. Было показано, что D-димер является индикатором повреждения сердца у пациентов с COVID-19 в условиях протромботического состояния [21]. Некоторые недавние исследования также предположили, что существует динамическая связь уровня D-димера с прогнозом пациентов с COVID-19 и необходимостью антикоагуляции D-димера [22].

Также в другом исследовании, в многофакторном анализе, сравнивающем клинические и лабораторные параметры 137 выживших и 54 невыживших лиц среднего возраста, отношение шансов смертности для уровней D-димера более 0,5 мкг/мл составило 2,14, для уровней D-димера более 1 мкг/мл – 18,42, в то время как для PT более 16 с 22OR составил 4,62. Таким образом, коагулопатия произошла у 50 % умерших пациентов по сравнению с 7 % выживших пациентов.

Показано, что у 499 COVID-положительных пациентов из 552 больниц в Китае концентрации D-димера у лиц среднего возраста выше порогового значения 0,5 мг/л наблюдались у 46,4 % пациентов; у 60,0 % из них раз-

вились тяжелые проявления, а также цифры были выше, чем у лиц пожилого и старческого возраста [23]. У этих пациентов уровни D-димера 2,12 мкг/мл (0,77–5,27) были в четыре раза выше 26 по сравнению с пациентами без тяжелого поражения (0,61 мкг/мл, 0,35–1,29). Так, концентрация D-димера и оценка SOFA (Sequential Organ Failure Assessment, динамическая оценка органной недостаточности) предоставляют, помимо возраста пациента, важную информацию о прогнозе заболевания COVID-19. Другими факторами риска тяжелого исхода были лимфопения, лейкоцитоз и повышенные лабораторные показатели аланинаминотрансферазы, ЛДГ, высокочувствительного тропонина I, креатинкиназы, ферритина сыворотки, IL-6, PT, креатинина и прокальцитонина [24].

Показано, что при ретроспективном исследовании 138 пациентов с разной степенью тяжести заболевания выявлено 16,67 % пациентов с высоким риском тромботических осложнений, в основном тяжелобольных, из которых у 17,30 % диагностирован тромбоз глубоких вен, несмотря на использование рекомендованной в руководстве тромбопрофилактики [25]. Тромбоз глубоких вен диагностирован на УЗИ через 3–18 дней после госпитализации.

Пациенты с пневмонией COVID-19 также имеют высокий риск ТЭЛА, а повышение значения D-димера облегчает диагностику тромбозомболического события. Из 1008 госпитализированных пациентов 25 с подтвержденной пневмонией прошли компьютерную томографию с легочной ангиографией. Тромбозомболия легочной артерии диагностирована в 40 % случаев с локализацией преимущественно в мелких ветвях легочной артерии. Интересно, что эти пациенты показали значительно более высокие медианные уровни D-димера (11,07 мкг/мл; IQR: 7,12–21,66) по сравнению со средними уровнями 2,44 мкг/мл (IQR: 1,68–8,34) у пациентов без ПЭ [26].

В ретроспективном исследовании исследовались пациенты с COVID-19, госпитализированные в отделение интенсивной терапии, где была определена высокая частота тромбоза глубоких вен [27]. Пациенты не получали тромбопрофилактики. Из них 25 % пациентов имели тромбоз вен нижних конечностей, а 40 % имели летальный исход. Заболеваемость ПЭ систематически не исследовалась. Использование порогового значения D-димера выше 1,5 мкг/мл для прогнозирования ТГВ показало чувствительность 85,0 % и специфичность 88,5 %.

Также сообщалось о возникновении тромбоза у пациентов, принимающих с профилактической целью низкомолекулярный гепарин (НМГ) [28]. В исследовании 184 пациентов с пневмонией COVID-19 из трех голландских больниц изучалась частота симптоматической острой ТЭЛА, ТГВ, ишемического инсульта, инфаркта миокарда или системной артериальной эмболии у пациентов с COVID-19, поступивших в отделение интенсивной терапии. Частота тромбозов составила 31 %. Все пациенты получали по крайней мере стандартные дозы для тромбопрофилактики НМГ, хотя графики лечения в разных боль-

нища различались и дозы со временем увеличивались. В 9,2% случаев лечебная антикоагуляция проводилась при поступлении [28, 29]. Примечательно, что ни у одного из пациентов не развился ДВС-синдром. Большинство (81,0%) пациентов страдали ТЭЛА, но тромботический инсульт случился у 3 пациентов [30]. Коагулопатия, и изменения глобальных маркеров коагуляции, и спонтанное продление ЧТВ и ПВ были независимыми предикторами тромботических осложнений (ПВ более 3 с и АЧТВ более 5 с; скорректированный ЧСС – 4,1; 95% ДИ: 1,9–9,1).

Опубликованы данные исследования, в котором у 241 (5,7%) пациента среднего возраста с COVID-19 было выявлено цереброваскулярное заболевание, 401 пациента с ишемией нижних конечностей с обеих сторон [30, 31]. У этих пациентов была обнаружена необычная комбинация антифосфолипидных антител с присутствием антикардиолипина IgA и антител IgA и IgG против $\beta 2$ гликопротеина I, что ставит под вопрос роль антифосфолипидных антител. Однако это были антитела, обнаруженные в единственном случае, и титры не были указаны, поэтому по определению не удовлетворяли критериям антифосфолипидного синдрома.

Результаты аутопсии указывают на наличие поражения эндотелия легких и микротромбоза [32, 33]. В серии случаев из четырех аутопсий инфицированных COVID-19 пациентов среднего возраста с внезапной респираторной декомпенсацией было показано, что в основных легочных артериях не было тромбозов, но небольшие тромбы присутствовали в срезах периферической паренхимы легких [34]. Кроме того, результаты микроскопии подтвердили, что мелкие сосуды содержат тромбозы и маленькие тромбы вместе с рассеянными участками диффузного альвеолярного повреждения, что указывает на то, что мелкие сосуды могут быть затронуты микротромбозом. D-димеры, определенные незадолго до смерти, были повышены только у 2 из 4 пациентов [35].

В другом случае серии из 27 аутопсий *SARS-CoV-2* был обнаружен в эндотелиальных клетках нескольких органов, при этом самые высокие концентрации были обнаружены в дыхательных путях, а более низкие – в почках, печени, сердце, головном мозге и крови [36]. Следовательно, могут быть затронуты ткани за пределами дыхательных путей, что может способствовать клиническому течению COVID-19 и, возможно, усугубить ранее существовавшие состояния. Это говорит о том, что *SARS-CoV-2* может привести к генерализованной воспалительной реакции эндотелия, вызывая фатальную органную недостаточность.

Обоснование индивидуального использования антикоагулянтов при COVID-19

Клинический спектр заражения новым *SARS-CoV-2* варьирует от отсутствия симптомов до смертельного исхода. Переход от легкой степени к тяжелой у пациентов с COVID-19 может быть вызван цитокиновым штормом и повышенной гиперкоагуляцией. Как и при всех коагулопатиях, лечение основного заболевания обязательно [37].

При COVID-19 рекомендуется как можно раньше предлагать профилактическую антикоагулянтную терапию НМГ, чтобы предотвратить тромботические явления и повреждение органов [38]. Это было рекомендовано в недавно опубликованном предварительном руководстве Международного общества по тромбозу и гемостазу (ISTH) по выявлению и лечению коагулопатии при COVID-19. Руководство ISTH обеспечивает стратификацию риска при поступлении пациентов с COVID-19 и лечении потенциально развивающейся коагулопатии [39]. Это предполагает, что пациенты с повышенным D-димером (то есть произвольно определяемым как 3–4-кратное увеличение) должны быть госпитализированы. Низкомолекулярный гепарин следует рассматривать у всех пациентов, которые должны быть госпитализированы из-за инфекции COVID-19, если нет противопоказаний [40].

Кровотечение может быть вызвано ДВС-синдромом и сепсисом, которые часто встречаются в тяжелых случаях. В исследовании Танга и др. из Ухани 71,0% не выживших от инфекции COVID-19 соответствовали критериям ISTH для ДВС-синдрома по сравнению с 0,4% выживших [41]. Однако не было описано значительного снижения других параметров свертывания крови, таких как тромбоциты или антитромбин, которые чаще всего связаны с ДВС-синдромом, и о кровотечениях не сообщалось даже в тяжелых случаях COVID-19.

Было показано, что из 449 пациентов среднего возраста с тяжелыми проявлениями COVID-19 19,84% получали гепарин (в основном НМГ) в течение 7 дней или дольше [42]. Сравнивалась 28-дневная смертность между лицами, принимавшими и не принимавшими гепарин; сравнение также проводилось в отношении различного риска коагулопатии, стратифицированного по шкале индуцированной сепсисом коагулопатии (SIC) и величине D-димера; количество тромбоцитов отрицательно коррелировало с 28-дневной смертностью в многофакторном анализе. Не было обнаружено различий в 28-дневной смертности между принимавшими и не принимавшими гепарин (30,3% против 29,7%; $p = 0,910$). Однако 28-дневная смертность у принимавших гепарин была ниже, чем у тех, кто не принимал его, у пациентов с показателем $SIC \geq 4$ (40,0% против 64,2%; $p = 0,029$) или D-димера в шесть раз выше верхнего предела нормального значения (32,8% против 52,4%; $p = 0,017$); кроме лиц среднего возраста, смертность по сравнению с пожилыми была выше ($p = 0,003$).

Обсуждаются некоторые неантикоагулянтные свойства НМГ, такие как снижение высвобождения и биологической активности IL-6. Было показано, что низкомолекулярный гепарин связывается с *SARS-CoV-1* и блокирует репликацию вируса [43]. Недавно противовоспалительный эффект НМГ был подтвержден у пациентов с COVID-19 с более низкими уровнями ИЛ-6 и более высокими уровнями лимфоцитов по сравнению с пациентами с COVID-19, не получавшими НМГ, в то время как изменения других воспалительных факторов не были статистически значимыми. Кроме того, изначально по-

вышенные уровни продукты распада D-димера и фибриногена значительно снизились после лечения НМГ, что указывает на улучшение состояния гиперкоагуляции у пациентов с COVID-19. Клиническая польза от НМГ может быть связана с его действием на ингибирование высвобождения IL-6 вместе с увеличением лимфоцитов, которые могут задерживать или блокировать воспалительный цитокиновый шторм [44]. Хотя концепция использования НМГ у любого госпитализированного пациента с COVID-19 является общепринятой, существуют споры о применяемой дозировке. Поскольку есть сообщения о том, что тромбоз произошел, несмотря на профилактическое использование низких доз НМГ, повышение дозы НМГ можно использовать либо эмпирически, либо на основе увеличения значений D-димера [45]. В идеале мы должны подождать, пока рандомизированные клинические испытания представят достоверные результаты по эффективному лечению, но за отсутствием таковых мы вынуждены принимать решения на основании эмпирических исследований.

Однако самый надежный подход к оценке эффектов новых лекарств – это рандомизированные клинические испытания. Даже в случае эпидемий или пандемий и острой необходимости в быстром и эффективном лечении рандомизированные испытания следует проводить как можно раньше. В неконтролируемых исследованиях можно было выбрать несколько препаратов без проверки четкого соотношения риска и пользы в типично изменчивых клинических курсах новых заболеваний [46].

Пероральные антикоагулянты (ПОАК), кроме их антикоагулянтного действия, особенно ингибитор фактора Ха, могут оказывать противовоспалительный эффект при COVID-19. Однако имеются опасения по поводу использования ПОАК у пациентов, имеющих осложнения в связи с COVID-19, а именно возможность проявления острой почечной недостаточности, необходимость проведения инвазивных процедур, лекарственное взаимодействие ПОАК с другими препаратами. ПОАК не назначают пациентам с COVID-19, которые имеют тяжелые нарушения функции почек, механические сердечные клапаны, антифосфолипидный синдром, а также тем, кто принимают противовирусные и иммуномодулирующие препараты, связанные с лекарственными взаимодействиями [47]. Антагонисты витамина К (АВК) используются для лечения установленных тромботических заболеваний (тромбоз глубоких вен, легочная эмболия) или в профилактических целях у пациентов со специфическими показаниями (фибрилляция предсердий, протезирование механических сердечных клапанов). Однако в случае COVID-19 есть несколько проблем при использовании АВК, которые заключаются в лекарственных взаимодействиях АВК с другими препаратами и необходимости постоянного мониторинга международного нормализованного отношения (МНО). В настоящее время нет активных исследований, оценивающих использование АВК при COVID-19. В трех тяжелых случаях ОРДС, связанного с COVID-19, было использовано внутривенное введение

рекомбинантного тканевого активатора плазминогена [47]. Авторы сообщили о временном улучшении респираторной недостаточности даже при отсутствии явной ТЭЛА, что свидетельствует о вкладе микротромбов легких в протромботическое состояние COVID-19 [48]. Наконец, результаты вскрытия инфекций эндотелиальных клеток, эндотелиита и микротромбоза могут привести к дополнительному, более целенаправленному лечению эндотелиальными стабилизирующими препаратами, такими как ингибиторы янус-киназ, ингибиторы АПФ и статины [49, 50].

Вывод

Понимание характера COVID-19 растет не только в эпидемиологии и иммунологии, но и в последующих стратегиях лечения коагулопатии. COVID-19 связан с состоянием гиперкоагуляции, и инфицированные пациенты с дополнительными факторами риска имеют худший исход. В настоящее время прилагаются большие усилия международных медицинских и научных сообществ, так как новая коронавирусная инфекция COVID-19 является глобальной проблемой, и прогноз для госпитализированных пациентов с COVID-19, продолжает оставаться неблагоприятным не только для пожилых и старых пациентов, но и лиц среднего возраста. Несмотря на то что это заболевание считается многофакторным, тромботические осложнения играют важную роль в дальнейшем прогнозе у этой категории пациентов. В связи с этим необходима разработка безопасной и эффективной тромбопрофилактики. Контрстратегия лечения тромботических заболеваний зависит от глубокого и всестороннего понимания патофизиологических основ тромботических осложнений. Таким образом, выбор оптимального препарата для профилактики и лечения тромботических осложнений при COVID-19 является одной из самых важных задач.

Список литературы / References

1. Zhang L, Yan X, Fan Q, Liu H, Liu X, Liu Z, Zhang Z. D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with Covid-19. *J Thromb Haemost* 2020; 18: 1324–1329. <https://doi.org/10.1111/jth.14859>
2. Klok FA, Kruip MJ, van der Meer NJ, Arbous MS, Gommers DA, Kant KM, Kaptein FH, et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res* 2020, 191: 145–147. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.04.013>
3. Adam SS, Key NS, Greenberg CS. D-dimer antigen: current concepts and future prospects. *Blood* 2009, 113: 2878–2887 <https://doi.org/10.1182/blood-2008-06-165845>
4. Li Y, Zhao K, Wei H, Chen W, Wang W, Jia L, Liu Q, et al. Dynamic relationship between D-dimer and COVID-19 severity. *Br J Haematol* 2020. <https://doi.org/10.1111/bjh.16811>
5. Wang T, Chen R, Liu C, Liang W, Guan W, Tang R, Tang C, et al. Attention should be paid to venous thromboembolism prophylaxis in the management of COVID-19. *Lancet Haemato* 2020; (7): 362–363. [https://doi.org/10.1016/s2352-3026\(20\)30109-5](https://doi.org/10.1016/s2352-3026(20)30109-5)
6. Namendys-Silva SA. Respiratory support for patients with COVID-19 infection. *Lancet Respir Med* 2020, 8: 18. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30110-7](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30110-7)
7. De Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2016; 14 (8): 523–534. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.81>
8. Zhang H, Penninger JM, Li Y, Zhang N, Slutsky AS. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanism and potential therapeutic target. *Intensive Care Med*. 2020; 46 (4): 586–590.
9. Ng K, Wu A, Cheng V, et al. Pulmonary artery thrombosis in a patient with severe acute respiratory syndrome. *Postgrad Med J*. 2005; 81 (956): 3. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2004.030049>
10. Dosquet C, Weill D, Wautier JL. Cytokines and thrombosis. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1995; 25 (suppl 2): S13–S19. <https://doi.org/10.1097/00005344-199500252-00004>

11. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost.* 2020; 18 (4): 844–847. <https://doi.org/10.1111/jth.14768>
12. Xu JF, Wang L, Zhao L, et al. Risk assessment of venous thromboembolism and bleeding in COVID-19 patients. *Research Square.* 2020. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-18340/v1>
13. Cui S, Chen S, Li X, Liu S, Wang F. Prevalence of venous thromboembolism in patients with severe novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost.* 2020; 18 (6): 1421–1424.
14. Klok FA, Kruip MJ, Van der Meer NJ, et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res.* 2020. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.04.013>
15. Demelo-Rodríguez P, Cervilla-Munoz E, Ordieres-Ortega L, et al. Incidence of asymptomatic deep vein thrombosis in patients with COVID-19 pneumonia and elevated D-dimer levels. *Thromb Res.* 2020; 192: 23–26. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.05.018>
16. Eljilany I, Elzouki A. D-Dimer, Fibrinogen, and IL-6 in COVID-19 Patients with Suspected Venous Thromboembolism: A Narrative Review. *Vasc Health Risk Manag.* 2020 Nov 13; 16: 455–462. <https://doi.org/10.2147/VHRM.S280962>
17. Zhang Y, Xiao M, Zhang S, et al. Coagulopathy and antiphospholipid antibodies in patients with COVID-19. *N Engl J Med.* 2020; 382 (17): e38. <https://doi.org/10.1056/nejmc2007575>
18. Tang N, Bai H, Chen X, Gong J, Li D, Sun Z. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost.* 2020; 18 (5): 1094–1099. <https://doi.org/10.1111/jth.14817>
19. Liu Y, Mu S, Li X, Liang Y, Wang L, Ma X. Unfractionated heparin alleviates sepsis-induced acute lung injury by protecting tight junctions. *J Surg Res.* 2019; 6 (238): 175–185. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2019.01.020>
20. Bikkeli B, Madhavan MV, Jimenez D, et al. COVID-19 and thrombotic or thromboembolic disease: implications for prevention, antithrombotic therapy, and follow-up. *J Am Coll Cardiol.* 2020; 75 (23): 2950–2973. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.04.031>
21. Wang J, Hajizadeh N, Moore EE, et al. Tissue plasminogen activator (tPA) treatment for COVID-19 associated acute respiratory distress syndrome (ARDS): a case series. *J Thromb Haemost.* 2020. <https://doi.org/10.1111/jth.14828>
22. Thachil J, Tang N, Gando S, Falanga A, Cattaneo M, Levi M et al. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2020; 3: 14810. [Epub ahead of print]. <https://doi.org/10.1016/j.jth.2020.04.031>
23. Bhatraju PK, Ghassemieh BJ, Nichols M, et al. Covid-19 in critically ill patients in the Seattle region – case series. *N Engl J Med* 2020; 382: 2012–2022. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2004500>
24. Yang X, Yu Y, Xu J, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med* 2020; 8 (05): 475–481. [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(20\)30079-5](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(20)30079-5)
25. Klypa T. V., Bychynina M. V., Mandel I. A., Andreichenko S. A., Minets A. I., Kolyshkina N. A., Troitsky A. V., Clinical characteristics of patients with COVID-19 admitted to the intensive care unit. Predictors of severe flow Volume. 2020; 11 (2): 200–220 <https://doi.org/10.17816/clinpract34182>
26. Published online April 15, 2020. Panigada M, Bottino N, Tagliabue P, et al. Hypercoagulability of COVID-19 patients in Intensive Care Unit. A Report of Thromboelastography Findings and other Parameters of Hemostasis. *J Thromb Haemost.* Published online April 17, 2020 <https://doi.org/10.1111/jth.14850>
27. Panigada M, Bottino N, Tagliabue P, et al. Hypercoagulability of COVID-19 patients in intensive care unit. A report of thromboelastography findings and other parameters of hemostasis. *J ThrombHaemost.* 2020; 18 (7): 1738–42. <https://doi.org/10.1111/jth.14850>
28. Mahmoud B. Malas et al. Thromboembolism risk of COVID-19 is high and associated with a higher risk of mortality: A systematic review and meta-analysis. *Lancet* 1 Dec 2020 <https://doi.org/10.1016/j.eclim.2020.100639>
29. Behnood Bikkeli, Mahesh V. Madhavan, Akil Gupta et al. Pharmacological Agents Targeting Thromboinflammation in COVID-19: Review and Implications for Future Research. *Thromboembolism.* 2020; 18 (7): 1738–1742. <https://doi.org/10.1111/jth.14850>
30. *Thromb Haemost.* 2020 Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York. Li H, Liu L, Zhang D, et al. SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses. *Lancet* 2020; 395 (10235): 1517–1520 [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30920-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30920-x)
31. Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: An autopsy series from New Orleans. S. Fox, A. Akmatbekov, J. Harbert [et al.]. Text (visual): unmediated *Lancet Respir Med.* 2020; 8: 681–686 [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(20\)30243-5](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(20)30243-5)
32. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. C. Wu, X. Chen, Y. Cai [et al.]. Text (visual): unmediated *JAMA Intern. Med.* 2020; 4 (8): 934 <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>
33. SARS, MERS, and novel coronavirus (COVID-19) epidemics, the newest and biggest global health threats: what lessons have we learned? N. Peeri, N. Shrestha, M. S. Rahman [et al.]. Text (visual): unmediated *Int J Epidemiol.* 2020; 49: 717–726 <https://doi.org/10.1093/ije/dyaa033>
34. The epidemiology, diagnosis, and treatment of COVID-19. P. Zhai, Y. Ding, X. Wu, J. Long [et al.]. Text (visual): unmediated *Int J Antimicrob Agents.* 2020; 55 (5): 105–115 <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105955>
35. Swystun L. The role of leukocytes in thrombosis. L. Swystun, P. Liaw. Text (visual): unmediated *Blood.* 2016; 128: 753–762 <https://doi.org/10.1182/blood-2016-05-718114>
36. Venous and arterial thromboembolic complications in COVID-19 patients admitted to an academic hospital in Milan, Italy. C. Lodigiani, G. Iapichino, L. Carenzo [et al.]. Text (visual): unmediated *Thromb Res.* 2020; 191: 9–14 <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.04.024>
37. Inciardi RM, Adamo M, Lupi L, et al. Characteristics and outcomes of patients hospitalized for COVID-19 and cardiac disease in Northern Italy. *Eur Heart J.* 2020; 41 (19): 1821–9. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa388>
38. Terpos E, Ntanasis-Stathopoulos I, Elalamy I, et al. Hematological findings and complications of COVID-19. *Am J Hematol.* 2020; 95 (7): 834–47. <https://doi.org/10.1002/ajh.25829>
39. Miftode RS, Petris AO, Onofrei AV, et al. The Novel Perspectives Opened by ST2 in the Pandemic: A Review of Its Role in the Diagnosis and Prognosis of Patients with Heart Failure and COVID-19. *Diagnostics (Basel).* 2021; 11 (2): 175. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11020175>
40. Gumerov R. M., Gareeva D. F., Davtyan P. A., Rakhimova R. F., Musin T. I., Zagidullin S. Z., Pushkareva A. E., Plotnikova M. R., Ishmetov V. S., Pavlov V. N., Motloch L. J., Zagidullin N. S. Serum biomarkers of cardiovascular complications in COVID-19. *Russian Journal of Cardiology.* 2021; 26 (2S): 4456. (In Russ.) <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4456>
41. Khidirova L. D., Fedoruk V. A., Vasiliev K. O. The role of a new coronavirus infection caused by the SARS-CoV-2 virus in the manifestation of multisystem inflammatory syndrome. *Preventive medicine.* 2021; 24 (6): 110–115. <https://doi.org/10.17116/profmed202124061110>
42. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol.* 2017; 39 (5): 529–539. DOI: 10.1007/s00281-017-0629-x.
43. Schrezenmeier E, Dörner T. Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. *Nat Rev Rheumatol.* 2020; 16 (3): 155–166. DOI: 10.1038/s41584-020-0372-x.
44. Maurice J. S., Lalonde T., Shitsin H. & Liu U. R. Lessons from the Past: possible options for urgent prevention and treatment of severe acute respiratory infections caused by 2019-nCoV. *Chemical biochem.* <https://doi.org/10.1002/cbic.202000047> (2020)
45. Evidence-based medicine in questions and answers: monograph. D. A. Yakhontov. Novosibirsk: LLC "Printing House", 2012: 326.
46. Schein JR, White CM, Nelson WW, Kluger J, Mearns ES, Coleman CI. Vitamin K antagonist use: evidence of the difficulty of achieving and maintaining target INR range and subsequent consequences. *Thromb J* 2016; 14: 14. <https://doi.org/10.1186/s12959-016-0088-y>
47. Bikkeli B, Madhavan MV, Jimenez D, et al. COVID-19 and thrombotic or thromboembolic disease: implications for prevention, antithrombotic therapy, and follow-up. *J Am Coll Cardiol* 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.04.031>
48. Agrawal U., Raju R., Udvadia Z. F. Favipiravir: A new and emerging antiviral variant in COVID-19. *Med. J. Indian Armed Forces* 2020; 76: 370–376. <https://doi.org/10.1016/j.mjaf.2020.08.004>
49. Z. Varga, A. J. Flammer, P. Steiger et al. Offline: COVID-19-bewilderment and frankness. *The Lancet.* 2020; 395:1178 [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30937-5)
50. Madonov P. G., Khidirova L. D., Derisheva D. A. Neuropsychiatric features of current COVID-19 pandemic (analysis of foreign publications in 2020). *Medical Alphabet.* 2020; (33): 58–61. (In Russ.) <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-33-58-61>

Статья поступила / Received 24.12.2021

Получена после рецензирования / Revised 14.01.2022

Принята в печать / Accepted 28.06.2022

Сведения об авторах

Хидирова Людмила Даудовна, д.м.н., проф., кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины. E-mail: h_ludmila73@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1250-8798

Ильных Наталья Павловна, студентка VI курса. E-mail: nataliy1998stu@yandex.ru ORCID: 0000-0002-4735-3861

Мадонов Павел Геннадьевич, д.м.н., проф., зав. кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины. E-mail: madonov@scpb.ru. ORCID: 0000-0002-1093-8938

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Новосибирск

Автор для переписки: Хидирова Людмила Даудовна. E-mail: h_ludmila73@mail.ru

Для цитирования: Хидирова Л.Д., Ильных Н.П., Мадонов П.Г. Тромбозы на фоне COVID-19 у лиц среднего возраста. Медицинский алфавит. 2022; (19): 38–43. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-38-43>.

About authors

Hidirova Lyudmila D., DM Sci (habil.), professor at Dept of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine. E-mail: h_ludmila73@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1250-8798

Ilynykh Natalia P., 6th-year student. E-mail: nataliy1998stu@yandex.ru ORCID: 0000-0002-4735-3861

Madonov Pavel G., DM Sci (habil.), professor, head of Dept of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine. E-mail: madonov@scpb.ru. ORCID: 0000-0002-1093-8938

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

Corresponding author: Khidirova Lyudmila D. E-mail: h_ludmila73@mail.ru

For citation: Khidirova L. D., Ilynykh N. P., Madonov P. G. Thrombosis on background of COVID-19 in middle-aged people. *Medical alphabet.* 2022; (19): 38–43. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-38-43>.



Возможности и ограничения методов подсчета тромбоцитов

Т. Г. Цветкова, А. А. Калашникова

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

РЕЗЮМЕ

В настоящее время использование гематологических анализаторов позволяет осуществить быстрый и точный подсчет количества тромбоцитов в подавляющем большинстве образцов крови. В некоторых случаях автоматическое определение этого показателя может быть некорректным, что связано с ограничениями используемых методов. Контроль результатов автоматического подсчета тромбоцитов необходим при получении патологических значений и осуществляется при микроскопическом исследовании мазка периферической крови. В статье изложены способы и ограничения автоматического определения количества тромбоцитов, возможные причины ошибочного подсчета и пути коррекции результата. Представлены морфологические описания наиболее часто встречающихся артефактов, влияющих на правильное определение этого показателя. Освещены современные методические подходы к решению задачи корректного подсчета тромбоцитов при ЭДТА-зависимой псевдотромбоцитопении.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: подсчет тромбоцитов, псевдотромбоцитопения, ЭДТА-ассоциированная агрегация тромбоцитов, иммунологический метод подсчета тромбоцитов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Possibilities and limitations of platelet counting methods

T. G. Tsvetkova, A. A. Kalashnikova

The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine (NRCERM EMERCOM of Russia),
Saint Petersburg, Russia

SUMMARY

Currently, the use of hematology analyzers makes it possible to quickly and accurately count the number of platelets in the vast majority of blood samples. In some cases, the automatic determination of this indicator may be incorrect, due to the limitations of the methods used. Monitoring the results of automatic platelet count is necessary when obtaining pathological values and is carried out by microscopic examination of a peripheral blood smear. The article describes the methods and limitations of automatic determination of the number of platelets, possible causes of erroneous counting and ways to correct the result. Morphological descriptions of the most common artifacts that affect the correct definition of this indicator are presented. Modern methodological approaches to solving the problem of correct platelet counting in EDTA-dependent pseudothrombocytopenia are highlighted.

KEY WORDS: platelet count, pseudothrombocytopenia, EDTA-associated platelet aggregation, immunological platelet count.

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

В настоящее время современные высокотехнологичные гематологические анализаторы, которыми оснащено подавляющее большинство клинических лабораторий, обеспечивают корректное определение количества клеточных элементов крови в значительной части случаев. Однако подсчет тромбоцитов, особенно в патологических образцах, остается трудной задачей, при валидации результата этого параметра необходимо знать пределы возможностей используемых методов.

Количество тромбоцитов является одним из жизненно важных параметров клинического анализа крови. Референсное значение количества тромбоцитов колеблется от 150 до $400 \times 10^9/\text{л}$ [1]. Важно понимать, что всегда при получении патологических значений этого показателя необходимо убедиться в правильности результата исследования и исключить различные преаналитические и аналитические ошибки, которые могут повлиять на корректный анализ.

В современных гематологических анализаторах реализуются различные методы подсчета тромбоцитов: импедансный, оптический, флуоресцентный и иммунологический. Как правило, результаты использования этих методов сопоставимы между собой, однако при некоторых патологиях возможно получение некорректных результатов,

связанное с методическими ограничениями.

Принцип импедансного (метод Культера или кондуктометрический) метода заключается в оценке количества и качества частиц (клеток) на основании анализа импульсов, возникающих при их прохождении в растворе электролита через отверстие малого диаметра между двумя электродами. Полученные импульсы пропорциональны объему частиц, что позволяет сформировать гистограммы их распределения по размеру. В нормальной периферической крови человека частицы в пределах от 20 до 60 мкл являются тромбоцитами. Нижний порог исключает нетромбоцитарные частицы, а верхний – мелкие эритроциты и их фрагменты [2]. Таким образом, при наличии в патологическом образце частиц, сопоставимых по размеру с тромбоцитами, высока вероятность завышения количества тромбоцитов, что имеет место, к примеру, при талассемии [3], криоглобулинемии или фрагментации эритроцитов, выраженном микроцитозе эритроцитов, наличии фрагментов цитоплазмы клеток, микроорганизмов, липидов и т.д. [4]. И, напротив, при появлении тромбоцитов, превышающих 60 мкл, как при наследственной макротромбоцитопении, отмечается занижение количества тромбоцитов [5].

Оптический и флюоресцентный методы основаны на учете показателей рассеяния света лазерного луча после его прохождения через гидродинамически сфокусированный поток клеток. Рассеянный свет напрямую связан с размером, неровностями поверхности и показателем преломления освещенной частицы или клетки [6]. По сравнению с импедансным, оптический метод позволяет точнее дифференцировать клетки, сходные по размерам, но отличные по мембранным структурам. Дополнительный сигнал от флюоресцентного красителя, связывающего РНК, улучшает распознавание и подсчет тромбоцитов. Тем не менее в случаях тромбоцитопении менее $20 \times 10^9/\text{л}$, оптимальным является иммунологический способ, поскольку при использовании других методов возрастает вероятность завышения числа тромбоцитов [2, 7].

В 2001 году Международным комитетом по стандартизации в гематологии и Международным обществом лабораторной гематологии (The International Society of Laboratory Hematology, ISLH) был рекомендован иммунологический метод подсчета тромбоцитов [8]. Этот метод подразумевает визуализацию тромбоцитов после их связывания с моноклональными антителами к специфичным для тромбоцитов антигенам с помощью проточной цитометрии. Используют антитела к двум различным эпитопам интегрина $\alpha\text{IIb}\beta 3$ (CD41 и CD61). Антитела могут быть конъюгированными с одним и тем же [9] или с различными [2] флюорохромами. Учитывая соотношение тромбоцитов к эритроцитам, полученное на проточном цитометре (рис. 1), и абсолютное количество эритроцитов, полученное импедансным методом на гематологическом анализаторе, рассчитывают абсолютное количество тромбоцитов.

Одновременное использование двух линейных тромбоцитарных маркеров необходимо для диагностики тромбастении Гланцмана (синдром Гланцмана – Нигели) – редкого генетического заболевания с аутосомно-рецессивным типом наследования. Тромбастения Гланцмана встречается с частотой один случай на миллион человек [10]. В основе патогенеза заболевания лежит мутации генов *ITGA2B* и *IFGB3*, кодирующих альфа (CD41) и бета (CD61) цепи гликопротеина IIb/IIIa на поверхности тромбоцитов, обеспечивающего их агрегацию. Экспрессия генов *ITGA2B* и *IFGB3* независима друг от друга, и у пациентов различных подгрупп тромбастении Гланцмана может преобладать недостаточность той или иной цепи гликопротеина IIb/IIIa [11].

Иммунологический метод подсчета тромбоцитов в полном объеме с визуализацией CD41 и CD61 редко реализуется в клинической практике. Необходимость использования двух приборов, один из которых проточный цитофлюориметр, как правило, не входит в оснащение клинических лабораторий, дорогостоящие реактивы и трудозатраты ограничивают применение этого метода. На сегодняшний день иммунологический метод является калибровочным инструментом, позволяющим оценивать точность других способов оценки количества тромбоцитов, реализуемых в гематологических анализаторах различных производителей, а также проводить межлабораторные сличения, но не методом выбора для рутинной работы [12].

