

Серии научно-практических рецензируемых журналов



Медицинский АЛФАВИТ

№ 4 / 2024



Modern
LABORATORY

MEDICAL ALPHABET
Russian Professional Medical Journal

Современная ЛАБОРАТОРИЯ (1)



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



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

Научный сайт журнала
www.med-alpha.com

Медицинский портал
издательства
www.medalfavit.ru

Издательство медицинской
литературы

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

Учредитель и главный редактор
издательства
Татьяна Владимировна Синецка

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 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: 36 номеров в год.

Подписано в печать 15.03.2024.

Формат А4. Цена договорная.

© Медицинский алфавит, 2024

Содержание

- 7 Возможности проточной цитометрии, ПЦР и секвенирования в ранней диагностике активности атеросклероза (обзор литературы)
А. П. Ройтман, Н. С. Маркина, В. В. Долгов
- 11 Кальций-ассоциированные связи маркеров костного обмена на фоне гипокальциемии в персональных наблюдениях
А. В. Соломенников, С. Л. Богданова, А. И. Тюкавин, Н. А. Арсениев, А. А. Барыкина
- 17 СА-125 в популяционном скрининге и персонализированном мониторинге
Н. А. Ковязина, Н. А. Алхутова, О. Л. Жижина, С. С. Алексанин
- 22 Анализ содержания биомаркеров эндотелиальной дисфункции у пациентов с окклюзиями сосудов сетчатки различного генеза
К. И. Бельская, Л. К. Моштова, С. П. Казаков
- 28 Значение коэффициента вариации (CV) как критерия выбора аналитической системы для иммунохимических исследований
В. Е. Колупаев
- 35 Динамика показателей эритропоза в зависимости от ведущего патогенетического фактора и лечебной тактики у пациентов с циррозом печени
О. В. Рыбина, В. Т. Сахин, Е. В. Крюков, А. В. Губкин, О. А. Рукавицын
- 42 Анализ лекарственной устойчивости *Plasmodium falciparum* – возбудителя завозной тропической малярии в Санкт-Петербурге (молекулярно-генетическое исследование)
А. Р. Арюков, В. А. Капачына, А. И. Соловьев, А. Н. Коваленко, В. А. Романенко, Р. В. Гудков, А. С. Зинин
- 46 Роли участников системы наблюдения за медицинскими изделиями *in vitro* после начала применения
К. Т. Момыналиев, В. С. Берестовская, О. С. Калачева, А. В. Эмануэль
- 50 Эффект *Sedimentum Lateritium XVI* века раскрывает роль ренальных дисфункций в коморбидности болезней XXI века
А. В. Яковлева, К. Т. Момыналиев, М. Г. Залеский, Н. А. Верлов, И. И. Скибо, В. Л. Эмануэль
- 55 Сезонные коронавирусы и SARS-CoV-2: структурно-функциональные, клинико-эпидемиологические характеристики и гуморальный перекрестный иммунитет
Ю. В. Шабалина, С. А. Ельчанинова
- 60 Влияние коморбидной патологии и ее нозологических форм на уровень аннексина А5 у больных с вирусной пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2
А. Ш. Курмаева, Т. В. Прокофьева, О. С. Полунина, Е. А. Полунина
- 63 Оптимальный уровень витамина D как проблема современности
Л. Ю. Замаховская, С. В. Хабаров, В. Г. Волков

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 (II Квартиль) по специальностям:

- 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),
- 3.1.12. Анестезиология и реаниматология,
- 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 Л. 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

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: 36 issues per year.

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

Signed for press: 15 March 2024.

© 2024 Medical Alphabet

Contents

- 7 Possibilities of flow cytometry, PCR and sequencing in early diagnosis of atherosclerosis activity**
A. P. Roytman, N. S. Markina, V. V. Dolgov
- 12 Distinctive features of multidimensional relationships of hypercalcemia associated with dynamics of bone metabolism markers**
A. V. Solomennikov, S. L. Bogdanova, A. I. Tyukavin, N. A. Arseniyev, A. A. Barykina
- 18 CA-125 in population screening and personalized monitoring**
N. A. Kovyazina, N. A. Alkhotova, O. L. Zhizhuna, S. S. Aleksanin
- 22 Analysis of endothelial dysfunction biomarkers in patients with various cases of retinal vessel occlusion**
K. I. Belskaya, L. K. Moshetova, S. P. Kazakov
- 28 The significance of the coefficient of variation (CV) as a criterion for choosing an analytical system for immunochemical studies**
V. E. Kolupaev
- 35 Dynamic changes in erythropoiesis parameters depending on the leading pathogenetic factor and treatment in patients with liver cirrhosis**
O. V. Rybina, V. T. Sakhin, E. V. Kryukov, A. V. Gubkin, O. A. Rukavitsyn
- 42 Analysis of drug resistance in *Plasmodium falciparum* – the causative agent of imported tropical malaria in St. Petersburg (molecular-genetic research)**
A. R. Aryukov, V. A. Kapatsyna, A. I. Soloviev, A. N. Kovalenko, V. A. Romanenko, R. V. Gudkov, A. S. Zinin
- 46 Roles of participants of post-marketing surveillance system for in-vitro diagnostics medical devices**
K. T. Momynaliev, V. S. Berestovskaya, O. S. Kalacheva, A. V. Emanuel
- 50 The effect of Sedimentum Lateritium of the 16th century reveals the role of renal dysfunction in the comorbidity of diseases of the 21st century**
A. V. Iakovleva, K. T. Momynaliev, M. G. Zalesky, N. A. Verlov, I. I. Skibo, V. L. Emanuel
- 56 Seasonal coronaviruses and SARS-CoV-2: Structural, functional, clinical and epidemiological characteristics and humoral cross-immunity**
Yu. V. Shabalina, S. A. Elchaninova
- 60 Effect of comorbid pathology and its nosologic forms on annexin A5 levels in patients with SARS-COV-2-associated viral pneumonia**
A. Sh. Kurmaeva, T. V. Prokofieva, O. S. Polunina, E. A. Polunina
- 63 Optimal level of health D as a modern problem**
L. Yu. Zamakhovskaya, S. V. Khabarov, V. G. Volkov

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

- 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),
- 3.1.12 Anesthesiology and resuscitation,
- 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., Sevruk Z.V., Kopaeva L.B., Skibo I.I., Vavilova T.V. Determination of cut-off threshold of normalized ratio for determining lupus anti-coagulant in normal plasma of donors – healthy volunteers (large network laboratory study results). *Medical alphabet*. 2020; (5): 34–37. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-5-34-37>

Главный редактор журнала

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

Редакционный совет журнала

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Орлова Наталья Васильевна («Современная поликлиника»), д.м.н., проф., кафедра поликлинической терапии лечебного факультета ФГАОУ ВО «Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ (Москва)

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

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

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

Щербо Сергей Николаевич («Современная лаборатория»), д.м.н., проф., ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» (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, г. Омск

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

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

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

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

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

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

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

Editor-in-Chief

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

Editorial Board

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Scherbo S. N. (*Modern Laboratory*), DMSci (habil.), prof., Peoples' Friendship University of Russia n.a. Patrice Lumumba (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

Возможности проточной цитометрии, ПЦР и секвенирования в ранней диагностике активности атеросклероза (обзор литературы)

А. П. Ройтман, Н. С. Маркина, В. В. Долгов

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

РЕЗЮМЕ

Атеросклероз (АС) является многофакторным заболеванием, приводящим к повышению сердечно-сосудистых рисков. В настоящее время диагностика АС сводится к визуализирующим методам оценки атеросклеротической бляшки и лабораторным методам диагностики дислипидемий, которые не дают понимания активности процессов, происходящих в атеросклеротической бляшке. Цель данного обзора: обсудить потенциальные лабораторные маркеры активности АС. Важная роль в атерогенезе отводится макрофагам. Макрофаги имеют несколько фенотипов, определив которые можно сделать заключение об активности воспалительного процесса в бляшке. Не малую роль в развитии атеросклероза играют генетические маркеры, такие как микроРНК, кольцевые РНК и факторы, регулирующие их экспрессию. Перспективными для изучения данных маркеров являются методы проточной цитометрии, ПЦР и секвенирования. Маркеры активности атерогенеза являются необходимыми в диагностике, а также при выборе персонализированного лечения пациентов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: атеросклероз, макрофаги, микроРНК, кольцевые РНК, цитометрии, ПЦР, секвенирование.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Possibilities of flow cytometry, PCR and sequencing in early diagnosis of atherosclerosis activity

A. P. Roytman, N. S. Markina, V. V. Dolgov

Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

SUMMARY

Atherosclerosis (AS) is a multifactorial disease leading to increased cardiovascular risks. Currently, the diagnosis of AS is limited to imaging methods of atherosclerotic plaque assessment and laboratory methods of dyslipidemia diagnosis, which do not provide an understanding of the activity of processes occurring in the atherosclerotic plaque. The aim of this review: to generate potential markers of AS activity. Macrophages play an important role in atherogenesis. Macrophages have several phenotypes, determining which can be concluded about the activity of the inflammatory process in the plaque. Genetic markers, such as microRNAs, circular RNAs and factors regulating their expression, play an important role in the development of atherosclerosis. Methods of flow cytometry, PCR and sequencing are promising for studying these markers. Markers of atherogenesis activity are essential in diagnosis, as well as in the choice of personalized treatment of patients.

KEYWORDS: atherosclerosis, macrophages, microRNAs, circular RNAs, cytometry, PCR, sequencing.

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

Введение

Атеросклероз (АС) представляет собой изменения внутренней оболочки артерий (интимы), включающие накопление липидов, сложных углеводов, фиброзной ткани, компонентов крови, отложение солей кальция и сопутствующие изменения средней оболочки (медии) в артериальной стенке [1]. Артериальные кровеносные сосуды имеют 3 оболочки: внутренняя (*tunica intima*), средняя (*tunica media*) и наружная (*tunica adventicia*). В норме интима представлена одноклеточным эндотелиальным слоем, под которым находятся гладкомышечные клетки, погруженные в межклеточное вещество. Крупные сосуды имеют хорошо развитую адвентициальную оболочку и расположенные в ней сосуды сосудов (*vasavasa*) инервы сосудов (*nervivasa*) [2]. *Vasavasa* облегчают питание и оксигенацию крупным сосудам. В течение жизни с ростом организма человека растут и стенки сосудов. Особенностью крупных сосудов является диффузное утолщение интимы. У новорожденных детей стенка сосуда

полностью проницаема для поступления кислорода. К 5 годам оксигенация обеспечивается хуже, за счёт утолщения интимы, и появляются первые *vasavasa*, которые осуществляют оксигенацию адвентиции. К 25 годам интима диффузно утолщается и оксигенация осуществляется только в ней, *vasavasa* разрастаются более плотно в адвентиции, а в аорте прорастают и в медию [3]. Первые признаки АС в сосудах появляются у детей к 10 годам [4]. Существует множество теорий патогенеза АС: инфильтрационная, воспалительная, вирусная, аутоиммунная, гипергликемическая, теория дисфункции эндотелия и т.д. [5], подтверждая мультифакторность процесса.

В интимае сосудов липиды способны вступать в различные реакции, в основном: окисление и неферментативное гликирование, что изменяет их структуру. Модифицированные липиды становятся антигенами, способствуя запуску каскада активации иммунных клеток [6] и их миграции в сосудистую стенку. В попытке избежать

стенку сосудов от инфильтрации липидами макрофаги активируются и поглощают липиды, что приводит к незавершённому фагоцитозу и уменьшению подвижности макрофагов [3]. Вследствие чего выделяется ещё больше провоспалительных цитокинов, привлекая ещё больше иммунных клеток в очаг, образуя тем самым порочный круг. В связи с этими процессами возникает сдавление тканей сосудистой стенки, как липидными отложениями, так и местным отёком, вызванным воспалением. Сдавление сосудистой стенки так же вызывает сдавление *vasa vasorum*, питающих её [3]. В результате этого может ухудшаться кровоснабжение стенки сосуда и происходить неоваскуляризация [7]. При АС новообразованные сосуды *vasa vasorum* незрелые, хрупкие и склонные к излишней проницаемости сосудистой стенки, особенно среди сосудов, близких к атеросклеротическим бляшкам [8, 9].

Не существует отдельных клинических рекомендаций по лечению и диагностике АС. Как правило, АС упоминают в составе дислипидемий, ишемической болезни сердца и заболеваний крупных сосудов. В диагностике АС и нестабильности атеросклеротических бляшек, используются визуализирующие методы диагностики, такие как ультразвуковое исследование, сцинтиграфия, магнитно-резонансная томография и компьютерная томография, разрабатываются алгоритмы диагностики на основе этих методов [10, 11]. Визуализирующие методы, как правило, используются уже при наличии клинических проявлений и значительных размерах атеросклеротических бляшек. Однако, лабораторных методов диагностики активности АС как таковых не упоминается. На данный момент используются лабораторные методы исследований, направленные на диагностику дислипидемий (общий холестерин и его фракции, липопротеид (а), триглицериды, аполипопротеины), сосудистого воспаления (высокочувствительный СРБ, липопротеин А2, ассоциированная фосфолипаза) и сопутствующих заболеваний (например, сахарный диабет, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, церебральная микроангиопатия), которые не всегда коррелирует с тяжестью поражения сосудов и нестабильностью атеросклеротической бляшки [12]. Необходимы изучать и внедрять новые маркёры для исследования активности атеросклеротического процесса с использованием современных лабораторных технологий.

Цель: изучить новые потенциальные лабораторные биомаркеры активности АС.

Участие макрофагов в атерогенезе

Сформированные атеросклеротические бляшки подразделяют на стабильные и нестабильные [13, 14]. В состав атеросклеротических бляшек входят различные клетки иммунной системы. Макрофаги – важные компоненты врождённого иммунитета, имеющие различные фенотипы [15]. В зависимости от их поляризации различают М0, М1 и М2 макрофаги. В отсутствие стимулов макрофаги пребывают в состоянии М0 (неполяризованные, неактивные), являясь покоящимися клетками. Из М0 макрофагов путём активации появляются М1 и М2 поляризованные макрофаги. М1 макрофаги (поляризованные, классические,

провоспалительные) продуцируют провоспалительные цитокины, способствуя очищению очага воспаления. М2 макрофаги (поляризованные, альтернативные, прогенеративные, противовоспалительные) наоборот способствуют восстановлению тканей путём блокирования провоспалительных цитокинов [16–18]. Современные исследования показывают, что немалую роль играют не только макрофаги, но и Т-лимфоциты. В частности Т-регуляторные лимфоциты (Treg) являющиеся субпопуляцией Т-лимфоцитов, участвующих в регуляции иммунного ответа [19].

Нокдаун гена АпоЕ (АпоЕ^{-/-}) у мышей используется для моделирования АС, т.к. дефицит АпоЕ приводит к гиперхолестеринемии у мышей и быстрому развитию атеросклеротических изменений [20]. У мышей 10, 20, 30, 40, 50 и 60 недель при гиперхолестеринемии макрофаги проникают в артериальную стенку, что приводит к образованию жировых полос. Затем, в период между 30 и 40 недель, макрофаги активируются, что приводит к всплеску воспалительной активности, и в сочетании с быстрым накоплением эфиров холестерина в макрофагах приводит к формированию бляшек. Это является критическим шагом в атерогенезе, который может быть связан с плотностью макрофагов в артериальной стенке. При большой плотности макрофаги не только стимулируют себя (аутокринно), но также стимулируют друг друга (паракринно), что приводит к всплеску воспалительной активности и увеличению поглощения липидов [21].

Между нестабильными и стабильными бляшками наблюдается значительная разница в инфильтрации иммунными клетками [15]. Доля макрофагов М0, М1 и М2 значительно выше, а доля CD8⁺ Т-клеток и NK-клеток значительно ниже в нестабильных бляшках, чем в стабильных [22]. В моноцитах, инкубированных с Treg *in vitro*, увеличена (по сравнению с моноцитами, инкубированными с наивными Т-лимфоцитами) экспрессия mPINK и белков, способствующих разрешению воспаления и регрессии бляшек (например, Gpr18 и Fpr2) [23, 24]. В совокупности, это свидетельствует о том, что Treg усиливают способность макрофагов в бляшках разрешать воспаление, а так же о возможности регрессии атеросклеротических бляшек [22]. Для определения фенотипа клеточного состава периферической крови используется проточная цитометрия, которая позволяет выявить степень преобладания М1-подобного или М2-подобного типа моноцитов. М1/М2 соотношение выше у пациентов с активным АС. Преобладание М1 популяции моноцитов начинается уже при субклиническом течении заболевания [25, 26].

Атеросклеротическая бляшка является очагом местного воспаления сосудистой стенки. Риск будущих сердечно-сосудистых осложнений имеет корреляцию с С-реактивным белком (СРБ), измеренным высокочувствительным методом [27, 28]. СРБ оказывает своё действие, связываясь с рецепторами CD34 или CD64. При инкубировании моноцитов с СРБ и дальнейшей дифференцировке их в макрофаги, значительно превалирует уровень М1 макрофагов. Но в присутствии малой интерферирующей РНК к CD32/CD64 дифференцировке макрофагов в М1 фенотип не происходит [18]. СРБ также индуцирует высвобождение провоспалительных цитокинов из моноцитов

человека, активируя рецептор хемотаксиса моноцитов (C-chemokinerectortype 2) и повышает активность оксидазы восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН-оксидаза). НАДФН-оксидаза является ферментным комплексом, находящимся в мембране моноцитов и макрофагов [29]. СРБ может индуцировать провоспалительное действие моноцитов человека, активируя провоспалительный фенотип M1 и предотвращая поляризацию к фенотипу M2 [18].

Генетические факторы, регулирующие активность АС

В последние несколько лет значительно возрос спрос на генетические исследования, с использованием методик секвенирования и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Молекулы ДНК, РНК и их ферменты запускают каскады реакций для приспособления организма к меняющимся условиям среды. Исходя из этого поиск необходимых лабораторных маркеров для исследования активности АС расширяется до генетического уровня.

ДНК-гликозилаза является первым ферментом, инициирующим процесс распознавания поврежденного основания. Neilike DNA glycosylase 3 (Neil3) принадлежит к классу ДНК-гликозилаз, инициирующих первый этап репарации ДНК, поврежденной активными формами кислорода [30, 31]. Макрофаги мышей АпоЕ^{-/-} и Neil3^{-/-} проявляют повышенный пролиферативный ответ при стимуляции модифицированными липидами, что потенциально способствует увеличению макрофагов в атеросклеротических бляшках. Дефицит Neil3 снижает способность макрофагов к оттоку холестерина за счет подавления АТФ-связанных кассетных транспортеров (транспортёры ABC) [32], которые являются мембраносвязанными белками, осуществляющими перенос различных молекул, в том числе молекул липидов [33], через плазматические мембраны клеточной стенки и внутриклеточные мембраны эндоплазматического ретикулума, пероксисом и митохондрий [34]. У мышей с дефицитом Neil3 показано явное подавление генов митохондриального цикла трикарбоновых кислот и окислительного фосфорилирования, приводящее к нарушению нормального функционирования макрофагов в условиях гиперлипидемии. Таким образом образование атеросклеротических бляшек связано не с нарушением стабильности ДНК, а с изменениями митохондриальных функций в макроскопически неатеросклеротической грудной аорте и снижением числа копий митохондрий в атеросклеротических брахиоцефальных артериях [32].

МикроРНК (miR, miRNA) и кольцевые РНК (circRNA) относятся к некодирующим цепям РНК. МикроРНК регулируют экспрессию генов путём подавления трансляции матричной РНК (мРНК). Некодирующие РНК являются перспективными мишенями в качестве биомаркеров различных заболеваний. Главная сложность заключается в поиске специфичных для конкретного заболевания, из множества известных [35].

miR-155 типичная многофункциональная микроРНК, играющая важную роль в иммунных реакциях и воспалении. miR-155 принимает участие в воспалительных

реакциях макрофагов. Крупнель-подобный фактор 2 (KLF2) модулирует экспрессию микроРНК в некоторых типах клеток. Например, KLF2 связывается с промотором кластера генов miR-143/145, чтобы активировать экспрессию сосудистых защитных генов в эндотелиальных клетках. В экспериментах с клеточными культурами эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVES) уровень miR-155 значительно повышался при обработке окисленными ЛПНП. Но при обработке этих клеток KLF2 существенных различий в уровнях miR-155 обнаружено не было. В экспериментах на мышах анализ полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени показал, что экспрессия KLF2 была значительно ниже у мышей, получающих высококалорийную диету, чем у мышей, получавших стандартное питание. Так же у мышей с нокдауном АпоЕ, получавших высококалорийную диету, значительно повышался уровень miR-155, в отличие от мышей, получавших стандартное питание [36].

Кольцевые РНК (circRNA) действуют как «губки», которые связываются большим количеством микроРНК, вызывая повышение активности генов-мишеней [37, 38] circular (circ. при АС circRNA регулируют микроРНК в эндотелиальных клетках, обработанных окисленными ЛПНП. Клеточная пролиферация и миграция стимулируется Циклином D1, который является продуктом трансляции гена CCND1 [39]. Фактор транскрипции FOXO1 (forkheadboxprotein O1) может связываться с промоторной областью гена CCND1, повышая уровень его транскрипции, а значит продукция циклина D1 увеличивается. В свою очередь FOXO1 является геном-мишенью miR-370. А circ_0029589 является «губкой» miR-370. Таким образом, усиливается активность гена FOXO1 и как следствие клеточная миграция и пролиферация. Уровень белка циклина D1 повышается в ГМК, которым вводят окисленные липопротеины низкой плотности (ЛПНП), и снижается при нокдауне circ_0029589 [40].

Так же circ_0029589 активируется, а miR-424-5p подавляется в ГМК, обработанных окисленными ЛПНП. Нокдаун circ_0029589 ингибирует пролиферацию, миграцию и инвазию, но индуцирует апоптоз в ГМК, обработанных окисленными ЛПНП. микроРНК-424-5p является мишенью circ_0029589, и ее нокдаун обращает эффекты circ_0029589 на пролиферацию, миграцию, инвазию и апоптоз в ГМК [41].

Семейство генов 45 (GADD45), индуцированных остановкой роста и повреждением ДНК, кодирует небольшие белки. Члены семейства GADD45 могут быстро индуцироваться различными стрессами, такими как генотоксические агенты и воспалительные цитокины [42]. При сверхэкспрессии miR-15b-5p существенно снижается экспрессия белка GADD45G. Жизнеспособность клеток повышается, тогда как апоптоз, TNF- α , IL-6 и IL-1 β значительно снижается. Кроме того, уровень miR-15b-5p снижен как в HUVES, подвергшихся воздействию окисленных ЛПНП, так и у пациентов с АС. circ_0029589 напрямую регулирует экспрессию miR-15b-5p в HUVES и, как следствие, пролиферацию, миграцию и инвазию ГМК [43]. Эти данные свидетельствуют о том, что circ_0029589 и miR-15b-5p может играть роль в развитии АС.

Заключение

На данный момент существует небольшое количество лабораторных методов для выявления атеросклероза, которые скорее можно отнести к диагностике дислипидемий. При диагностике дислипидемии невозможно оценить активность атеросклеротического процесса. Использование визуализирующих методов позволяет лишь увидеть размеры атеросклеротических изменений и лишь предположить происходящие в стенке сосуда события. Оценить активность клеток в атеросклеротической бляшке и на какие патогенетические механизмы заболевания необходимо воздействовать невозможно. Перспективными для изучения являются методы проточной цитометрии (определение различных классов макрофагов), ПЦР (определение специфических РНК) и секвенирования (определение предрасполагающих генетических факторов), которые, главным образом, могут потенциально отвечать на вопросы прогрессирования роста и нестабильности атеросклеротических бляшек. Предложенные исследования могут проводиться из венозной крови, что значительно может облегчить диагностику путём рутинного скрининга населения. Предложенные методы и вышеперечисленные мишени позволяют более детально понимать на какое звено патогенеза необходимо воздействовать у разных пациентов, что позволяет перейти к персонализированному подходу в лечении.