В настоящее время ведутся активные разработки, направленные на расширение возможности использования иммунологического метода в небольших лабораториях.

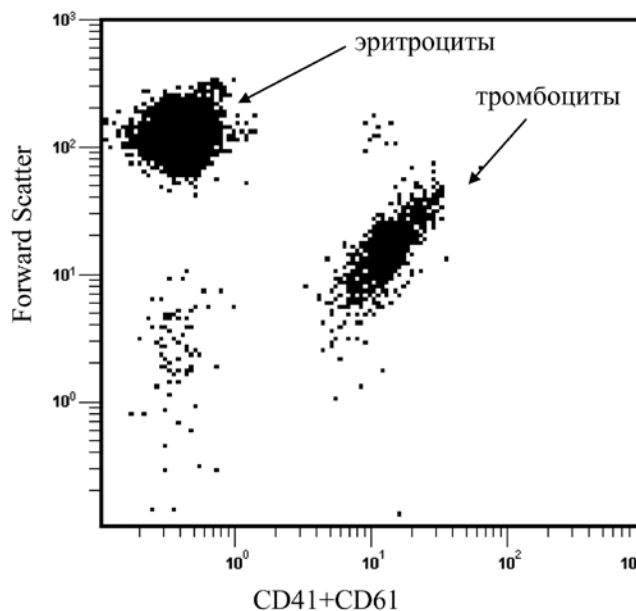


Рисунок 1. Типичная цитометрическая гистограмма при подсчете тромбоцитов и эритроцитов (собственные данные). По вертикали – распределение событий по прямому светорассеянию (Forward Scatter); по горизонтали – распределение событий по каналу флюоресценции, соответствующей флюорохрому, конъюгированному с антителами к CD41 и CD61.

Исследования выполняются в лаборатории клинической иммунологии Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова МЧС России. Цитофлюориметр Cytomics FS500, моноклональные антитела – CD41 FITC, CD61 PE (Beckman Coulter, США).

В 2021 году появилось сообщение об успешной апробации портативного цитометра gHEALTH ONE, обеспечивающего точный подсчет тромбоцитов с визуализацией клеток по двум поверхностным маркерам CD41 и CD61 [13]. Вместе с тем при использовании gHEALTH ONE сохраняется необходимость привлечения данных гематологического анализатора для расчета абсолютного количества тромбоцитов, то есть способ остается двухплатформенным.

Модификацией референсного иммунологического метода является визуализация тромбоцитов по одному поверхностному маркеру CD61, используемая в некоторых гематологических анализаторах. Значительным преимуществом в этих случаях становится одноплатформенная технология расчета абсолютного количества тромбоцитов, сокращающая трудозатраты персонала и возможность ошибки. Использование этого метода при определении количества тромбоцитов у пациентов с выраженной тромбоцитопенией позволяет получить наилучшие результаты по сравнению с импедансным и оптическим способами [2, 14, 15].

В современных гематологических анализаторах, как правило, используется несколько методов детекции тромбоцитов. Так, в LH 750 (Beckman Coulter) реализованы импедансный и оптический методы [16], в Sysmex XN-300 (Sysmex Corporation) – импедансный, оптический и флюоресцентный [3], в Cell-Dyn Sapphire (Abbott Diagnostics) – импедансный, оптический и иммунный [14].

Благодаря развитию и совершенствованию автоматических методов подсчета тромбоцитов ручной метод фазово-контрастной микроскопии мазка периферической крови, основанный на отношении количества тромбоцитов к эритроцитам (по Фонию), в настоящее время является ориентировочным вследствие низкой точности и может

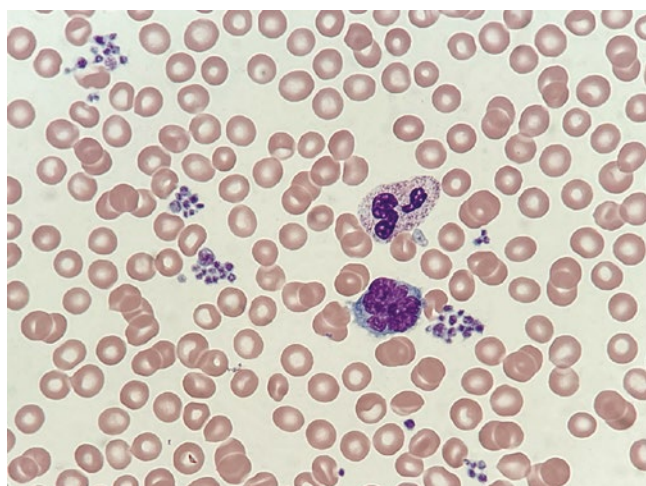


Рисунок 2. ЭДТА-ассоциированные агрегаты тромбоцитов (мазок периферической крови), ув. 1000х. Между эритроцитами видны тромбоцитарные агрегаты.

быть использован в редких случаях. Он полезен, например, при анализе крови пациентов с диагнозом «МДС-5q» на стадии, когда в периферической крови на фоне истинной тромбоцитопении присутствуют преимущественно гигантские формы тромбоцитов. Оптический контроль количества тромбоцитов с использованием ручной фазово-контрастной микроскопии обязателен при диагностике первичной иммунной тромбоцитопении [17].

Автоматизация приготовления мазков с равномерным распределением клеток повышает точность ручного подсчета тромбоцитов.

Вместе с тем микроскопическое исследование мазка периферической крови является хорошим инструментом контроля качества образца и позволяет выявить артефакты или варианты, когда тромбоциты ускользают из зоны детекции анализатора. Таким образом исключаются все возможные факторы, влияющие на корректность анализа, на основании чего возможно валидировать результат подсчета тромбоцитов. Контроль результатов автоматического подсчета тромбоцитов необходим при получении патологических значений.

Согласно рекомендациям Франкоговорящей группы по клеточной гематологии (French-Speaking Cellular Hematology Group, GFHC), в тех случаях, когда автоматически определяемое количество тромбоцитов ниже $150 \times 10^9/\text{л}$, необходимо исключить псевдотромбоцитопению, возможными причинами которой могут быть наличие в образце сгустка или нитей фибрина, макроформ тромбоцитов, агрегатов тромбоцитов, тромбоцитарного сателлитизма [6]. Рекомендовано выбраковывать пробу, содержащую сгусток. Желательно ретроспективно оценить динамику количества тромбоцитов. Значительная разница в количестве тромбоцитов, по сравнению с предыдущим подсчетом, должна натолкнуть на мысль о псевдотромбоцитопении. Анализ мазка крови является обязательным, если у взрослого пациента при первичном исследовании обнаружено менее $100 \times 10^9/\text{л}$ тромбоцитов или прошло больше 3 месяцев после первоначального результата, а у ребенка – менее $150 \times 10^9/\text{л}$ тромбоцитов первично или если прошло более месяца после получения первоначального результата [18, 19].

Остановимся подробнее на возможных причинах занижения числа тромбоцитов при автоматическом подсчете.

ЭДТА-зависимая псевдотромбоцитопения – редкое явление, возникающее только *in vitro* (от 0,07 до 0,20 % населения в целом и от 0,10 до 2,00 % госпитализированных пациентов) [20]. ЭДТА-ассоциированная агрегация тромбоцитов в вакутейнере с соответствующим стабилизатором связана с наличием у пациента антитромбоцитарных антител против цепей интегрина GPIIb/IIIa, которые в присутствии ЭДТА при температуре от 0 до 25 °C способствуют активации тромбоцитов с образованием разного размера тромбоцитарных агрегатов и возникновению ложной тромбоцитопении *in vitro*. На сегодняшний день не существует достоверных данных о связи ЭДТА-зависимой псевдотромбоцитопении с диагнозами пациентов.

Наличие ЭДТА-ассоциированных агрегатов можно заподозрить в следующих случаях [21]:

- 1) флаги анализатора – аномальное распределение тромбоцитов, агрегаты тромбоцитов, гигантские тромбоциты. Необходимо учитывать, что наличие в образце агрегатов тромбоцитов, сопоставимых по размеру с лейкоцитами, может привести к некорректному подсчету лейкоцитов (ложный лейкоцитоз);
- 2) анамнестические данные о наличии агрегации в предыдущих анализах;
- 3) снижение количества тромбоцитов более чем на 50 % для взрослого и $\geq 30\%$ для ребенка по сравнению с предыдущим результатом;
- 4) в случае обнаружения у пациента первичной тромбоцитопении (менее $150 \times 10^9/\text{л}$).

Ниже в качестве иллюстраций приведены микрофотографии мазков крови, полученные в отделе лабораторной диагностики Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова МЧС России. Для приготовления мазков используется станция автоматического приготовления и окраски мазков UniCel DxH (Beckman Coulter, США), для окраски препаратов применяют реактивы «Диахим-Гемистейн-М-Г», «Диахим-Гемистейн-Р», «Диахим-Буфер-ГРН-6.8–7.2» (НПФ «Абрис+», Россия).

ЭДТА-ассоциированные агрегаты тромбоцитов и тромбоцитарный сателлитизм хорошо визуализируются в мазках периферической крови, окрашенных по Романовскому – Гимзе (рис. 2). В соответствии с консенсусом GFHC агрегатом считается скопление по крайней мере пяти тромбоцитов [22].

Необходимо учитывать, что в анализаторе фибрин (микрогустки) может генерировать те же флаги, что и агрегаты тромбоцитов. Микроскопическое исследование позволяет визуализировать филаменты фибрина (рис. 3), которые следует упомянуть при написании заключения.

В случае наличия ЭДТА-ассоциированных скоплений тромбоцитов в заключении следует отметить агрегацию тромбоцитов. В дальнейшем необходимо повторить исследование с ЭДТА и другим антикоагулянтом (цитрат натрия, STAD [цитрат натрия, теофиллин, аденозин и дипирида-мол], сульфат магния и т.д.) параллельно, в зависимости от лабораторной практики и имеющихся пробирок [23]. Альтернативные антикоагулянты используются только для уточнения количества тромбоцитов. Изредка агрегация тромбоцитов возникает и в пробирке с ЭДТА, и в пробирке с альтернативным антикоагулянтом. Одним из вариантов

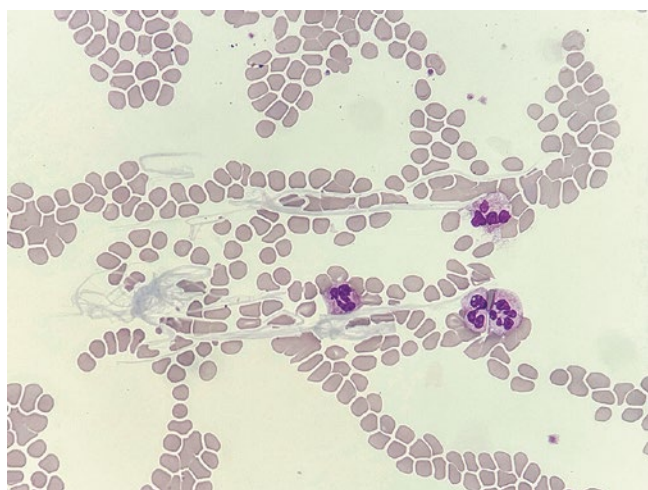


Рисунок 3. Филаменты фибрина (мазок периферической крови), ув. 1000х. Визуализируются нежные голубоватые нити фибрина, нередко с агглютинированными тромбоцитами.

решения вопроса в такой ситуации будет анализ теплой крови, выполненный максимально быстро после взятия, при условии сохранения крови при 37 °C [24] или использование сульфата магния в качестве стабилизатора.

Существуют публикации о наличии веществ, способных предотвращать образование агрегатов или вызывать их диссоциацию. Среди них – хлорид кальция [20], анти-тромбоцитарные препараты (ацетилсалициловая кислота, простагландин Е 1, аспирин, моноклональные антитела, направленные против интегрина GpIIb/IIIa), азид калия, канамицин, амикацин или другие аминозиды [25, 26, 27].

Наиболее часто используемым альтернативным антикоагулянтом является цитрат натрия, однако необходимо учитывать коэффициент разведения, так как цитрат натрия в пробирке находится в жидкой форме. У некоторых пациентов (от 15 до 20%) агрегация тромбоцитов может присутствовать и в пробе с цитратом Na [28, 29]. Обычной практикой является корректировка количества тромбоцитов с учетом фактора разведения, вносимого антикоагулянтом (один объем на девять объемов крови). Однако исследование показало, что этот поправочный коэффициент занижает количество тромбоцитов по сравнению с ЭДТА [30]. При использовании цитратной крови рекомендуется анализировать образец в течение 3 часов после взятия. Интересной альтернативой является использование в качестве антикоагулянта сульфата магния. Сульфат магния исторически был первым антикоагулянтом, используемым для подсчета тромбоцитов, он обеспечивает наилучшую стабильность образца в течение 12 часов [24].

Макроформы тромбоцитов – клетки, размер которых составляет от половины до целого эритроцита (4–8 мкм). Гигантские тромбоциты по размеру не меньше эритроцитов (≥ 8 мкм) [5, 31, 32]. Макротромбоциты или даже гигантские тромбоциты обнаруживаются при различных состояниях независимо от того, существует ли тромбоцитопения, и часто приводят к недооценке количества тромбоцитов [22] (рис. 4).

Тромбоцитарный сателлитизм – редкое (один из 12 000 образцов крови) явление *in vitro*, обычно наблюдаемое в крови с антикоагулянтом ЭДТА и вызываемое прилипанием тромбоцитов к зрелым нейтрофилам с образованием розеток [4] (рис. 5).

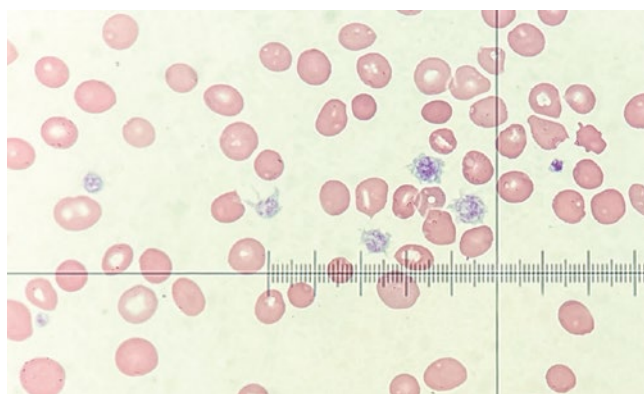


Рисунок 4. Макроформы тромбоцитов (мазок периферической крови), ув. 1000х.

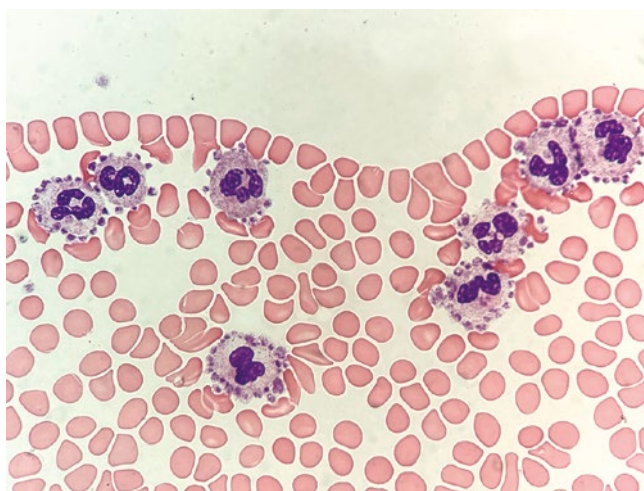
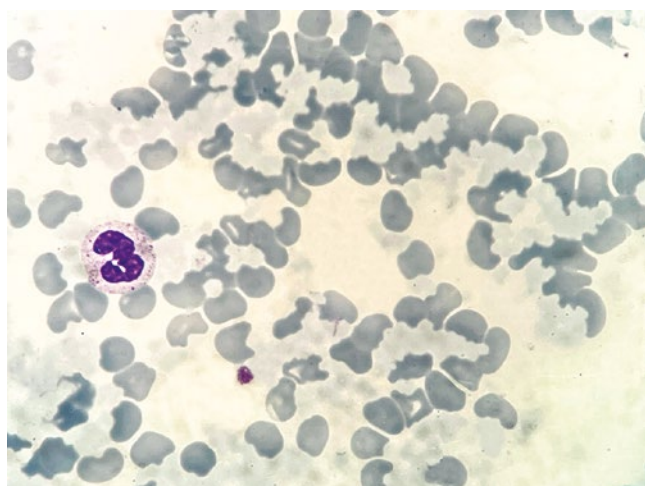


Рисунок 5. Тромбоцитарный сателлитизм (мазок периферической крови), ув. 1000х. Тромбоциты расположены вокруг нейтрофилов (сателлиты).

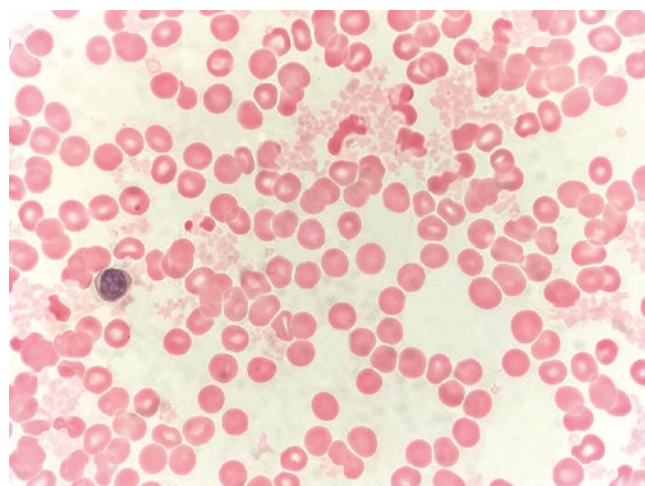
До сих пор не сообщалось о сателлитизме в пробах с цитратом Na. Снижение количества тромбоцитов при сателлитизме незначительно, и им можно пренебречь, но в любом случае сателлитизм необходимо отметить в заключении.

Если при автоматическом подсчете количество тромбоцитов выше $400\text{--}450 \times 10^9/\text{л}$, то необходимо исключить ложный тромбоцитоз, с которым можно столкнуться в случае неспособности анализатора различить тромбоциты и нетромбоцитарные частицы сопоставимого размера, такие как мелкие эритроциты, цитоплазматические фрагменты, криоглобулины. Часто ложный тромбоцитоз маскирует истинную тромбоцитопению. В таком случае наиболее корректно проведение подсчета тромбоцитов оптическим, флуоресцентным или иммунологическим методом [33]. Наличие в пробе очень мелких эритроцитов ожидаемо при тяжелой микроцитарной анемии, микроангиопатическом гемолизе с многочисленными шизоцитами или микросфероцитозе из-за обширных острых ожогов [31]. Цитоплазматические фрагменты чаще встречаются при онкогематологических заболеваниях [34]. Криоглобулины в пробе можно визуализировать при окраске мазка крови эозином или заподозрить их наличие по характерному признаку – «ямкам» на поверхности эритроцитов (рис. 6).

Подводя итог, хотелось бы отметить важность грамотного принятия решения на этапе валидации результата по количеству тромбоцитов в пробе. Описанные выше случаи должны помочь не допустить ошибку, которая повлечет за собой неверную терапевтическую тактику.



А – Изменения мембран эритроцитов.



Б – Визуализация криоглобулинов с использованием эозина.

Рисунок 6. Морфологическая картина при криоглобулинемии (мазок периферической крови), ув. 1000х.

Список литературы / References

1. Клиническое руководство по лабораторным тестам. Под редакцией Н. Тица. Перевод с англ. под редакцией В.В. Меньшикова. М.: Издательство «ЮНИМед-пресс». 2003. 960 с. Clinical guidelines for laboratory tests. Edited by N. Titz. Translated from English, edited by V.V. Mentshikov. M.: Publishing house 'UNIMED-press'. 2003. 960 p.
2. Trabulo E., Valverde S., Antico F., et al. Performance of automated platelet quantification using different analysers in comparison with an immunological reference method in thrombocytopenic patients. *Blood Transfus.* 2009; (7): 43–48. DOI: 10.2450/2008.0039-08.
3. Tantanate C., Khawwisetsul L., Pattanapanyasat K. Performance evaluation of automated impedance and optical fluorescence platelet counts compared with international reference method in patients with thalassemia. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2017; (141): 830–836. DOI: 10.5858/arpa.2016-0222-OA.
4. Zandeck M., Genevieve F., Gerard J., Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: A review. Part I: Platelets. *Int. J. Lab. Hematol.* 2007; (29): 4–20. DOI: 10.1111/j.1365-2257.2006.00870.x.
5. Noris P., Bino G., Pecci A., et al. Platelet diameters in inherited thrombocytopenias: Analysis of 376 patients with all known disorders. *Blood*. 2014; (124): e 4–e 10. DOI: 10.1182/blood-2014-03-564328.
6. Baccini V., Genevieve F., Jacquemin H., et al. Platelet counting: ugly traps and good advice. Proposals from the French-Speaking Cellular Hematology Group (GFHC). *J. Clin. Med.* 2020; (9): 1–27. DOI: 10.3390/jcm9030808.
7. Segal K., Badrinath Y., Tembhare P. et al. Comparison of platelet counts by CellDyn Sapphire (Abbot Diagnostics), LH750 (Beckman Coulter), ReaPanThrombo immunoplatelet method (ReaMetrix), and the international flow reference method, in thrombocytopenic blood samples. *Cytometry B. Clin. Cytom.* 2010; (78): 279–285. DOI: 10.1002/cyto.b.20515.
8. International Society of Laboratory Hematology Task Force on Platelet Counting. Platelet Counting by the RBC/Platelet Ratio Method: A Reference Method. *Am. J. Clin. Pathol.* 2001; (115): 460–464. DOI: 10.1309/jw612-mypc-fa7u-8uya.
9. Harrison P., Ault K.A., Chapman S., et al. An interlaboratory study of a candidate reference method for platelet counting. *Am. J. Clin. Pathol.* 2001; (115): 448–459. DOI: 10.1309/91pr-e4g6-xba7-n8dy.
10. Кумскова М.А., Демина И.А., Подоплева Н.А. Диагностика тромбоцитопении Гланцмана с помощью исследования показателей плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2015; (14): 17–24. <https://doi.org/10.24287/1726-1708-2015-14-4-17-24>.
Kumskova M.A., Demina I.A., Podopleva N.A. Diagnosis of Glanzmann's thrombasthenia by examining the parameters of plasma and platelet hemostasis. *Issues of hematology/oncology and immunopathology in pediatrics*. 2015; (14): 17–24. <https://doi.org/10.24287/1726-1708-2015-14-4-17-24>.
11. Saraymen B., Muhtaroglu S., Koker M.Y., et al. Flow cytometric analysis of platelet surface glycoproteins in the diagnosis of thirty-two Turkish patients with Glanzmann thrombasthenia: a multicenter experience. *Turk. J. Med. Sci.* 2021; (51): 2135–2141. DOI: 10.3906/sag-2006-107.
12. van der Meer P.F., Karsing-van Leeuwen W., Kurtz J., et al. Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative. A flow cytometric method for platelet counting in platelet concentrates. *Transfusion*. 2012; (52): 173–180. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2011.03261.
13. Dickerson W.M., Yu R., Westergren H.U., et al. Point-of-care microvolume cytometer measures platelet counts with high accuracy from capillary blood. *PLoS One*. 2021; (16): e0256423. [journal.pone.0256423](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256423).
14. Cid J., Nascimento J., Vicent A., et al. Evaluation of low platelet counts by optical, impedance, and CD61-immunoplatelet methods: estimation of possible inappropriate platelet transfusion. *Transfusion*. 2010; (50): 795–800. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2009.02504.x.
15. Latger-Cannard V., Hoarau M., Salgnac S., et al. Mean platelet volume: Comparison of three analysers towards standardization of platelet morphological phenotype. *Int. J. Lab. Hematol.* 2012; (34): 300–310. DOI: 10.1111/j.1751-553X.2011.01396.x.
16. Минникова И.А. Аналитические возможности гематологических анализаторов в оценке тромбоцитов (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012; (3): 27–34. Minnikova I.A. The analytical possibilities of hematology analyzers in evaluation of thrombocytes: a literature review. *Klin Lab Diagn* 012 Mar; (3): 27–34.
17. Меликян А.А., Пустовая Е.И., Цветаева Н.В., и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (первичной иммунной тромбоцитопении) у взрослых (редакция 2016 г.). *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62 (1, прил. 1): 1–60. <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-1-S1-1-60>.
18. Barnes P.W., McFadden S.L., Machin S.J., Simson E. The international consensus group for hematology review: Suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis. *Lab. Hematol. Off. Publ. Int. Soc. Lab. Hematol.* 2005; (11): 83–90. DOI: 10.1532/LH96.05019.
19. Genevieve F., Galois A.C., Mercier-Bataille D., et al. Revue microscopique du frottis sanguin: propositions du Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC). *Feuilles Biol.* 2014; (317): 7–14.
20. Chae H., Kim M., Lim J., et al. Novel method to dissociate platelet clumps in EDTA-dependent pseudothrombocytopenia based on the pathophysiological mechanism. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2012; (50): 1387–1391. DOI: 10.1515/ccim-2011-0892.
21. Sassi M., Dibei W., Abdi B., et al. Diagnostic performance of graphical anomalies in the detection of large platelets and platelet clumps. *Pathol. Biol. (Paris)*. 2015; (63): 248–251. DOI: 10.1016/j.patbio.2015.09.003.
22. Baccini V., Alessi M.C. Diagnosis of inherited thrombocytopenia. *Rev. Med. Interne*. 2016; (37): 117–126. DOI: 10.1016/j.revmed.2015.10.346.
23. Francois D., Masure A., Atallah N., Touil L., Vasse M. Underestimation of platelet count on magnesium salt-anticoagulated samples. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2014; (52): e 95–e 97. DOI: 10.1515/ccim-2013-1016.
24. Schuff-Werner P., Steiner M., Fenger S., et al. Effective estimation of correct platelet counts in pseudothrombocytopenia using an alternative anticoagulant based on magnesium salt. *Br. J. Haematol.* 2013; (162): 684–692. DOI: 10.1111/bjh.12443.
25. Lin J., Luo Y., Yao S., et al. Discovery and correction of spurious low platelet counts due to EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *J. Clin. Lab. Anal.* 2015; (29): 419–426. DOI: 10.1002/jcla.21818.
26. Sakurai S., Shiojima I., Tanigawa T., Nakahara K. Aminoglycosides prevent and dissociate the aggregation of platelets in patients with EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *Br. J. Haematol.* 1997; (99): 817–823. DOI: 10.1046/j.1365-2141.1997.4773280.x.
27. Zhou X., Wu X., Deng W., et al. Amikacin can be added to blood to reduce the fall in platelet count. *Am. J. Clin. Pathol.* 2011; (136): 646–652. DOI: 10.1309/ajcpmon79qkqkrbt.
28. Bizzaro N. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: A clinical and epidemiological study of 112 cases, with 10-year follow-up. *Am. J. Hematol.* 1995; (50): 103–109. DOI: 10.1002/ajh.2830500206.
29. Lippi G., Plebani M. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: Further insights and recommendations for prevention of a clinically threatening artifact. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2012; (50): 1281–1285. DOI: 10.1515/ccim-2012-0081.
30. Vedy S., Boom B., Perez P., et al. Automatic platelets numbering with citrate as anticoagulant: Is the result valid? *Ann. Biol. Clin. (Paris)*. 2011; (69): 453–458. DOI: 10.1684/abc.2011.0596.
31. Lawrence C., Atac B. Hematologic changes in massive burn injury. *Crit. Care Med.* 1992; (20): 1284–1288. DOI: 10.1097/00003246-199209000-00015.
32. Palmer L., Briggs C., McFadden S., et al. ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. *Int. J. Lab. Hematol.* 2015; (37): 287–303. DOI: 10.1111/j.1751-553X.2015.01327.
33. Briggs C., Harrison P., Machin S.J. Continuing developments with the automated platelet count. *Int. J. Lab. Hematol.* 2007; (29): 77–91. DOI: 10.1111/j.1751-553X.2007.00909.x.
34. Kakkur N., Garg G. Cytoplasmic fragments of leukaemic cells masquerading as platelets in an automated haematology analyser. *J. Clin. Pathol.* 2005; (58): 224–229. PMID: 1770578.

Статья поступила / Received 18.08.2022

Получена после рецензирования / Revised 20.08.2022

Принята в печать / Accepted 20.08.2022

Сведения об авторах

Цветкова Татьяна Геннадьевна, врач КЛД, зав. лабораторией гематологических и общеклинических методов исследования. E-mail: tsvetkova@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-4464-6367

Калашникова Анастасия Андреевна, к.б.н., с.н.с. НИО лабораторной диагностики НИЦ. E-mail: petkova_nas@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5338-0866

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

Автор для переписки: Калашникова Анастасия Андреевна. E-mail: tsvetkova@yandex.ru

About authors

Tsvetkova Tatiana G., doctor of KLD, head of the Laboratory of Hematological and General Clinical Research Methods. E-mail: tsvetkova@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-4464-6367

Kalashnikova Anastasia A., PhD Med, senior researcher at Research Dept of Laboratory Diagnostics, National Research Centre. E-mail: petkova_nas@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5338-0866

The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine (NRCERM EMERCOM) of Russia, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author: Kalashnikova Anastasia A. E-mail: tsvetkova@yandex.ru

Для цитирования: Цветкова Т.Г., Калашникова А.А. Возможности и ограничения методов подсчета тромбоцитов. *Медицинский алфавит*. 2022; (19): 44–48. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-44-48>.

For citation: Tsvetkova T.G., Kalashnikova A.A. Possibilities and limitations of platelet counting methods. *Medical alphabet*. 2022; (19): 44–48. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-44-48>.



Лабораторная оценка состояния поствакцинального гуморального иммунитета к инфекциям с аэрозольным механизмом передачи

А. А. Еreshchenko, О. А. Gussyakova

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

РЕЗЮМЕ

В обзоре рассматриваются вопросы о месте лабораторной диагностики в профилактической медицине, в частности о возможностях применения лабораторных методов в контроле проведения вакцинопрофилактики инфекций с аэрозольным механизмом передачи (корь, краснуха, эпидемический паротит, ветряная оспа, грипп, пневмококковая инфекция, коклюш, дифтерия, COVID-19). В статье освещены основные лабораторные методы серомониторинга (иммуноферментный анализ, реакция радиального гемолиза в геле, дот-иммуноанализ, определение avidности антител, реакция торможения гемагглютинации, реакция микронейтрализации, FAMA, реакция подавления бляшкообразования), их преимущества и недостатки. Также представлен блок данных об альтернативных биомаркерах (ферменты, липиды, микроэлементы, гормоны и др.) – потенциальных предикторах эффективности вакцинации. Поиск новых биомаркеров эффективности формирования поствакцинального иммунитета открывает новые возможности прогнозирования эффективности вакцинопрофилактики, что делает их изучение перспективным направлением в области вакцинологии и лабораторной иммунологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: вакцинация, гуморальный иммунитет, серологические исследования, антитела, биомаркеры, предикторы.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Laboratory assessment of state of post-vaccination humoral immunity to infections with aerosol transmission mechanism

A. A. Ereshchenko, O. A. Gussyakova

Samara State Medical University, Samara, Russia

SUMMARY

The review considers questions about the place of laboratory diagnostics in preventive medicine, in particular, about the possibilities of using laboratory methods in controlling the vaccination of infections with an aerosol transmission mechanism (measles, rubella, mumps, chickenpox, influenza, pneumococcal infection, pertussis, diphtheria, COVID-19). The article highlights the main laboratory methods of seromonitoring (enzyme immunoassay, radial hemolysis reaction in gel, dot-immunoassay, antibody avidity determination, hemagglutination inhibition reaction, microneutralization reaction, FAMA, plaque suppression reaction), their advantages and disadvantages. Also presented a block of data on alternative biomarkers (enzymes, lipids, trace elements, hormones, etc.), which serve as potential predictors of vaccination efficacy. The search for new biomarkers of the effectiveness of the formation of post-vaccination immunity opens up new possibilities for predicting the effectiveness of vaccination, which makes their study a promising direction in the field of vaccinology and laboratory immunology.

KEY WORDS: vaccination, humoral immunity, serological studies, antibodies, biomarkers, predictors.

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

Введение

Традиционно одним из главных инструментов диагностического поиска для врачей-клиницистов является проведение лабораторных исследований, результаты которых позволяют установить факт наличия или отсутствия заболевания, провести дифференциальный диагноз между патологическими состояниями, а также мониторинг течения патологического процесса для определения дальнейшей лечебной тактики или контроля эффективности проводимой терапии. Помимо этого, результаты лабораторных исследований могут быть использованы для реализации превентивного направления в медицине в рамках определения необходимости проведения профилактических мероприятий и оценки их эффективности у здоровых лиц [1]. За последнее время усилия, принятые мировым медицинским сообществом, позволили достичь значительных результатов в борьбе с инфекционными заболеваниями. Тем не менее по отдельным нозоло-

гическим формам вероятность активизации инфекционного процесса по-прежнему сохраняется. Повышение качества лабораторной диагностики инфекций позволило вести более полный и правильный статистический учет регистрируемых случаев заболеваний [2], что, в свою очередь, позволяет своевременно предпринимать противоэпидемические меры, наиболее эффективной из которых является вакцинация. Клиническая лабораторная иммунология является одним из основных направлений лабораторной диагностики, обеспечивающих обоснование проведения профилактических мероприятий инфекционных заболеваний и их осложнений. Установлены ряд иммуногематологических показателей крови, применяемых для определения показаний к проведению профилактических мер, что позволяет минимизировать вероятность возникновения заболевания и развития возможных осложнений у конкретного пациента, а так-

же контролировать эпидемический процесс в популяции в целом. Общепринятые эпидемиологические критерии вакцинации, такие как охват прививками, показатель привитости и своевременность вакцинации являются весьма условными и формальными, поскольку не отражают главного результата – фактического уровня иммунитета в популяции. В связи с этим особое значение в условиях гетерогенности прививаемого населения приобретает оценка состояния популяционного и индивидуального специфического иммунитета с помощью серологического мониторинга, являющегося компонентом подсистемы информационного обеспечения системы эпидемиологического надзора за вакцинопрофилактикой [3]. Мониторинг эффективности вакцинопрофилактики проводится преимущественно путем оценки гуморального иммунитета (уровень специфических иммуноглобулинов), поскольку исследование клеточного звена иммунитета является дорогостоящим, трудоемким и недоступным для широкого применения методом и не используется в рутинной практике здравоохранения [4]. Кроме того, в настоящее время отсутствует единая стандартизированная лабораторная методика оценки специфического клеточного звена иммунного ответа [5].