Список литературы/References

1. Кузничев Д.Е., Скребов Р.В. Клиника, морфология атеросклероза аорты с разрывом. *Здравоохранение Югры: опыт и инновации*. 2018; (4): 66–8. <https://cyberleninka.ru/article/n/klivnika-morfologiya-ateroskleroza-aorty-s-razryvom>
2. Кузнецов С.Н., Мушкхамбаров Н.Н. Гистология, цитология и эмбриология. МИА (Медицинское информационное агентство); 2016: 640.
3. Haverich A., Boyle E.C. Atherosclerosis Pathogenesis and Microvascular Dysfunction. *Cham: Springer Nature*; 2019. 130. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-20245-3>
4. Юрєва Э.А., Сухоруков В.С., Воздвиженская Е.С., Новикова Н.Н. Атеросклероз: гипотезы и теории. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2014; 59(3): 6–16. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21649590>
5. Орищенко А.К., Гавриченко Е.П., Райкова К.А. Современные теории этиологии и патогенеза атеросклероза. Биометрия медицинских интернет-конференций. 2021; 11(3): 57–57. ID: 2021-03-6-T-19461
6. Sleptsov A. A. Cellular heterogeneity and clonal hematopoiesis of immune system cells in atherosclerosis. *Bulletin of Medical Internet Conferences*. 2021; 11(3): 57–57. ID: 2021-03-6-T-19461
7. Xu J., Lu X., Shi G.P. Vasa Vasorum in Atherosclerosis and Clinical Significance. *Int J Mol Sci*. 2015; 16(5): 11574–608. <https://doi.org/10.3390/ijms160511574>
8. Rademakers T., Douma K., Hackeng T.M., Post M.J., Sluimer J.C., Daemen J.P. Plaque-Associated Vasa Vasorum in Aged ApoE-deficient Mice Exhibit Proatherogenic Functional Features In Vivo. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2013; 33(2): 249–56. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.300087>
9. Евдокименко А.Н., Куличенкова К.Н., Гулевская Т.С., Танашян М.М. Особенности регуляции ангиогенеза в атеросклеротических бляшках каротидного синуса на поздних стадиях развития атеросклероза. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2022; 108(5): 649–66. <https://doi.org/10.31857/S0869813922050041>
10. Погосова Н.В., Юферева Ю.М., Качанова Н.П., Метельская В.А., Колтунов И.Е., Воронина В.П., и др. Разработка алгоритма диагностики доклинического атеросклероза у пациентов из группы высокого риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. *Кардиология*. 2020; 60(2): 75–82. <https://doi.org/10.18087/cardio.2020.2.n964>
11. Олейников В.Э., Салымова Л.И., Хромова А.А., Куприянова С.Н., Квасова О.Г., Ильясов И.Б. Прогнозирование коронарного атеросклероза у пациентов с ишемической болезнью сердца молодого возраста с использованием неинвазивного биомаркера. *Российский кардиологический журнал*. 2020; 25(12): 3924. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2020-3924>
12. Oleynikov V. E., Salyamova L. I., Khromova A. A., Kupriyanova S. N., Kvasova O. G., Ilyasov I. B. Prediction of coronary atherosclerosis in young patients with coronary heart disease using a non-invasive biomarker. *Russian Journal of Cardiology*. 2020; 25(12): 3924. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2020-3924>
13. Kukharчук V. V., Ezhov M. V., Sergienko I. V., Arabidze G. G., Balakhonova T. V., Gurevich V. S., и др. Eurasian association of cardiology (EAC)/ russian national atherosclerosis society (RNAS, russia) guidelines for the diagnosis and correction of dyslipidemia for the prevention and treatment of atherosclerosis (2020). *Evroziskij kardiologičeskij žurnal*. 2020; (2): 6–29. <https://doi.org/10.38109/2225-1685-2020-2-6-29>
14. Abdulsalam M., Feng J. The composition of vulnerable plaque and its effect on arterial waveforms. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2021; 119: 104491. <https://doi.org/10.1016/j.jmbmm.2021.104491>
15. Biscetti F., Tinelli G., Rando M. M., Nardella E., Cecchini A. L., Angelini F., и др. Correction to: Association between carotid plaque vulnerability and high mobility group box-1 serum levels in a diabetic population. *CardiovascDiabetol*. 2021; 20: 184. <https://doi.org/10.1186/s12933-021-01376-6>
16. Пигаревский П.В., Снегова В.А., Назаров П.Г. Макрофаги и их роль в дестабилизации атеросклеротической бляшки. *Кардиология*. 2019; 59(4): 88–91. <https://doi.org/10.18087/cardio.2019.4.10254>
17. Pigarevsky P. V., Snegova V. A., Nazarov P. G. Macrophages and their role in the destabilization of atherosclerotic plaque. *Cardiology*. 2019; 59(4): 88–91. <https://doi.org/10.18087/cardio.2019.4.10254>
18. Fadini G. P., Simoni F., Cappellari R., Vitturi N., Galasso S., Kreutzenberg S. V., и др. Pro-inflammatory monocyte-macrophage polarization imbalance in human hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2014; 237(2): 805–8. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.10.106>
19. Isail I., McClellan P., R. Wong T., Cingreda S., Jain M., Anderson J., Hijaz A., Akku O. In Vivo Delivery of M0, M1, and M2 Macrophage Subtypes via Genipin-Cross-Linked Collagen Bioreactive. *Tissue Engineering*. 2022; Part A: 672–684. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2021.0203>
20. Devaraj S., Jialal I. CRP Polarizes Human Macrophages to a M1 Phenotype and Inhibits Transformation to the M2 Phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31(6): 1397–402. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.225508>
21. Piekarska A., Pérès M., Toton M., Kulczycka M., Lewandowski K., Vergez F. Identification of circulating regulatory T lymphocytes with membrane markers – a new multiparameter flow cytometry protocol. *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 2021; 59(2): 75–85. <https://doi.org/10.5603/FHC.a2021.0014>
22. Emimi Veseli B., Perrotta P., De Meyer, Roth L., Van der Donck C., Martinet W., и др. Animal models of atherosclerosis. *European Journal of Pharmacology*. 2017; 816: 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.05.010>
23. Skogsberg J., Lundström J., Kovacs A., Nilsson R., Noori P., Maleki S., и др. Transcriptional Profiling Uncovers a Network of Cholesterol-Responsive Atherosclerosis Target Genes. *PLoS Genet*. 2008; 4(3): e1000036. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000036>
24. Wang J., Kang Z., Liu Y., Li Z., Liu Y., Liu J. Identification of immune cell infiltration and diagnostic biomarkers in unstable atherosclerotic plaques by integrated bioinformatics analysis and machine learning. *Front Immunol*. 2022; 13: 956078. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.956078>
25. Bardina M., Pawelzick S. C., Lagrangea J., Mahdic A., Arnardottir H., Regnault V., Feved B., Lacolley P., Michela J. B., Merciera N., Back M. The resolvin D2 – GPR18 axis is expressed in human coronary atherosclerosis and transduces atheroprotection in apolipoprotein E deficient mice – ScienceDirect. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2022.115075>
26. Petri M. H., Laguna-Fernández A., Gonzalez-Diez M., Paulsson-Berne G., Hansson G. K., Bäck M. The role of the FPR2/ALX receptor in atherosclerosis development and plaque stability. *Cardiovasc Res*. 2015; 105(1): 65–74. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvu224>
27. Arnold K. A., Blair J. E., Paul J. D., Shah A. P., Nathan S., Alenghat F. J. Monocyte and Macrophage Subtypes as Paired Cell Biomarkers for Coronary Artery Disease. *Exp Physiol*. 2019; 104(9): 1343–52. <https://doi.org/10.1113/EP087827>
28. Williams H., Cassorla G., Pertsoulis N., Patel V., Vicarelli M., Marmash N., et al. Human classical monocytes display unbalanced M1/M2 phenotype with increased atherosclerotic risk and presence of disease – *International Angiology* 2017; 36(2): 145–55. <https://doi.org/10.23736/S0392-9590.16.03661-0>
29. Ricker P. M. From CRP to IL-6 to IL-1: Moving Upstream To Identify Novel Targets for Atheroprotection. *Circ Res*. 2016; 118(1): 145–56. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306656>
30. Уткина Е.А., Афанасьева О.И., Покровский С.Н. С-реактивный белок: патогенетические свойства и возможная терапевтическая мишень. *Российский кардиологический журнал*. 2021; 26(6): 4138. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4138>
31. Utkina E. A., Afanas'yeva O. I., Pokrovsky S. N. C-reactive protein: pathogenetic properties and a possible therapeutic target. *Russian Journal of Cardiology*. 2021; 26(6): 4138. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4138>
32. Vlad M. L., Manea S. A., Lazar A. G., Raicu M., Muresan H., Simionescu M., и др. Histone Acetyltransferase-Dependent Pathways Mediate Upregulation of NADPH Oxidase 5 in Human Macrophages under Inflammatory Conditions: A Potential Mechanism of Reactive Oxygen Species Overproduction in Atherosclerosis. *Oxid Med Cell Longev*. 2019; 3201062. <https://doi.org/10.1155/2019/3201062>
33. Chen L., Huan X., Gao X. D., Yu W. H., Xiao G. H., Li T. F., и др. Biological Functions of the DNA Glycosylase NEIL3 and Its Role in Disease Progression Including Cancer. *Cancers (Basel)*. 2022; 14(23): 5722. <https://doi.org/10.3390/cancers14235722>
34. Liu M., Doublé S., Wallace S. S. Neil3, the final frontier for the DNA glycosylases that recognize oxidative damage. *Mutat Res*. 2013; 4–11. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmm.2012.12.003>
35. Skarpengland T., Holm S., Scheffler K., Gregersen I., Dahl T. B., Suganthan R., и др. Neil3-dependent base excision repair regulates lipid metabolism and prevents atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *SciRep*. 2016; 6: 28337. <https://doi.org/10.1038/srep28337>
36. Котляров С.Н., Котлярова А.А. Участие ABC-транспортеров в липидном обмене и патогенезе атеросклероза. *Генный клетка*. 2020; 15(3): 22–8. <https://doi.org/10.23868/202011003>

- Kotlyarov S.N., Kotlyarova A.A. Participation of ABC transporters in lipid metabolism and the pathogenesis of atherosclerosis. *Genes and cells*. 2020; 15(3): 22–8. <https://doi.org/10.23868/202011003>
34. Павлович С.Л. АТФ-связывающие транспортные белки семейства abc (ATP-binding cassette transporters, abc). Номенклатура, структура, молекулярное разнообразие, функция, участие в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков. Труды Карельского научного центра Российской академии наук. 2020; (3): 5–19. <http://dx.doi.org/10.17076/eb1044>
- Pavlovich S.L. ATP-binding cassette transporters (ATP-binding cassette transporters, abc) family proteins. Nomenclature, structure, molecular diversity, function, participation in the functioning of the xenobiotic biotransformation system. *Proceedings of the Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2020; (3): 5–19. <http://dx.doi.org/10.17076/eb1044>
35. Peferis L. J. F., Biesen E. A. L., Hohl M., Weber C., van der Vorst E. P. C., Santovito D. Small Things Matter: Relevance of MicroRNAs in Cardiovascular Disease. *Front Physiol*. 2020; 11:793. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00793>
36. He S, Wu C, Xiao J, Li D, Sun Z, Li M. Endothelial extracellular vesicles modulate the macrophage phenotype: Potential implications in atherosclerosis. *Scand J Immunol*. 2018; 87: e12648. <https://doi.org/10.1111/sji.1264816>
37. Panda A. C. Circular RNAs Act as miRNA Sponges. *Circular RNAs: Biogenesis and Functions*. Singapore: Springer. 2018: 67–79. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1426-1_6
38. Alkan A. H., Akçul B. Endogenous miRNA Sponges. *miRNomics: MicroRNA Biology and Computational Analysis*. New York, NY: Springer US. 2022; 91–104. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1170-8_5
39. Montalto F. I., De Amicis F. Cyclin D 1 in Cancer: A Molecular Connection for Cell Cycle Control, Adhesion and Invasion in Tumor and Stroma. *Cells* 9. 2020; 9(12): 2648. <https://doi.org/10.3390/cells9122648>
40. Yang L, Yang F, Zhao H, Wang M, Zhang Y. Circular RNA circCHFR facilitates the Migration and Migration of Vascular Smooth Muscle via miR-370/FOXO1/Cyclin D 1 Pathway. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2019; 16: 434–41. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.02.028>
41. Yu H, Zhao L, Zhao Y, Fei J, Zhang W. Circular RNA circ_0029589 regulates proliferation, migration, invasion, and apoptosis in ox-LDL-stimulated VSMCs by regulating miR-424-5p/IGF2 axis. *Vascular Pharmacology*. 2020; 135: 106782. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2020.106782>
42. Guo D, Zhao Y, Wang N, You N, Zhu W, Zhang P, и др. GADD45g acts as a novel tumor suppressor, and its activation suggests new combination regimens for the treatment of AML. *Blood*. 2021; 138(6): 464–79. <https://doi.org/10.1182/blood.202008229>
43. Li Y, Wang B. Circular RNA circCHFR downregulation protects against oxidized low-density lipoprotein-induced endothelial injury via regulation of microRNA-15b-5p/growth arrest and DNA damage inducible gamma. *Bioengineered*. 2022; 13(2): 4481–92. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2032967>

Статья поступила / Received 20.02.24

Получена после рецензирования / Revised 15.03.24

Принята в печать / Accepted 15.03.24

Сведения об авторах

Ройтман Александр Польевич, д.м.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом лабораторной иммунологии. E-mail: aroitman@mail.ru. ORCID: 0000-0003-2592-6857

Маркина Надежда Сергеевна, ординатор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом лабораторной иммунологии. E-mail: nadezda.s.markina@gmail.com. ORCID: 0000-0001-8458-9702

Долгов Владимир Владимирович, д.м.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом лабораторной иммунологии. E-mail: vvdolgov@inbox.ru. ORCID: 0000-0003-1537-7444

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

Автор для переписки: Ройтман Александр Польевич. E-mail: aroitman@mail.ru

About authors

Roitman Alexander P., DM Sci (habil.), professor at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics with a course in Laboratory Immunology. E-mail: a.roitman@mail.ru. ORCID: 0000-0003-2592-6857.

Markina Nadezhda S., resident of Dept of Clinical Laboratory Diagnostics with a course in laboratory immunology. Email: nadezda.s.markina@gmail.com. ORCID: 0000-0001-8458-9702.

Dolgov Vladimir V., Doctor of Medical Sciences, professor at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics with a course in Laboratory Immunology. E-mail: vvdolgov@inbox.ru. ORCID: 0000-0003-1537-7444

Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

Corresponding author: Roitman Alexander P. E-mail: a.roitman@mail.ru

Для цитирования: Ройтман А.П., Маркина Н.С., Долгов В.В. Возможности проточной цитометрии, ПЦР и секвенирования в ранней диагностике активности атеросклероза (обзор литературы). *Медицинский алфавит*. 2024; (4): 7–11. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-7-11>

For citation: Roitman A.P., Markina N.S., Dolgov V.V. Possibilities of flow cytometry, PCR and sequencing in early diagnosis of atherosclerosis activity. *Medical alphabet*. 2024; (4): 7–11. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-7-11>

DOI: 10.33667/2078-5631-2024-4-11-17

Кальций-ассоциированные связи маркеров костного обмена на фоне гипокальциемии в персональных наблюдениях

А. В. Соломенников¹, С. Л. Богданова², А. И. Тюкавин¹, Н. А. Арсениев¹, А. А. Барыкина¹

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

Использование метода визуализации многомерных связей, как вспомогательного метода в анализе полученных персональных данных лабораторных исследований, существенно повышает их информативность. При этом возникает возможность выявления ведущих факторов, оказывающих влияние на общую структуру соотношений показателей выбранной панели и их «взаимоотношения» между собой. В настоящей работе представлены результаты обсуждения связей, полученных с использованием метода визуализации многомерных связей в панели соотношений электролитов, демонстрирующих возможности выявления функциональных связей показателей костного обмена и гипокальциемии. При этом авторами впервые, в том числе, приводятся персональные наблюдения, в которых на фоне нормальных показателей кальция фиксируются связи, свидетельствующие о выраженном торможении его функциональной активности. Авторы предполагают, что высоко значимое отрицательное (коэффициент корреляции) влияние кальция на панель соотношений электролитов свидетельствует о проявлении напряженной индивидуальной адаптивной перестройки в сети факторов, участвующих в поддержании физиологических значений иона. Предполагается, что продолжительное преобладание одной из реакций в межсистемных связях может приводить к возникновению тех или иных расстройств костного и кальциевого обмена. Делается заключение, что определение комплекса многомерных связей в индивидуальных случаях позволит не только перифицировать дифференциальную диагностику гипокальциемии, но и выбирать цели для таргетной терапии и последующего контроля эффективности проводимого лечения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипокальциемия, лабораторные показатели остеобмена, визуализация многомерных связей

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Distinctive features of multidimensional relationships of hypercalcemia associated with dynamics of bone metabolism markers

A. V. Solomennikov¹, S. L. Bogdanova², A. I. Tyukavin¹, N. A. Arseniyev¹, A. A. Barykina¹

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

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

SUMMARY

The use of the method of visualization of multidimensional connections, as an auxiliary method in the analysis of the obtained laboratory data, significantly increases their informativeness. At the same time, it becomes possible to identify the leading factors that influence the overall structure of the ratios of the indicators of the selected panel and their «relationship» with each other. This paper presents the results of a discussion of the connections obtained using the method of visualization of multidimensional connections inside the panel of electrolyte ratios, demonstrating the possibility of identifying functional relationships of bone metabolism and hypocalcemia. At the same time, the authors, including, provide individual observations in which, against the background of normal calcium indicators, relationship are recorded indicating a marked decrease in its functional activity. The authors suggest that a highly significant negative (correlation coefficient) effect of calcium in the integral panel of the electrolyte ratio at its normal values reveal the manifestation of intense individual adaptive adjustment in the network of factors supporting the physiological values of the ion. However, it prolonged predominance can lead to the occurrence of certain disorders, including bone metabolism. It is concluded that the definition of a complex of multidimensional relationships in individual cases will allow not only to personalize the differential diagnosis of hypocalcemia, but also to choose targets for targeted therapy and subsequent monitoring of the effectiveness of the treatment.

KEYWORDS: hypocalcemia, laboratory indicators of osteotransformation, visualization of multidimensional relationships

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

Введение

Гипокальциемия нередко фиксируется как первое и даже единственное проявление различной хронической или скрыто текущей патологии, в том числе и патологии костно-суставной системы [1]. Вместе с тем рентгенологически обнаруживаемые изменения в костной ткани, зачастую, могут отставать от нескольких месяцев до года от лабораторных признаков патологии.

Определение остеомаркеров так же широко используют для оценки кальциевого обмена и обмена костной ткани. Однако использование этих маркеров ограничено отсутствием оценки их функциональной значимости в комплексе с другими переменными в индивидуальных случаях, что существенно усложняет интерпретацию получаемых данных [2].

Вышеуказанное обосновывает актуальность продолжения совершенствования методов оценки результатов индивидуальной лабораторной диагностики нарушений обмена костной ткани и оценки эффективности проводимой терапии.

Цель исследования

Повышение информативности получаемых лабораторных данных в персональных наблюдениях у пациентов с патологией костно-суставной системы на основе использования метода визуализации многомерных связей.

Материалы и методы исследования

В настоящем исследовании использованы результаты определения лабораторных показателей 82 пациентов (№№ 1–82) с различной патологией опорно-двигательной системы, лечившихся в НИИ имени Г. И. Турнера. Сбор информации осуществлялся по архивным данным на основе случайной выборки (2017–2018 годы). Средний возраст пациентов составил $9,90 \pm 0,55$ года. Значения показателей гемограммы

(HCT-гематокрит; MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците) были взяты из результатов их определения на аппарате Sysmex XN 1000. Электролиты (Na, K, Ca ионизированный (Cai) определяли с использованием анализатора AVL9180. Для определения показателей фосфатов (F), хлора (Cl), CaO (Ca общего), Kp (креатинин), Ur (мочевина) и щелочной фосфатазы (ЩФ) в плазме использовали аппарат Beckman Coulter AU480. ПТГ (паратиреоидный гормон), TP1NP (маркер остеосинтеза), B-cross Laps (маркер остеолизиса), VitD (витамин D), ОК (остеокальцин) определяли на анализаторе cobas e411 (Roche Diagnostic) с использованием реактивов производителя.

Обработка полученных материалов

Алгоритм математического метода, использованного в обработке и анализе индивидуальных лабораторных данных, предполагает возможность установления совпадения отличительных особенностей влияния определявшихся показателей на структуру соотношений в «интегральной» (общей, конечной) панели выбранных параметров, что демонстрировало силу их участия в формировании межсистемных связей [3, 4]. В настоящей работе для построения панели соотношений электролитов (ПСЭ) использовали показатели HCT, MCHC, Na, K, CaO, F, Cl, Kp, Ur плазмы. Было использовано построение двухслойной «нейронной сети» соотношений показателей, что давало в конечном счете 630 «опорных точек» в индивидуальной панели для использования в последующих расчетах коэффициентов корреляции (ККр) [3, 4].

Одновременно с этим использованный метод позволял сопоставлять в индивидуальных наблюдениях особенности влияния на панель соотношений каждого определявшегося показателя и сопоставлять особенности ее (ПСЭ) «деформации» под влиянием каждого фактора и определять степень (ККр) совпадения между ними [3, 4]. Предполагалось,

что высокая степень совпадения структурных особенностей формирования «деформации» выбранной панели (ККр) на фоне роста выбранных показателей соответствует их участию в едином механизме возникающих расстройств, то есть визуализирует ведущий комплекс многомерных связей ассоциированных с влиянием на ПСЭ анализируемого параметра [3, 4].

По М. Б. Славину (1989), для подтверждения знака коэффициента корреляции при $n > 350$ достоверным значением ККр для $p < 0,01$ значение ККр должно превышать [0,14]. Однако учитывая тот факт, что все физиологические и патологические процессы в едином организме в той или иной степени взаимосвязаны и значения ККр $> [0,14]$ могут встречаться достаточно часто, нами в качестве значимых рассматривались значения ККр $> [0,5]$, а значения ККр $> [0,7]$ (коэффициент сопряженности $r [r = \text{ККр}^2 * 100\%]$ между сравниваемыми ПСЭ превышают 50%) – степень совпадения высокой силы. Все расчеты осуществлялись на персональном компьютере в среде Excel.

Полученные результаты

После предварительного просмотра полученных результатов из всего массива ($n=82$) были выбраны наблюдения, в которых абсолютные значения Ca_i были ниже $M-G$ ($M=1,20 \text{ mmol/L}$, $G=0,06$; $M-G=1,14 \text{ mmol/L}$; $n=9$). Из них выбрали те случаи, в которых влияние на ИнПСЭ (интегральная ПСЭ) Ca_i высоко значимо ($\text{ККр} > [0,7]$) так же совпадало с влиянием на нее (ПСЭ) $B\text{-cross Laps}$ и (или) TP1N ($n=3$; №№ 5, 30, 31), что могло свидетельствовать о высокой сопряженности в этих наблюдениях формирования гипокальциемии во взаимосвязи с особенностями костного обмена.

Так же обращали на себя внимание и были выделены наблюдения со значениями Ca_i в пределах $M \pm G$, но отличавшихся высокими отрицательными значениями проявления влияния Ca_i ($\text{ККр} < -0,7$; $n=7$) в ИнПСЭ, что требовало своего анализа в рамках заявленной цели. Поскольку после проведенной кластеризации в матричной таблице отражаются ККр соответствующие степени положительного влияния каждого фактора на ПСЭ, то наблюдения с отрицательными значениями ККр в ИнПСЭ могли соответствовать выраженному «смещению» баланса активности/торможения в сторону последнего и являлись противоположным

фиксируемым проявлениям активности анализируемого анализата (в настоящей работе Ca_i).

Таким образом значимые отрицательные значения ККр свидетельствовали о преобладании в межсистемных связях факторов, способствующих значимому снижению его (Ca_i) функциональной роли в балансе формирования «интегральной» ПСЭ и при нормальных абсолютных значениях (преобладание механизмов, направленных на подавление Ca_i зависимых эффектов).

При этом только в 3-х из $n=9$ ($\text{Ca}_i \text{ ККр} < -0,7$ в ИнПСЭ) фиксировали межсистемные связи этих отличий (высокое влияние снижения функциональной активности Ca_i) в сочетании с влиянием на ИнПСЭ $B\text{-cross Laps}$ и (или) TP1N .

Таким образом предварительный анализ позволял выделить из всего массива наблюдения, в которых Ca_i демонстрировал высокую динамическую связь с показателями костного обмена на фоне его низких значений и (или) преобладания механизмов, направленных на снижение его функциональной значимости в формировании ПСЭ межсистемных связей.

Такое предварительное избирательное выделение отвечало основной цели настоящего исследования – выявлению и анализу наблюдений, в которых признаки гипокальциемии могли сочетаться с особенностями костного обмена.

Персональный анализ многомерных связей выделенных наблюдений с низкими значениями Ca_i (табл. 1).

Результаты определения Ca_i пациента № 30 фиксировали снижение этого показателя в плазме значительно ниже $M-G$ ($1,11 \text{ mmol/L}$), при этом демонстрируя высоко значимое положительное влияние на ИнПСЭ ($\text{ККр}: +0,90$). Этот «парадокс» мог быть оправдан значимым напряжением комплекса механизмов, направленных на «восстановление» физиологического уровня Ca_i . Так, в этом наблюдении комплекс Ca_i связей включал в себя сильные положительные связи с ростом активности VitD ($\text{ККр} \text{ Ca}_i/\text{VitD}: +0,93$), влияние на ПСЭ CaO ($\text{ККр} \text{ Ca}_i/\text{CaO}: +0,94$) с реабсорбцией иона в почках ($\text{ККр} \text{ Ca}_i/\text{Ca}_{\text{мочи}}: -0,96$). При этом зафиксирована высокая положительная связь $\text{Ca}_i/\text{TP1NP}$ ($\text{ККр}: +0,87$) и отрицательная $\text{Ca}_i/B\text{-cross Laps}$ ($\text{ККр}: -0,95$), т.е. преобладание процессов остеосинтеза. Этим процессам соответствовала и отрицательная связь по ПСЭ Ca_i и ПТГ ($\text{ККр} \text{ Ca}_i/\text{ПТГ}: -0,91$), Ca_i и ЩФ ($\text{ККр} \text{ Ca}_i/\text{ЩФ}: -0,92$), Ca_i и ОК ($\text{ККр} \text{ Ca}_i/\text{ОК}: -0,87$), Ca_i и F ($\text{ККр} \text{ Ca}_i/\text{F}: -0,82$).

Таблица 1

Распределение значений коэффициентов корреляции (ККр) в матричной таблице совпадения особенностей трансформации панели соотношений электролитов (ПСЭ) анализируемых показателей у пациентов с низкими значениями Ca_i

Инд №	№ 30			№ 31			№ 5		
	Знач показ	ККр по ПСЭ интегр	ККр по ПСЭ Ca_i	Знач показ	ККр по ПСЭ интегр	ККр по ПСЭ Ca_i	Знач показ	ККр по ПСЭ интегр	ККр по ПСЭ Ca_i
интегр		1,00	0,90		1,00	-0,86		1,00	-0,87
$\text{Ca}_i \text{ mmol/L}$	1,11	0,90	1,00	1,12	-0,86	1,00	1,13	-0,87	1,00
Ca общ mmol/L	2,37	0,93	0,94	2,42	-0,93	0,81	2,34	-0,97	0,93
F mmol/L	1,53	-0,95	-0,82	1,66	-0,83	0,73	1,33	-0,96	0,80
ЩФ U/L	172	-0,97	-0,92	168	-0,89	0,80	170	0,82	-0,96
$B\text{-cross Laps}$ ng/mL	0,78	-0,98	-0,95	0,55	-0,82	0,83	0,46	0,71	-0,91
TP1NP ng/mL	149,5	0,71	0,87	247	-0,76	0,91	92,3	0,68	-0,89
VitD ng/mL	28,43	0,98	0,93	11,0	-0,86	0,79	8,43	0,80	-0,90
ПТГ ng/mL	26,9	-0,97	-0,91	27,5	0,80	-0,93	65,9	-0,77	0,92
ОК ng/mL	136	-0,96	-0,87	48,1	-0,93	0,80	36,0	0,81	-0,95
$\text{Ca}_{\text{мочи}}$ mmol/L	0,86	-0,87	-0,96	2,0	-0,92	0,95	1,09	0,88	-0,94

Распределение значений коэффициентов корреляции (ККр) в матричной таблице совпадения особенностей трансформации панели соотношений электролитов (ПСЭ) анализируемых показателей у пациентов с высоко значимым отрицательным показателем влияния Ca_i в комплексе межсистемных связей при его нормальных значениях

Инд №	№ 49				№ 10				№ 7		
	Знач показ	ККр по ПСЭ интегр	ККр по ПСЭ Ca_i	ККр по ПСЭ B-cross Laps	Знач показ	ККр по ПСЭ интегр	ККр по ПСЭ Ca_i	ККр по ПСЭ TP1NP	Знач показ	ККр по ПСЭ интегр	ККр по ПСЭ Ca_i
интегр		1,00	-0,97	0,96		1,00	-0,92	0,95		1,00	-0,77
Ca_i mmol/L	1,23	-0,97	1,00	-0,91	1,20	-0,92	1,00	-0,89	1,15	-0,77	1,00
Ca общ mmol/L	2,43	-0,90	0,92	-0,89	2,53	-0,88	0,90	-0,93	2,41	-0,96	0,84
F mmol/L	1,51	0,85	-0,81	0,92	1,91	-0,85	0,84	-0,79	1,87	-0,91	0,67
ЩФ U/L	233	0,89	-0,83	0,93	237,5	0,96	-0,97	0,96	236	-0,95	0,80
B-cross Laps ng/mL	2,3	0,96	-0,91	1,00	1,58	-0,88	0,89	-0,80	2,14	-0,90	0,82
TP1NP ng/mL	778,1	-0,84	0,91	-0,77	1005	0,95	-0,89	1,00	758,4	-0,79	0,93
VitD ng/mL	24,9	-0,95	0,92	-0,97	11,3	-0,92	0,93	-0,92	11,9	-0,91	0,79
ПТГ ng/mL	24,4	0,91	-0,89	0,95	24,0	0,93	-0,98	0,92	23,0	0,84	-0,93
OK ng/mL	140,9	0,91	-0,86	0,95	118,1	0,92	-0,95	0,96	107,9	-0,89	0,85
$Ca_{\text{мочи}}$ mmol/L	1,35	0,99	-0,96	0,93	1,0	-0,96	0,96	-0,94	1,75	-0,95	0,89

Таким образом в этом случае можно констатировать, что гипокальциемия была «спровоцирована» связыванием Ca_i в процессах остеосинтеза на фоне нарастания интенсивности всасывания Ca_i в ЖКТ с участием VitD и его (Ca_i) реабсорбции в почках, снижения активности ПТГ. Вместе с тем рост влияния Ca_i при снижении F позволяет предполагать усиление активности фактора роста фибробластов 23 (FGF23).