К вакциноуправляемым инфекциям с аэрозольным механизмом передачи относятся корь, краснуха, эпидемический паротит, ветряная оспа, грипп, пневмококковая инфекция, коклюш, дифтерия. С 2020 года к этой группе также можно отнести коронавирусную инфекцию COVID-19.

Традиционные лабораторные методы оценки поствакцинального гуморального иммунитета

Согласно методическим указаниям МУ 3.1.2943–11 «Организация и проведение серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики (дифтерия, столбняк, коклюш, корь, краснуха, эпидемический паротит, полиомиелит, гепатит В)» [7] для определения уровня гуморального иммунитета против кори, краснухи и эпидемического паротита применяется иммуноферментный анализ (ИФА). Как правило, определение уровня иммунитета к данным инфекциям основано на качественном и количественном определении специфических IgG к возбудителям данных инфекций. Однако формирование поствакцинальной гуморальной иммунологической реактивности организма имеет ряд вирус-специфических особенностей. Например, особенностью формирования антительного ответа на вакцинацию против краснухи является различная динамика выработки IgG к наиболее иммунологически значимым антигенам – поверхностным гликопротеинам E1 и E2 и капсидному белку С. Иммунный ответ при вакцинации преимущественно обусловлен выработкой IgG к антигенам E1 и С, в то время как антитела к антигену E2 вырабатываются спустя 3 месяца и более, но сохраняются они также длительно как IgG к E1. При отсутствии отягощенного эпидемиологического анамнеза по краснухе положительный результат на анти-E1 IgG в сочетании с отрицательным результатом на анти-E2 IgG указывают на недавнюю вакцинацию. Одновременное выявление анти-E1 и анти-E2 IgG свидетельствует о пере-

несенной вакцинации не менее чем в последние 3 месяца. Таким образом, вероятность обнаружения IgG к белкам E1, E2 и С в значительной степени зависит от аналитических характеристик тест-системы [8].

Помимо ИФА, имеется целый ряд других специфических серологических тестов. Так, в отношении краснухи может использоваться реакция радиального гемолиза в геле [9]. В геле, содержащем комплемент и эритроциты барана, на поверхности которых расположены гемагглютинины вируса краснухи, при взаимодействии антител пациента с гемагглютинином образуется зона гемолиза, радиус которой прямо пропорционален количеству антител в исследуемой сыворотке. Данный метод позволяет выявлять только Ig G.

В последнее время широкое применение получают мультиплексные системы, позволяющие одновременно определить уровень гуморального иммунитета к нескольким инфекциям. Имеются тест-системы, основанные на дот-иммуноанализе на белковых иммуночипах для выявления антител к кори, краснухе, эпидемическому паротиту [10]. Преимуществом данной методики является ее скорость, одномоментное получение количественного результата сразу по нескольким показателям, возможность применения в лабораториях, не имеющих оборудования для проведения ИФА-исследований, возможность использования маленького объема (10 мкл) образца, что однозначно повышает вероятность использования данной методики для оценки популяционного гуморального иммунитета при эпидемических вспышках, в том числе среди детского населения.

Информативным дополнительным способом оценки иммунитета является определение avidности антител Ig G. Данный метод позволяет дифференцировать первичные и вторичные вакцинальные неудачи [11]. При интерпретации результатов необходимо учитывать особенности сроков выработки высоко- и низкоавидных антител в зависимости от инфекции [12]. Ввиду отсутствия стандартизации, трудностей проведения контроля качества, особенностей интерпретации часто наблюдаются расхождения в результатах исследования.

«Золотым стандартом» оценки иммунного ответа против *Varicella-zoster virus* (VZV) – возбудителя ветряной оспы – является иммунофлуоресцентный тест на основе мембранного антигена или латексагглютинации FAMA (Fluorescent-Antibody-to-Membrane-Antigen). Данный метод, в отличие от ИФА, клинически валидирован [13]. Анализ FAMA был разработан в начале 1970-х годов как метод дифференцировки лиц, восприимчивых к ветряной оспе. Тест FAMA – это иммунофлуоресцентный анализ, в котором применяются клетки эмбриональных фибробластов легких человека, инфицированные нефиксированным VZV, с последующей инкубацией с разведениями сыворотки пациента. Затем клетки промывают и проводят флуоресцентную микроскопию [14]. Исследования показали, что при титре антител > 1:4 вероятность развития заболевания при контакте с VZV составляет менее 3%. В то же время титры менее 1:4 сопряжены с 60–75%-ной вероятностью развития ветряной оспы [15]. Также имеются серологические методики (преимущественно ИФА-тест-системы) для обнаружения гликопротеина VZV (gpELISA), которые нашли широкое применение для оценки эффективности

вакцинации против ветряной оспы. Недостатком данного метода является недостаточная специфичность, особенно при определении низких концентраций антител, что снижает его способность демонстрировать надежную корреляцию с уровнем иммунитета [16].

Оценка популяционного иммунитета к вирусу гриппа проводится с использованием реакции торможения гемагглютинации (РТГА) или реакции микронеutralизации (МН). В основе РТГА лежит ингибирование способности гемагглютининов вирусов гриппа связываться с эритроцитами и вызывать гемагглютинацию в присутствии специфических антител [17]. РТГА является более специфичным и отработанным методом. Тем не менее данный метод имеет ряд ограничений, связанных с качеством используемых реагентов, что, в свою очередь, может привести к снижению чувствительности данной методики при обнаружении антител к антигенам вирусов птичьего гриппа [18]. Данные антитела можно обнаружить с помощью реакции микронеutralизации [19]. Принцип метода основан на детекции уровня снижения репликации вируса в инфицированной культуре клеток MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) в присутствии противогриппозных антител с помощью моноклональных антител, специфичных к NP-белку вируса гриппа. В отличие от РТГА, МН позволяет выявлять субтипоспецифичные иммуноглобулины и уровень всех нейтрализующих антител. Недостатком данного метода является отсутствие стандартизации.

Для определения уровня поствакцинального гуморального иммунитета к вирусу *SARS-CoV-2* также наиболее широкое применение имеет ИФА. Установлено, что функция связывания *SARS-CoV-2* с вирусным рецептором ACE 2 (angiotensin converting enzyme 2) на поверхности клеток – мишеней закреплена преимущественно за поверхностным гликопротеином S. Вируснейтрализующие антитела в основном направлены к его рецепторсвязывающему домену (receptor-binding domain, RBD). Соответственно в целях оценки гуморального иммунитета рекомендуется определение именно анти-RBD-антител [20]. Учитывая разнообразие тест-систем с различными аналитическими характеристиками и единиц измерения результатов, в целях унификации подходов к интерпретации полученных данных Всемирная организация здравоохранения утвердила международный стандарт измерения с единицей измерения BAU – binding antibody units (единицы связывающих антител). На основании данных, полученных от производителей реагентов по количественному определению IgG к *SARS-CoV-2*, сформирована таблица пересчета единиц измерения производителей в международно-признанные единицы – BAU/мл. На данный момент защитные уровни антител не установлены, однако имеются данные о том, что концентрация антител более 500 BAU/мл соответствует крайне низкому риску инфицирования [21].

«Золотым стандартом» для оценки нейтрализующей активности анти-*SARS-CoV-2* – антител является реакция подавления бляшкообразования [22]. Главным недостатком данного метода является необходимость работы с живым вирусом, что исключает его рутинное применение. Однако разработаны альтернативные методики определения вируснейтрализующих антител, исключающих необходимость работы с вирусом. Они представляют собой модифициро-

ванный твердофазный ИФА с рекомбинантными пептидами RBD и ACE 2-рецептором, получившими в литературе название «суррогатные» тест-системы [23].

Таким образом, ведущим общедоступным методом оценки поствакцинального гуморального иммунитета к вирусным вакциноуправляемым инфекциям с аэрозольным механизмом передачи является ИФА. С его помощью можно не только установить факт наличия или отсутствия вирус-специфических иммуноглобулинов, но и определить их количество и титр. Однако как в нормативных документах, так и в литературных источниках значения протективного уровня антител приведены лишь для единичных инфекций. Как правило, при интерпретации определения противои-нфекционных антител специалисты лабораторной службы, клиницисты и эпидемиологи вынуждены руководствоваться значениями, имеющимися в инструкциях к ИФА-тест-системам. Литературные данные относительно минимальных защитных значений иммуноглобулинов также неоднозначны. Например, для кори этот уровень колеблется от 0,18 до 0,50 МЕ/мл [24, 25], что, вероятно, обусловлено использованием авторами в своих работах различных тест-систем и подходов к оценке гуморального звеньев иммунитета.

Альтернативные биомаркеры – предикторы эффективности вакцинации

Одной из основных задач вакцинологии является установление факторов и биомаркеров, коррелирующих со степенью вакцини-индуцированного иммунного ответа. Биомаркерами принято считать показатели, которые подлежат измерению и могут быть использованы как индикатор течения нормальных и патологических биологических процессов или реакций на медицинское вмешательство [26]. Лабораторные показатели эффективности вакцинации можно определить как совокупность биомаркеров, содержание которых достоверно различается в группах вакцинированных и невакцинированных лиц и отражает биологические реакции, индуцированные вакциной [27]. Сформировано новое направление – иммунный метаболизм, в задачи которого входит изучение механизмов взаимосвязи клеточного метаболизма и иммунного ответа [28]. Например, было установлено, что во время вирусной или бактериальной инвазии метаболизм макроорганизма зачастую изменяется, чтобы обеспечить благоприятные условия для вирусной репликации или размножения бактерий, а метаболические сдвиги обеспечивают оптимальную среду для сохранения жизнеспособности патогенов [29].

Известно, что липиды принимают участие в обеспечении многих физиологических процессов. Помимо реализации структурной и энергетической функции, липиды и ферменты, участвующие в их метаболизме, также выполняют роль сигнальных молекул. Среди них – холестерин-25-гидроксилаза (X25Г), катализирующая реакцию превращения холестерина в 25-гидроксихолестерин (25ГХ). Недавние исследования показали, что ген *X25Г* принадлежит к семейству генов, которые играют ключевую роль в воспалении, врожденном иммунитете и последующих адаптивных иммунных реакциях посредством передачи сигналов интерферона [30]. Дальнейшие исследования показали, что *X25Г* и *25ГХ* подавляют множество высокопатогенных вирусов, таких как вирус иммунодефицита человека, вирус Эбола, вирус Нипах,

вирус лихорадки Рифт – Валли, вирус Зика, коронавирус [31]. Среди возможных противовирусных механизмов – ингибирование адгезии, инвазии и репликации данных вирусов путем изменения метаболизма холестерина, активация синтеза интерферонов [32]. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что *X25Г* и *25ГХ* потенциально могут рассматриваться как предикторы эффективности новых или существующих вакцин к вышеперечисленным инфекциям.

Другим ферментом, продемонстрировавшим корреляцию с титрами антител, обнаруженных спустя месяц после вакцинации трехвалентной инактивированной вакциной против гриппа, стала кальций / кальмодулин – зависимая протеинкиназа IV (Ca^{2+} / calmodulin-dependent protein kinase IV, CaMK IV) [33]. Экспрессия генов данного фермента уже на 3-й день имела обратную корреляцию со сроками выработки антивакцинальных антител. При вакцинации против гриппа мышей с дефицитом CaMK IV были обнаружены повышенные титры антиген-специфических антител, что продемонстрировало роль данного фермента в регуляции поствакцинального иммунитета. Имеются литературные данные об участии CaMK IV в функционировании иммунной системы, например в работе Т-клеток, воспалительных реакциях, формировании В-клеточного иммунного ответа [34].

Лептин – гормон-адипокин, принимающий участие в регуляции метаболизма, функционировании нейроэндокринной и иммунной системы. Для данного анализатора установлена положительная корреляционная связь с уровнем поствакцинальных антител к пневмококку с серотипом 14, при этом связи с антителами к пневмококковым серотипам 1, 5, 23F, также входящим в состав пневмококковых поливалентных вакцин, обнаружено не было [35]. Также установлена положительная связь между уровнями поствакцинальных антител на серотипы 1 и 5 пневмококковой вакцины и концентрацией неоптерина – продукта метаболизма пуриновых оснований. В то же время эта связь отсутствовала для антител на пневмококков 14 и 23F серотипов [36].

В ряде исследований изучалась возможность использования пентраксимов, в частности С-реактивного белка (СРБ), для оценки эффективности вакцинации. Так, для пациентов пожилого возраста более низкие концентрации СРБ были признаком неэффективности вакцины против ветряной оспы [37]. Также для СРБ была установлена отрицательная связь с поствакцинальными титрами опсонофагоцитов для ВИЧ-положительных лиц после вакцинации против пневмококковой инфекции [38].

В качестве предикторов эффективности выработки поствакцинальных антител также могут выступать и микроэлементы. Железо занимает центральное место на границе раздела «хозяин – патоген», поскольку является эссенциальным фактором для метаболизма как у человека, так и у некоторых микроорганизмов [39]. Кроме того, известны перекрестные регуляторные взаимодействия между гомеостазом железа и иммунной функцией. Установлено, что железо и железосодержащие белки оказывают опосредованное воздействие на выработку цитокинов и активность факторов транскрипции, управляющих иммунными ответами, в свою очередь, иммунные медиаторы принимают участие в сохранении как системного, так и клеточного гомеостаза железа [40]. Имеются данные, что у пациентов, находящихся на гемо-

диализе, выработка поствакцинальных противогриппозных антител может подавляться высокими концентрациями железа и ферритина в сыворотке крови [41]. В то же время дефицит железа также может привести к вакцинальным неудачам. Исследования показали, что слабый иммунный ответ на вакцинацию живой коревой вакциной наблюдался у 50 % детей с железодефицитом, на вакцинацию дифтерийно-столбнячным анатоксином – у 47 % [42].

В последнее время все больше литературных данных появляется о иммуномодулирующей функции билирубина. Билирубин принимает участие в моделировании иммунного ответа на нескольких уровнях, включая активацию регуляторных Т-клеток, Т-хелперных клеток 17 (Th17) и ингибирование сигнального пути TLR4 (Toll-like receptor 4) [43]. Поскольку TLR4 принимает участие в развитии иммунного ответа к вирусным и бактериальным инфекциям, а полиморфизм генов данного рецептора может привести к развитию вакцинальных неудач, изучение данного метаболита в качестве предиктора эффективности вакцинации представляется интересным. Кроме того, билирубин способен ингибировать связывание вирус-специфических антител с вирусом *SARS-CoV-2* по принципу аллостерического ингибирования. Молекулы билирубина способны прочно связываться со спайковым белком S1 *SARS-CoV-2*, который является мишенью для нейтрализующих антител [44]. Поскольку изучение иммунных свойств спайкового белка является основой разработки и успешности вакцины против *SARS-CoV-2*, определение концентрации билирубина в крови может иметь прогностическое значение для оценки ее эффективности.

Таким образом, предикторами эффективности вакцинации могут выступать различные метаболиты (ферменты, липиды, микроэлементы, гормоны и др.). Поиск биомаркеров – коррелятов иммунной защиты открывает новые возможности прогнозирования эффективности вакцинопрофилактики, что делает их изучение перспективным направлением в области вакцинологии и лабораторной иммунологии.

Список литературы / References

1. Национальный стандарт Российской Федерации, ГОСТ Р 53022.3–2008. Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов. National standard of the Russian Federation, GOST R 53022.3–2008. Technology clinical laboratory. Requirements for the quality of the Clinical laboratory research. Part 3. The rules of evaluation of clinical informative laboratory tests.
2. Семенов Т. А., Акимкин В. Г. Сероэпидемиологические исследования в системе надзора за вакциноуправляемыми инфекциями. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2018; (2): 87–94. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-2-87-94>.
3. Семенов Т. А., Акимкин В. Г. Сероэпидемиология в надзоре за вакцинопрофилактикой. Журнал МедиАль. 2014; 3 (13): 37–55.
4. Фельдблюм И. В. Эпидемиологический надзор за вакцинопрофилактикой. Журнал МедиАль. 2014; 3 (13): 37–55.
5. Семенов Т. А. Иммунный ответ при вакцинации против гепатита В у лиц с иммунодефицитными состояниями. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2011; 1 (56): 51–59.
6. Семенов Т. А. Иммунный ответ после вакцинации против гепатита В в пациентах с иммунодефицитом. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2013; 34 (5): 257–261.
7. Топтыгина А. П., Семикина Е. Л., Алешкин В. А. Формирование и поддержание специфического клеточного иммунного ответа на вакцинацию Приорикс. Иммунология. 2013; 34 (5): 257–261.
8. Топтыгина А. П., Семикина Е. Л., Алешкин В. А. The shaping and the maintenance of T-cell specific immune response to vaccination Priorix. Immunologiya. 2013; 34 (5): 257–261.
9. Баум Т. Г., Первишко О. Г., Шашель В. А. Вакциноуправляемые инфекции: специфическая профилактика и противоэпидемические мероприятия: учебное пособие для студентов педиатрических факультетов медицинских вузов. Краснодар, 2019. 161 с.
10. Baum T. G., Pervishko O. G., Shashel V. A. Vaccine-controlled infections: specific prevention and anti-epidemic measures: a textbook for students of pediatric faculties of medical universities. Krasnodar, 2019. 161 pp.