Данные полученные у пациента № 31 отличало не только высокое отрицательное значение Ca_i /ИнПСЭ (ККр:-0,86), но и низкое фактическое значение Ca_i (1,12 mmol/L). В этом наблюдении в ИнПСЭ высоко значимо «отражались» отрицательной величиной влияние, как TP1N (ККр:-0,76), так и B-cross Laps (ККр:-0,82). При этом снижение влияния Ca_i на ИнПСЭ сопровождалось снижением проявлений активности накопления CaO и F (ККр:-0,93 и -0,83), ЩФ (ККр:-0,89), ОК (ККр:-0,93), что подтверждало в этом случае торможение процессов ремоделирования. Так же в этом наблюдении зафиксировано снижение активности VitD (ККр:-0,86) и потерь Ca_i с мочой (ККр:-0,92), рост влияния ПТГ (ККр:+0,80).

Таким образом в наблюдении № 31 фиксировали снижение уровня Ca_i на фоне торможения ремоделирования, сопровождавшегося снижением активности всасывания иона в ЖКТ, усилением его реабсорбции из мочи и проявлением гипокальциемического эффекта ПТГ.

Высокое отрицательное значение влияния Ca_i на ИнПСЭ (ККр:-0,87) и низкое абсолютное значение катиона (1,13 mmol/L) зафиксировано и в наблюдении № 5. B-cross Laps и TP1N в этом случае демонстрировали совместное выраженное совпадение с ИнПСЭ (ККр:+0,71 и +0,68), что могло свидетельствовать о преобладании влияния процессов ремоделирования. Одновременно с этим в ИнПСЭ с высокой силой проявлялись влияния CaO (ККр:-0,97), F (ККр:-0,96), ПТГ (ККр:-0,77), ЩФ (ККр:+0,82), ОК (ККр:+0,81), VitD (ККр:+0,80) при «нарастающих» потерях Ca с мочой (ККр:+0,88).

Таким образом в этом наблюдении определяется выраженное потребление плазменного Ca в процессах ремоделирования. Отрицательное «сочетание» влияния на ИнПСЭ VitD и Ca_i при снижении активности влияния ПТГ и Ca_i могло свидетельствовать о накоплении в данном случае

не активной формы VitD (25 (ОН) D3) сопровождавшегося усилением потерь Ca с мочой.

Персональный анализ многомерных связей выделенных наблюдений с высоко значимыми отрицательными значениями ККр влияния Ca_i на ИнПСЭ при его (Ca_i) абсолютных значениях, не выходящих за пределы нормальных значений (снижение функциональной активности иона) (табл. 2).

В этом ряду наиболее значимо снижение функциональной активности при нормальных значениях Ca_i (1,23 mmol/L) проявлялось в наблюдении № 49 (ККр:-0,97). Высокое отрицательное значение Ca_i в ИнПСЭ сочеталось с проявлениями в ней (ИнПСЭ) ККр B-cross Laps (ККр:+0,96) и TP1N (ККр:-0,84), что свидетельствовало о преобладании процессов остеолитизиса на фоне абсолютных значений аналита, не выходящих за «рамки» $M \pm G$.

При этом B-cross Laps-ассоциированный комплекс включал в себя значимые связи по ПСЭ B-cross Laps/CaO (ККр B-cross Laps/CaO:-0,89), B-cross Laps и F (ККр B-cross Laps/F:+0,92), VitD (ККр B-cross Laps/VitD: -0,97), ПТГ (ККр B-cross Laps/ПТГ:+0,95), ОК (ККр B-cross Laps/ОК:+0,95), ЩФ (ККр B-cross Laps/ЩФ: +0,93) и $Ca_{\text{мочи}}$ (ККр B-cross Laps/ $Ca_{\text{мочи}}$:+0,93).

Таким образом, структуру сформировавшихся Ca_i -ассоциативных связей пациента № 49 можно было характеризовать следующим образом: высоко значимое снижение функциональной роли Ca_i -ассоциативных связей в формировании ИнПСЭ при нормальных значениях иона. Основными механизмами, определявшими снижение его (Ca_i) влияния на межсистемные связи в ИнПСЭ, являлись снижение проявлений активности VitD (всасывание Ca_i в ЖКТ) и усиление потерь иона с мочой.

Поскольку основной известной «целью» ПТГ 1–84 является увеличение Ca плазмы за счет усиления остеолитизиса через активацию остеокластов, соответственно блокирование этой функциональной связи могло осуществляться в этом наблюдении за счет торможения активности последних отрицательной связью остеокластов и фрагментов распада коллагена на фоне опережающих потерь Ca_i с мочой и низкой активности почечной 1 α гидроксиллазы.

Наблюдение № 10 демонстрировало высоко значимое отрицательное «проявление» роста влияния Ca_i в ИнПСЭ (ККр: $-0,92$), при его абсолютных значениях в пределах $M_{\pm}G$ ($1,20 \text{ mmol/L}$). Так же в этом наблюдении зафиксировано отрицательное значение в ИнПСЭ B-cross Laps (ККр: $-0,88$) и положительное TP1N (ККр: $+0,95$).

При этом в наблюдении № 10 TP1N высоко значимо по ПСЭ отрицательно совпадало с влиянием CaO (ККр TP1N/CaO: $-0,93$), F (ККр TP1N/F: $-0,79$), VitD (ККр TP1N/VitD: $-0,92$) и положительно с ПТГ (ККр TP1N/ПТГ: $+0,92$), ОК (ККр TP1N/ОК: $+0,96$), ЩФ (ККр TP1N/ЩФ: $+0,96$). На этом фоне фиксировали снижение потерь Ca с мочой (ККр $Ca_{\text{мочи}} / TP1N$: $-0,94$).

Таким образом, обобщая структуру распределения значений ККр пациента № 10, можно прийти к выводам, что в этом наблюдении снижение функциональной активности Ca_i в плазме связано с его интенсивным потреблением в процессах кальцификации матрикса кости (снижение влияния Ca_i , CaO, F), подтверждаемым ростом активности ОК и ЩФ. При этом зафиксировано снижение активности VitD (всасывания Ca в ЖКТ), частично компенсируемое активностью реабсорбции Ca в почках. Рост влияния ПТГ мог стимулироваться снижением влияния Ca_i плазмы, но, по нашему мнению, накапливался (ПТГ) в мало активной форме.

Следующими для анализа были выбраны результаты, полученные в наблюдении № 7, в котором, несмотря на близкие к средним в массиве значению показателя Ca_i ($1,15 \text{ mmol/L}$), его «проявление» в «интегральной» ПСЭ достигало ККр: $-0,77$. На фоне снижения функционального влияния на ИнПСЭ Ca_i , так же на трансформацию этой панели оказывало выраженное влияние динамика B-cross Laps (ККр: $-0,90$) и TP1N (ККр: $-0,79$), т.е. торможение остеообмена.

В этом наблюдении торможение функционального влияния Ca_i реализовывалось на фоне снижения признаков накопления CaO, F и ОК (ККр: $-0,96$, $-0,91$ и $-0,89$), активности ЩФ и VitD (ККр: $-0,95$ и $-0,91$), потерь Ca с мочой (ККр: $-0,95$). ПТГ и в этом наблюдении (№ 7) демонстрировал рост влияния на ИнПСЭ (ККр: $+0,84$) при отрицательной корреляции с Ca (ККр $Ca/ПТГ$: $-0,93$).

Таким образом и в этом наблюдении (№ 7) на фоне торможения остеообмена отмечалась отрицательная динамика в кластерной группе по F, ОК и активности ЩФ на фоне снижения активности VitD. Рост проявления влияния в ИнПСЭ ПТГ, при его гипокальциемическом эффекте, аналогично предыдущему наблюдению, мог соответствовать низкой активности гормона.

Обсуждение полученных результатов

Стремление к поддержанию уровня Ca_i плазмы в пределах физиологических значений – одна из «приоритетных задач» участников кальциевого обмена, поскольку даже незначительные отклонения этого показателя оказывают выраженное влияние на функционирование органов и тканей всего организма [1]. Учитывая указанное, становится понятным формирование в ходе филогенеза сложной сети регуляции кальциевого обмена, включающей большое количество факторов, объединенных между собой, как прямыми, так и обратными связями, в том числе, и факторов, регулирующих костный обмен.

Нами зафиксирована возможность как положительных, так и отрицательных значений ККр высокой силы влияния динамики Ca_i на ИнПСЭ при гипокальциемии в индивидуальных случаях. Если в первом случае (положительное значение ККр) можно констатировать преобладание механизмов, направленных на восстановление физиологического уровня иона (наблюдение № 30), то во втором – преобладание в балансе факторов, способствующих его снижению. При этом признаки снижения функциональной значимости накопления Ca_i в межсистемных связях может обнаруживаться и при нормальных значениях последнего.

При дальнейшем обсуждении полученных результатов следует учитывать несколько возможных вариантов функционального ответа в рамках динамики конкретного анализита без значимых изменений его количественных значений:

1. Изменения его активности за счет молекулярно-структурных преобразований, частично меняющих биологические свойства анализита
2. Изменения чувствительности клеток и тканей к его действию
 - а) наличие агонистов/антагонистов
 - б) изменения экспрессии чувствительных рецепторов клеток-эффекторов
3. Изменения активности систем, участвующих в его метаболизме и выведении (изменение периода его циркуляции)
4. Изменения активности систем, так же способных участвовать в поддержании оптимального уровня «целевого» витального показателя, но непосредственно не зависящих от активности анализируемого параметра.
5. Комплексные изменения структуры многомерных связей, сочетающие вышеперечисленные причины в различных комбинациях.

Таким образом количественное значение того или иного лабораторного показателя не всегда совпадает с проявлением его известных функциональных свойств. Более того, может меняться не только функциональная активность на «количественную единицу» фактора, но и качественно меняться его биологические свойства. По нашему мнению, приведенный выше персональный анализ выделенных наблюдений с использованием метода визуализации многомерных связей хорошо иллюстрирует эти положения.

Так, эндокринной оси «кальций – витамин D – паратиреоидный гормон» отводится центральное значение в регуляции уровня плазменного Ca. При этом, если VitD в форме кальцитриола ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) способствует всасыванию Ca в кишечнике, то ПТГ способен активировать процессы остеолитического, тем самым «восполняя» общесистемный дефицит иона. Однако не столь однозначно это выглядит в «свете» результатов, полученных с использованием метода определения многомерных связей.

Так, на фоне признаков гипокальциемии влияние VitD могло способствовать, как накоплению Ca_i в плазме, так и его снижению (наблюдение № 5). Последнее, по нашему мнению, могло свидетельствовать о накоплении в крови малоактивной формы витамина. Известно, что в проксимальных почечных канальцах $25(\text{OH})\text{D}_3$ гидрок-

силируется 25(OH)D₃ 1α гидроксилазой (CYP27B1), что приводит к образованию 1,25(OH)₂D₃, который отвечает за известные биологические эффекты VitD. Таким образом можно полагать, что в наблюдении № 5 гипокальциемии могло способствовать снижению активности CYP27B1 [5]. Снижению активности 1α гидроксилазы могло способствовать снижение активности ПТГ, что, в свою очередь, могло сопровождаться увеличением потерь Ca_i с мочой. Отметим, что в этом наблюдении фиксировали торможение процессов ремоделирования костной ткани.

Так же неоднозначно проявлял свою активность и ПТГ. Рост его влияния во всех выделенных наблюдениях отрицательно коррелировал с влиянием VitD, что подтверждало известную обратную связь накопления этих аналитов [6].

Однако его (ПТГ) связь по характеру влияния на ПСЭ с маркерами остеосинтеза и остеолитиса могла проявляться по-разному. Так, по своему влиянию на ПСЭ рост ПТГ мог соответствовать как процессам остеолитиса, так и остеосинтеза. Эти отличия хорошо иллюстрируют, например, данные, полученные в наблюдениях № 49 (остеолитис) и № 10 (остеосинтез). При этом в обоих случаях влияние ПТГ на интегральную ПСЭ превышало +0,90.

Исследования последних лет указывают на то, что один или несколько фрагментов деградации ПТГ обладают дискретной биологической активностью и что некоторые из этих пептидов могут не просто представлять собой неактивные продукты. Так, метаболизм ПТГ(1–84) может сопровождаться усиленным протеолизом NH₂ – конца ПТГ с образованием NH₂ -укороченных пептидных фрагментов. Эти фрагменты неспособны эффективно связываться с PTH1R (рецептор ПТГ) и инициировать передачу сигнала [7].

В то же время образующийся ПТГ (1–34) способен оказывать анаболический эффект на костную ткань за счет ингибирования экспрессии склеростина остеоцитами, тем самым усиливая остеобластогенез. Склеростин препятствует дифференцировке мезенхимальных стволовых клеток (прогениторных клеток), блокируя в них Wnt/β-катенин-сигнальный путь [8].

В отдельных наблюдениях (№ 49 и № 30) влияние В-cross Laps (остеолитис) по ПСЭ совпадало со снижением функциональной активности Ca_i (снижение высвобождения Ca в ходе остеолитиса). Полагаем, что это могло свидетельствовать о реализации отрицательной обратной связи накапливающихся фрагментов деградации коллагена типа I и активности остеокластов. Эти фрагменты способны через рецептор коллагена LAIR-1, тормозить активность последних [9].

Отложение Ca в костной ткани осуществляется в форме гидроксиапатита т.е. связи с F (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂). Исходя из этого можно предполагать, что динамика Ca и F должна положительно коррелировать, как в процессах остеосинтеза, так и остеолитиса. Этому положению полностью соответствуют связи наблюдений № 31, № 5, № 10 и № 7. Однако в наблюдениях № 30 и № 49 это правило не соблюдается. Полагаем, что в этих случаях (№ 30 и № 49) имеют важное значение изменения накопления и активности фактора FGF23. FGF23 представляет собой 32-kDa пептид,

секретируемый в циркуляцию остеоцитами, остеобластами и остеокластами в ответ на действие гиперфосфатемии и кальцитриола. FGF23 обладает фосфатурическим эффектом и вызывает избирательное снижение F сыворотки [10].

Оставались не во всех выделенных наблюдениях понятными связи ОК и ЩФ с другими показателями обмена. Необходимо отметить, что высоко значимые совпадения (ККр) по ПСЭ ЩФ и маркеров обмена дают нам основание полагать, что в этих случаях динамика ее функциональной активности отражает преимущественно активность специфической костной ЩФ [11].

Во всех выделенных наблюдениях ОК и ЩФ оказывали «синхронное» влияние на ПСЭ, что свидетельствовало об их едином участии в механизмах формирующихся отклонений. Известна важная роль «совместного» участия ОК и ЩФ на начальных этапах кальцификации образующегося коллагена I (TP1N) de novo. Этому положению отвечали наблюдения № 5, № 7, № 10 и № 31 и не соответствовали № 30 и № 49. Последнее, по нашему мнению, требует проведения дополнительных исследований.

В связи с указанным выше полагаем, что высоко значимое влияние Ca_i на интегральную ПСЭ и при его нормальных значениях свидетельствует, по нашему мнению, проявлению напряженной индивидуальной адаптивной перестройки в сети факторов для поддержания физиологических значений иона. Однако ее продолжительное преобладание может приводить в перспективе к возникновению тех или иных расстройств, в том числе, косного обмена.

Заключение

Таким образом использование метода визуализации многомерных связей, как вспомогательного метода в анализе полученных данных лабораторных исследований, существенно повышает их информативность. При этом возникает возможность выявления ведущих факторов, оказывающих влияние на общую «структуру» выбранной панели и их «взаимоотношения» между собой. На основании этого «визуализируется» комплекс ассоциированных связей оцениваемого показателя и появляется возможность построения общей парадигмы возникающих расстройств в индивидуальных наблюдениях.

Эти положения находят свое подтверждение, в частности, при применении указанной методики в оценке взаимосвязей показателей костного обмена при гипокальциемии. По нашему мнению, определение комплекса многомерных связей в индивидуальных случаях позволит не только персонализировать дифференциальную диагностику, но и «выбирать» цели для таргетной терапии и последующего контроля эффективности проводимого лечения.

Список литературы / References

1. Лукьянчиков В. С. Гипокальциемия. РМЖ. 2013;28:1429. Lukiyanichikov V. S. Hypocalcemia. *breast cancer*. 2013;28:1429 (in Russ.).
2. Matthew B. Greenblatt, Joy N. Tsai and Marc N. Wein Bone Turnover Markers in the Diagnosis and Monitoring of Metabolic Bone Disease/*Clin Chem*. 2017 Feb; 63(2): 464–474. Published online 2016 Dec 9. doi: 10.1373/clinchem.2016.259085.
3. 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/10.21518/2079-701X2019-6-164-168>.

- 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/10.21518/2079-701X2019-6-164-168> (in Russ.).
4. 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.).
 5. Vaishali Veldurthy, Ran Wei, Leyla Oz, Puneef Dhawan, Yong Heui Jeon, and Sylvia Christakos. Vitamin D, calcium homeostasis and aging / *Bone Res*. 2016; 4: 16041. Published online 2016 Oct 18. doi: 10.1038/boneres.2016.41
 6. Khundmiri SJ, Murray RD, Lederer E. PTH and Vitamin D / *Compr Physiol*. 2016 Mar 15;6(2):561–601. doi: 10.1002/cphy.c140071.
 7. Peter A. Friedman, and William G. Goodman PTH(1–84)/PTH(7–84): a balance of power *American Journal of Physiological-Renal Physiology* Vol. 290, No. 5 01 MAY 2006 <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00336.2005>
 8. Дыдыкина И. С., Веткова Е. С. Склеростин и его роль в регуляции метаболизма костной ткани / *Науч-практич ревматол* 2013; 51(3): 296–301
 - Dydykina I. S., Vetkova E. S. Sclerostin and its role in the regulation of bone tissue metabolism / *Scientific-practical rheumatol* 2013; 51(3): 296–301 (in Russ.).
 9. Iris Boraschi-Diaz, John S. Mort, Dieter Brömme, Yotis A. Senis, Alexandra Mazharian, Svetlana V. Komarova Collagen type I degradation fragments act through the collagen receptor LAIR-1 to provide a negative feedback for osteoclast formation / *Bone Volume 117*, December 2018, Pages 23–30 <https://doi.org/10.1016/j.bone.2018.09.006>
 10. Ильин А. В., Арбузова М. И. Фактор роста фибробластов 23 и белок Klotho в патогенезе вторичного паратиреоза / *Остеопороз и остеопатии*. 2013;16(3):20–27. <https://doi.org/10.14341/osteo2013320-27>
Ilyin A. V., Arbuзова M. I. Fibroblast growth factor 23 and Klotho protein in the pathogenesis of secondary parathyroidism / *Osteoporosis and osteopathy*. 2013;16(3):20–27. <https://doi.org/10.14341/osteo2013320-27> (in Russ.)
 11. Ellis E. Golub and Kathleen Boesze-Battag The role of alkaline phosphatase in mineralization / *Current Opinion in Orthopaedics* 2007, 18:444–448

Статья поступила / Received 30.01.24
Получена после рецензирования / Revised 15.03.24
Принята в печать / Accepted 15.03.24

Сведения об авторах

Соломенников Александр Васильевич, д.м.н., проф., кафедры физиологии и патологии¹. E-mail: solomen33@mail.ru. SPIN-код: 2255–5204. AuthorID: 1054258. ORCID: 0009-0009-6284-9206

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

Тюкавин Александр Иванович, д.м.н., проф., зав. кафедрой физиологии и патологии¹. E-mail: alexander.tukavin@pharminnotech.com. Scopus: 6603645369. WOS: 6699–2017

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

Барыкина Александра Андреевна, учащаяся. E-mail: aleksandra.barykina@spcpru.u

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., Барыкина А. А. Кальций-ассоциированные связи маркеров костного обмена на фоне гипокальциемии в персональных наблюдениях. *Медицинский алфавит*. 2024; (4): 11–17. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-11-17>

About authors

Solomennikov Alexander V., DM Sci (habil.), professor at Dept of Physiology and Pathology¹. E-mail: solomen33@mail.ru. SPIN code: 2255–5204. AuthorID: 1054258. ORCID: 0009-0009-6284-9206

Bogdanova Svetlana L., head of clinical laboratory². E-mail: svetlanabogdanova1969@mail.ru

Tyukavin Alexander I., DM Sci (habil.), professor, head of Dept of Physiology and Pathology¹. E-mail: alexander.tukavin@pharminnotech.com. Scopus: 6603645369. WOS: 6699–2017

Arseniev Nikolay A., PhD Bio Sci, associate professor at Dept of Physiology and Pathology¹. E-mail: ars_nik@mail.ru

Barykina Alexandra A., student. E-mail: aleksandra.barykina@spcpru.ru

¹Saint Petersburg State University of Chemistry and Pharmacy, Saint Petersburg, Russia
²National Medical Research Centre for Pediatric Traumatology and Orthopedics n. a. G. I. Turner, Saint Petersburg, Russia

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

For citation: Solomennikov A. V., Bogdanova S. L., Tyukavin A. I., Arseniyev N. A., Barykina A. A. Distinctive features of multidimensional relationships of hypercalcemia associated with dynamics of bone metabolism markers. *Medical alphabet*. 2024; (4): 11–17. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-11-17>

DOI: 10.33667/2078-5631-2024-4-17-21

СА–125 в популяционном скрининге и персонализированном мониторинге

Н. А. Ковязина¹, Н. А. Алхутова¹, О. Л. Жижина², С. С. Алексанин

¹ФГБУ «Всесоюзный Центр Экстренной и Радиационной Медицины им. А. М. Никифорова» Министерства Российской Федерации по делам Гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и ликвидации последствий стихийных бедствий, Санкт-Петербург, Россия

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

РЕЗЮМЕ

Повышенный уровень СА-125 в подавляющем большинстве случаев связан с патологическим процессом различной локализации, онкологической и неонкологической этиологии. Обнадеживающие данные о клинической информативности СА-125 и простота его лабораторного определения являются поводом для многолетней дискуссии об использовании этого маркера не только для оценки динамики течения рака яичников, но и в популяционном скрининге, а также при персонализированном наблюдении за состоянием здоровья женщин. В статье обосновано включение СА-125 в алгоритмы персонализированного наблюдения за состоянием здоровья женщин и современные аспекты постаналитической оценки результатов тестирования: оценка неопределенности измерения, выявление достоверной динамики между последовательными результатами и использование нескольких границ принятия клинического решения. Предложена форма развернутого отчета о выполненном лабораторном исследовании.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: СА-125, постаналитическая оценка, неопределенность измерения, отчет о лабораторном исследовании.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

CA-125 in population screening and personalized monitoring

N. A. Kovyazina¹, N. A. Alkhutova¹, O. L. Zhizhuna², S. S. Aleksanin¹

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

²Saint Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

SUMMARY

The increased level of CA-125 in the vast majority of cases is associated with the pathological process of both oncological and non-oncological etiology. Encouraging data on the clinical informativeness of CA-125 and the simplicity of its laboratory determination are the reason for a long-term discussion about the use of this marker not only for assessing the dynamics of ovarian cancer, but also in population screening, as well as in personalized monitoring of women's health. The article substantiates the inclusion of CA-125 in algorithms for personalized monitoring of women's health and modern aspects of post-analytical evaluation of test results: assessment of measurement uncertainty, identification of reliable dynamics between successive results and the use of multiple boundaries of clinical decision. The form of a detailed report on the performed laboratory study is proposed.

KEYWORDS: CA-125, post-analytical assessment, measurement uncertainty, laboratory test report.

CONFLICT OF INTERESTS. The authors declare the absence of conflict of interests.

Funding. The study had no sponsor support.

Введение

Концентрация опухолеассоциированного маркера СА-125 в сыворотке крови 95% здоровых женщин не превышает 44,4 Ед/мл [1]. В 50–60% случаев серозного рака яичников (РЯ) уровень маркера поднимается выше 35 Ед/мл уже на ранней стадии, а чувствительность этого порогового значения к II–IV стадиям РЯ составляет 80–90%. В отличие от низкой специфичности теста к РЯ у женщин репродуктивного возраста, для женщин в постменопаузе специфичность достигает 95–98% [2–4]. Современный количественный иммунохимический метод определения концентрации СА-125 в сыворотке крови хорошо стандартизован, а результат может быть получен в течение нескольких часов. Особой подготовки к исследованию не требуется, можно отметить лишь физиологическое повышение уровня маркера во второй половине менструального цикла и в период беременности [5,6].

Актуальность раннего выявления РЯ, обнадеживающие данные о клинической информативности СА-125 и простота его лабораторного определения являются поводом для многолетней дискуссии об использовании этого маркера не только для оценки динамики течения РЯ, но и в популяционном скрининге, а также при персонализированном наблюдении за состоянием здоровья. Однако на сегодняшний день эффективность включения СА-125 в скрининговые программы не подтверждена [5,7]. Очевидный диссонанс между обоснованными надеждами и скромными рекомендациями по практическому использованию этого лабораторного теста вызывает профессиональный интерес у специалистов разных клинических профилей.

Показания к применению

РЯ по частоте встречаемости среди онкологических заболеваний у женщин занимает 7–9-е место в разных странах, но по показателям смертности превосходит рак тела и шейки матки [2,8,9]. Заболевание часто не имеет явно выраженных и специфичных симптомов, поэтому около 70% вновь выявленных случаев представляют собой распространенный опухолевый процесс с неблагоприятным прогнозом [2,8,10–11]. Шанс достичь пятилетней выживаемости имеют 9 из 10 женщин, у которых РЯ был выявлен на I стадии [12], 7 из 10 женщин при выявлении РЯ на II стадии и менее чем 20% женщин при обнаружении поздней стадии заболевания [13].

СА-125 – это высокомолекулярный гликопротеин, который продуцируется целомическим эпителием бронхов, трахеи, конъюнктивы, слюнных желез, органов брюшной полости, маточных труб, канала шейки матки. Основным источником продукции Са-125 у женщин репродуктивного возраста является эндометрий. В небольшом количестве этот белок находится в бронхоальвеолярной, внутрибрюшинной и плевральной жидкостях. Вследствие своего происхождения СА-125 повышается при РЯ серозного типа, не продуцируется при развитии неэпителиальных опухолей яичников и не экспрессируется в эпителиальных опухолях слизистого типа. При этом, уровень СА-125 остается в пределах референтных значений в 40–60% случаев плоскоклеточных и железисто-плоскоклеточных опухолей яичников и эндометрия [10,14–16]. Тем не менее, в 90% случаев РЯ имеет именно эпителиальное происхождение, из которых 80–85% относятся к серозному типу и лишь 10% – к эндометриодному, а 5% – к светлоклеточному типу опухоли. Кроме того, эндометриодные и светлоклеточные опухоли относительно хорошо выявляются на ранних стадиях в отличие от серозных, ранняя диагностика которых затруднительна.

В 1993–2001 годах проведено крупное исследование Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO), в котором участвовало 78216 здоровых женщин в возрасте от 55 до 74 лет. Среди прочих задач была оценена эффективность ежегодного мониторинга уровня СА-125 в сочетании с трансвагинальным ультразвуковым исследованием (ТВУЗИ) при повышенном уровне онкомаркера. К сожалению, подобная экспериментальная тактика не привела к сдвигу стадии РЯ на момент его обнаружения в сторону более ранней. Скрининг не только не снижал смертность от РЯ, но и приводил к увеличению количества необоснованных инвазивных медицинских процедур и связанного с ними вреда [16]. Однако причиной неудачи эксперимента мог стать способ оценки результатов тестирования. Так, в исследовании PLCO алгоритм дальнейшего обследования и лечения был основан на критическом значении уровня СА-125 равном 35 Ед/мл, превышение которого обычно является показанием как для ТВУЗИ, так и для компьютерной томографии у женщин в постменопаузе [17]. В то же время альтернативные варианты постаналитической трактовки этого лабораторного теста не были учтены. Например, концентрация СА-125 выше 95

ЕД/мл разграничивает злокачественные и доброкачественные новообразования яичников с положительным прогностическим значением 95% [5], а учет динамики уровня СА-125 (как показала последующая оценка результатов исследования PLCO) позволил бы диагностировать почти 20% РЯ на ранней стадии. Таким образом, состоятельность СА125 как опухолевого маркера нуждалась в дальнейшем изучении.

В 2011 г. в Великобритании стартовало наиболее крупное исследование эффективности скрининга для выявления РЯ – United Kingdom Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS). В исследовании приняли участие более 200000 женщин в постменопаузе, которые наблюдались в течение 14 лет. Кстати отметить, что в трети случаев было установлено несоответствие интерпретаций ТВУЗИ, выполненных пациенткам в различных диагностических центрах. Этот неожиданный факт свидетельствовал об отсутствии надежных критериев качества ультразвукового метода в диагностике РЯ [18]. Основным отличием UKCTOCS от PLCO был способ интерпретации уровня СА-125. В UKCTOCS применяли алгоритм Risk Ovarian Cancer (ROCA), который оценивал прирост уровня СА-125 с учетом возраста женщины и известных факторов риска [19]. У пациенток с РЯ было отмечено постепенное нарастание концентрации СА-125, в то время как при наличии других заболеваний и состояний, а также в отсутствие болезни, уровень маркера не менялся или снижался с течением времени. В целом чувствительность мультимодального скрининга к раннему выявлению РЯ составила 85%, превысив чувствительность 62% при использовании критического значения 35 Ед/мл [18]. В одном из первых отчетов UKCTOCS подытожено, что скрининг с использованием мультимодальной стратегии может привести к 20%-му снижению смертности за счет сдвига к более ранней стадии на момент выявления РЯ [20]. В середине периода наблюдения опубликованы данные о том, что экспериментальная стратегия мультимодального скрининга быстро приближается к необходимому порогу экономической эффективности [21].

Все же к завершению UKCTOCS экспериментальный алгоритм выявления РЯ в популяции так и не получил статус эффективного, поскольку не достиг экономических критериев профилактических мероприятий. Дело в том, что одним из обязательных условий осуществления национальных программ скрининга (по рекомендации ВОЗ от 1955 г.) является такая распространенность и социальная значимость заболевания, при которой расходы на скрининговое обследование 70% контингента меньше затрат на лечение запущенной формы этого заболевания. В отношении РЯ как отдельно взятого заболевания яичников достичь экономической эффективности скрининга достаточно затруднительно в связи с низкой распространенностью РЯ в популяции [22]. Заболеваемость и смертность РЯ во всем мире составляют всего лишь 22500 и 140200 случаев в год соответственно [4]. Поэтому с учетом финансовых затрат на популяционный скрининг даже высокая чувствительность динамической оценки уровня СА-125 (75–85%), установленная в экспериментальных исследованиях, является недостаточной для достижения порога экономической эффективности [16, 23]. Для сравнения, чувствительность и специфичность простат-специфического антигена (для порогового значения 1.4 нг/мл) в диагностике рака простаты у мужчин до 50 лет составляет всего 74% и 79% соответственно [24].

Все же важно принять во внимание, что хотя на основании уровня СА-125 вероятность обнаружения ранней стадии РЯ при скрининговом популяционном исследовании мала (в силу редкой встречаемости этой патологии), вероятность выявления болезни у отдельно взятой женщины, напротив, высока. Так, в 95–99% случаев превышение порогового значения, равного 35 Ед/мл, свидетельствует о наличии заболеваний – как онкологических, так и неонкологических. К первым, помимо РЯ, относятся рак молочной железы, легких и желудочно-кишечного тракта. Среди прочих, причиной повышения концентрации СА-125 могут быть доброкачественные кисты и воспалительные заболевания яичников, сальпингит, эндометриоз любой локализации, цирроз печени, панкреатит, почечная недостаточность, асцит любой этиологии, воспаление брюшины, плеврит, лейомиома, а также ревматоидный артрит, склеродермия, системная красная волчанка, синдром Шегрена и др. [10]. Неслучайно Европейская группа по онкомаркерам все же рекомендует направлять женщин в постменопаузе с уровнем СА-125 выше 35 Ед/мл на дополнительное обследование [9], а диагностические возможности этого лабораторного теста активно изучаются в различных аспектах. Так, в течение последних нескольких лет уровень СА-125 рассматривался как независимый прогностический фактор при метастатическом раке желудка [25], колоректальном раке [26] и хронической сердечной недостаточности [27], а также в качестве раннего маркера карциномы молочной железы [28] и рака легких [29].

Постаналитическая оценка

Очевидно, что для реализации всего диагностического потенциала СА-125 требуется многовариантная постаналитическая оценка этого лабораторного теста. Так, помимо часто используемого порогового значения 35 Ед/мл, клинически информативными критериями являются и превышение концентрации 95 Ед/мл, и рост показателя в динамике. Современные медицинские информационные системы и метрологический подход к оценке качества измерений в медицине предоставляют большие возможности для внедрения такой многоплановой персонализированной трактовки в рутинную практику лабораторий. Нами разработана форма развернутого отчета о результатах исследования уровня СА-125, которая может быть представлена в личном кабинете пациентки следующим образом (рис. 1).

Формирование такого отчета требует от лаборатории решения двух основных задач. Первая из них заключается в предоставлении результата измерения с указанием его неопределенности [30]. Размах значений, который объективно может быть приписан результату количественного иммунохимического измерения концентрации СА-125 и который выражается посредством расширенной неопределенности, обычно составляет в разных лабораториях от $\pm 8\%$ до $\pm 16\%$. Эта информация может оказаться существенной при сравнении результата исследования с границами принятия клинического решения. Вторая важная задача – это выбор способа сравнения последовательных результатов. По нашим данным [31], традиционно рекомендуемый расчет коэффициента референтных различий/reference change value (RCV) не относится к объективным способам оценки динамики. RCV объединяет фактически установленную внутри лабора-

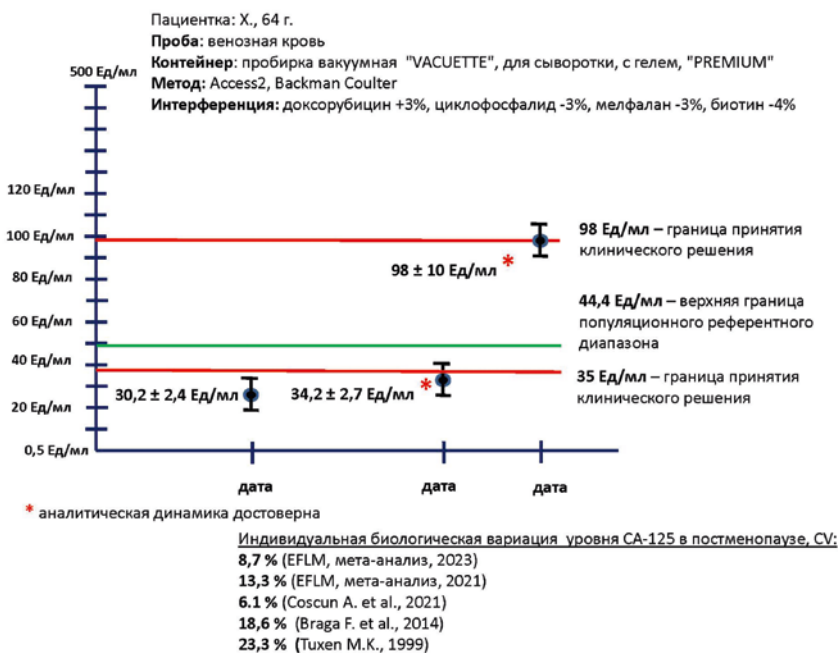


Рисунок 1. Развернутый отчет о выполненном исследовании уровня СА-125 в динамике.

торную аналитическую вариацию и индивидуальную биологическую вариацию, справочные сведения о которой публикуются на сайте Европейской федерации клинической химии и лабораторной медицины (EFLM), biologicalvariation.eu. Эти сведения зачастую критически различаются между собой (рис. 1), поскольку зависят от возраста, пола и репродуктивного статуса обследованных лиц, а также от периодичности наблюдений и аналитического метода. Вследствие такого разнообразия выбор справочных сведений для расчета индивидуального RCV практически не осуществим в лаборатории, не имеющей прямого контакта с пациентом, в то время как использование усредненного коэффициента индивидуальной биологической вариации может быть некорректным при персонализированном динамическом наблюдении и снижать его клиническую чувствительность.

Вариантом выбора для количественных иммунохимических методов служит оценка аналитической динамики [32] путем сравнения разности между двумя последовательными результатами с коэффициентом критической разницы (CD)/пределом воспроизводимости (R). Аналитическая динамика является достоверной, если соблюдается условие:

$$\left| \frac{x_1 - x_2}{\bar{x}} \right| \cdot 100 > 2,77 \cdot CV_a,$$

где x_1, x_2 – результаты последовательных измерений,

$$\bar{x} = (x_1 + x_2)/2,$$

2,77 – коэффициент случайной погрешности при заданной вероятности (t) для двух измерений (из таблиц Стьюдента).

CV_a – внутрилабораторный долгосрочный коэффициент вариации в условиях промежуточной прецизионности; показатель прецизионности измерения, оцененной в относительном виде.

Следует отметить, что медицинские измерения имеют ряд особенностей контроля качества. Так, точность измерения в пробе пациента оценивается косвенно, посредством исследований контрольных материалов. Кроме того, в медицинской лаборатории отсутствуют заданные, установленные извне, требования к аналитическому качеству, несмотря на множественные дискуссии на эту тему. Лаборатория в обязательном порядке обеспечивает соответствие фактических параметров качества измерения функциональным характеристикам метода, а затем самостоятельно оценивает и устанавливает требования к качеству измерений. Вследствие этих особенностей, расчеты критической аналитической разности (CD) и предела

воспроизводимости (R) для медицинской лаборатории по сути идентичны, а в качестве стандартного показателя промежуточной прецизионности в их формулах целесообразно использовать именно CV_a, а не среднее квадратическое отклонение (СКО/S_R).

Оценка аналитической динамики может выполняться медицинской информационной системой и в автоматическом режиме транслироваться в отчет о выполненном исследовании. Напротив, выбирать сведения о биологической вариации, соответствующие конкретному клиническому случаю, может только врач или сам пациент. Сайт biologicalvariation.eu в открытом доступе размещает подробную информацию о характеристиках групп, в которых получены конкретные сведения о БВ, а также предоставляет калькулятор для самостоятельного расчета RCV.

В качестве весомого ограничения тактики персонализированного мониторинга следует отметить, что сравнению в динамике подлежат только результаты исследований, выполненных в одной лаборатории с использованием одного и того же метода. В ином случае требуется получить дополнительные данные путем сравнительной валидации методов. Перспектива профилактического персонализированного наблюдения заключается в накоплении результатов лабораторных исследований в личном кабинете пациента с последующим вычислением личных показателей биологической вариации.

Заключение

Концентрация СА-125 в сыворотке крови превышает 44,4 ЕД/мл только у 5% здоровых женщин. Повышенный уровень этого онкомаркера в подавляющем большинстве случаев связан с онкологическим или неонкологическим патологическим процессом различной локализации, характерен для половины случаев серозного РЯ на ранней стадии и с высокой специфичностью свидетельствует о РЯ у женщин в постменопаузе. Поэтому, несмотря на недостаточную экономическую эффективность популяционных скрининговых исследований, клинически целесообразно включение этого теста в алгоритмы персонализированного наблюдения за состоянием здоровья женщин. При этом важным условием клинической

информативности тестирования является модернизация постаналитической оценки, а именно: оценка неопределенности измерения, выявление достоверной динамики между последовательными результатами и использование нескольких границ принятия клинического решения.

Список литературы / References

1. Sources of variation and establishment of Russian reference intervals for major hormones and tumor markers / A. Ruzhanskaya, K. Ichihara, S. Evgina, I. Skibo, N. Vybornova, A. Vasiliev, G. Agarkova, V. Emanuel // *PLoS One*. 2021. – Vol. 16. – No. 1. – P. e0234284. DOI: 10.1371/journal.pone.0234284.
2. Онкология: Национальное руководство. Краткое издание / под ред. В.И. Чиссова, М.И. Давыдова. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2017. 576 с. ISBN 978-5-9704-3982-1. *Onkologiya: Nacional'noe rukovodstvo. Kratкое izdanie*. V.I. Chissova, M.I. Davydov (ed.). Moscow: GEOTAR-Media, 2017. 576 p. ISBN 978-5-9704-3982-1. (In Russ.)
3. Tuxen, M.K. Tumor marker CA125 in ovarian cancer / M.K. Tuxen // *Journal of Tumor Marker Oncology*. 2001. – Vol. 16. – No. 1. – P. 49–67.
4. Behnamfar, F. Are ROMA and HE4 more accurate than CA-125, in predicting of ovarian epithelial carcinoma? / F. Behnamfar, A. Zafarbaksh, N. Ahmadian // *Advanced Biomedical Research*. 2023. – 2:156. DOI: 10.4103/abr.abr_264_22.
5. Clinical Use of Cancer Biomarkers in Epithelial Ovarian Cancer: Updated Guidelines From the European Group on Tumor Markers. The International Journal of Gynecological Cancer / G. Söletormos, M. J. Duffy, Abu Hassan S. Othman, R. H. Verheijen, B. Tholander, R. C. Jr. Bast, K. N. Goorenstroom, C. M. Sturgeon, J. M. Bonfrer, P. H. Petersen, H. Troonen, G. Carlot-Torre, J. Kanty Kulpa, M. K. Tuxen, R. Molina. 2016. – Vol. 26. – No. 1. – P. 43–51. DOI: 10.1097/IGC.0000000000000586.
6. Клиническая значимость биологических маркеров при раке яичников, раке предстательной железы, колоректальном раке / Н.В. Маршутина, М.П. Солохина, И.И. Алентов, Н.С. Сергеева // *Исследования и практика в медицине*. 2016. – Т. 3. – № 1. – С. 46–57. Clinical significance of biomarkers in ovarian cancer, prostate cancer, colorectal cancer / N. V. Marshutina, M. P. Solokhina, I. I. Alentov, N. S. Sergeeva // *Research and Practical Medicine Journal*. 2016. – Vol. 3. – No. 1. – P. 46–57. (In Russ.)
7. Stewart, C. Ovarian Cancer: An Integrated Review / C. Stewart, C. Ralyea, S. Lockwood // *Seminars Oncology Nursing*. 2019. – Vol. 35. – No. 2. – P. 151–156. DOI: 10.1016/j.soncn.2019.02.001.
8. Сергеева, Н.С. Опухолеассоциированные маркеры в скрининговых программах, направленных на активное выявление рака яичников: реальность, проблемы и перспективы / Н.С. Сергеева, Н.В. Маршутина // *Практическая онкология*. 2010. – Т. 11. – № 2. – С. 109–118. Marshutina, N. V. Opuholeassoitsirovannye markery v skringinovykh programmah, napravlennyh na aktivnoe vyavleniye raka yaichnikov: real'nost', problemy i perspektivy / N. V. Marshutina, N. S. Sergeeva // *Practical oncology*. 2010. – Vol. 11. – No. 2. – P. 109–118. (In Russ.)
9. Esmo Guidelines Task Force. ESMO Minimum Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up of ovarian cancer / Esmo Guidelines Task Force // *Annals of Oncology*. 2001. – Vol. 12. – No. 9. – P. 1205–1207.
10. Montagnana, M. Circulating biomarkers in epithelial ovarian cancer diagnosis: from present to future perspective / M. Montagnana, M. Benati, E. Danese // *The Annals of Translational Medicine*. 2017. – Vol. 5. – No. 13. – P. 276.
11. Перспективы ранней диагностики рака яичников / Л. А. Ашрафян, И. Б. Антонова, О. И. Аleshikova, Н. А. Бабаяева, С. В. Ивашина, А. В. Лустик, Е. В. Герфанова // *Вестник Российского научного центра рентгенодиагностики Минздрава России*. URL: http://vestnik.mcr.ru/vestnik/v14/papers/aleshikova_v14.pdf Prospects of early diagnosis of ovarian cancer / L. A. Ashrafyan, I. Antonova, O. Aleshikova, N. Babayeva, S. Vashina, A. Lusstik, E. Gefranova // *Vestnik Rossijskogo nauchnogo centra rentgenoradiologii Minzdrava Rossii*. URL: http://vestnik.mcr.ru/vestnik/v14/papers/aleshikova_v14.pdf (In Russ.)
12. HE4 in ovarian cancer: from discovery to clinical application / M. Montagnana, E. Danese, S. Giudici, M. Franchi, G. C. Guidi, M. Plebani, G. Lippi // *Advances in Clinical Chemistry*. 2011. – Vol. 55. – P. 1–20.
13. Relationship among surgical complexity, short-term morbidity, and overall survival in primary surgery for advanced ovarian cancer / G. D. Alefii, S. C. Dowdy, K. C. Podratz, W. A. Cliby // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2007. – Vol. 197. – No. 6. – P. 676.e1–7.
14. Tumour markers in gynaecological cancers – EGTm recommendations. European Group on Tumor Markers. *Anticancer Research / O. Segurado, J. Bonfrer, M. J. Duffy [et al.]* 1999. – Vol. 19. – No. 4. – P. 2807–2820.
15. CA125 expression pattern, prognosis and correlation with serum CA125 in ovarian tumor patients. From The Danish "MALOVA" Ovarian Cancer Study / E. V. Høgdall, L. Christensen, S.K. Kjaer [et al.] // *Gynecologic Oncology*. 2007. – Vol. 104. – No. 3. – P. 508–515.

16. *Advances in diagnosis and management of ovarian cancer*. S.A. Farghaly (ed.). New York: 2014. P. 33–58. ISBN: 978-1-4614-8270-3
17. National Academy of Clinical Biochemistry. National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers / C. M. Sturgeon, M. J. Duffy, U. H. Stenman [et al.] // *Clinical Chemistry*. 2008. – Vol. 54. – No. 12. – P. e11–79.
18. Audit of transvaginal sonography of normal postmenopausal ovaries by sonographers from the United Kingdom Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKTOCS) / W. Staff, A. Gentry-Maharaj, A. Ryan, N. Amso, M. Seif, C. Jones, I. Jacobs, M. Parmar, U. Menon, S. Campbell, M. Burnell. *F1000Res*. 2018. – No. 7. – 1241p.
19. Risk Algorithm Using Serial Biomarker Measurements Doubles the Number of Screen-Detected Cancers Compared With a Single-Threshold Rule in the United Kingdom Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening / U. Menon, A. Ryan, J. Kals [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. 2015. – Vol. 33. – No. 18. – P. 2062–2071.
20. Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKTOCS): a randomised controlled trial / I. J. Jacobs, U. Menon, A. Ryan [et al.] // *Lancet*. 2016. – Vol. 387. – P. 945–956.
21. The cost-effectiveness of screening for ovarian cancer: Results from the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKTOCS) / U. Menon, A. J. McGuire, M. Raikov [et al.] // *British Journal of Cancer*. 2017. – Vol. 117. – No. 5. – P. 619–627.
22. Hussein, N. Status of tumor markers in epithelial ovarian cancer has there been any progress? A review / N. Hussein // *Gynecologic Oncology*. 2011. – Vol. 120. – No. 1. – P. 152–157.
23. Reducing ovarian cancer mortality through screening: Is it possible, and can we afford it? / L. J. Havrilesky, G. D. Sanders, S. Kulasingam, E. Myers Jr. // *Gynecologic Oncology*. 2008. – Vol. 111. – No. 2. – P. 179–87. DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.07.006.
24. Клиническая значимость ПСА-ассоциированных тестов в диагностике и стадировании рака предстательной железы / Н.С. Сергеева, Т.Е. Скачкова, Н.В. Маршутина, Б.Я. Алексеев, А.Д. Каприн // *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2018. – № 1. – С. 55–67. DOI: 10.17116/onkolg20187155-67
25. Каприн Клиническая значимость ПСА-ассоциированных тестов в диагностике и стадировании рака предстательной железы / Н.С. Сергеева, Т.Е. Скачкова, Н.В. Маршутина, Б.Я. Алексеев, А.Д. Каприн // *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2018. – № 1. – С. 55–67. DOI: 10.17116/onkolg20187155-67
26. Семенов, Н.Н. Повышенный уровень СА125 (MUC 16) при метастатическом раке желудка – мощный фактор негативного прогноза выживаемости / Н.Н. Семенов, К.Д. Далгатов // *Заочные конференции онкологов*. 2022. – Т. 12. – № 1. – С. 44–50. DOI: 10.18027/2224-5057-2022-12-1-44-50.
27. Semenov, N. N. Elevated levels of CA125 (MUC 16) in metastatic gastric cancer as a strong predictor of poor survival / N. N. Semenov, K. Dalgatov // *Malignant Tumours*. 2022. – Vol. 12. – No. 1. – P. 44–50. DOI: 10.18027/2224-5057-2022-12-1-44-50. (In Russ.)
28. CA125: A superior prognostic biomarker for colorectal cancer compared to CEA, CA19-9 or CA242 / K. Björkman, H. Mustonen, T. Kaprio, H. Kekki, K. Pettersson, C. Haglund, C. Böckelman // *Tumour Biology*. 2021. – Vol. 43. No. 1. – P. 57–70. DOI: 10.3233/TUB-200069.
29. CA-125 variation in acute heart failure: a single-centre analysis / Patricia Lourenço, Filipe M. Cunha, Catarina Elias, Catarina Fernandes, Isaac Barros, João T. Guimarães, Paulo Bettencourt // *ESC Heart Failure*. 2022. – № 9. – P. 1018–1026. DOI: 10.1002/ehf2.13758
30. Evaluation of serum and salivary ca-125 in breast cancer patients – an analytical study / Urvashee Dwivedi, Anurag Jain, Fatima Bhopalwala Ali, Mustafa Ali // *Asian Journal of Pharmaceutics*. 2023. – Vol. 16. – No. 4. – P. 97–99.
31. Serum Markers CA125, CA153, and CEA along with Inflammatory Cytokines in the Early Detection of Lung Cancer in High-Risk Populations / G. Li, H. Zhang, L. Zhang, H. Liu, S. Li, Y. Wang, X. Deng // *BioMed Research International*. 2022. Article ID 1394042. – 4 p. DOI: 10.1155/2022/1394042.
32. Технология оценки неопределенности измерения: обоснование, условия и опыт внедрения в медицинскую практику / Н.А. Ковязина, Н.А. Алхутова, А.Г. Чуновкина, В.Л. Эмануэль // *Медицинский алфавит*. 2022. – № 19. – С. 7–11. DOI: 10.33667/2078-5631-2022-19-7-11
33. Measurement uncertainty estimation technology: justification and experience of implementation in medical practice / N. A. Kovyazina, N. A. Alhutova, A. G. Chunovkina, V. L. Emanuel // *Medical alphabet*. 2022. – No. 19. – P. 7–11. DOI: 10.33667/2078-5631-2022-19-7-11
34. Ковязина, Н.А. Биологическая вариация – вклад в клиническую неопределенность и роль в обеспечении качества количественных лабораторных исследований / Н.А. Ковязина, Н.А. Алхутова, С.С. Алексанин // *Менеджмент качества в медицине*. 2023. – № 3. – С. 101–107. Kovyazina, N. A. Biological variation – contribution to clinical uncertainty and the role in quality ensuring of quantitative laboratory studies / N. A. Kovyazina, N. A. Alhutova, S. S. Aleksanin // *Quality management in medicine*. 2023. No. 3. P. 101–107. (In Russ.)
35. МИ 3664-2022: рекомендация Государственной системы обеспечения единства измерений «Медицинские лаборатории. Оценка 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. (In Russ.)

Статья поступила / Received 05.03.24

Получена после рецензирования / Revised 15.03.24

Принята в печать / Accepted 15.03.24

Сведения об авторах

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

Алхутова Наталья Александровна, к.б.н., старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела лабораторной диагностики научно-исследовательского центра¹. E-mail: nalhutova@yandex.ru. ORCID:0000-0002-6268-8969

Жижина Ольга Леонидовна, к.м.н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней². E-mail: zhizhuna-o@mail.ru;

Алексанин Сергей Сергеевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, директор¹. E-mail: medicine@nrcrm.ru. ORCID:000-0001-6998-166

¹ФГБУ «Всероссийский Центр Экстренной и Радиационной Медицины им. А.М. Никитина» Министерства Российской Федерации по делам Гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и ликвидации последствий стихийных бедствий, Санкт-Петербург, Россия

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

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

Для цитирования: Ковязина Н.А., Алхутова Н.А., Жижина О.Л., Алексанин С.С. СА125 в популяционном скрининге и персонализированном мониторинге. *Медицинский алфавит*. 2024; (4): 17–21. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-17-21>

About authors

Kovyazina Nadezhda A., DM Sci (habil.), head of the 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 the Research Dept of Laboratory Diagnostics of the Research Center¹. E-mail: nalhutova@yandex.ru. ORCID:0000-0002-6268-8969

Zhizhina Olga L., PhD Med, associate professor at Dept of Propaedeutics of Internal Diseases². E-mail: zhizhuna-o@mail.ru

Aleksanin Sergey S., DM Sci (habil.), professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, director¹. E-mail: medicine@nrcrm.ru. ORCID:000-0001-6998-166

¹Nikitin Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, Saint-Petersburg, Russia

²Saint Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

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

For citation: Kovyazina N.A., Alkhutova N.A., Zhizhina O.L., Aleksanin S.S. CA125 in population screening and personalized monitoring. *Medical alphabet*. 2024; (4): 17–21. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-17-21>



Анализ содержания биомаркеров эндотелиальной дисфункции у пациентов с окклюзиями сосудов сетчатки различного генеза

К. И. Бельская^{1,2}, Л. К. Мошетьова², С. П. Казаков^{3,4}

¹МГОЦ ГБУЗ «ГКБ имени С.П. Боткина ДЗМ», г. Москва, Россия

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

³ФГБУ «ГВКГ имени Н.Н. Бурденко» Минобороны России, г. Москва, Россия

⁴ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» России, Москва (ФГБУ ФНКЦ ФМБА России)

РЕЗЮМЕ

Окклюзия сосудов сетчатки – тяжелое сосудистое состояние сетчатки, ведущее к значительному снижению зрения и слепоте. Патогенетически важное значение в развитии тромбоза играет эндотелиальная дисфункция. Целью настоящего исследования была количественная оценка биомаркеров дисфункции эндотелия. Было исследовано содержание VEGF слезной жидкости и гомоцистеина сыворотки крови в 3 группах – в группе I (пациенты с окклюзией центральной вены сетчатки), группе II (пациенты с окклюзией центральной артерии сетчатки) и группе контроля (пациенты без сосудистых нарушений). Группы были сопоставимы по полу и возрасту. Результаты показали повышенное содержание VEGF и гомоцистеина у пациентов с окклюзией ЦВС. Содержание маркеров у пациентов с окклюзией центральной артерии сетчатки было достоверно ниже I группы, однако достоверно выше группы контроля. Результаты показывают вовлеченность эндотелия в местный тромботический процесс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: окклюзия сосудов сетчатки, васкулярный эндотелиальный фактор роста, гомоцистеин.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Analysis of endothelial dysfunction biomarkers in patients with various cases of retinal vessel occlusion

K. I. Belskaya^{1,2}, L. K. Moshetova², S. P. Kazakov^{3,4}

¹City Clinical Hospital named after S. P. Botkin, Moscow, Russia

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

³Main Military Clinical Hospital named after academician N. N. Burdenko Russian Defense Ministry, Moscow, Russia

⁴Federal Research and Clinical Center of specialized types of health care and medical technology of the Federal Medical and Biological Agency, (FSBF FRCC of the FMBA) Moscow, Russia

SUMMARY

Retinal vascular occlusion is a severe vascular condition of the retina, leading to a significant decrease in vision and blindness. Endothelial dysfunction plays a pathogenetically important role in the development of thrombosis. The aim of this study was to quantify biomarkers of endothelial dysfunction. The content of VEGF tear fluid and serum homocysteine was studied in 3 groups – in group I (patients with occlusion of the central retinal vein), group II (patients with occlusion of the central retinal artery) and control group (patients without vascular disorders). The groups were comparable in gender and age. The results showed an increased content of VEGF and homocysteine in patients with the central artery of the retina occlusion. The content of markers in patients with the central artery of the retina occlusion was significantly lower than group I, but significantly higher than the control group. The results show the involvement of the endothelium in the local thrombotic process.