7. МУ 3.1.2943-11. Организация и проведение серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики. МУ 3.1.2943-11. Organization and Serological Monitoring of Herd Immunity to Infections, Controlled Preventable Diseases.
8. Авдонина А.С., Марданов С.С., Киселева В.А. Иммуноблоттинг в лабораторной диагностике герпесвирусных инфекций. Известия ГИТ. Медицина, фармация. 2020; (2): 30–36.
Avdonina A.S., Mardanzhi S.S., Kiseleva V.A. Immune blotting in laboratory diagnostics of herpesvirus infections. Izvestiya GITU. Medicine, pharmacy. 2020; (2): 30–36.
9. Kurtz JB, Mortimer PP, Mortimer PR [et al.]. Rubella antibody measured by radial haemolysis. Characteristics and performance of a simple screening method for use in diagnostic laboratories. J Hyg (Lond). 1980; 84 (2): 213–22. <https://doi.org/10.1017/s0022172400026711>.
10. Ерш А.В., Полтавченко А.Г., Пьянков С.А. [и др.]. Метод комплексной оценки гуморального иммунитета к детским вакциноуправляемым вирусным инфекциям. Вопросы вирусологии. 2015; 60 (1): 41–45.
Ersh A.V., Poltavchenko A.G., Pyankov S.A. [et al.]. The multiplex method of estimation of humoral immunity to vaccine regulated childhood infections. Issues of Virology. 2015; 60 (1): 41–45.
11. Park DW, Nam MH, Kim JY [et al.]. Mumps outbreak in a highly vaccinated school population: assessment of secondary vaccine failure using IgG avidity measurements. Vaccine. 2007; 25 (24): 4665–4670. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.04.013>.
12. Хайдарова Б.И., Шадиёва С.У., Исабаева Д.Х. Особенности иммунных реакций при краснушной инфекции, их диагностическая и прогностическая информативность. Евразийский союз ученых. 2021; 2 (83): 26–29.
Khaidarova B.I., Shadyeva S.U., Isabaeva D.Kh. Features of immune reactions in rubella infection, their diagnostic and prognostic informational value. Eurasian Union of Scientists. 2021; 2 (83): 26–29.
13. Вишнева Е.А., Намазова-Баранова Л.С., Ветрянская прорыва: изменит ли ситуация новая схема вакцинации? Педиатрическая фармакология. 2011; 8 (6): 18–22.
Vishneva E.A., Namazova-Baranova L.S. A breakthrough varicella: will a new vaccination schedule change the situation? Pediatric Pharmacology. 2011; 8 (6): 18–22.
14. Williams V, Gershon A, Brunell PA. Serologic response to varicella-zoster membrane antigens measured by direct immunofluorescence. J Infect Dis. 1974; 130 (6): 669–72. <https://doi.org/10.1093/infdis/130.6.669>.
15. Каира А.Н., Лавров В.Ф. Ветряная оспа и опоясывающий герпес: учебное пособие; Москва: ФГБОУ ДПО «РМАНПО» Минздрава России, 2020. 83 с.
Kaira A.N., Lavrov V.F. Chickenpox and Herpes Zoster: a textbook; Moscow: FGBOU DPO RMANPO Ministry of Health of Russia, 2020. 83 pp.
16. Landry ML, Ferguson D. Comparison of latex agglutination test with enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibody to varicella-zoster virus. J Clin Microbiol. 1993; 31 (11): 3031–3033. <https://doi.org/10.1128/jcm.31.11.3031-3033.1993>.
17. WHO. The immunological basis for immunization series: module 23: influenza vaccines. Geneva, 2017. 63 pp. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/259211>
18. Zhu H, Ding X, Chen X [et al.]. Neutralizing antibody but not hemagglutination antibody provides accurate evaluation for protective immune response to H5N1 avian influenza virus in vaccinated rabbits. Vaccine. 2011; 29 (33): 5421–5423. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.05.067>.
19. Rudenko L, Kiseleva I, Naykhin AN [et al.]. Assessment of human immune responses to H7 avian influenza virus of pandemic potential: results from a placebo-controlled, randomized double-blind phase I study of live attenuated H7N3 influenza vaccine. PLoS One. 2014; 9 (2): e87962. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087962>.
20. Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y [et al.]. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. Cochrane Database Syst Rev. 2020; 6 (6): CD013652. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013652>.
21. Kristiansen PA, Page M, Bernasconi V [et al.]. WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin. Lancet. 2021; 397 (10282): 1347–1348. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00527-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00527-4).
22. Vanderheiden A, Edara VV, Floyd K [et al.]. Development of a rapid focus reduction neutralization test assay for measuring sars-cov-2 neutralizing antibodies. Curr Protoc Immunol. 2020; 131 (1): e116. <https://doi.org/10.1002/cpim.116>.
23. Tan CW, Chia WN, Qin X [et al.]. A SARS-CoV-2 surrogate virus neutralization test based on antibody-mediated blockage of ACE2-spike protein-protein interaction. Nat Biotechnol. 2020; 38 (9): 1073–1078. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0631-z>.
24. F. Bouche, W. Ammerlaan, F. Berthet [et al.]. Immunoserological assay based on recombinant hemagglutinin protein produced in a high-efficiency mammalian expression system for surveillance of measles immunity. J. Clin. Microbiol. 1998; (36): 721–726. <https://doi.org/10.1128/JCM.36.3.721-726.1998>.
25. Голубкова А.А., Платонова Т.А., Харитонов А.Н. [и др.]. Вакцинопрофилактика кори и пути ее оптимизации на завершающем этапе элиминации инфекции. Тихоокеанский медицинский журнал. 2018; 4 (74): 91–94. <https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2018.4.91-94>.
26. Golubkova A.A., Platonova T.A., Kharitonov A.N. [et al.]. Vaccine prophylaxis of measles and ways of its optimization at the final stage of infection elimination. Pacific Medical Journal. 2018; 4 (74): 91–94. <https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2018.4.91-94>.
27. Group B.D.W. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. Clin. Pharm. 2001; (69): 89–95. <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>.
28. Van Tilbeurgh M, Lemdani K, Beignon AS [et al.]. Predictive markers of immunogenicity and efficacy for human vaccines. Vaccines (Basel). 2021; 9 (6): 579. <https://doi.org/10.3390/vaccines9060579>.
29. Hosomi K, Kunisawa J. Diversity of energy metabolism in immune responses regulated by micro-organisms and dietary nutrition. Int Immunol. 2020; 32 (7): 447–454. <https://doi.org/10.1093/intimm/ixaa020>.
30. Wilkins C, Gale M Jr. Sterolizing innate immunity. Immunity. 2013; 38 (1): 3–5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.01.002>.
31. Liu SY, Aliyari R, Chikere K [et al.]. Interferon-inducible cholesterol-25-hydroxylase broadly inhibits viral entry by production of 25-hydroxycholesterol. Immunity. 2013; 38 (1): 105–105. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.11.005>.
32. Rogers TF, Zhao F, Huang D [et al.]. Isolation of potent SARS-CoV-2 neutralizing antibodies and protection from disease in a small animal model. Science. 2020; 369 (6506): 956–963. <https://doi.org/10.1126/science.abc7520>.
33. Nakaya Y, Wrammert E, Lee K [et al.]. Systems biology of vaccination for seasonal influenza in humans. Nat Immunol. 2011; 12 (8): 786–795. <https://doi.org/10.1038/ni.2067>.
34. Illario M, Giardino-Torchia ML, Sankar U [et al.]. Calmodulin-dependent kinase IV links Toll-like receptor 4 signaling with survival pathway of activated dendritic cells. Blood. 2008; 111 (2): 723–731. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-05-091173>.
35. Moore SE, Richards AA, Goldblatt D [et al.]. Early-life and contemporaneous nutritional and environmental predictors of antibody response to vaccination in young Gambian adults. Vaccine. 2012; 30 (32): 4842–4848. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.05.009>.
36. Гладких Р.А., Молочный В.П., Полеско И.В. Неоптерин как современный маркер воспаления. Детские инфекции. 2016; 15 (2): 19–23.
Gladikh R.A., Molochnyi V.P., Polesko I.V. Neopterin as a modern marker of inflammation. Children's Infections. 2016; 15 (2): 19–23.
37. Verschoor CP, Lelic A, Parsons R [et al.]. Serum C-reactive protein and congestive heart failure as significant predictors of Herpes Zoster vaccine response in elderly nursing home residents. J Infect Dis. 2017; 216 (2): 191–197. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix257>.
38. Iyer AS, Haskheli NM, Leggat DJ [et al.]. Inflammatory markers and immune response to pneumococcal vaccination in HIV-positive and -negative adults. PLoS One. 2016; 11 (3): e0150261. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150261>.
39. Varsosvi V.V. Хроническая инфекция дыхательных путей у пациентов с муковисцидозом: обмен железа и его значение. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2019; (4): 62–67. <https://doi.org/10.14427/jipai.2019.4.62>.
40. Kozlov AV. Chronic respiratory tract infection in patients with cystic fibrosis: metabolism of iron and its significance. Immunopathology, Allergology, Infectology. 2019; (4): 62–67. <https://doi.org/10.14427/jipai.2019.4.62>.
41. Nairz M, Schroll A, Sonnweber T [et al.]. The struggle for iron – a metal at the host-pathogen interface. Cell Microbiol. 2010; 12 (12): 1691–702. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2010.01529.x>.
42. Eisel J, Kielberger L, Sedláčková T [et al.]. High ferritin, but not hepcidin, is associated with a poor immune response to an influenza vaccine in hemodialysis patients. Nephron Clin Pract. 2010; 115 (2): c 147–53. <https://doi.org/10.1159/000312878>.
43. Ворсови В.В. Дефицит железа у детей: распространенность, взаимосвязь с системой HLA, влияние на поствакцинальный иммунный ответ. Мать и дитя в Кузбассе. 2003; 1 (12): 32–33.
44. Varsovi V.V. Iron deficiency in children: prevalence, relationship with the HLA system, impact on the post-vaccination immune response. Mother and Baby in Kuzbass. 2003; 1 (12): 32–33.
45. Zheng JD, He Y, Yu HY [et al.]. Unconjugated bilirubin alleviates experimental ulcerative colitis by regulating intestinal barrier function and immune inflammation. World J Gastroenterol. 2019; 25 (15): 1865–1878. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i15.1865>.
46. Rosa A, Pye VE, Graham C [et al.]. SARS-CoV-2 recruits a haem metabolite to evade antibody immunity. medRxiv [Preprint]. 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.01.21.21249203>.

Статья поступила / Received 08.07.2022

Получена после рецензирования / Revised 15.07.2022

Принята в печать / Accepted 08.08.2022

Сведения об авторах

Ерещенко Алена Анатольевна, ассистент кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой. E-mail: pystnica131902@gmail.com. ORCID: 0000-0002-4221-4440

Гусьякова Оксана Анатольевна, д.м.н., доцент, зав. кафедрой фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, зав. клинико-диагностической лабораторией Клиник СамГМУ. E-mail: kaf_biokhim@samsmu.ru. ORCID: 0000-0002-5619-4583

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

Автор для переписки: Ерещенко Алена Анатольевна.
E-mail: pystnica131902@gmail.com

Для цитирования: Ерещенко А.А., Гусьякова О.А. Лабораторная оценка состояния поствакцинального гуморального иммунитета к инфекциям с аэрозольным механизмом передачи. Медицинский алфавит. 2022; (19): 50–54. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-50-54>.

About authors

Ereshchenko Alyona A., assistant at Dept of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostics. E-mail: pystnica131902@gmail.com. ORCID: 0000-0002-4221-4440

Gusyakova Oksana A., DM Sci (habil.), associate professor, head of Dept of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostics, head of Clinical Diagnostic Laboratory of the Clinics of Samara State Medical University. E-mail: kaf_biokhim@samsmu.ru. ORCID: 0000-0002-5619-4583

Samara State Medical University, Samara, Russia

Corresponding author: Ereshchenko Alena A. E-mail: pystnica131902@gmail.com

For citation: Ereshchenko A.A., Gusyakova O.A. Laboratory assessment of state of post-vaccination humoral immunity to infections with aerosol transmission mechanism. Medical alphabet. 2022; (19): 50–54. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-50-54>.



Модели машинного обучения при анализе биомаркеров хронического пародонтита

В. П. Мудров^{1,2}

¹ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

²ГБУЗ г. Москвы «Диагностический клинический центр № 1 Департамента здравоохранения Москвы»

РЕЗЮМЕ

Пародонтит – многофакторное воспалительное хроническое заболевание, инициированное дисбиозом комменсальной микробиоты полости рта. С появлением мультиомного подхода, создающего наборы данных с многочисленными функциями, важным методом в трансляционных исследованиях стали алгоритмы машинного обучения. Наиболее эффективные методы идентификации высокоспецифических взаимодействий биомаркеров с клиническими параметрами и их реализация в точно интерпретируемые клинические диагнозы – это алгоритмы машинного обучения. Целью исследования стала оценка значимых для прогноза тяжести пародонтита показателей лабораторной диагностики с помощью моделей машинного обучения. Обследовано 133 пациента в возрасте от 22 до 73 лет с диагнозом «хронический пародонтит», а также 53 человека без патологии пародонта. После проведения осмотра и оценки состояния пародонта пациентов брали биологическую пробу зубодесневой жидкости. Методом ПЦР в реальном времени оценивалась пародонтопатогенная микрофлора, мРНК провоспалительных цитокинов. В смешанной слюне оценивались клетки врожденного и приобретенного иммунитета. Машинное обучение проводили с помощью алгоритмов логистической регрессии, наивного классификатора Байеса, «случайного леса» с обучением на 25%. При обучении на 25% наивный байесовский классификатор показал точность 23%, логистическая регрессия – 29%. «Случайный лес» показал точность 100% и выбрал следующие биомаркеры, связанные с тяжестью пародонтита: *Porphyromonas endodontalis*; клетки CD3⁺, CD14⁺, CD19⁺5-B27⁺; мРНК IL-1 β , IL-10, IL-18, GATA3, TNF α , TLR4. При хроническом пародонтите существует связь между локальными показателями иммунновоспалительного процесса, такими как мРНК провоспалительных цитокинов, клетками иммунной системы и тяжестью патологии. В анализе такого многофакторного заболевания, как хронический пародонтит, следует использовать модель машинного обучения, оптимизированную для большого набора разнородных данных с большим объемом выборки пациентов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пародонтит, машинное обучение, случайный лес, мРНК, цитокины.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Machine learning models for analysis of biomarkers of chronic periodontitis

V. P. Mudrov^{1,2}

¹Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Moscow, Russia

²Diagnostic Clinical Centre No. 1, Moscow, Russia

SUMMARY

Periodontitis is a multifactorial inflammatory chronic disease initiated by dysbiosis of the commensal microbiota of the oral cavity. With the advent of the multi-ohm approach, which creates datasets with multiple features, machine learning algorithms have become an important technique in translational research. The most effective methods for identifying highly specific interactions of biomarkers with clinical parameters and their implementation in interpretable accurate clinical diagnoses are machine learning algorithms. The aim of the study was to evaluate laboratory diagnostic indicators that are significant for predicting the severity of periodontitis using machine learning models. We examined 133 patients aged 22 to 73 years with a diagnosis of chronic periodontitis, as well as 53 people without periodontal pathology. After the examination and assessment of the condition of the periodontium of patients, a biological sample of the periodontal fluid was taken. Real-time PCR was used to evaluate periodontopathogenic microflora and mRNA of pro-inflammatory cytokines. Cells of innate and acquired immunity were evaluated in mixed saliva. Machine learning was performed using logistic regression algorithms, naive Bayes classifier, 'the Random Forest' with 25% training. When trained to 25%, the naive Bayes classifier showed an accuracy of 23%, logistic regression – 29%. 'The Random Forest' showed 100% accuracy and selected the following biomarkers associated with periodontitis severity: *Porphyromonas endodontalis*; CD3⁺, CD14⁺, CD19⁺5-B27⁺ cells; mRNA IL-1 β , IL-10, IL-18, GATA3, TNF α , TLR4. In chronic periodontitis, there is a relationship between local indicators of the immune-inflammatory process, such as mRNA of pro-inflammatory cytokines, cells of the immune system, and the severity of pathology. In the analysis of a multifactorial disease such as chronic periodontitis, a machine learning model optimized for a large heterogeneous data set with a large patient sample should be used.