KEYWORDS: retinal vessel occlusion, vascular endothelial growth factor, homocysteine.

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

Окклюзия вен сетчатки является тяжелым сосудистым заболеванием сетчатки, приводящим к значимому снижению зрения.

Факторами риска окклюзии ЦВС и ее ветвей являются гипертензия, сахарный диабет, гиперлипидемия, гипергомоцистеинемия, нарушение свертываемости крови, системные воспалительные заболевания, пер-

вичная открытоугольная глаукома, короткий ПЗО, ретробульбарная компрессия [1–9].

Согласно оценкам ВОЗ, число взрослых с гипертонией увеличилось с 594 млн в 1975 г., в 1990 г. 650 млн до 1,3 млрд в 2019 г. Мировым сообществом отмечается рост сердечно-сосудистых заболеваний и снижение возраста дебюта их проявлений, что приводит и к уве-

личению количества больных с тромботическими заболеваниями, в том числе с окклюзиями ретинальных вен [10]. Окклюзия ретинальных сосудов может являться причиной инвалидности по зрению. В эту группу входят и молодые пациенты.

По мнению ряда авторов, важным звеном развития внутрисосудистой активации тромбоцитов и лейкоцитов, тромбоза, ремоделирования сосудов и неоангиогенеза играет эндотелиальная дисфункция [11–20]. Эндотелий регулирует местные процессы гемостаза, пролиферации, миграции клеток крови в сосудистую стенку и сосудистый тонус. При нарушении функции эндотелия наблюдается дисбаланс между факторами, которые обеспечивают эти процессы. Эндотелиальная дисфункция является обязательным звеном всех сердечно-сосудистых заболеваний, включая атеросклероз, ишемическую болезнь, хроническую сердечную недостаточность [21, 22].

При окклюзии сосудов сетчатки в ее тканях развивается тканевая гипоксия, что приводит к дисбалансу между количественным соотношением проангиогенных и ангиостатических факторов и, как следствие, – усиленному неупорядоченному формированию молодых сосудов капиллярного русла [23].

Семейство белков VEGF состоит из нескольких белков – VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, PlGF. VEGF-A вырабатывается в ответ на гипоксию сетчатки преимущественно эпителиальными пигментными клетками, эндотелиальными клетками и клетками Мюллера [24–27]. Исследования подтверждают центральную роль VEGF в развитии постокклюзионного макулярного отека, который является основной причиной снижения зрения у пациентов с окклюзией центральной вены сетчатки [28, 29]. По данным Gutman F., макулярный отек развивается более чем у 60% с окклюзией центральной вены сетчатки. У 2/3 он сохраняется в течение года и становится хроническим [30]. Персистенция макулярного отека приводит к истончению внутренних слоев сетчатки, гибели фоторецепторов, атрофии пигментного эпителия сетчатки, повреждению базальной мембраны и развитию эпиретинального фиброза.

Еще одним белковым фактором, влияющим на состояние эндотелия, является гомоцистеин. Гомоцистеин оказывает действие прокоагулянта, подавляя активность антитромбина III и гепарина, что приводит к повышению активности тромбина. Уровень гомоцистеина в крови колеблется в районе 10–11 мкмоль/л [35–37]. По данным других авторов, уровень гомоцистеина в плазме крови составляет 5–15 мкмоль/л [33]. Нормальный уровень гомоцистеина колеблется от 5 до 15 мкмоль/л, слегка повышенный уровень от 15 до 30 мкмоль/л, умеренный – от 30 до 100 мкмоль/л, значение более 100 мкмоль/л классифицируется как тяжелая гипергомоцистеинемия [33–35]. Высокий уровень гомоцистеина повышает количество апоптозов и ускоряет процессы старения клеток эндотелия [30]. Его воздействие приводит к увеличению риска разрыва атеросклеротической бляшки и развитию тромбоза [30, 31]. Исследования показывают, что гипергомоцистеинемия ведет к увеличению риска развития венозных тромбозов [39–41].

Цель исследования

Оценка эндотелиальной дисфункции как патогенетического звена развития окклюзий сосудов сетчатки различного генеза путем исследования количественного уровня VEGF слезной жидкости и гомоцистеина сыворотки крови и сравнения их дифференциально-диагностической эффективности.

Материалы и методы

Были исследованы 3 группы пациентов с использованием клинично-инструментальных методов исследования. Группу I составили пациенты с неишемической окклюзией центральной вены сетчатки (n=32). Группа II состояла из пациентов с окклюзией центральной артерии сетчатки (n=32). Пациенты группы контроля представляли собой практически здоровые лица без сосудистой патологии глаз (n=32). Из исследования исключались пациенты с сопутствующей глазной патологией (неоваскулярная форма ВМД, глаукома, воспалительные заболевания, хирургическое лечение и травмы в анамнезе), а также пациенты, имеющие соматические заболевания в стадии суб- и декомпенсации (бронхиальная астма среднего и тяжелого течения, сахарный диабет I и II типа, ревматические заболевания, ОНМК и другие тромботические состояния в анамнезе). Группы были сопоставимы по полу и возрасту. Забор слезной жидкости у всех 32 пациентов каждой группы проводили унифицированным стандартным методом в течение 1 недели от развития сосудистого заболевания. Забор сыворотки крови проводили у 15 из 32 пациентов в каждой группе в сроки 10–40 дней от развития заболевания. Количественное исследование VEGF проводили наборами реагентов компании Вектор-Бест (Россия) методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), а гомоцистеина с использованием иммунохимических наборов для электрохемилюминисценции на аппарате «Cobas e411» компании Roche Diagnostics (Швейцария-США). Для статистической обработки данных применяли непараметрический метод Манна-Уитни, расчет коэффициента ранговой корреляции Спирмена и ROC-анализ с использованием пакета прикладных программ SPSS версия 26.

Результаты

Среднее содержание VEGF в группе контроля составило 25,05±2,74 пг/мл (от 10,01 пг/мл до 71 пг/мл, медиана 18,25 пг/мл). Среднее содержание VEGF в группе I составило 151,45±35,66 пг/мл (от 31,0 пг/мл до 259,31 пг/мл, медиана 185,47 пг/мл). Среднее содержание VEGF в группе II составило 52,70±8,96 пг/мл (от 2,39 пг/мл до 221,45 пг/мл, медиана 29,04 пг/мл) (таблицы 1, 2). Тест Манна-Уитни показал достоверные отличия между группой контроля и I группой (p<0,00001), между I и II группами (p<0,00001), а также между группой контроля и II группой (p=0,455, p<0,05).

Среднее содержание гомоцистеина (рис. 1) в группе контроля составило 6,99±0,13 мкмоль/л (от 6,15 мкмоль/л до 8,1 мкмоль/л, медиана 6,97 мкмоль/л). Среднее содержание гомоцистеина в группе I составило

Таблица 1
Количественное содержание VEGF в слезной жидкости и гомоцистеина сыворотки у пациентов с окклюзией сосудов сетчатки глаза

Пациенты/показатели	VEGF слезной жидкости, пг/мл			Гомоцистеин сыворотки крови, мкмоль/л		
	Среднее значение	Разброс	Медиана	Среднее значение	Разброс	Медиана
Группа контроля	25,05±2,74	10,01–71	18,25	6,99±0,13	6,15–8,1	6,97
Группа I	151,45±35,66	31,0–259,31	185,47	12,24±0,21	10,96 до 13,8	12,04
Группа II	52,70±8,96	2,39–221,45	29,04	10,97±0,37	8,88 до 13,59	11,41

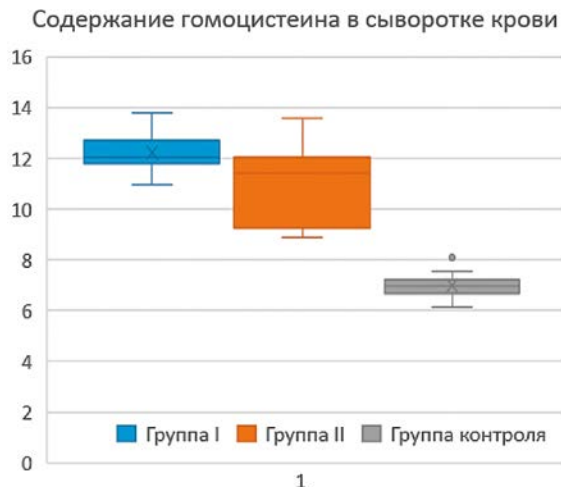


Рисунок 1. Количественное содержание гомоцистеина в сыворотки крови пациентов с окклюзией сосудов сетчатки.

12,24±0,21 мкмоль/л (от 10,96 мкмоль/л до 13,8 мкмоль/л, медиана 12,04 мкмоль/л). Среднее содержание гомоцистеина в группе II составило 10,97±0,37 мкмоль/л (от 8,88 мкмоль/л до 13,59 мкмоль/л, медиана мкмоль/л) (табл. 1, 2). Тест Манна-Уитни показал достоверные отличия между I и II группами ($p=0,01428$, $p<0,05$). Сравнение I группы и группы контроля, а также сравнение II группы и группы контроля показало высокую достоверность различий между группами. В обоих случаях критерий достоверности составил $p<0,0001$.

Для изучения механизмов эндотелиальной дисфункции при патологии вен сосудов сетчатки и возможной взаимосвязи VEGF слезной жидкости и гомоцистеина сыворотки крови при данной патологии провели корреляционный анализ в исследуемых группах I и II. Расчет

Таблица 2
Статистический анализ показателей VEGF в слезной жидкости и гомоцистеина сыворотки у пациентов с окклюзией сосудов сетчатки

Показатель	P, r	Примечание
Статистические методы непараметрического анализа		
Количественное содержание VEGF в слезной жидкости	$P_{I-II} < 0,00001$	
	$P_{I-K} < 0,00001$	
	$P_{II-K} = 0,0455$ ($p < 0,05$)	
Количественное содержание гомоцистеина, в сыворотке	$P_{I-II} = 0,01428$ ($p < 0,05$)	
	$P_{I-K} < 0,0001$	
	$P_{II-K} < 0,0001$	
Статистические методы корреляционного анализа		
Количественное содержание VEGF слезной жидкости и гомоцистеина сыворотки крови у пациентов I группы	$r_1 = 0,911$	
Количественное содержание VEGF слезной жидкости и гомоцистеина сыворотки крови у пациентов II группа	$r_2 = 0,118$	

коэффициента ранговой корреляции Спирмена показал высокую корреляцию ($r_s = 0,911$) между исследованиями VEGF слезной жидкости и гомоцистеина сыворотки крови у пациентов с неишемической окклюзией центральной вены. (I группа). В группе пациентов с окклюзией центральной артерии сетчатки выявлены слабые корреляционные связи между VEGF слезной жидкости и гомоцистеина сыворотки крови ($r_s = 0,118$). Таким образом, в патологическом процессе эндотелиальной дисфункции представляется важным совместное изучение уровней VEGF слезной жидкости и гомоцистеина сыворотки крови только лишь у пациентов с неишемической окклюзией центральной вены в связи с их тесными взаимоотношениями.

Для оценки порогового значения в дифференциальной диагностике изучаемой патологии исследованы количественное соотношение VEGF слезной жидкости у пациентов с окклюзией сосудов сетчатки в сравнении с контрольной группой, у которых были найдены достоверные различия в группах. Были изучены ROC-кривые. Анализ данных показал, что наиболее достоверные показатели по данным ROC-кривых были выявлены у пациентов с окклюзией вен сетчатки в сравнении с контрольной группой (рис. 2). Проведенный анализ ROC-кривых (рис. 2) показал, что оптимальным пороговым значением в диагностике этой патологии, используя лабораторные иммунохимические методы определения VEGF в слезной жидкости, явилось значение VEGF 15,19 пг/мл при 100 % чувствительности, 81,3 % специфичности, при этом

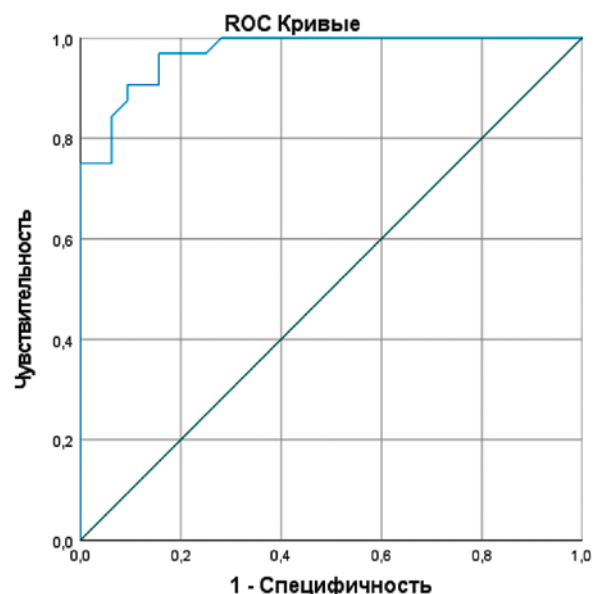


Рисунок 2. ROC-анализ VEGF слезной жидкости у пациентов с окклюзией центральной вены сетчатки в сравнении с контрольной группой.

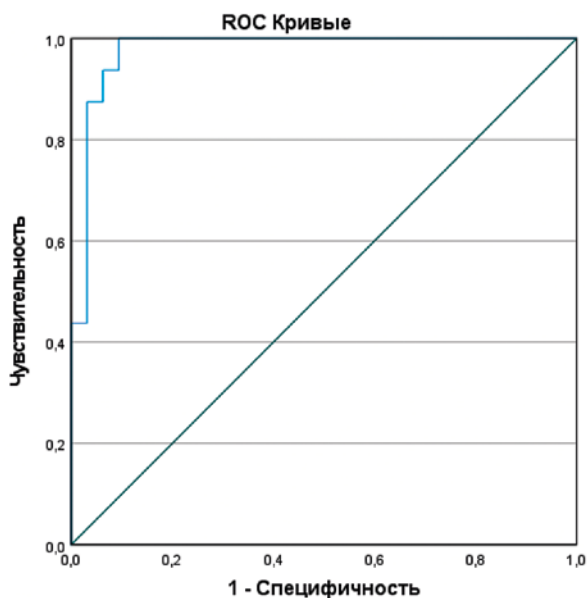


Рисунок 3. ROC-анализ VEGF слезной жидкости у пациентов в группах пациентов с окклюзией центральной артерии и вен сетчатки.

показатель AUC составила 0,971 (95 % ДИ=0,938–1,0), что свидетельствует о высокой точности данного метода диагностики окклюзий вен сетчатки.

ROC-анализ, проведенный у пациентов с окклюзией центральной вены сетчатки в сравнении с окклюзией центральной артерии сетчатки, позволил провести диагностическое разделение данных групп пациентов, используя пороговые значения, и показал, что полученное значение может использоваться в дифференциальной диагностике между этими двумя патологиями сосудов сетчатки. Оптимальным пороговым значением VEGF слезной жидкости составило значение VEGF 21,62 пг/мл при 100 % чувствительности, 81,3 % специфичности (рис. 3). Показатель точности метода (площадь под кривой – AUC) был равен 0,977 (95 % ДИ=0,94–1,0), что свидетельствует о возможном использовании с высокой точностью данного метода в дифференциальной диагностике этих двух патологий сетчатки глаз пациентов.

Был проведен ROC-анализ, у пациентов с окклюзией центральной артерии сетчатки в сравнении с контрольной группой, с его помощью было показано пороговое значение для группы пациентов в данной патологией в сравнении с группой практически здоровых лиц. Оптимальным пороговым значением VEGF слезной жидкости было определено как уровень VEGF – 10,56 пг/мл при 97 % чувствительности и 97 % специфичности (рис. 4). Показатель точности метода (площадь под кривой – AUC) был равен 0,721 (95 % ДИ=0,59–0,851). Это свидетельствует о возможности использования данного метода в диагностике окклюзии артерий сетчатки.

Заключение

Высокий уровень содержания VEGF слезной жидкости в I группе показывает высокую значимость эндотелиальной дисфункции как патогенетического звена окклюзии центральной вены сетчатки и постокклюзионных изменений сетчатки. Содержание VEGF в II группе достоверно выше

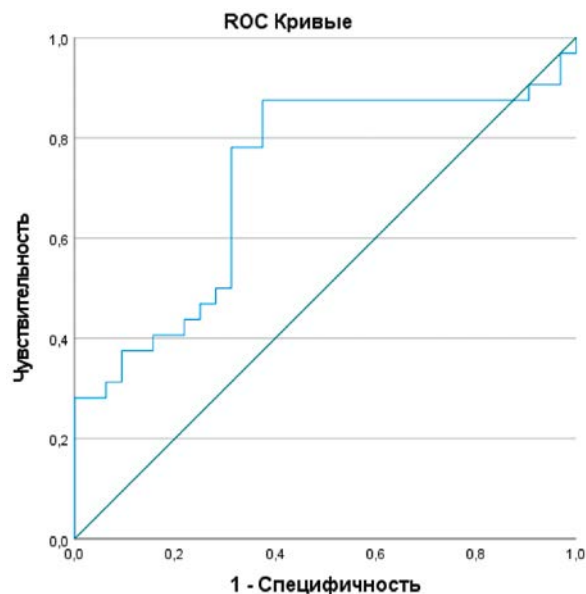


Рисунок 4. ROC-анализ VEGF слезной жидкости у пациентов с окклюзией центральной артерии сетчатки в сравнении с контрольной группой.

группы контроля, что показывает вовлеченность эндотелия сосудов сетчатки в патологический процесс окклюзии центральной артерии сетчатки, однако достоверно ниже содержания VEGF в I группе. Количественное содержание гомоцистеина показало системную эндотелиальную заинтересованность и при венозных, и при артериальных окклюзиях сетчатки. При этом ни у одного из пациентов не была выявлена гипергомоцистеинемия (фактор риска окклюзии вен сетчатки) – показатели гомоцистеина сыворотки крови всех пациентов были строго в пределах референтных значений.

Нашими исследованиями предложены пороговые значения, которые могут использоваться в дифференциальной диагностике между окклюзией центральной артерии сетчатки и практически здоровыми пациентами, а также между окклюзией центральной вены сетчатки и окклюзией центральной артерии сетчатки. Полученные пороговые значения отличает высокая чувствительность метода диагностики при хорошей специфичности и точности используемого лабораторного иммунохимического метода диагностики.

Неинвазивное исследование маркера VEGF слезной жидкости и простая техника забора сыворотки крови для исследования гомоцистеина сыворотки крови делает возможным использовать эти маркеры в рутинной диагностике и последующем мониторинге за течением сосудистых заболеваний сетчатки. Проведенное лабораторное исследование с последующим анализом и расчетом диагностической эффективности и корреляционных связей позволяет приблизиться к пониманию механизмов нарушений эндотелия в сосудах сетчатки и предложить использовать пороговые диагностические значения при исследуемой патологии глаз.

Список литературы / References

1. Klein R., Moss S.E., Meuer S.M., Klein B.E. The 15-year cumulative incidence of retinal vein occlusion: the Beaver Dam Eye Study. Arch Ophthalmol. 2008; 126(4):513–8. <https://doi.org/10.1001/archophth.126.4.513>
2. The Eye Disorders Case-Control Study Group Risk Factors for Central Retinal Vein Occlusion. Arch Ophthalmol 1996; (114): 545–54. <https://doi.org/10.1001/archophth.1996.01100130537006>

3. Elman M.J., Bhatt A.K., Quinlan P.M., Enger C. The risk for systemic vascular diseases and mortality in patients with central retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 1990; 97(11):1543-8. [https://doi.org/10.1016/s0161-6420\(90\)32379-5](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(90)32379-5)
4. Bertelsen M., Linneberg A., Christoffersen N., Vorum H., Cade E., Larsen M. Mortality in patients with central retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 2014; (12):637-642. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2013.07.025>
5. Koizumi H., Ferrara D.C., Brue C., Spaide R.F. Central retinal vein occlusion case-control study. *Am J Ophthalmol* 2007; (144):858-63. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2007.07.036>
6. Rath EZ, Frank RN, Shin DH, Kim C. Risk factors for retinal vein occlusions. A case-control study. *Ophthalmology* 1992; (99):509-14. [https://doi.org/10.1016/s0161-6420\(92\)31940-2](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(92)31940-2)
7. Shahsuvaryan M.L., Melkonyan A.K. Central retinal vein occlusion risk profile: a case-control study. *Eur J Ophthalmol* 2003; (13):445-52. <https://doi.org/10.1177/112067210301300505>
8. Wang Y.X., Zhang J.S., You Q.S., Xu L., Jonas J.B. Ocular diseases and 10-year mortality: The Beijing Eye Study 2001. *Acta Ophthalmol* 2014; 92(6):424-8. <https://doi.org/10.1111/aos.12370>
9. Dodson, P.M., Galton, D.J., Hamilton, A.M. et al. Retinal Vein Occlusion and the Prevalence of Lipoprotein Abnormalities. *Br J Ophthalmol* 1982; (66): 161-164. <https://doi.org/10.1136/bjo.66.3.161>
10. Global report on hypertension: the race against a silent killer. Geneva: World Health Organization; 2023. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
11. Петрищев Н.Н. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. – СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2003. – 184 с
Petrishchev N. N. Endothelial dysfunction. Causes, mechanisms, pharmacological correction. – St. Petersburg: Publishing house of St. Petersburg State Medical University, 2003. – 184 p.
12. Тульцева С.Н. Эндотелиальные регуляторы фибринолиза у больных с тромбозом вен сетчатки. Офтальмологические ведомости. 2009; (2):4-11.
Tultseva S. N. Endothelial regulators of fibrinolysis in patients with retinal vein thrombosis. *Ophthalmological bulletin*. 2009; (2):4-11.
13. Flammer J, Konieczka K, Flammer A.J. The primary vascular dysregulation syndrome: implications for eye diseases. *EPMA J* 2013; (4): 1-14. <https://doi.org/10.1186/1878-5085-4-14>
14. Haufschild T, Prunte C, Messerli J, Flammer J. Increased endothelin-1 plasma level in young adults with retinal vascular occlusive diseases. *Klin Monb Augenheilkd* 2004; 221(5):357-359. <https://doi.org/10.1055/s-2004-812813>
15. Kang MH1, Balaratnasingam C, Yu PK, Morgan WH, McAllister IL, Cringle SJ, Yu DY. Morphometric characteristics of central retinal artery and vein endothelium in the normal human optic nerve head. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(3):1359-1367. <https://doi.org/10.1167/iov.10-6366>
16. Lip P.L., Blann A.D., Jones A.F., Lip G.Y. Abnormalities in haemorrhological factors and lipoprotein (a) in retinal vascular occlusion: implications for increased vascular risk. *Eye (Lond)*. 1998; (12):245-51. <https://doi.org/10.1038/eye.1998.58>
17. Rehak M., Wiedemann P. Retinal vein thrombosis: pathogenesis and management. *J Thromb Haemost*. 2010; (8):1886-1894. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2010.03909.x>
18. Tananoli Nagaoka T., Sogawa K., Tani T., Omae T., Nakabayashi S., Ishibazawa A., Yoshida A. Impaired systemic vascular endothelial function in patients with branch retinal vein occlusion. *Curr Eye Res* 2013; (38):114-118. <https://doi.org/10.3109/02713683.2012.738460>
19. Wautier J.L., Wautier M.P. Molecular basis of erythrocyte adhesion to endothelial cells in diseases. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2013; (53):11-21. <https://doi.org/10.3233/ch-2012-1572>
20. Wu K.K., Thiagarajan P. Role of endothelium in thrombosis and hemostasis // *Annu Rev Med*. 1996; (47): P. 315-331. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.47.1.315>
21. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т. Эндотелиальная дисфункция при сердечной недостаточности: возможности терапии ингибиторами АПФ. *Кардиология*. 2001; (41):100-104.
Belenkov Yu.N., Mareev V. Yu., Ageev F. T. Endothelial dysfunction in heart failure: possibilities of therapy with ACE inhibitors. *Cardiology*. 2001; (41):100-104.
22. Задюнченко В.С., Адашева Т.В., Сандомирская А.Г. Дисфункция эндотелия и артериальная гипертония: терапевтические возможности. *Русский Медицинский Журнал*. 2002; (1):11-16.
Zadionchenko V. S., Adasheva T. V., Sandomirskaya A. G. Endothelial dysfunction and arterial hypertension: therapeutic options. *Russian Medical Journal*. 2002; (1):11-16.
23. Крамарь Т.В. Патофизиологические аспекты воспалительного и невоспалительного неангиогенеза. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2020; (10):59-63. <https://doi.org/10.37279/2224-6444-2020-10-3-59-63>
24. Kramar T.V. Pathophysiological aspects of inflammatory and non-inflammatory neoangiogenesis. *Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2020; (10):59-63. <https://doi.org/10.37279/2224-6444-2020-10-3-59-63>
25. Yoshimura T. Comprehensive analysis of inflammatory immune mediators in vitreoretinal diseases / T. Yoshimura, K. H. Sonoda, M. Sugahara et al. *PLoS ONE*. – 2009. (12):8 158. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008158>
26. Bhisikil R.B. Vascular endothelial growth factor biology: clinical implications for ocular treatment. *Br J Ophthalmol*. 2006; 90(12):1542-1547. doi:10.1136/bjo.2006.098426.
27. Ferrara N., Gerber H.P., Le Coutre J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*. 2003; 9(6):669-676. <https://doi.org/10.1038/nm0603-669>
28. Schlögemann R.O., Van Hinsberg V.W. Role of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in eye disease. *Br J Ophthalmol*. 1997; 81(6):501-512. <https://doi.org/10.1136/bjo.81.6.501>
29. Campochiaro P.A., Hafiz G., Shah S.M. et al. Ranibizumab for macular edema due to retinal vein occlusions: implication of VEGF as a critical stimulator // *Mol. Ther*. 2008; (16):791-799. <https://doi.org/10.1038/mt.2008.10>
30. Branch Vein Occlusion Study Group. Argon laser scatter photocoagulation for prevention of neovascularization and vitreous hemorrhage in branch vein occlusion. A randomized clinical trial. *Arch. Ophthalmol*. 1996; 104(11):34-41. <https://doi.org/10.1001/archoph.1986.01050130044017>
31. Gulman F. A., Zegarra H. Macular edema secondary to occlusion of the retinal veins. *Surv. Ophthalmol*. 1984; (28):462-470. [https://doi.org/10.1016/0039-6257\(84\)90228-5](https://doi.org/10.1016/0039-6257(84)90228-5)
32. Шевченко О.П. Гомоцистеин и его роль в клинической практике (лекция). Клиническая лабораторная диагностика. 2008; (11): 25-32.
Shevchenko, O. P. Homocysteine and its role in clinical practice (lecture). *Clinical laboratory diagnostics*. 2008; (11): 25-32.
33. Bonilton-Kopp C. Early carotid atherosclerosis in healthy middle-aged women. *Kopp. Ibid*. 1993; (24):1837-1843. <https://doi.org/10.1161/01.str.24.12.1837>
34. O. Tamai, H. Matsuoka, H. Itabe. Single LDL apheresis improves endothelium – dependent vasodilatation in hypercholesterolemic humans. *Circulation*. 1997; (95):76-82. <https://doi.org/10.1161/01.cir.95.1.76>
35. Shepherd, S.M. Cobbe, I. Ford. For the West of Scotland Coronary Prevention Study Group. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. *N. Engl. J. Med*. 1995; (333):1301-1307. <https://doi.org/10.1056/nejm199511163332001>
36. Hankey G. J. Homocysteine and vascular disease. *Lancet*. 1999; (354):407-413. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(98\)11058-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(98)11058-9)
37. MacMahon M., Kirkpatrick C. *Nutr Metab Cardiovasc. Dis*. 2000; (10):195-203.
38. M. Bots, L. Launer, J. Lindemans. Homocysteine and short-term risk of myocardial infarction and stroke in the elderly. The Rotterdam Study. *Arch. Intern. Med*. 1999; (119):138-159. <https://doi.org/10.1001/archinte.159.1.38>
39. Shevchenko O. P., Olefrienko G. A. Gipergomocisteinemiya i ee klinicheskoye znachenie. *Laboratoriya*. 2002; (1):3-7.
40. Shmeleva V. M. Gipergomocisteinemiya i tromboz // *Tromboz, gemostaz i reologiya*. 2000; (4):26-29.
41. Aradottir M. Homocysteine in renal disease, in *Homocysteine in health and disease*. Cambridge University Press. Cambridge. 2001:321-330.
42. Zazzag D., Zhong H., Scalfizzi J. M., Laughner E., Simons J. W., Semenza G. L. Expression of hypoxia-inducible factor 1alpha in brain tumors: association with angiogenesis, invasion, and progression. *Cancer*. 2000; 88(11):2606-2618. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(20000601\)88:11<2606::AID-CNCR25>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/1097-0142(20000601)88:11<2606::AID-CNCR25>3.0.CO;2-W)

Статья поступила / Received 10.03.24

Получена после рецензирования / Revised 15.03.24

Принята в печать / Accepted 15.03.24

Сведения об авторах

Бельская Ксения Игоревна, врач офтальмолог¹, соискатель кафедры офтальмологии². E-mail: belskaia.ki@gmail.com. SPIN-код: 7268-8692. ORCID: 0000-0003-1685-3713

Мошетова Лариса Константиновна, д.м.н., профессор, академик РАН, заведующая кафедрой офтальмологии, президент³. E-mail: moshetovalk@yandex.ru. SPIN-код: 5697-6825. ORCID: 0000-0001-5081-414X

Казakov Сергей Петрович, д.м.н., начальник центра клинической лабораторной диагностики, главный лаборант², проф. кафедры клинической лабораторной диагностики и патологической анатомии³, президент российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики (РАМЛАД). E-mail: rmapo.kafimm@mail.ru. РИНЦ: 5560-3931. Scopus ID – 57211351588. WoS Researcher ID: C-6644-2018. ORCID: 0000-0001-6528-1059

¹МГОЦ ГБУЗ «ГКБ имени С.П. Боткина ДЗМ», г. Москва, Россия

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

³ФГБУ «ВКГ имени Н.Н. Бурденко» Минобороны России, г. Москва, Россия

⁴ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» России, Москва (ФГБУ ФНКЦ ФМБА России)

Автор для переписки: Бельская Ксения Игоревна. E-mail: belskaia.ki@gmail.com

About authors

Belskaya Ksenia I., ophthalmologist¹, applicant for the Dept of Ophthalmology². E-mail: belskaia.ki@gmail.com. SPIN code: 7268-8692. ORCID: 0000-0003-1685-3713

Moshefova Larisa K., DM Sci (habil.), professor, academican of the Russian Academy of Sciences, head of Dept of Ophthalmology, president³. E-mail: moshetovalk@yandex.ru. SPIN code: 5697-6825. ORCID: 0000-0001-5081-414X

Kazakov Sergey P., DM Sci (habil.), head of the Center for Clinical Laboratory Diagnostics, chief laboratory assistant², professor at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics and Pathological Anatomy³, president of Russian Association of Medical Laboratory Diagnostics (RAMLD). E-mail: rmapo.kafimm@mail.ru. RSCI: 5560-3931. Scopus ID – 57211351588. WoS Researcher ID: C-6644-2018. ORCID: 0000-0001-6528-1059

¹City Clinical Hospital named after S. P. Botkin, Moscow, Russia

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

³Main Military Clinical Hospital named after academican N. N. Burdenko Russian Defense Ministry, Moscow, Russia

⁴Federal Research and Clinical Center of specialized types of health care and medical technology of the Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russia

Corresponding author: Belskaya Ksenia I. E-mail: belskaia.ki@gmail.com

Для цитирования: Бельская К.И., Мошетова Л.К., Казakov С.П. Анализ содержания биомаркеров эндотелиальной дисфункции у пациентов с окклюзиями сосудов сетчатки различного генеза. *Медицинский алфавит*. 2024; (4): 22-26. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-22-26>

For citation: Belskaya K. I., Moshefova L. K., Kazakov S. P. Analysis of endothelial dysfunction biomarkers in patients with various cases of retinal vessel occlusion. *Medical alphabet*. 2024; (4): 22-26. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-22-26>



Значение коэффициента вариации (CV) как критерия выбора аналитической системы для иммунохимических исследований

В. Е. Колупаев

ФГАУ «Институт Медицинских Материалов» Минпромторга РФ, Москва

РЕЗЮМЕ

Актуальность. В современных условиях российские медицинские лаборатории часто попадают в ситуации, когда возникает необходимость замены аналитической системы, что может быть связано как с физическим износом оборудования и необходимостью улучшения характеристик аналитического процесса, так и с дефектурой медицинских изделий [1]. Проблемы с соблюдением графика поставок или своевременного технического обслуживания, недостаток финансов приводят к ситуации, когда приходится выбирать нового поставщика оборудования и реагентов. Как правило основным критерием сравнения в этом случае оказывается себестоимость анализа. Для представленных производителем аналитических характеристик исследований (правильность, точность, прецизионность) определить связь с возможными проблемами для безопасности пациента – далеко не простая задача.

Цель. Цель настоящего исследования показать значение промежуточной прецизионности в формировании риска лабораторной ошибки, а также разработать практический подход в использовании прецизионности как критерия выбора аналитической системы с точки зрения безопасности пациента.

Материалы и методы. В качестве исходных данных использовались характеристики реальных аналитических систем, опубликованные их производителем в сопроводительной документации. Для расчета рисков была разработана математическая модель, позволяющая сопоставить промежуточную прецизионность тестов и ожидаемое количество недостоверных результатов в период от появления дефекта аналитической системы до момента его определения в процедуре внутрилабораторного контроля качества (ВЛК).

Результаты. Математическое моделирование дефектов в исследованных аналитических системах, вызывающие существенный сдвиг сигнала, показало возможность их детекции после возникновения только в 10–20% случаев в первом контрольном измерении. Это значит, что процедура ВЛК способно идентифицировать ошибку с опозданием на 1–2 недели после того, как возник дефект. В течение этого времени недостоверные результаты могут быть выданы. Ожидаемое количество недостоверных результатов для некоторых тестов (Т3 (свободный), Т4 (свободный), Тестостерон, 25-гидрокси витамин D) может достигать от 25 до 50% от всех выданных результатов.

Заключение и вывод. Применение математического моделирования в оценке функциональности аналитических систем позволило рассчитать риск лабораторной ошибки до их внедрения в лабораторную практику, например, на этапе планирования закупки. В качестве критерия оценки при этом были успешно использованы данные о воспроизводимости тестов, опубликованные Производителем. Низкая прецизионность тестов может ставить под сомнение безопасность их использования для пациентов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: прецизионность, случайная погрешность, коэффициент вариации, общая ошибка, внутрилабораторный контроль, недостоверный результат, риск, математическое моделирование.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Автор подтверждает, что конфликт интересов отсутствует.

The significance of the coefficient of variation (CV) as a criterion for choosing an analytical system for immunochemical studies

V. E. Kolupaev

Institute Of Medical Materials, Moscow, Russia

SUMMARY

The relevance of the study. In modern realities, Russian medical laboratories often get into a situation where there is a need to replace the analytical system due to a physical deterioration of the equipment or the analytical characteristics improvement, as well as medical devices out of stock [1]. Problems with delivery schedules and timely maintenance, or lack of finances lead to a situation to choose a new supplier of equipment and reagents. As a rule, the main comparison criterion is the cost of analysis in this case. It isn't easy to determine the relationship between the analytical characteristics (trueness, accuracy, precision) presented by the manufacturer and risk for patient safety.

Objectives. The purpose of the study is to show the importance of precision in the risk of laboratory error, and also to develop a practical approach to use imprecision as a criterion for choosing an analytical system from the point of view of patient safety.

Materials and methods. The manufacturer's characteristics of real analytical systems were used in the study. For the risks calculations, a mathematical model was developed that allows one to compare the tests imprecision and the expected number of unreal results in the period from the analytical system defect occurrence to the detection of it in the internal quality control (IQC) procedure.

Results. Mathematical modeling has shown that significant disfunction of the studied analytical systems, with a signal shift of 10%, can be detected in the first control point after defect occurrence in 10–20% of cases only. It means that the IQC procedure is able to identify an error with a delay of 1–2 weeks. During this time, unreliable results can be reported. The expected number of unreal results for some tests (FT3, FT4, Testosterone, 25-hydroxyvitamin D) can reach up to 50% of all reported results.

Conclusions. The mathematical modeling in the analytical systems functionality estimation made it possible to calculate the risk of a laboratory error before their implementation in laboratory practice at the procurement planning stage, for example. Test CV published by the Manufacturer were successfully used as an evaluation criterion. The high imprecision of the tests may compromise the patients' safety of their use.

KEY WORDS: precision, imprecision, coefficient of variation, total error, internal quality control, unreal result, risk, mathematical modeling.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare that they have no conflicts of interest.

Когда лаборатория оказывается в состоянии выбора новой аналитической системы, она ориентируется, кроме цены, на пользовательские характеристики ана-

лизатора, такие как быстродействие, чувствительность детектора и другие. Проблема в том, что они практически никак не соотносятся с понятиями качества лабораторных

исследований, которое описывается другими терминами: «правильность», «точность» и «межсерийная воспроизводимость», или «промежуточная прецизионность» [2].

Рассуждая о правильности и прецизионности лабораторно-клинических измерений, недостаточно учитывать только характеристики анализатора, большую, если не основную роль в формировании качества играют реагенты и калибраторы. Под термином «аналитическая система» понимается совместное использование оборудования, реагентов и калибраторов для определения одного аналита. Этот термин мы будем использовать в дальнейшем.

Согласно официальному переводу Международного словаря метрологических терминов [2] понятия «правильность» и «прецизионность» измерений объединяются понятием «точность измерений», которое описывает качество измерений в целом. Количественно точность измерений характеризуется величиной интервала неопределенности измерений (НИ) [3]. Иными словами, неопределенность измерений является производной двух величин – случайной погрешности и систематической погрешности.

В лабораторной практике для большинства аналитов существует такой критерий качества как предел допустимой общей ошибки (ТЕа), который рассчитывается из групповой и индивидуальной биологической вариабельности [4]. Очевидно, если НИ превышает ТЕа, появляется вероятность недостоверного результата.

Согласно основному международному стандарту ISO 15189:2022 «Медицинские лаборатории. Требования к качеству и компетенции» [5] «...лаборатория должна иметь процедуру проверки того, что она может надлежащим образом выполнять исследования до внедрения их в практику, убедившись, что необходимое качество, установленное производителем или для метода, может быть достигнуто... технические характеристики метода исследования... должны соответствовать предполагаемому использованию результатов исследования». На практике это означает, что перед тем, как начинать выполнение процедуры верификации аналитической системы, Пользователь должен оценить ее рабочие характеристики, представленные Производителем, на предмет их соответствия требованиям к качеству измерения. Как минимум необходимо сопоставить общую допустимую ошибку (ТЕа), допустимое стандартное отклонение (или коэффициент вариации, CV%) и допустимое смещение (В%) с соответствующими характеристиками аналитической системы [6].

Международный стандарт ISO 15189: 2022 также вводит термин «стандартная неопределенность измерения»: «3.19 неопределенность измерений, НИ – неотрицательный параметр, характеризующий разброс значений величины, приписываемых измеряемой величине ... параметром может быть, например, стандартное отклонение (SD), называемое стандартной НИ (или кратное ему заданное значение)...». Как правило, стандартная НИ = $\pm 2CV$. Подразумевается следующее, если случайный компонент НИ выходит за пределы ТЕа, то вероятность появления недостоверных результатов ненулевая.

Алгоритм, позволяющий рассчитать вероятность появления недостоверных результатов при выходе случайной погрешности за пределы ТЕа, впервые был опубликован J. Yundt-Pacheco и С.А. Parvin [7, 8]. Расчет основывался

на использовании математических моделей аналитического процесса с фиксированной прецизионностью и описывал зависимость ожидаемого количества недостоверных результатов от величины сдвига, связанного с дефектом аналитической системы. Целью этих работ был выбор оптимальной тактики внутрилабораторного контроля качества (ВЛК). Аналогичный алгоритм использовался в настоящей статье при количественной оценке риска лабораторной ошибки для реально существующих аналитических систем в условиях возможной дисфункции и стандартной процедуры ВЛК, принятой в российских лабораториях [9].

Производитель оценивает прецизионность путем многократного измерения одного и того же образца, например, в соответствии со стандартом ГОСТ Р 70413–2022/ISO/TS 20914:2019 [10]. Аналогичную процедуру, например, делает лаборатория при выполнении установочной серии в рамках ВЛК [9]. Результатом такой оценки получается нормальное распределение значений величины, полученных в данной аналитической системе [6–10], и характеризуется коэффициентом вариации (CV), который должен быть опубликован в документации производителя как численный показатель повторяемости, если исследование проводилось в течение одного дня, или промежуточной прецизионности, если исследование проводилось несколько дней и сопровождалось включением/выключением прибора.

Получившиеся нормальное распределение одновременно отражает набор вероятностей получить то или иное значение при однократном измерении образца. Если анализировать клинический образец в какой-либо аналитической системе, то, отложив в обе стороны по два стандартных отклонения, мы учтем 95% всех возможных значений, которые мы могли бы получить, если бы исследовали этот образец многократно. Это и будет интервал стандартной НИ для данной аналитической системы, его также можно в относительных величинах, в этом случае ширина интервала НИ будет исчисляться в%. Если пределы ТЕа гораздо шире, чем интервал НИ, недостоверных результатов не ожидается.

Представим себе, что по причине какого-либо внутреннего или внешнего изменения в аналитической системе произошел сдвиг сигнала на некоторое кол-во% от начального положения. В результате произойдет сдвиг не только полученных результатов, но и интервалов неопределенности, связанных с ними (*рис. 1*). Заметно, что нормальное распределение в этом случае может частично выйти из области, ограниченной пределами ТЕа (*рис. 1*, заштрихованная область). Подсчет числа значений, оказавшихся в этой области, покажет вероятность недостоверных результатов в условиях заданной величины дефекта аналитической системы. Очевидно, что эта вероятность будет зависеть от CV%, положения границ ТЕа и заданной величины дефекта.

Для подсчета количества недостоверных результатов в описанной ситуации можно создать модель аналитического процесса, используя набор случайных чисел, подчиняющийся закону нормального распределения с CV%, который будет соответствовать прецизионности выбранной аналитической системы. Границы $\pm ТЕа$ фиксируются в% относительно среднего значения представленного распределения. Чтобы эмулировать дефект аналитической системы необходимо сдвинуть все числа полученного набора на величину дефекта. Подсчет

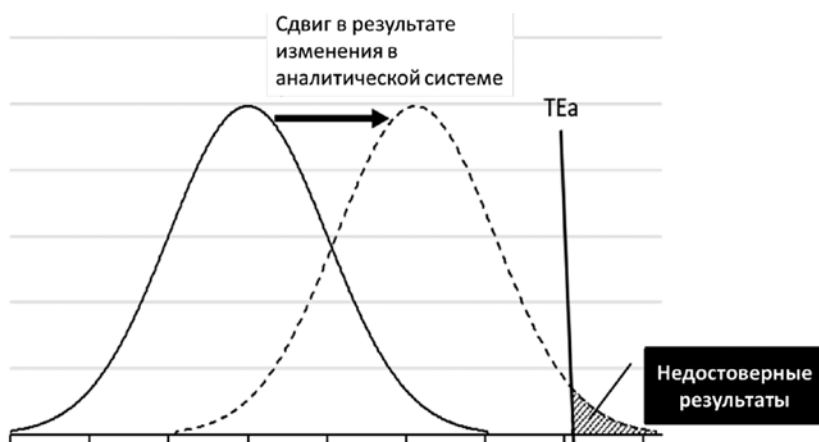


Рисунок 1. Увеличение вероятности недостоверных результатов при дефекте аналитической системы, если величина ее НИ сравнима с пределами TEa. Пояснения в тексте.
Условные обозначения: Сплошной линией на рисунке показано распределение вероятностей значений, получаемых при исследовании образца. Пунктирная линия – изменение распределения вероятности вследствие дефекта аналитической системы. TEa – граница допустимой общей ошибки. Штрихованная область – вероятность недостоверного результата. По шкале абсцисс погрешность результата, кратная CV%.

значений из этого ряда, которые вышли за пределы TEa, даст число недостоверных результатов, а отношение числа недостоверных результатов к общему количеству случайных компонентов набора будет соответствовать вероятности их появления.

Существование дисфункции аналитической системы в данной модели ничем не ограничено по времени. На практике дефект является объектом для выявления в процедуре ВЛК, что позволяет своевременно остановить выдачу недостоверных результатов и скорректировать работу системы. Большие дефекты, сравнимые по величине с НИ, выявляются быстро во время первой или второй постановки контрольных материалов (КМ). Вероятность определения меньших дефектов будет зависеть не только от размера сдвигов, связанных с ними, но и от CV аналитической системы [8].

Эту вероятность можно вычислить, учитывая, что прецизионность определяет положение допустимых пределов в контрольной карте ВЛК [9], а также НИ контрольных материалов. Создав математическую модель процесса измерения КМ, можно эмулировать дефект заданной величины и подсчитать количество контрольных точек, в которых набор критериев качества не будет выполняться (что соответствует определению ошибки в ВЛК). Для этого необходим набор случайных чисел, аналогичный описанному выше, подчиняющийся закону нормального распределения с CV, соответствующим выбранной аналитической системе. Строится стандартная контрольная карта и задаются критерии качества в виде набора правил Вестгарда [9]. Все значения сдвигаются на заданную величину дефекта и часть точек перестают соответствовать выбранным критериям, то есть будут эмулировать выявление ошибки в ВЛК. Расчет отношения числа этих точек к общему количеству случайных компонентов набора будет соответствовать вероятности выявления дефекта заданной величины для данной аналитической системы. Таким образом, модель продемонстрирует сколько аналитических серий в условиях дефекта будет выполнено, а результаты выданы, пока неисправность не будет обнаружена. Если задать объем аналитической серии, можно рассчитать общее число образцов, которые анализировались в условиях дефекта. Предыдущая модель позволила вычислить вероятность появления недостоверных результатов в данной аналитической системе в условиях дефекта определенной величины. Ожидаемое количество недостоверных результатов, которое может быть выдано лечащему врачу в период от возникновения дефекта до его момента выявления, будет равно общему числу образцов, исследованных в этот период, умноженному на значение вероятности недостоверных образцов для заданной величины дефекта. Этот показатель, рассчитанный на основе значений промежуточной прецизионности от Производителя можно использовать как количественную оценку риска лабораторной ошибки и, следовательно, как критерий выбора аналитической системы в соответствии с целями качества в лаборатории.

Материалы и методы

В исследовании участвовали аналитические системы для определения аналитов ТТГ, Т4 (свободный), Т3 (свободный), анти-ТПО, кортизол, эстрадиол, ФСГ, тестостерон, 25-гидроксивитамин D, витамин B₁₂, фолат, СА125, инсулин, РЭА, ЛГ, С-пептид, ПСА (общий), СА19–9, СА15–3 на анализаторах Mindray CL (Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd., Шэньчжэнь, Китай). Данные для расчета рисков для пациентов при использовании этих тест-систем взяты непосредственно из документов Производителя. Для каждого аналита в качестве источника значений для общей допустимой ошибки (TEa), а также допустимых пределов случайной и систематической погрешности использовались данные, опубликованные в работе Ricos C, Alvarez V, Cava F et al. [6]. С целью определения аналитических систем, для которых критическими являются переходные состояния дисфункции сравнивали опубликованные Производителем данные повторяемости и промежуточной прецизионности.

Для оценки вероятности появления недостоверных результатов во время нормального функционирования аналитической системы в контролируемом состоянии использовался метод сигмаметрии [11]. Сигмаметрия, $\sigma = (TEa - Bias)/CV$, рассчитывалась как отношение допустимой общей ошибки [4], скорректированной на смещение относительно международных эталонных образцов, к коэффициенту вариации, опубликованному Производителем в документах для аналитической системы.

Для расчета ожидаемого числа недостоверных результатов при заданной величине дефекта был использован количественный показатель промежуточной прецизионности CV%, полученный в результате технических испытаний, представленном Производителем.

Алгоритм использовал две математические модели, основанные на методе Монте-Карло, эмулирующие аналитический процесс в виде ряда чисел, выбранных случайным образом из нормального распределения с параметрами CV% и B% из Инструкции по применению аналитических систем. Первая модель позволяла оценить вероятность

недостовверных результатов относительно TEa [4] в диапазоне дефектов различной величины (4–24%) при фиксированном CV% промежуточной прецизионности. Для оценки правильности положения нормального распределения относительно пределов \pm TEa вносили поправку на систематическую погрешность (B%). Для оценки зависимости количества недостоверных результатов от величины дефекта среднее нормального распределения сдвигалось в диапазон от 4% до 24% с шагом 4%. Для каждого шага случайным образом выбирали 1000 значений из нормального распределения и подсчитывали количество точек вне интервала \pm TEa. Для каждого шага выбор случайных точек и подсчет повторялись 20 раз и рассчитывался средний% нереальных результатов от общего числа результатов за 20 итераций (всего 20000 точек).

Вторая модель использовалась для того, чтобы оценить вероятность выявления этих дефектов в первой контрольной постановке, эмулируя ВЛК для двух уровней концентрации КМ. Были рассчитаны два нормальных распределения с CV промежуточной прецизионности для образцов с концентрацией аналита уровня 1 и уровня 2 (оба значения из документов Производителя). Случайные значения из нормальных распределений сформировали две карты, аналогичные контрольным картам Леви-Дженнинга [9]. Затем среднее нормального распределения сдвигалось в диапазоне от 4% до 24% с шагом 4% для эмуляции дефекта. Для каждого шага случайным образом выбиралось 1000 значений из нормального распределения и учитывались точки, где выполнялись правила

Вестгарда 1–3s, 2–2s (для одного и двух уровней) и R4. Для каждого шага выбор случайных точек и подсчет повторялись 20 раз и рассчитывался средний% обнаруженных ошибок. Количество событий контроля качества от возникновения дефекта до обнаружения дефекта (то есть точки, в которой сработало одно из перечисленных правил) было обратно пропорционально вероятности обнаружения дефекта.

Указанные модели были рассчитаны для каждой из исследованных аналитических систем.

Результаты и их обсуждение

Данные Производителя о смещении (B%) и промежуточной прецизионности (CV%), а также значения общей допустимой ошибки (TEa), допустимых пределов систематической и случайной погрешности представлены в *таблице 1*.

Расчет сигмаметрии показал, что представленные производителем характеристики аналитических систем соответствуют результатам сигмаметрии < 5 для большинства случаев, за исключением теста ПСА (общий) (сигма = 6,51). Сигматрия характеристик аналитических систем для определения анти-ТПО, инсулина и ЛГ находятся в диапазоне 3–4, для остальных тестов сигматрия демонстрирует критические значения (< 3). Для большинства тестов (Т4 (свободный), Т3 (свободный), кортизол, ФСГ, тестостерон, РЭА, СА15–3) заявленное Производителем значение прецизионности превышает допустимый предел, для тестов Т4 (свободный), Т3 (свободный) смещение также выходит за пределы допусти-

Таблица 1

Аналиты	Смещение, B%		Прецизионность, CV%		Допустимая общая ошибка, TEa%	Допустимый предел смещения, %	Допустимый предел случайной погрешности, %	Результат сигмаметрии
	Level 1	Level 2	Level 1	Level 2				
ТГГ	Эталон. образец ВОЗ	7,11	8,14	7,61	23,7	7,8	9,7	2,04
Т4, свободный	3,45	0,34	9,07	7,29	8	3,3	2,9	0,84
Т3, свободный	2,39	3,83	8,54	7,47	9,22	3,53	3,45	0,63
Анти-ТПО	0,4	3,92	8,77	6,82	39,07			4,01
Кортизол	3,99	2,21	8,36	8,25	22,8	10,26	7,6	2,25
Эстрадиол	0,52	1,39	8,55	8,4	26,86	8,3	11,25	2,98
ФСГ	Эталон. образец ВОЗ	2,09	6,92	6,48	21,19	12,12	5,5	2,76
Тестостерон	3,26	2,3	9,06	7,03	13,61	5,98	4,63	1,14
25-гидроксивитамин D	0,52	1,88	8,8	7,92	12,4			1,20
Витамин В12	3,43	3,61	9,47	9,02	30			2,79
Фолат	2,03	2,84	9,37	9,73	39	19,2	12	3,72
СА125			8,21	8,8	35,4	15	12,4	Значение TEa отсутствует
Инсулин	4,05	3,74	7,31	7,36	32,9	15,5	10,6	3,96
РЭА	Эталон. образец ВОЗ	3,06	8,03	7,23	24,7	14,3	6,4	2,69
ЛГ	Эталон. образец ВОЗ	1,13	8,2	7	27,92	8,94	11,5	3,27
С-пептид	1,14	0,12	8,15	7,51	20,8	7,1	8,3	2,41
ПСА, общий	Эталон. образец ВОЗ	0,06	5,15	4,87	33,6	18,7	9,1	6,51
СА19–9			7,69	7,3	46,03	32,87	7,98	Значение TEa отсутствует
СА15–3			8,37	7,16	20,08	15,08	3,01	Значение TEa отсутствует

Примечание. Данные Производителя о смещении (B%) и промежуточной прецизионности (CV%), общей допустимой ошибке (TEa), а также значения допустимых пределов систематической и случайной погрешности. Расчеты сигмаметрии. Данные Производителя, которые не соответствуют допустимым пределам, выделены жирным шрифтом. Жирным шрифтом и курсивом выделены значения сигмаметрии метрики менее 3 (расчет сигмаметрии выполнялся согласно рекомендации [11], использовались наихудшие значения CV% и B%).