KEY WORDS: periodontitis, machine learning, Random Forest, mRNA, cytokines.

CONFLICT OF INTEREST. The author declares no conflict of interest.

Введение

Технологии искусственного интеллекта (ИИ) широко внедряются в широкий спектр стоматологических специальностей. Задействованные при этом модели ИИ основаны на сверточных нейронных сетях и искусственных нейронных сетях. Эти модели ИИ используются для диа-

гностики кариеса зубов, вертикальных переломов корней, гайморита, челюстно-лицевых кист, метастазов в шейные лимфатические узлы, остеопороза, пародонтита и потери альвеолярной кости [1, 2]. Но возникает другая проблема, связанная с тем, что построенная модель машинного обу-

чения запоминает огромное количество всевозможных данных вместо того, чтобы научиться выявлять особенности. Современные модели глубокого обучения, построенные на нейросетях, хорошо работают именно в ситуации запоминания изображений, распознавания лиц, идентификации компьютерных томограмм и гистологических срезов. Но в анализе массива биомаркеров такая переобученная система может выдать результат, желаемый исследователю.

М. М. Бонгард-Полонский (1967) сформулировал проблему переобучения, заключающуюся в хорошей интерпретации построенной моделью примеров из обучающей выборки, но плохо работающей на данных, не участвовавших в обучении: «Если перед нами два класса – животные и растения, то куда отнести сковородку?..» [3]. Способы борьбы с переобучением зависят от метода моделирования и способа построения модели. Так как «случайный лес» состоит из множества деревьев принятия решений, то можно обрезать отдельные ветви в процессе построения обучения. Другим способом решения проблемы переобучения является увеличение количества данных для машинного обучения.

Пародонтит – многофакторное воспалительное хроническое заболевание, инициированное дисбиозом комменсальной микробиоты полости рта, характеризующееся прогрессирующим разрушением нормальной структуры костной ткани альвеолярного отростка челюсти, ведущее к потере зубов и снижению качества жизни пациентов [4].

Благодаря доказательствам ключевой роли иммунных механизмов остеопороз признан хроническим иммуноопосредованным заболеванием. Успехи остеоиммунологии позволили выделить важную роль иммунных факторов в патологии костной системы и существенно пересмотреть представления о механизмах развития различных заболеваний скелета, в том числе остеопороза [5].

Репарация и регенерация костной ткани – сложный процесс с участием множества клеток, регулируемый многими факторами. Иммунные клетки и цитокины играют решающую роль в регулировании баланса костеобразования и резорбции кости. Регуляция иммунного микроокружения является многообещающей терапевтической целью, способствующей функциональной регенерации костной ткани. В то же время мы все еще сталкиваемся с проблемами выбора иммунных клеток и иммунных факторов в качестве мишеней для терапии регенерации кости

для создания эффективного иммунного микроокружения, а также с проблемой сочетания регуляции иммунного микроокружения с инженерией костной ткани.

Пародонтальная диагностика является основой успешной пародонтологической стратегии, поскольку планы профилактики и лечения зависят от точности и достоверности соответствующей диагностики. Диагностика пародонта по-прежнему основывается на клинических и радиологических параметрах, обеспечивающих ограниченную клиническую поддержку из-за многофакторности сложной пародонтальной патологии. В связи с этим биомаркеры были введены в классификацию периодонтальных и периимплантатных заболеваний в качестве шага к прецизионной пародонтологии.

Поскольку основа точной медицины представлена биомаркерами и алгоритмами машинного обучения, а пародонтальные маркеры, валидированные для диагностического использования, отсутствуют, внедрение прецизионной медицины в пародонтологию находится на начальном этапе [6].

Известно множество биомаркеров остеопороза, факторов роста, цитокинов и других показателей гомеостаза костной ткани [7, 8, 9, 10]. При рассмотрении сложных многофакторных заболеваний, как пародонтит или остеопороз, комбинированная оценка клинических параметров с несколькими биомаркерами, как ожидается, обеспечивает более точную диагностическую информацию. С появлением мультиомного подхода, создающего наборы данных с многочисленными функциями, важным методом в трансляционных исследованиях стали алгоритмы машинного обучения. Распространенной причиной разрыва между исследованием биомаркеров и их внедрением в клиническую практику является отсутствие соответствующих инструментов для интерпретации комплексных данных. Наиболее эффективные методы идентификации высокоспецифических взаимодействий биомаркеров с клиническими параметрами и их реализация в точно интерпретируемые клинические диагнозы – это алгоритмы машинного обучения.

Цель исследования: оценка значимых для прогноза тяжести пародонтита показателей лабораторной диагностики с помощью моделей машинного обучения и смешанной слюны.

Материалы и методы

Обследованы 133 пациента в возрасте от 22 до 73 лет с диагнозом «хронический пародонтит», а также 53 человека без патологии пародонта (см. табл.). После проведения осмотра и оценки состояния пародонта пациентов брали биологическую пробу зубодесневой жидкости.

Методом ПЦР в реальном времени оценивалась пародонтопатогенная микрофлора (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*) (ООО НПФ «Литех», Россия) и мРНК провоспалительных биомаркеров: IL-1 β , IL-10, IL-18, TNF α , TLR 4, GATA3, CD68 (ООО «ДНК-технология», Россия). В гингивально-кревikuлярной

Таблица
Гендерно-возрастной состав пациентов без патологии пародонта и пациентов с различной степенью тяжести хронического пародонтита

Степень тяжести, пол / возраст	Контроль	Легкая	Средняя	Тяжелая
Мужчины	n = 29 Me = 35 LQ = 22 UQ = 46	n = 17 Me = 59 LQ = 46 UQ = 65	n = 21 Me = 64 LQ = 59 UQ = 67	n = 14 Me = 57 LQ = 41 UQ = 63
Женщины	n = 24 Me = 38 LQ = 24 UQ = 44	n = 21 Me = 62 LQ = 49 UQ = 67	n = 37 Me = 61 LQ = 58 UQ = 67	n = 23 Me = 65 LQ = 59 UQ = 71

Примечание: Me – медиана, LQ – минимум, UQ – максимум.

жидкости определялись фактор некроза опухоли α (TNF- α), интерферон- γ (IFN γ), интерлейкины 1 β , 4, 6, 10, 18 (IL), фактор роста эндотелия сосудов человека (VEGF) (АО «Вектор-Бест», Россия). В смешанной слюне оценивались клетки врожденного и приобретенного иммунитета: CD3 $^{+}$, CD4 $^{+}$, CD8 $^{+}$, CD3 $^{+}$ HLA-DR $^{+}$, CD64 $^{+}$ 16 $^{+}$ 14 $^{-}$, CD4 $^{+}$ 25 $^{+}$ 127 $^{+}$ Low, CD3 $^{+}$ 16 $^{+}$ 56 $^{+}$, CD3 $^{-}$ 16 $^{+}$ 56 $^{+}$, CD4 $^{+}$, CD14 $^{+}$ HLA-DR $^{+}$, CD19 $^{+}$, CD19 $^{+}$ HLA-DR $^{+}$, CD9 $^{+}$ 5 $^{+}$ B27 $^{-}$, CD19 $^{+}$ 5 $^{+}$ B27 $^{-}$, CD19 $^{+}$ 5 $^{+}$ B27 $^{+}$ (Beckman Coulter, США).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 12.0 (StatSoft, США). В качестве критерия достоверности использовали статистический параметр Манна – Уитни и Краскела – Уоллиса ($p < 0,05$). Корреляцию данных оценивали по критерию Спирмена. Машинное обучение проводили с помощью алгоритмов логистической регрессии, наивного классификатора Байеса, «случайного леса» с обучением на 25 %. Код машинного обучения создан на языке Python с использованием библиотек Pandas для вычисления корреляции, Seaborn и Matplotlib для создания диаграмм.

Результаты

Пародонтопатогенные микроорганизмы в содержимом пародонтальных карманов были выявлены в различном сочетании и концентрации у всех обследуемых от 10^2 до 2×10^6 ГЭ/мл как с различными степенями тяжести хронического пародонтита, так и без патологии пародонта. У 32 % пациентов контрольной группы ДНК *P. endodontalis* выявлялась в концентрации до $2,2 \times 10^6$ ГЭ/мл. При различной степени патологии пародонта с достоверно значимыми различиями между группами ($p < 0,05$) в 78,9 % была обнаружена ДНК *P. endodontalis* у пациентов с легкой степенью тяжести (Me = 1873 ГЭ/мл). При средней степени поражения пародонтальной ткани микроорганизм выявлен у 58,6 % (Me = 1566 ГЭ/мл) и 70,3 % при тяжелой степени тяжести (Me = 4193 680 ГЭ/мл).

Исследование уровня IL-18 в зубодесневом кармане при различных

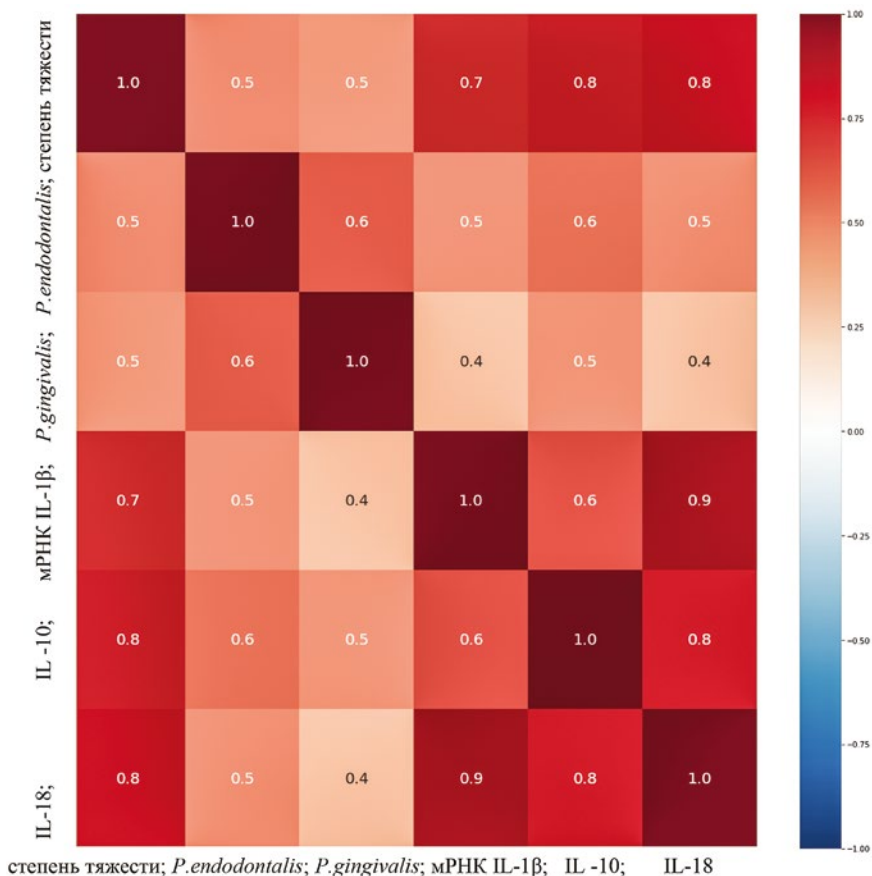


Рисунок 1. Корреляция степени тяжести пародонтита и *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, IL-1 β , IL-10, IL-18.

степенях тяжести пародонтита выявило статистически значимое увеличение от 14,4 до 48,0 пг/мл по мере утяжеления заболевания и в сравнении с контрольной группой. Сходная картина была выявлена для VEGF: легкая степень тяжести пародонтита – Me = 64,20 пг/мл; средняя – Me = 96,41 пг/мл; тяжелая – Me = 168,00 пг/мл; без патологии пародонта – Me = 2,10 пг/мл.

При средней и тяжелой степени тяжести пародонтита был выявлен более высокий диапазон значений концентрации мРНК провоспалительных цитокинов. При тяжелой степени пародонтита мРНК IL-1 β был Me = 26,34 [LQ = 12,1; UQ = 31,6] по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$). Концентрация мРНК IL-10 при этой степени тяжести составила Me = 26,23, при средней степени – Me = 2,15, при легкой – Me = 1,52.

Исследование относительного количества моноцитов CD14 $^{+}$, В-лимфоцитов различных классов и уровня регуляторных Т-лимфоцитов CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$ CD27 low при различных степенях тяжести пародонтита выявило статистически значимое снижение количества этих клеток по сравнению с контрольной группой. Был выявлен повышенный уровень нейтрофилов CD64 $^{+}$ CD6 $^{+}$ CD14 $^{-}$, Me = 36,16 % по сравнению с контрольной группой, Me = 7,70 % ($p < 0,05$).

Алгоритм машинного обучения на основе различных моделей с обучением на 25 % выбрал из множества данных корреляционные отношения ($r > \pm 0,5$) для проведения дальнейшего анализа оператором. По результатам проведенных исследований, были выявлены корреляции между тяжестью пародонтита, мРНК маркеров воспаления, клетками иммунного ответа и VEGF. Была выявлена положительная корреляция степени тяжести пародонтита и *Porphyromonas endodontalis*; *Porphyromonas gingivalis*; мРНК: IL-1 β , IL-10, IL-18 (рис. 1).

Изучение связи степени тяжести пародонтита и клеток мукозальной иммунной системы выявило отрицательную корреляцию тяжести и клеток CD19 $^{+}$ 5 $^{+}$ B27 $^{+}$. Также была определена связь между активированными моноцитами CD14 $^{+}$ HLA-DR $^{+}$ и лимфоцитами CD3 $^{+}$ (рис. 2).

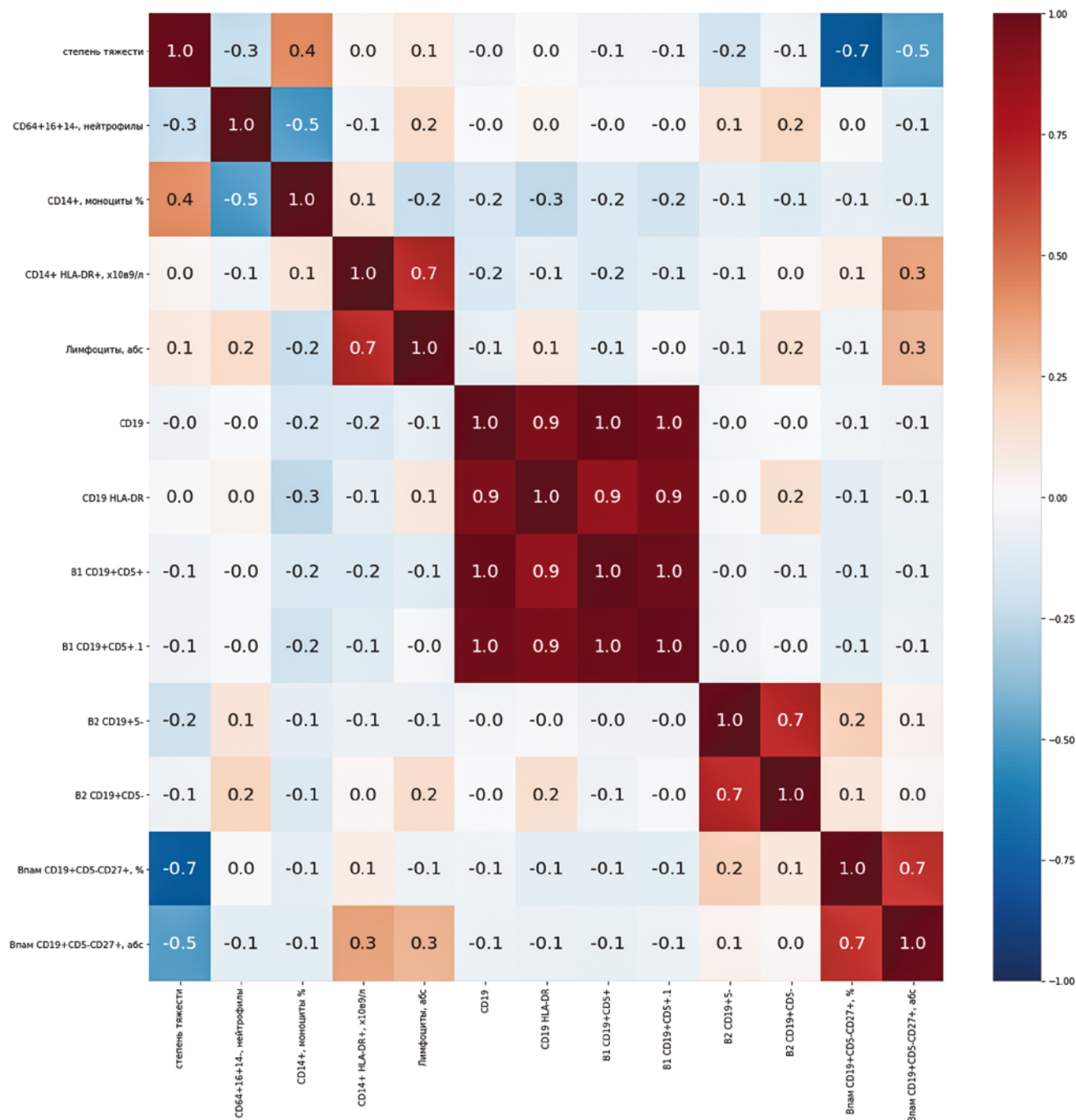


Рисунок 2. Корреляция степени тяжести пародонтита, CD3⁺, CD64⁺16⁺14⁺, CD14⁺, CD14⁺HLA-DR⁺, CD9⁺, CD19⁺HLA-DR⁺, CD19⁺5⁺B27⁺, CD19⁺5⁺B27⁻.