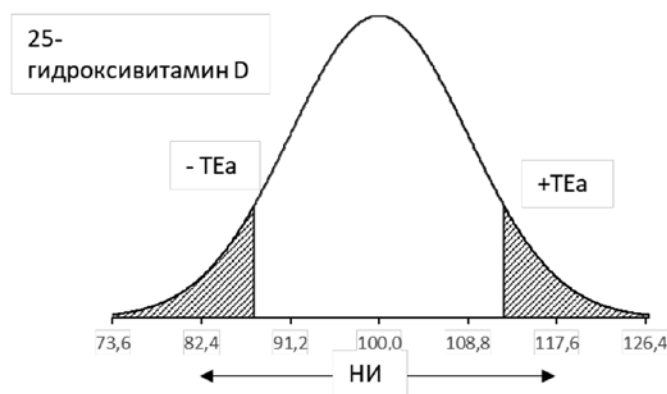
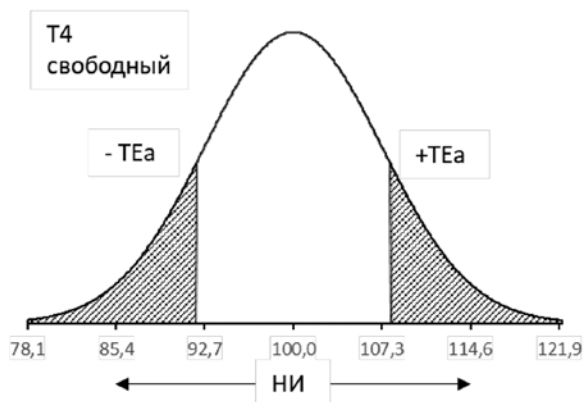
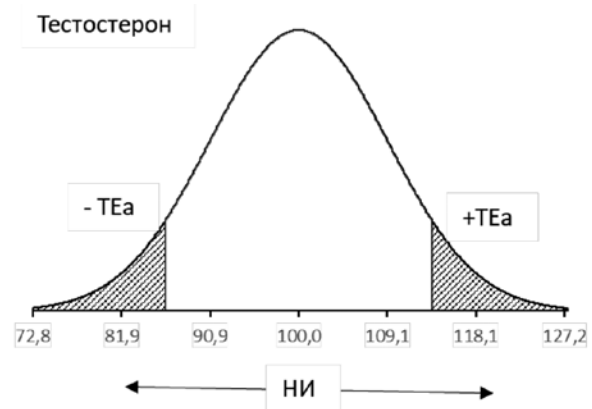
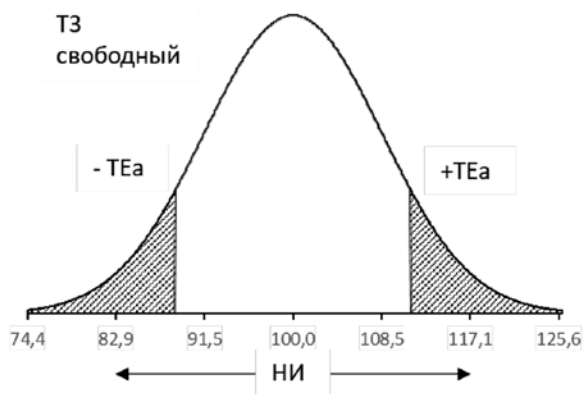


Рисунок 2. Области вероятности появления недостоверных результата для аналитических систем, у которых интервал стандартного НИ выходит за допустимые пределы общей ошибки $\pm TEa$ (на рисунке показана заштрихованной), при нормальном работе в отсутствие внешних и внутренних дефектов. По оси X – значения коэффициента вариации CV, выраженные в%. За 100% принимается среднее значение нормального распределения.

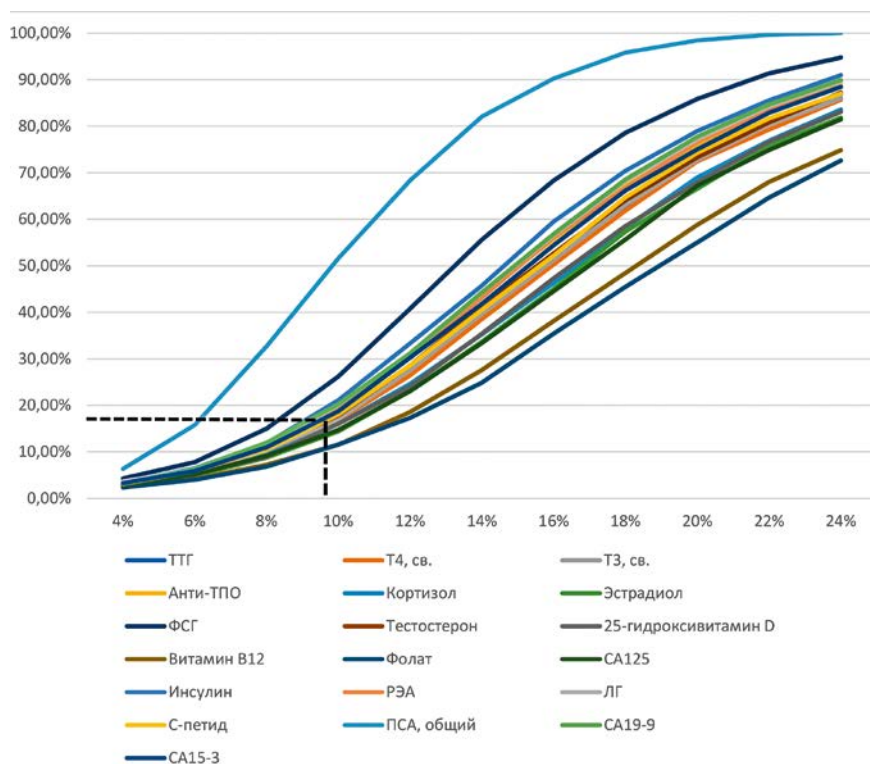


Рисунок 3. Зависимость вероятности определения дефекта в процедуре ВЛК от его величины для различных аналитических систем. Величина дефекта по оси X в процентах. 100% – среднее значение распределения погрешности измерений. Ось Y – вероятность определения ошибки как доля от общего количества итераций модели (20000–100%). Пунктирными линиями показано соответствие вероятности выявления ошибки 10–20% величине дефекта в 10% (больше 1CV).

мых значений. Необходимо обратить внимание на аналитические системы с наименьшим результатом сигмаметрии: Т4 (свободный), Т3 (свободный), тестостерон, 25-гидроксивитамин D (сигмаметрия 0,94; 0,63; 1,14; 1,20 соответственно). Указанные аналитические системы являются наиболее критичными с точки зрения оценки риска для пациентов, поскольку стандартная неопределенность измерений (НИ= $\pm 2CV$) для них больше, чем TEa (рис. 2). Недостоверные результаты в этом случае будут появляться даже в том случае, когда аналитические системы функционируют в отсутствие внешних воздействий и внутренних дефектов.

Расчеты ожидаемого количества недостоверных результатов показали, что практически для всех изученных аналитических систем, за исключением ПСА (общий) и ФСГ, критичным является позднее выявление дефекта в процедуре ВЛК (рис. 3). Низкая промежуточная прецизионность тестов (заявленный CV 7–9%) формирует широкие допустимые пределы контрольных значений. Математическое моделирование показало, что существенные дефекты

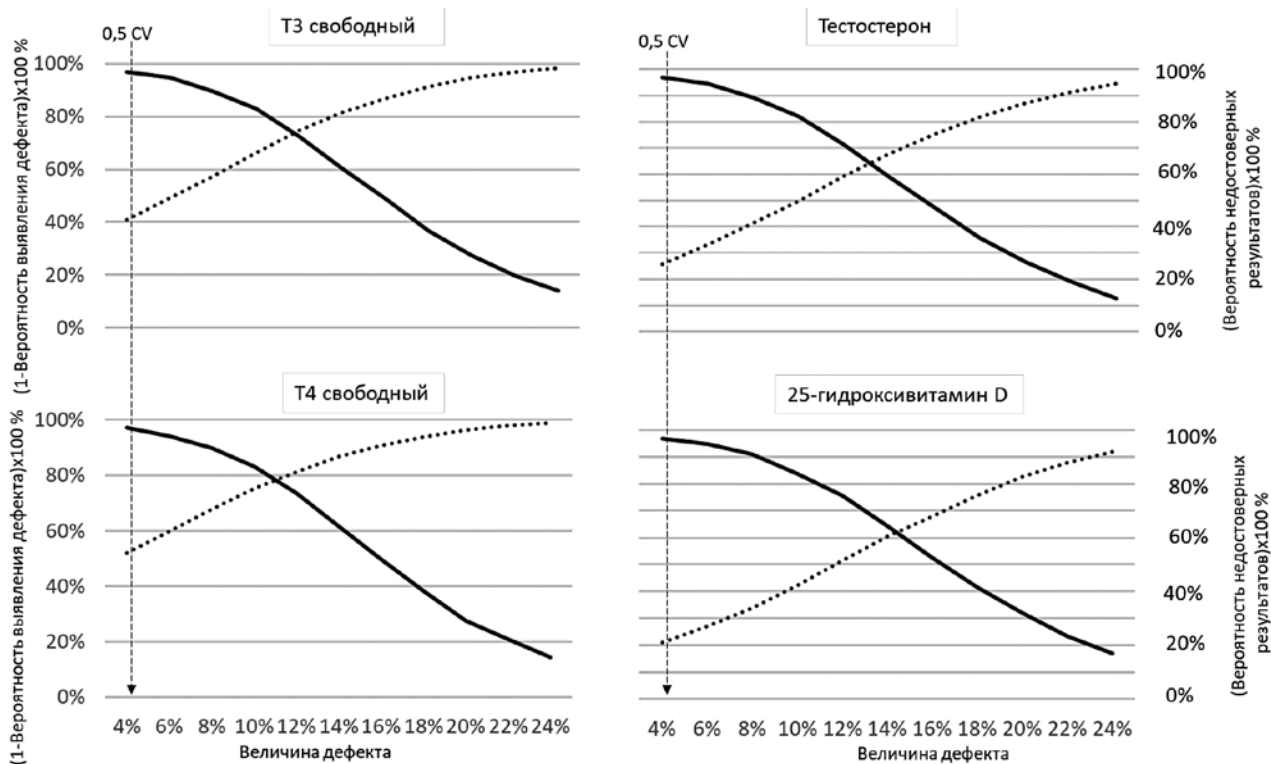


Рисунок 4. Способность к выявлению небольшого дефекта (0,5CV), а также его влияние на вероятность появления недостоверных результатов для аналитических систем с низкой прецизионностью.

Сплошная линия – зависимость вероятности НЕ обнаружить дефект в 1-й контрольной постановке от величины дефекта. По левой оси Y вероятность НЕ обнаружить дефект в 1-й контрольной постановке в процентах от общего количества контрольных точек (20000 на каждую величину дефекта) от величины обнаружения. Пунктирная линия – зависимость вероятности недостоверных результатов от величины дефекта. По правой оси Y вероятность недостоверных результатов в процентах от общего количества результатов (20000 на каждое значение величины дефекта). По оси X величина дефекта в%.

аналитической системы, вызывающие сдвиг сигнала на 10% могут быть обнаружены в первом после их возникновения контрольном измерении только в 10–20% случаев. Это значит, что процедура ВЛК может идентифицировать ошибку с опозданием на 1–2 недели после того, как в аналитической системе произошли изменения. В течение этого времени недостоверные результаты могут быть выданы.

Количество недостоверных результатов в аналитической системе с момента появления дефекта зависит от ширины интервала ТЕа. Самый узкий диапазон ТЕа имеют аналиты Т3 (свободный), Т4 (свободный), Тестостерон, 25-гидроксивитамин D, ТТГ, кортизол, С-пептид, СА15–3.

Если узкий диапазон требований к ТЕа сочетается с невысокой прецизионностью аналитической системы, ситуация становится критической с точки зрения рисков выдачи ошибочных результатов. Это наблюдается в случае тестов на Т3 (свободный), Т4 (свободный), Тестостерон, 25-гидроксивитамин D. Для перечисленных аналитических систем даже небольшой дефект, обеспечивающий сдвиг на величину менее 0,5 CV (четверть интервала НИ соответствует CV повторяемости (табл. 1)) увеличит вероятность появления недостоверных результатов до 60%. Иными словами, проблема использования указанных тестов заключается в том, что под влиянием небольших изменений в аналитической системе от четверти до половины выдаваемых результатов являются недостоверными. Выявить эти изменения в стандартной процедуре ВЛК практически невозможно (рис. 4).

Как было показано выше (рис. 3) существенный дефект, вызывающий сдвиг сигнала на 10% обнаруживается на контрольных картах ВЛК аналитических системах

ТТГ, Кортизол, С-пептид, СА15–3 с задержкой в 1 неделю. Расчеты показали, что за этот срок указанные тесты выдают 11,3–23,3% от общего количества образцов, исследованных за эту неделю (табл. 2).

Если объем аналитической серии в день составляет 1000 клинических образцов, то в перечисленных аналитических системах за неделю работы будет получено соответственно 550–1150 сомнительных результатов, которые до выявления дефекта в ВЛК будут выданы лечащему врачу.

Согласно выполненным расчетам, все, участвовавшие в исследовании аналитические системы можно разделить на четыре группы по величине риска лабораторной ошибки.

В первую группу вошли только две аналитические системы ПСА (общий) и ФСГ. Оба аналита определялись с приемлемой погрешностью, поэтому существенные дефекты ошибки (сдвиг 10% в аналитическом процессе) выявлялись с небольшой задержкой во второй или третьей контрольной постановке. Широкие пределы ТЕа позволяют утверждать малой вероятностью (менее 5%) недостоверных результатов даже при наличии дефектов такой величины. Использование этих тестов можно считать безопасным для пациентов.

Во вторую группу вошли аналитические системы для выявления Анти-ТПО, Эстрадиола, Витамина В12, Фолиевой кислоты, СА125, Инсулина, РЭА, ЛГ, СА19–9. Они характеризовались низкой прецизионностью, что проявлялось в позднем обнаружении дефектов в процедуре ВЛК. При наличии широкого интервала ТЕа для перечисленных аналитов задержка на 1–2 недели не влияла на вероятность недостоверных результатов. Однако, связанная с низкой прецизионностью большая не-

Задержка определения дефекта в ВЛК тестов ТТГ, Кортизол, С-пептид, СА15-3 и вероятность появления недостоверных результатов за этот период в% от общего количества результатов

Аналиты	Наихушее значение CV,%	Критическая величина дефекта,%	Эффективность ВЛК		Вероятность недостоверных результатов,%
			Вероятность выявления дефекта в 1-й постановке КМ,%	Задержка выявления дефекта, дни	
ТТГ	8,14	10%	18,03	6	23,3
Кортизол	8,36	10%	16,3	6	15,58
С-пептид	8,15	10%	18,06	5	12,02
СА15-3	8,37	10%	18,75	5	11,34

определенность измерений этих тестов, может значительно влиять на лабораторный диагноз, поставленный на основе результатов в области принятия медицинского решения.

Аналитические системы для определения ТТГ, Кортизола, С-пептида, СА15-3 можно объединить в третью группу. Эти тесты имели такой же CV, как и аналитические системы второй группы (7–8%); однако в период от возникновения дефекта до срабатывания критериев качества в процедуре ВЛК демонстрировали значительно большую вероятность появления недостоверных результатов (11,3–23,3%), что безусловно может влиять на безопасность пациентов.

Тесты, которые мы относили к четвертой группе с наивысшим риском для безопасности пациента (Т3 (свободный), Т4 (свободный), Тестостерон, 25-гидроксивитамин D) отличались от перечисленных выше тем, что имели случайную погрешность измерения, сравнимую со значением TEa. Малейший дефект тестирования в этих аналитических системах приводил к получению до 50% недостоверных результатов. Даже когда система функционировала нормально, остаточный риск недостоверных результатов составлял 20–30%. Учитывая, что критические величины дефектов сравнимы с CV повторяемости для этих аналитических систем, то есть не могут быть выявлены ВЛК, половина всех результатов могут быть недостоверными в течение продолжительного времени. Последнее ставит под сомнение безопасность их использования.

Выводы

Прецизионность является важным показателем качества аналитической системы, так как в лабораторно-клинических исследованиях часто является основным компонентом неопределенности измерения. Поэтому эта характеристика теста с одной стороны определяет вероятность получения недостоверных результатов, с другой стороны, промежуточная прецизионность определяет способность процедуры ВЛК выявить дефект аналитической системы в ближайшее время после его возникновения. Оба перечисленных фактора формируют риск для безопасности пациентов. Этот риск можно оценить количественно как ожидаемое число недостоверных результатов, выданных лабораторией за период от возникновения дефекта до его обнаружения. Расчет

ожидаемого количества недостоверных результатов можно проводить с помощью математического моделирования, используя, например, значения коэффициента вариации, опубликованные в документах Производителя.

Таким образом, исследование показало, что применение математического моделирования в оценке функциональности аналитических систем позволяет оценить риск лабораторной ошибки до их внедрения в лабораторную практику, на этапе планирования закупки. Основным критерием оценки при этом могут являться данные о прецизионности тестов, опубликованные Производителем.

Список литературы / References

1. Постановление Правительства РФ от 1 апреля 2022 г. № 552 "Об утверждении особенностей обращения, включая особенности государственной регистрации, медицинских изделий в случае их дефектуры или риска возникновения дефектуры в связи с введением в отношении Российской Федерации ограничительных мер экономического характера" доступно на сайте 06.03.2024 <https://base.garant.ru/403820386/>
2. Decree of the Government of the Russian Federation of April 1, 2022 No. 552 "On approval of the specifics of circulation, including specifics of state registration, of medical devices in the event of their defects or the risk of defects in connection with the introduction of restrictive measures of an economic nature in relation to the Russian Federation". Accessed in Russian 06.03.2024 on <https://base.garant.ru/403820386/>
3. PMG 29-2013 «Государственная система обеспечения единства измерений. Метрология. Основные термины и определения». Доступен 22.02.24 на сайте <https://www.nicxper.ru/documents/rmg-29-2013.pdf>
4. RMG 29-2013 "State system for ensuring the uniformity of measurements. Metrology. Basic terms and definitions." Accessed in Russian 22.02.24 on <https://www.nicxper.ru/documents/rmg-29-2013.pdf>
5. Theodorsson E., Magnusson B., Leito I. Bias in clinical chemistry. *Bioanalysis*, 2014, 6(21): 2855–2875. doi: 10.1155/bio.14.249
6. Ricós C., Alvarez V., Cava F et al. Current databases on biologic variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59:491–500. Accessed 22/02/24 on <https://www.westgard.com/biobdatabase1.htm>
7. ISO 15189:2022 Медицинские лаборатории. Требования к качеству и компетентности. Доступен 06.03.24 на сайте <https://www.standards.ru/document/7092907.aspx>
8. ISO 15189:2022 Medical laboratories. Requirements for quality and competence. Accessed in Russian 06.03.24 on <https://www.standards.ru/document/7092907.aspx>
9. Carey R.N. What's New in CLSI EP15-A3: User Verification of Precision and Estimation of Bias: Approved Guideline – Third Edition, 2015. Accessed 22/02/24 on <https://www.westgard.com/cls-ep15a3.htm>
10. Yunqi-Pacheco J., Parvin C. A. Validating the Performance of QC Procedures. *Clin Lab Med* 2013, 33: 75–88 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2012.11.006>
11. Parvin C. A. Assessing the Impact of the Frequency of Quality Control Testing on the Quality of Reported Patient Results. *Clin Chem*, 2008, 54(12): 2049–2054 doi: 10.1373/clinchem.2008.113639
12. ГОСТ Р 53133.2-2008. Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Часть 2. Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов. Доступен 06.03.24 на сайте <https://docs.cntd.ru/document/1200072567>
13. GOST R 53133.2-2008. Clinical laboratory technologies. Quality control of clinical laboratory tests. Part 2. Rules for conducting intra-laboratory quality control of quantitative methods of clinical laboratory research using control materials. Accessed in Russian 06.03.24 on <https://docs.cntd.ru/document/1200072567>
14. ГОСТ Р 70413-2022/ISO/TS 20914:2019 Лаборатории медицинские. Практическое руководство по оценке неопределенности измерений. Доступен на сайте 06.03.24 <https://meganom.ru/Data/790/79031.pdf>
15. GOST R 70413-2022/ISO/TS 20914:2019 Medical laboratories. Practical guidance for the estimation of measurement uncertainty. Accessed in Russian 06.03.24 on <https://meganom.ru/Data/790/79031.pdf>
16. Westgard J.O. How to use sigma-metrics QC selection tool. In: *Assuring the right quality right*. Madison (WI): Westgard QC, Inc.; 2007: 125–46.

Статья поступила / Received 12.03.24
Получена после рецензирования / Revised 15.03.24
Принята в печать / Accepted 15.03.24

Сведения об авторе

Колупаев Всеволод Евгеньевич, к.м.н., эксперт в области менеджмента качества и управления процессами. ORCID: 0000-0002-1037-196X

ФГАУ «Институт Медицинских Материалов» Минпромторга РФ, Москва

Для переписки: Колупаев Всеволод Евгеньевич. E-mail: vse71770@gmail.com

About author

Kolupaev Vsevolod E., PhD, expert in quality and process management. ORCID: 0000-0002-1037-196X

Institute Of Medical Materials, Moscow, Russia

For correspondence: Kolupaev Vsevolod E. E-mail: vse71770@gmail.com

Для цитирования: Колупаев В.Е. Значение коэффициента вариации (CV) как критерия выбора аналитической системы для иммунохимических исследований. *Медицинский алфавит*. 2024; [4]: 28–34. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-28-34>

For citation: Kolupaev V.E. The significance of the coefficient of variation (CV) as a criterion for choosing an analytical system for immunochemical studies. *Medical alphabet*. 2024; [4]: 28–34. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-28-34>



Динамика показателей эритропоэза в зависимости от ведущего патогенетического фактора и лечебной тактики у пациентов с циррозом печени

О. В. Рыбина¹, В. Т. Сахин², Е. В. Крюков³, А. В. Губкин⁴, О. А. Рукавицын⁵

¹ЧУЗ Центральная клиническая больница ОАО «РЖД-Медицина», Москва

²ФГБУЗ «Центральный военный клинический госпиталь им. А. А. Вишневого» Минобороны России, г. Красногорск

³ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия

⁴ФГБУЗ Московский клинический научный центр имени А. С. Логинова ДЗМ, Москва

⁵ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени Н. Н. Бурденко», Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Анемия – наиболее частое гематологическое осложнение у пациентов с заболеваниями печени. Сочетание многочисленных патогенетических факторов приводит к развитию железодефицитной анемии (ЖДА) – диагностируется в большинстве наблюдений, анемии хронических заболеваний (АХЗ), В12- и фолиеводефицитной анемии (ВДА), а также гемолитической и апластической анемии. Проведение комплексного обследования – необходимый компонент, который позволит сформировать алгоритм лечения, направленного на ведущий патогенетический механизм развития анемии.

Материалы и методы. Обследованы 44 человека с циррозом печени: 15 женщин, 29 мужчин в возрасте от 30 до 70 лет. Все пациенты были разделены на группы в соответствии с установленным вариантом анемии: железодефицитная анемия (ЖДА), анемия хронических заболеваний (АХЗ) и сочетание ЖДА и АХЗ, а также по виду проведенной терапии (терапия препаратами железа, терапия витаминами группы В и лечение только основного заболевания).

Результаты. Выполнен сравнительный анализ показателей красного ростка кроветворения до и после проведенного лечения. Клинически значимый прирост гемоглобина и эритроцитов не наблюдался ни в одной из исследуемых групп. Выявлен статистически значимый прирост гематокрита и эритроцитарных индексов группе ЖДА в результате применения препаратов железа. При сравнении пероральных и парентеральных форм препаратов железа у пациентов с ЖДА эффект от терапии оказался схожим без преимуществ в какой-либо из групп. В группах АХЗ и АХЗ+ЖДА не выявлено достоверных изменений показателей красного ростка кроветворения ни при одном из вариантов терапии.

Заключение. Лечение только основного заболевания недостаточно для восстановления гемоглобина. Терапия препаратами железа, независимо от формы приема может быть эффективна у пациентов с ЖДА. Витаминотерапия может применяться только как дополнительное средство при лечении анемии. Необходимо дальнейшее наблюдение для разработки более эффективного протокола терапии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: анемия, гемоглобин, цирроз печени, препараты железа, витаминотерапия

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Dynamic changes in erythropoiesis parameters depending on the leading pathogenetic factor and treatment in patients with liver cirrhosis

O. V. Rybina¹, V. T. Sakhin², E. V. Kryukov³, A. V. Gubkin⁴, O. A. Rukavitsyn⁵

¹Central Clinical Hospital Russian Railways, Moscow, Russia

²Central Military Clinical Hospital named after A. A. Vishnevsky, Krasnogorsk, Russia

³Military medical academy of S. M. Kirov, Saint-Petersburg, Russia

⁴Moscow Clinical Research Center named after A. S. Loginova, Moscow, Russia

⁵Main Military Clinical Hospital named after N. N. Burdenko, Moscow, Russia

SUMMARY

Introduction. Anemia is the most frequent hematological pathology in patients with liver disease. The combination of pathogenetic factors leads to the iron deficiency anemia (IDA) – the most common type of anemia; anemia of chronic diseases (ACD), B12 and folate deficiency anemia (ACA), hemolytic and aplastic anemia. Full examination is a necessary component that will make form an algorithm treatment aimed at the leading pathogenetic mechanism of anemia.

Materials and methods. 44 people with cirrhosis were examined: 15 women, 29 men aged from 30 to 70 years. All patients were divided into groups in accordance with the established type of anemia: iron deficiency anemia (IDA), anemia of chronic diseases (ACD) and a combination of IDA and ACD), as well as by the type of therapy performed (therapy with iron preparations, therapy with B vitamins and treatment only of the underlying disease).

Results. A comparative analysis of blood parameters was performed before and after the treatment. A clinically significant increase in hemoglobin and erythrocytes was not observed in any of the studied groups. A statistically significant increase in hematocrit and erythrocyte indices in the IDA group was revealed as a result of the use of iron preparations. When comparing oral and parenteral types of iron preparations in patients with IDA, the effect of therapy was similar without advantages in any of the groups. In the groups of ACD and ACD + IDA were no significant changes in the indices of the red hematopoietic line were revealed in any of the therapy options.

Conclusion. Treatment of the underlying disease alone is not enough to restore hemoglobin. Iron therapy, regardless of the form of administration, can be effective in patients with IDA. Vitamin therapy can only be used as an adjunct in the treatment of anemia. Further monitoring is needed to develop a more effective therapy protocol.

KEYWORDS: anemia, hemoglobin, liver cirrhosis, iron therapy, vitamin therapy.

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

Введение

Течение хронических воспалительных заболеваний печени часто ассоциировано с гематологическими отклонениями, среди которых анемия – наиболее частое осложнение, которое может быть диагностировано до 75% пациентов [1–7].

Наиболее часто к развитию анемии (в первую очередь, железодефицитной анемии – ЖДА) приводит острая и хроническая кровопотеря из верхних отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Это серьезное осложнение портальной гипертензии и вторая по частоте причина смертности у пациентов с циррозом печени [2, 8]. Снижение гемоглобина также может наблюдаться в результате гемолиза, хронического воспаления ткани печени, воздействия вирусов и токсинов (алкоголя), побочного эффекта препаратов (особенно при лечении вирусных гепатитов) [8]. Комбинация всех этих факторов приводит к развитию железодефицитной анемии (ЖДА), анемии хронических заболеваний (АХЗ), В12- и фолиевоедефицитной анемии (ВДА), а также гемолитической и апластической анемии [4–7].

Кроме того, в норме печень синтезирует гепсидин – основной белок-регулятор гомеостаза железа в организме. Роль гепсидина при заболеваниях печени до конца не ясна, однако его дисрегуляция также может вносить вклад в развитие анемии [9–10].

Некоторые исследователи [3] выделяют ЖДА, как наиболее часто встречаемую, у пациентов с заболеваниями печени. Согласно другим данным [8], у пациентов с патологией печени наиболее распространено снижение гемоглобина в результате хронического воспаления.