При обучении на 25 % наивный байесовский классификатор показал точность 23 %, логистическая регрессия – 29%. «Случайный лес» показал точность 100% и выбрал следующие биомаркеры, связанные с тяжестью пародонтита: *Porphyromonas endodontalis*; клетки CD3⁺, CD14⁺, CD19⁺5⁺B27⁺; мРНК IL-1β, IL-10, IL-18, GATA3, TNF-α, TLR4.

Обсуждение

Наивный байесовский классификатор (*k-naive Bayes*), имеющий преимущество в легкости построения модели, не выявил корреляций и показал «проблему нулевой условной вероятности». При большом количестве данных эффективность классификации наивной байесовской моде-

ли низкая. Аналогичную картину показала логистическая регрессия. Можно сделать предположение, что при большом массиве разнородных данных эти модели машинного обучения выявить корреляции не могут.

«Случайный лес» выявил с хорошей точностью большое количество связей, как положительных, так и отрицательных. Наше исследование показало перспективным направление мукозального иммунитета и необходимость включения в диагностику пародонтита данных о состоянии локальной иммунной системы.

В более ранней работе, исследовавшей биомаркеры остеопороза и полиморфизм генов метаболизма костной ткани, успешно применялась модель машинного обуче-

ния «случайный лес» и была обнаружена положительная корреляция между концентрацией остеопротегерина и уровнем IgA к *H. pylori* и IgG-антител к *M. hominis*, *M. pneumoniae* [11]. Следует отметить, что в том исследовании биоматериалом служила кровь, а в исследовании пародонтита биоматериалом была жидкость пародонтального кармана и смешанная слюна. То есть в одном случае исследовался системный биоматериал, отражающий системное заболевание, в другом случае – локальный биоматериал, характеризующий местный воспалительный процесс. Тем не менее оба исследования при помощи машинного обучения показали связь инфекционного иммуновоспалительного процесса с потерей костной ткани. При этом в патологическом иммуновоспалительном процессе, как локальном, так и системном, важную роль играют цитокины [12, 13].

Но несмотря на то что в обеих работах было использовано большое число биомаркеров, с позиции мультиомики, таких данных недостаточно и утверждать, что потеря костной массы связана с конкретным патогенным микроорганизмом, нельзя. Поэтому необходимы исследования состояния пародонта на большом массиве разнородных клинико-лабораторных данных с привлечением алгоритмов машинного обучения.

Заключение

При хроническом пародонтите существует связь между локальными показателями иммуновоспалительного процесса, такими как мРНК провоспалительных цитокинов, клетками иммунной системы и тяжестью патологии. В анализе такого многофакторного заболевания, как хронический пародонтит, следует использовать модель машинного обучения, оптимизированную для большого набора разнородных данных с большим объемом выборки пациентов.

Благодарности

Автор выражает признательность Нелюбину В. Н. (МГМСУ имени А. И. Евдокимова, Москва, Россия), Иванову С. Ю., Мяндиёву М. С., Фоменкову И. С. (Первый МГМУ имени И. М. Сеченова, Москва, Россия), Мураеву А. А. (РУДН, Москва, Россия) за помощь в организации и сборе биоматериала, Милю Йовичичу (Белградский университет, Белград, Сербия) за существенную помощь в разработке модели машинного обучения, Казакову С. П. (ГВКГ имени Н. Н. Бурденко, РМАНПО, Москва, Россия) за критические замечания в процессе исследования.

Сведения об авторе

Мудров Валерий Павлович, к.м.н., ассистент кафедры медицинской биохимии и иммунопатологии Академического образовательного центра фундаментальной и трансляционной медицины¹, врач клинической лабораторной диагностики лабораторного отделения².
ORCID: 0000-0003-1129-8335

¹ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

²ГБУЗ г. Москвы «Диагностический клинический центр № 1 Департамента здравоохранения Москвы»

Для переписки: Мудров Валерий Павлович. E-mail: vpmudrov@yandex.ru

Для цитирования: Мудров В.П. Модели машинного обучения при анализе биомаркеров хронического пародонтита. Медицинский алфавит. 2022; (19): 55–59. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-55-59>.

Список литературы / References

1. Ahmed N., Abbasi M. S., Zuberi F., Qamar W., Halim M. S. B., Maqsood A., Alam M. K. Artificial intelligence techniques: analysis, application and outcome in dentistry – A systematic review. Biomed Research International. 2021; 2021: 9751564. DOI: 10.1155/2021/9751564.
2. Khanagar S. B., Al-Ehaideb A., Maganur P. C., Vishwanathaiah S., Patil S., Baeshen H. A., Sarode S. C., Bhandi S. Developments, application, and performance of artificial intelligence in dentistry – A systematic review. Journal of dental sciences. 2021; 16 (1): 508–522. DOI: 10.1016/j.jds.2020.06.019.
3. Бонгард М. М. Проблема узнавания. М. Наука. 1967. с. 320.
Bongard M. M. The problem of recognition. M. Science. 1967. p. 320.
4. Patil S., Albogami S., Hosmani J., Mujoo S., Kamil M. A., Mansour M. A., Abdul H. N., Bhandi S., Ahmed S. S. J. Artificial intelligence in the diagnosis of oral diseases: applications and pitfalls. Diagnostics (Basel). 2022; 12 (5): 1029. DOI: 10.3390/diagnostics12051029.
5. Казаков С. П., Иванов С. Ю., Мудров В. П., Мураев А. А., Ямуркова Н. Ф., Скуинь Л. М., Степанова Е. Н., Рябова В. М., Ибрагимова Ю. Ш., Антонов И. И. Клинико-иммунологическая диагностика и терапия хронического пародонтита. Москва, Эко-Пресс. 2022. с. 136.
Kazakov S. P., Ivanov S. Yu., Mudrov V. P., Muraev A. A., Yumurkova N. F., Skuin L. M., Stepanova E. N., Ryabova V. M., Ibragimova Yu. Sh., Antonov I. I. Clinical and immunological diagnosis and therapy of chronic periodontitis. Moscow, Eco-Press. 2022. p. 136.
6. Rakic M., Pejicic N., Perunovic N., Vojvodic D. A Roadmap towards precision periodontics. Medicina (Kaunas). 2021; 57 (3): 233–244. doi.org/10.3390/medicina57030233
7. Kuo T.-R., Chen C.-H. Bone biomarker for the clinical assessment of osteoporosis: recent developments and future perspectives. Biomarker research. 2017; 5 (18): 1–9. DOI: 10.1186/s40364-017-0097-4.
8. Гизатуллин Ш. Х. Синдром костно-минеральных нарушений – начальные проявления остеопороза у больных нейрохирургического профиля (патогенез и иммунопатогенез, клиническая лабораторная диагностика, алгоритм лечения, хирургическая тактика). Учебное пособие. Ш. Х. Гизатуллин, С. П. Казаков, В. Ю. Курносенко. Москва: Эко-Пресс. 2019. 94 с.
Gizatullin Sh. Kh. The syndrome of bone and mineral disorders is the initial manifestations of osteoporosis in neurosurgical patients (pathogenesis and immunopathogenesis, clinical laboratory diagnostics, treatment algorithm, surgical tactics). Tutorial. Sh. Kh. Gizatullin, S. P. Kazakov, V. Yu. Kurnosenko. Moscow: Eco-Press. 2019. 94 p.
9. Smets J., Shevroja E., Hügle T., Leslie W. D., Hans D. Machine learning solutions for osteoporosis – A Review. Journal of bone and mineral research. 2021; 36 (5): 833–851. DOI: 10.1002/jbmr.4292.
10. Kinney J. S., Morelli T., Oh M., Braun T. M., Ramseier C. A., Sugai J. V., Giannobile W. V. Crevicular fluid biomarkers and periodontal disease progression. Journal of clinical periodontology. 2014; 41 (2): 113–120. DOI: 10.1111/jcpe.12194.
11. Мудров В. П., Йовичич М. Машинное обучение в поиске прогностически значимых тестов для лабораторной диагностики остеопороза. Справочник заведующего КДЛ. 2020; (1): 44–56.
Mudrov V. P., Jovicic M. Machine learning in the search for prognostically significant tests for laboratory diagnosis of osteoporosis. Directory of the head of the CDL. 2020; (1): 44–56.
12. Казаков С. П. Уровень цитокинов и молекул межклеточной адгезии в плазме крови и их диагностическая эффективность при аутоиммунных и онкологических заболеваниях щитовидной железы. Медицинская иммунология. 2010; 12 (6): 559–564.
Kazakov S. P. The level of cytokines and intercellular adhesion molecules in blood plasma and their diagnostic efficiency in autoimmune and oncological diseases of the thyroid gland. Medical Immunology. 2010; 12 (6): 559–564.
13. Казаков С. П., Заботина Т. Н., Кушлинский Н. Е. Соотношения (индексы) цитокинов, молекул межклеточной адгезии в плазме крови, их диагностическая эффективность у больных с аутоиммунными тиреоидитами, аденомами и раком щитовидной железы. Медицинский вестник МБД. 2010; 6 (49): 25–29.
Kazakov S. P., Zabolina T. N., Kushlinsky N. E. Ratios (indices) of cytokines, intercellular adhesion molecules in blood plasma, their diagnostic efficiency in patients with autoimmune thyroiditis, adenomas and thyroid cancer. Medical Bulletin of the Ministry of Internal Affairs. 2010; 6 (49): 25–29.

Статья поступила / Received 16.08.2022
Получена после рецензирования / Revised 20.08.2022
Принята в печать / Accepted 20.08.2022

About author

Mudrov Valery P., PhD Med, assistant at Dept of Medical Biochemistry and Immunopathology of the Academic Educational Centre for Fundamental and Translational Medicine¹, doctor of Clinical Laboratory Diagnostics of Laboratory Dept². ORCID: 0000-0003-1129-8335

¹Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Moscow, Russia

²Diagnostic Clinical Centre No. 1, Moscow, Russia

For correspondence: Mudrov Valery P. E-mail: vpmudrov@yandex.ru

For citation: Mudrov V. P. Machine learning models for analysis of biomarkers of chronic periodontitis. Medical alphabet. 2022; (19): 55–59. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-55-59>.



XI Национальный конгресс
с международным участием
имени Н.О. Миланова

ПЛАСТИЧЕСКАЯ ХИРУРГИЯ, ЭСТЕТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА И КОСМЕТОЛОГИЯ

Участие в мероприятии
БЕСПЛАТНОЕ!

16+ Реклама

 **29 ноября – 01 декабря 2022**

 **Центр Международной Торговли, Москва**

Конгресс-оператор:
Ассоциация «Междисциплинарный Медицинский Альянс»
Телефоны: +7 (495) 174-70-07
Электронная почта: plastsur@mdma.msk.ru



Подписка на журнал 2022 год



Медицинский алфавит

«Медицинский алфавит». Серия **«Современная лаборатория»**

Стоимость печатной версии журнала при подписке через редакцию составляет 700 руб. за номер, электронной версии – 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

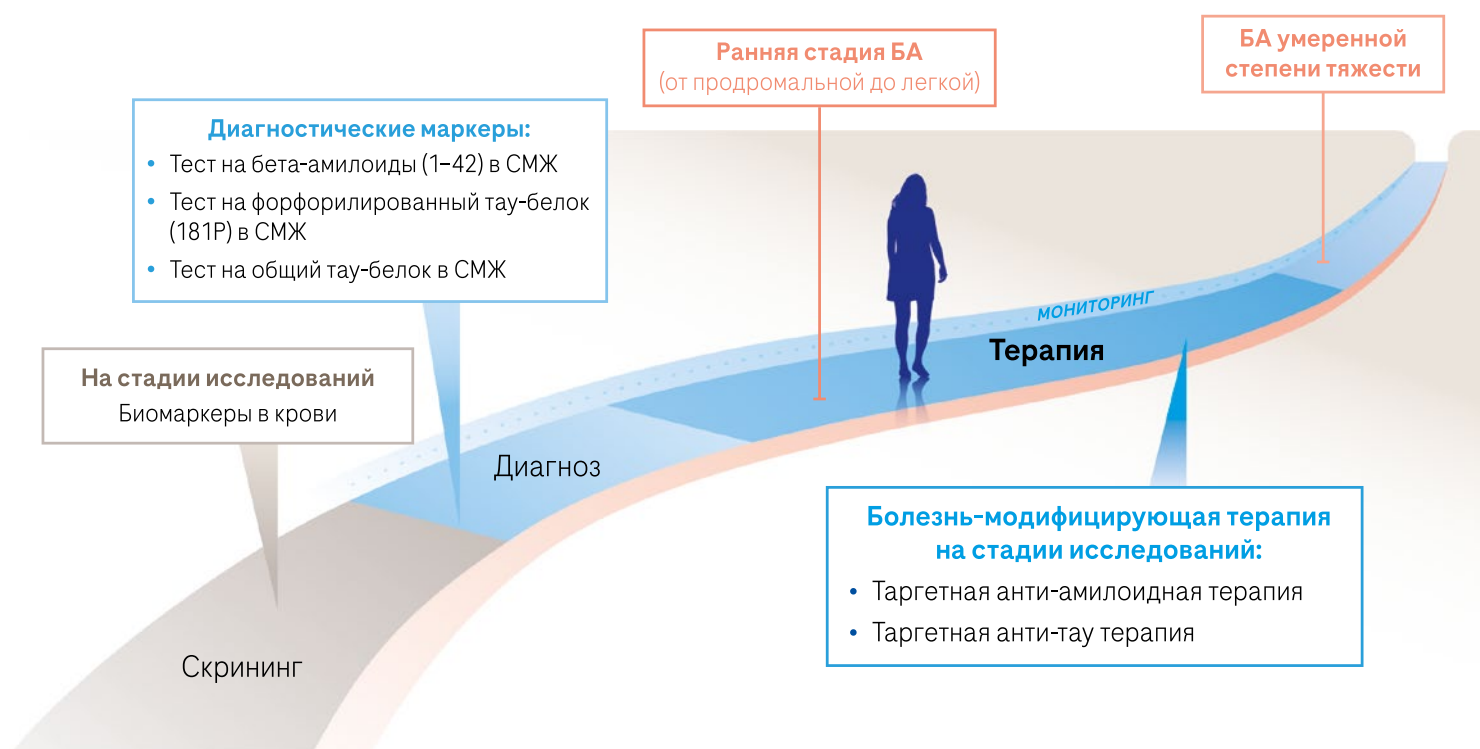
1. Оплатить квитанцию в любом отделении Сбербанка у кассира с получением кассового чека. Журналы высылаются в том случае, если вы сообщили адрес доставки на электронную почту издательства. Отправить скан квитанции с кассовым чеком, выданным кассиром банка, на e-mail medalfavit_pr@bk.ru или podpiska.ma@mail.ru.
2. Оплата через онлайн-банки издательством принимается только на сайте <https://medalfavit.ru/podpiska-na-zhurnaly/> в разделе «Издательство медицинской литературы».

Смертность от болезни Альцгеймера и других форм деменции вошла в десятку ведущих причин смерти в мире

Патологические изменения при болезни Альцгеймера могут возникнуть за 20 и более лет до начала снижения когнитивных функций:

- Отложение бета-амилоидов в коре (за счет избыточной выработки или сниженного клиренса)
- Накопление дефектного тау-белка, формирующего нейрофибриллярные клубки

Перспективные разработки открывают возможности для скрининга, ранней и точной диагностики, а также болезнь-модифицирующей терапии



БА — болезнь Альцгеймера; СМЖ — спинномозговая жидкость.

1. 10 ведущих причин смерти в мире <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>; 2. Jack CR Jr, et al. Lancet Neurol 2010;9:119–28; 3. Jack CR Jr, et al. Lancet Neurol. 2013;12(2):207–216; 4. Bittner T et al. Alzheimers Dement. 2016;12:517–526; 5. Lifke V et al. Poster presented at: 10th Clinical Trials on Alzheimer's Disease (CTAD); 01–04 November 2017; Boston, MA; 6. Hansson O et al. Alzheimers Dement. 2018;4:1470–1481; 7. Adolfsson O et al. J Neuroscience. 2012; 32:9677–9689; 8. Ultsch M et al. Sci Rep. 2016; 39374; 9. Tariot PN, et al. Alzheimers Dement (N.Y.). 2018;4:150–160; 10. Bohrmann B et al. J Alzheimers Dis. 2012;28:49–69; 11. Ostrowitzki S et al. Arch Neurol. 2012; 69:198–207; 12. Nikolcheva T et al. Oral presentation at: 8th Clinical Trials on Alzheimer's Disease (CTAD); 5–7 November 2015; Barcelona, Spain; ClinicalTrials.gov (NCT03289143). <https://clinicaltrials.gov/show/NCT03289143>.