Учитывая разнонаправленность данных, вопрос диагностики не только основного заболевания и характера анемии становится особенно актуальным, т.к. присоединение анемии отягощает течение основного заболевания, ухудшает общее самочувствие, снижает качество жизни пациентов [11].

Среди стандартных лабораторных исследований изменение среднего объема эритроцитов (MCV) – один из базовых критериев верификации характера анемии у пациентов с хроническими заболеваниями печени. На основании этого показателя можно выделить макроцитарную (MCV > 100 мкл), нормоцитарную (MCV 80–100 мкл) и микроцитарную анемию (<80 мкл). Согласно некоторым исследованиям [12], увеличение MCV может быть предиктором неблагоприятного прогноза при циррозе печени.

Оптимальный алгоритм диагностики анемии позволит подобрать лечение, направленное на ее ведущий патогенетический механизм.

Такой индивидуализированный терапевтический подход минимизирует риск возникновения побочных эффектов, восстановит уровень гемоглобина и улучшит общее самочувствие пациента

Материалы методы

С 2016г по 2022г проанализировано 44 пациента (15 женщин, 29 мужчин), наблюдавшихся в условиях гастроэнтерологического и гематологического отделений ЧУЗ ЦКБ «РЖД – Медицина» с доказанным циррозом печени, различной этиологии, осложненным анемией. Медиана возраста составила 58 лет (от 30 до 70 лет).

Верификация заболевания печени проводилась на основании лабораторных и инструментальных данных. В качестве лабораторных критериев у всех пациентов оценивали уровни следующих показателей: Билирубин общий – р.зн. 3–21 мкм/л, Билирубин конъюгированный – р.зн. 1–5 мкм/л, Аланинаминотрансфераза (АЛТ) – р.зн. 0–41 Ед/л, Аспартатаминотрансфераза (АСТ) – р.зн. 0–40 Ед/л, Щелочная фосфатаза (ЩФ) – р.зн. 40–129 Ед/л, Лактатдегидрогеназа – р.зн. 135–214 Ед/л. Исследование проводилось на автоматическом биохимическом анализаторе Mindray BS-240, производство Китай в соответствии с инструкцией.

Мультиспиральная компьютерная томография органов брюшной полости, ультразвуковое исследование брюшной полости, эластометрия печени, эзофагогастроуденоскопия и фиброколоноскопия применялись для установления характера заболевания печени, степени фиброза, наличия/отсутствия варикозно-расширенных вен пищевода и кишечника.

В исследование были включены только пациенты с циррозом печени класса А и В по шкале Child–Turcotte–Pugh. Пациенты с декомпенсацией заболевания печени (класс С по Child–Turcotte–Pugh), с уровнем гемоглобина менее 70 г/л, с явными признаками состоявшегося кровотечения любой этиологии (любой этиологии, в т.ч. негастроэнтерологической природы) были исключены из исследования. Также из исследования были исключены пациенты, у которых было выявлено злокачественное заболевание любой локализации, декомпенсация одного или нескольких сопутствующих заболеваний, диагностирована вирусная либо бактериальная инфекция.

Диагноз анемии устанавливался на основании показателей гемоглобина менее 130 г/л у мужчин и менее 120 г/л у женщин [13]. Для определения патогенеза снижения гемоглобина у пациентов также оценивали: число эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, уровень гематокрита, а также рассчитывали эритроцитарные индексы. Исследование проводилось на гематологическом анализаторе Mindray BC-5300, производство Китай. Референсные значения (р.зн.) составили: Лейкоциты (WBC) – 3,89–9,23×10⁹/л; Эритроциты (RBC) – 4,24–5,65×10¹²/л, Концентрация гемоглобина (HGB) у женщин > 120 г/л; у мужчин > 130 г/л, Гематокрит (HCT) – 39,1–51,3%, Среднее содержание гемоглобина в эритроците (mean corpuscular hemoglobin -MCH) – 27–34 пг, Средний объем эритроцита (mean corpuscular volume -MCV) – 86–102 фл, Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (mean corpuscular hemoglobin concentration – MCHC) – 315–350 г/л, Ширина распределения эритроцитов, коэффициент вариации (red cell distribution width – RDW-CV) – 11,4–15,29%, Ширина распределения эритроцитов, стандартное отклонение (RDW-SD) – 38,3–51,62 фл Тромбоциты (PLT) – 146–421×10⁹/л, Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) – 2–10 мм/час.

Уровень сывороточного железа (р.зн. – 11–28 мкмоль/л) (далее – железа) определяли на автоматическом биохимическом анализаторе Mindray BS-240, производство Китай в соответствии с инструкцией.

Определение уровня, общей железосвязывающей способности (ОЖСС, р.зн. – 44,8–76,1 мкмоль/л), ненасыщенной железосвязывающей способности (НЖСС-22,3–61,7

мкмоль/л), концентрацию трансферрина (р.зн. –2–3,6 г/л), ферритина (р.зн. – 30–400нг/мл), С-реактивного белка (СРБ, р.зн. –0–5мг/л), Витамина В12 – (р.зн. 141–489 пмоль/л), фолиевой кислоты – (р.зн 3,89–32,2 нг/мл), эритропоэтина (р.зн 3,5–17,6 мМЕ/мл) производилось на анализаторе Cobas 8000, (производитель Roche, Швейцария).

Согласно имеющимся к настоящему времени сведениям [14–15] уровень ферритина менее 45 нг/мл характерен для ЖДА, увеличение этого показателя свыше 100 нг/мл – признак АХЗ, значения в пределах 45–100 нг/мл указывают на смешанный характер анемии.

На основании уровня ферритина пациенты были распределены на 3 группы: 1) пациенты с патологией печени, осложненной ЖДА (n=14); 2) пациенты с патологией печени, осложненной АХЗ (n=16); 3) пациенты с патологией печени, осложненной анемией смешанного характера: ЖДА+АХЗ (n=14).

Количество пациентов, их возраст, среднее значение уровня ферритина и СРБ, наличие дефицита витамина В9 и/или В12, а также варианты проводимой терапии указаны в *таблице 1*.

Как видно из данных таблицы, терапия пероральными и парентеральными препаратами железа проводилась крайне небольшому количеству пациентов в группах АХЗ и АХЗ+ЖДА, в связи с чем принято решение объединить эту терапию в обеих группах и оценивать эффект от терапии препаратами железа в целом. В качестве пероральных препаратов железа применялось двухвалентное железо (сульфат и fumarat железа) у 9 пациентов, у одного – трехвалентное железо (железа (III) гидроксид полимальтозат) в связи с непереносимостью двухвалентного. Парентеральные препараты железа (III) гидроксид сахарозного комплекса были использованы у всех пациентов (n=12).

Также у 19 из 44 пациентов проводилось исследование эритропоэтина. И только у 4 пациентов этот показатель находился в пределах референсных значений, у остальных 15 данный показатель находился выше референсных значений.

У результатов показателей клинического анализа крови, ферритина, С-реактивного белка, витаминов В12 и В9

Таблица 1
Характеристика обследованных пациентов

Характеристика пациентов	1-я группа	2-я группа	3-я группа
	ЖДА (n=14)	АХЗ (n=16)	ЖДА+АХЗ (n=14)
Соотношение мужчин и женщин	9/5	8/8	11/2
Возраст (среднее значение), лет	58,3	57,3	57,3
Количество пациентов, у которых исследовали уровень эритропоэтина (нормальное значение/повышенный уровень), n	9 (1/8)	5 (1/4)	5 (2/3)
Сниженный уровень В9 и/или В12, n	6	8	7
Терапия только основного заболевания, n	1	10	6
Терапия пероральными препаратами железа, n	6	1	3
Терапия парентеральными препаратами железа, n	8	2	2
Терапия витаминами группы В (как в монотерапии так и в качестве дополнительной терапии к лечению препаратами железа), n	5	4	3

рассчитывали медиану (М), межквартильный интервал (LQ–UQ). Для оценки достоверности изменений параметров после проведенной терапии использовали критерий Вилкоксона. Изменения показателей считали достоверными при уровне статистической значимости (р) менее 0,05. Для статистической обработки результатов исследований создана база данных в программе MS Excel из пакета прикладных программ MS Office 2010, а также использовали программу IBM SPSS Statistics 26.0.0.1 для расчета достоверности непараметрических статистических критериев.

Результаты исследований и их обсуждение

Согласно полученным данным пациенты с циррозом печени, осложненной АХЗ, составили 36,4%. В двух остальных группах (ЖДА, ЖДА+АХЗ) наблюдалось равное распределение по 31,8% пациентов. Результаты сравнительного анализа показателей клинического анализа крови, ферритина и СРБ до и после различных терапевтических подходов представлены в *таблице 2*.

Таблица 2
Показатели крови у пациентов с различными формами анемии до и после терапии, М(LQ–UQ), р

Показатель (до терапии/ после терапии*)	1-я группа	р	2-я группа	р	3-я группа	р
	ЖДА/IDA, n=14		АХЗ, n=16		АХЗ+ЖДА, n=14	
RBC (10 ¹² /л)	3,78 (3,49–4,15)/ 4,08 (3,85–4,60)	>0,05	3,29 (2,93–3,39)/ 3,20 (2,88–3,65)	>0,05	3,91 (3,38–4,23)/ 3,96 (3,5–4,17)	>0,05
Hb(g/l)	101 (72,75–112,5)/ 100 (88–110,75)	>0,05	111 (98–117,5)/ 105,5 (96,25–117,75)	>0,05	119 (102,75–125,75)/ 115 (103,25–125)	>0,05
HCT (%)	31 (25,2–38,07)/ 32,75 (29,67–36,2)	>0,05	32,55 (28,95–34,9)/ 31,9(28,88–34,1)	>0,05	34,45 (33,25–36,67)/ 34,3 (32,1–37,35)	>0,05
MCV fl	77,85 (71,87–81,25)/ 79,2 (73,22–84,62)	>0,05	96 (91,7–102,925)/ 97,2 (92,95–104,2)	>0,05	89,4 (84,82–93,6)/ 89,25 (83,87–95,1)	>0,05
MCH pg	23,3 (19,97–24,77)/ 23,45 (21,95–25,65)	0,05	33,2 (31,38–36,63)/ 34,1 (31,13–36,88)	>0,05	29,45 (26,32–32,05)/ 29,5 (26,92–32,22)	>0,05
MCHC g/l	299,5 (280,75–307,75)/ 301 (295,5–303,75)	>0,05	344,5 (335–358)/ 343,5 (332,25–352,25)	>0,05	336 (304,75–347,5)/ 336,5 (316,5–348,25)	>0,05
RDW-SD-fl	51,3 (49,1–57,02)/ 57,2 (54,6–67,6)	0,01	58,35 (52,43–62,8)/ 60,3 (54,35–72,25)	>0,05	52,5 (48,87–56,25)/ 53 (50,32–60,25)	>0,05
RDW-CV-%	17,1 (16,2–18,8)/ 19,2 (15,6–23,5)	>0,05	15,35 (13,5–17,05)/ 15,75 (13,8–17,9)	>0,05	15,75 (13,72–16,8)/ 14,75 (13,77–16,05)	>0,05

Примечание. * Контроль показателей крови проводился через: - 9,5 (7,25–12,25) дней от начала терапии в первой группе; - 7 (7–11) дней от начала терапии во второй группе; - 10,5 (9,25–12) от начала терапии в третьей группе.

Таблица 3

Показатели крови у пациентов с различными формами анемии до и после терапии препаратами железа, М (LQ-UQ), р

Показатель (до терапии/ после терапии*)	1-я группа		р	2-я группа		р	3-я группа		р
	ЖДА, n=13			АХЗ, n=3			АХЗ+ЖДА, n=6		
RBC (10 ¹² /л)	3,89 (3,48–4,55)/ 4,09 (3,95–4,61)		>0,05	3,06(2,52–3,71)/ 2,86 (2,35–3,7)		>0,05	3,86(3,34–4,16)/ 3,86 (3,32–4,11)		>0,05
Hb(g/l)	92 (69–113)/96 (88–112)		>0,05	95 (84–104)/ 86 (78–90)		>0,05	107(93,75–115,75)/ 106,5 (99,75–114)		>0,05
HCT (%)	30,2 (24,5–38,4)/ 33,9 (29,6–36,5)		0,03	28,2 (24,7–32,1)/ 25,2 (23,75–27,95)		>0,05	33,6 (31,85–34,23)/ 32,4 (31,12–33)		>0,05
MCV fl	77,7 (71,6–79,3)/ 79,1 (73–84)		0,01	92,1 (87,35–99,6)/ 91,9 (88,75–105,75)		>0,05	87,75 (82,65–98,18)/ 84,3 (81,3–97,5)		0,02
MCH pg	22,9 (19,9–24,4)/ 23,4 (21,9–25,5)		0,05	31 (28,45–33,95)/ 30,9 (28,7–34,5)		>0,05	26,35 (26,23–31,73)/ 26,8 (26,23–31,73)		>0,05
MCHC g/l	295 (280–307)/ 301 (295–303)		>0,05	337 (325,5–340,5)/ 318 (313,5–327,5)		>0,05	317 (296,5–330)/ 325,5 (312–334,5)		>0,05
RDW-SD -fl	51,9 (50,6–57,1)/ 57,95 (54,76–69,4)		0,03	64,9 (59,45–83,4)/ 66,6 (61–93,8)		>0,05	52,4 (48,9–56,05)/ 52,85 (51,03–60,75)		>0,05
RDW-CV -%	17,5 (16,5–18,8)/ 20,4 (16,95–23,58)		>0,05	17,8 (17,35–22,3)/ 17,9 (17,6–23,45)		>0,05	16,8 (16,2–17,85)/ 15,7 (15,13–16,05)		>0,05
СРБ	2 (0,36–6,93)/ 1 3,19 (5,06–16)		>0,05	92,03 (71,02–215,4)/ 50,52 (44,76–54,74)		>0,05	10,27(8,49–11,08)/ 7,18 (4,59–10,25)		>0,05
Ферритин	10,89 (7–15,77)/ 430(295,85463,05)		<0,001	439,3 (424,15–700,15)**			77,65 (56,25–97,83)/ 323 (184,98–574,5)		

Примечания. *Во второй выборке возможна недостаточная достоверность результатов из-за крайне небольшого количества пациентов.
**Исследование показателя проводилось только до терапии.

Таблица 3.1

Показатели крови у пациентов с различными формами анемии до и после терапии пероральными и парентеральными препаратами железа, М (LQ-UQ), р

Вариант терапии	Показатель клинического анализа крови							
	RBC (10 ¹² /л)	Hb (g/l)	HCT (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/l)	RDW-SD-(fl)	RDW-CV (%)
Пероральные препараты железа (n=5)	4,36 (3,89–4,55)/ 4,34 (4,09–4,6)	111 (92–114)/ 107 (96–112)	36,1 (30,2–37,1)/ 35,3 (31,6–36,5)	79,3 (77,7–81,9)/ 79,3 (78,2–82,6)	24,4 (23,7–24,9)/ 24,3 (23–25,7)	305 (304–307)/ 304 (303–307)	50,6 (47,9–50,6)/ 54,6 (54,5–57,2)	16,6 (16,1–16,7)/ 17,4 (15,6–18,8)
р	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	0,04	>0,05
Парентеральные препараты железа (n=8)	3,59 (3,35–4,59)/ 4,05 (3,86–4,62)	84,5 (65,5–111,5)/ 91,5 (83–107,75)	27,9 (23,63–38,85)/ 31,75 (28,13–35,8)	75,2 (70,5–78,18)/ 76,35(78,8–84,28)	21,15(19,55–23,23)/ 22,65(21,4–24)	282,5 (278–298,5)/ 297 (286,75–301)	55,1 (51,6–64,33)/ 67,6 (60,8–75,9)	18,8 (17,4–22,83)/ 23,5 (20,55–24,5)
р	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	0,03	>0,05	>0,05	>0,05

Таблица 4

Показатели крови у пациентов с различными формами анемии до и после терапии только

Показатель (до терапии/ после терапии*)	2-я группа		р	3-я группа		р
	АХЗ, n=10			АХЗ+ЖДА, n=6		
RBC (10 ¹² /л)	3,33(3,01–3,82)/ 3,20 (2,90–3,61)		>0,05	4,07 (3,67–4,24)/ 4,02 (3,81–4,13)		>0,05
Hb(g/l)	115 (103,75–118,05)/ 111,5 (103,5–119,25)		>0,05	127 (123–128,75)/ 124 (116,75–128,25)		>0,05
HCT (%)	33,03 (30,58–35)/ 32,04 (30–34)		>0,05	36,35 (34,88–37)/ 35,75 (35,28–37,35)		>0,05
MCV fl	98,95 (102,63–103,58)/ 98,85 (95,43–106,6)		>0,05	90,95 (85,06–93,6)/ 89,25 (85,88–94,95)		>0,05
MCH pg	33,8 (31,53–36,6)/ 34,5 (32,85–37,2)		>0,05	29,45 (28,45–31,73)/ 29,5 (28,63–31,58)		>0,05
MCHC g/l	345,5 (339,25–355,75)/ 345,5 (336,25–350,75)		>0,05	341,5 (313–345)/ 345 (322,25–350,5)		>0,05
RDW-SD -fl	60,05 (53,13–61,83)/ 60,3 (52,95–69,15)		>0,05	53,2 (49,93–60,08)/ 55 (49,23–60,25)		>0,05
RDW-CV -%	15,35 (13,63–16,93)/ 14,85 (16,73–16,93)		>0,05	13,9 (12,78–15,7)/ 14,1 (12,88–15,93)		>0,05
СРБ	22,63 (14,25–44)/ 12,37 (9,51–35,81)		>0,05	7,21 (3,59–10,51)/9 (6,25–13)		>0,05
Ферритин**	631,7 (200,15–1027,9)			77 (52,55–90,63)		

Примечания. *Оценка эффективности данного варианта терапии в 1 группе не проводилась из-за небольшого количества пациентов (n=1).
**Исследование показателя проводилось только до терапии.

Таблица 5

Показатели крови у пациентов с различными формами анемии до и после терапии витаминами группы В (как в монотерапии так и в качестве дополнительной терапии к лечению препаратами железа), М (LQ-UQ), р

Показатель (до терапии/ после терапии)	1-я группа		р	2-я группа		р	3-я группа		р
	ЖДА, n=5			АХЗ, n=4			АХЗ+ЖДА, n=3		
RBC (10 ¹² /л)	3,89 (3,48–4,36)/ 4,09 (4,02–4,34)		>0,05	2,72 (2,11–3,34)/ 3 (2,43–3,46)		>0,05	3,33 (3,25–3,64)/ 3,16 (3,16–3,69)		>0,05
Hb(g/l)	92 (69–111)/ 95 (88–96)		>0,05	91 (72,5–111,75)/ 102,5 (85–117)		>0,05	121 (113–123)/ 115 (108,5–122,5)		>0,05
HCT (%)	30,2 (24,5–37,1)/ 31,6 (29,9–33,9)		>0,05	27,15 (20,83–33,23)/ 2,55 (24,33–34,23)		>0,05	34 (32–34,6)/ 33 (30,09–35)		>0,05

MCV fl	72,7 (71,6–77,7)/ 73,6 (73–78,2)	0,04	98,05 (93,3–103,5)/ 98,2 (94,95–105,58)	>0,05	90,06 (89,85–98,8)/ 91,5 (91,25–97,9)	>0,05
MCH pg	20,2 (19,9–23,7)/ 22,1 (21,9–23)	>0,05	34,8 (32,48–36,65)/ 35,35 (33,33–36,88)	>0,05	31,06 (31,55–35,01)/ 32,3 (31,55–34,35)	>0,05
MCHC g/l	283 (278–304)/ 297 (295–303)	>0,05	351 (340,25–358,75)/ 344 (327–359)	>0,05	355 (351,5–357,5)/ 349 (343–352)	>0,05
RDW-SD -fl	56,8 (50,6–57,1)/ 57,2 (56,2–58,7)	>0,05	54,3 (50,28–68,45)/ 65,55 (54,85–85,68)	>0,05	45,5 (44–49,95)/ 5 4 (51,45–58,7)	>0,05
RDW-CV -%	17,5 (16,7–22,4)/ 21,6 (18,8–21,09)	>0,05	13,55 (13,03–17,02)/ 15,9 (13,68–20,68)	>0,05	14,1 (12,9–17)/ 14 (13,3–14,1)	>0,05
Витамин В12 *	132 (103,91–133,8)		475,5 (429,25–887,25)		769 (515–921,5)	
Витамин В9*	8,47 (7,63–8,82)		2,21 (1,74–2,41)		2,61 (2,42–3,53)	

Примечание. *Исследование показателя проводилось только до терапии.

Как видно из таблиц 2–5 у пациентов в 1 группе показатели MCV, MCH и MCHC снижены, т.е. анемия носит гипохромный, микроцитарный характер, свойственный дефициту железа. У пациентов с АХЗ размеры эритроцитов и количество гемоглобина в них находятся в пределах референсных значений, что укладывается в рамки анемии, формирующейся на фоне хронического воспаления. Важно отметить, что в третьей группе, эритроцитарные индексы также находятся в пределах нормальных значений. Возможно, перманентная циркуляция провоспалительных цитокинов является ведущим звеном в патогенезе снижения гемоглобина у этой категории пациентов.

При сравнении эффективности различных вариантов терапии достоверный прирост эритроцитов и гемоглобина не был зарегистрирован ни в одной группе пациентов ($p > 0,05$).

Наблюдается статистически значимый прирост гематокрита ($p = 0,03$) и эритроцитарный индексов MCV ($p = 0,01$), MCH ($p = 0,05$), RDW-SD ($p = 0,03$) у пациентов с ЖДА после терапии препаратами железа (как пероральных, так и парентеральных форм), что указывает на положительный эффект от проводимой терапии. Возможно, достоверного прироста гемоглобина не получено из-за недостаточной длительности наблюдения. Разделение пациентов в зависимости от пути введения препаратов железа не показало клинически значимого увеличения гемоглобина, эритроцитов и гематокрита. Более того, в обеих группах не отмечалось достоверного изменения эритроцитарных индексов, которые наблюдались в Таблице 3. Это может косвенно указывать на отсутствие преимущества эффективности парентеральных препаратов над пероральными.

У пациентов АХЗ, а также смешанной формой анемии (АХЗ+ЖДА), которым проводилась терапия только заболевания печени, все оцениваемые показатели красного ростка кроветворения остались без достоверных изменений ($p > 0,05$), что говорит о необходимости проведения дополнительной терапии, направленной на коррекцию анемии. Согласно Weiss G. et al [16], терапия АХЗ должна быть изначально сосредоточена на лечении основного заболевания. Однако результатам нашего исследования, можно предположить, что этого не всегда может быть достаточно для нормализации показателей красного ростка кроветворения.

Терапия витаминами группы В не повлияла на прирост эритроцитов, гемоглобина, гематокрита и эритроцитарных индексов ($p > 0,05$). Достоверное увеличение MCV в 1 группе, скорее всего, связана с эффектом после терапии препаратами железа, которая также проводилась в этой группе.

Во 2й и третьей группах отсутствие эффекта, возможно, это связано с тем, что «точка приложения» у этой группы препаратов не совпадает с патогенезом АХЗ, а терапия фолиевой кислотой и цианкобаламином носит лишь вспомогательный характер в коррекции анемии.

Заключение

Пациенты с заболеванием печени, осложненным анемией нуждаются в комплексном диагностическом и лечебном подходе. Согласно полученным данным, для восстановления нормального показателя гемоглобина недостаточно сконцентрироваться только на лечении основного заболевания.

Терапия препаратами железа, независимо от формы приема может быть эффективна у пациентов с ЖДА. В то же время, применение препаратов железа у пациентов с сочетанием АХЗ и ЖДА не оказало какого-либо эффекта. Возможно, это связано с тем, что хронический воспалительный процесс играет ведущую роль в формировании этого варианта анемии.

Витаминотерапия также не оказала клинически значимого влияния, несмотря на подтвержденный дефицит, и может применяться как дополнительное средство при лечении анемии.

Необходимо дальнейшее изучение этой проблемы для формирования и развития более эффективного алгоритма лечения анемии, терапевтический вектор которого будет направлен на основной патогенетический механизм.

Список литературы / References

- Gkamprela E., Deutsch M., Pectasides D. Iron deficiency anemia in chronic liver disease: etiopathogenesis, diagnosis and treatment. *Ann Gastroenterol* 2017; 30 (4): 405–413. DOI: <https://doi.org/10.20524/aog.2017.0152>.
- Stein J., Connor S., Virgin G., et al. Anemia and iron deficiency in gastrointestinal and liver conditions. *World J Gastroenterol*. 2016; 22(35): 7908–7925. DOI: 10.3748/wjg.v22.i35.7908
- Ballester-Clau R., Vicente G.T., Ramos M.C., Blanch C.A., et al. Efficacy and Safety of Treatment With Folic Acid and Iron in Patients With Cirrhosis and Gastrointestinal Bleeding. *Front Med (Lausanne)*. 2020; 7: 128. DOI: 10.3389/fmed.2020.00128
- Рыбина О.В., Сахин В.Т., Гукин А.В., Свиридова А.В., Руквицин О.А. Терапия парентеральными препаратами железа для коррекции анемии у пациентов с гастроэнтерологическими заболеваниями. *Гематология и трансфузиология. Восточная Европа*. 2021; 7(3): 383–390. DOI: 10.34883/PL.2021.7.3.011
- Rybina O.V., Sakhin V.T., Gukin A.V., Sviridova A.V., Rukavitsyn O.A. Therapy with parenteral iron supplements for the correction of anemia in patients with gastroenterological diseases. *Hematology and transfusion. Eastern Europe*. 2021; 7(3): 383–390. DOI: 10.34883/PL.2021.7.3.011
- Анемия: краткое руководство для практикующих врачей всех специальностей / Е.В. Крюков, В.Т. Сахин, О.А. Руквицин [и др.]; под общей редакцией О.А. Руквицы. *Anemia: a short guide for practicing physicians of all specialties / E. V. Kryukov, V. T. Sakhin, O. A. Rukavitsyn [et al.]; under the general editorship of O. A. Rukavitsyn*. – 2nd ed., revised, and additional – Moscow: Geotar-Media, 2021. – 144–226 p. на. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва: Геотар-Медиа, 2021. – 144–226 с.
- Губонина И.В., Шукина О.Б., Стуков Н.И. и др. Анемия при воспалительных заболеваниях кишечника: подходы к диагностике, лечению и профилактике. *Альманах клинической медицины*. 2019; 47(8): 721–732. DOI: 10.18786/2072-0505-2019-47-078
- Gubonina I. V., Shchukina O. B., Stukov N. I., et al. Anemia in inflammatory bowel diseases: approaches to diagnosis, treatment and prevention. *Almanac of Clinical Medicine*. 2019; 47(8): 721–732. DOI: 10.18786/2072-0505-2019-47-078

7. Романенко Н. А., Четкин А. В., Жигулева Л. Ю., Гришина Г. В., Бондарчук С. В., Бессмельцев С. С. Коррекция анемии и оценка эффективности трансфузий эритроцитов у пациентов с онкогематологическими заболеваниями. *Клиническая онкогематология*. 2018;11(3):265–72. DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-3-265-272
- Romanenko N. A., Chechetkin A. V., Zhiguleva L. Yu., Grishina G. V., Bondarchuk S. V., Bessmeltsev S. S. Correction of anemia and assessment of the effectiveness of red blood cell transfusions in patients with oncohematological diseases. *Clinical oncohematology*. 2018;11(3):265–72. DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-3-265-272
8. Singh S, Manrai M, Parvathi V S, Kumar D, Srivastava S, Pathak B. Association of liver cirrhosis severity with anemia: does it matter? *Ann Gastroenterol*. 2020; 33(3): 272–276. DOI:10.20524/aog.2020.0478
9. Mehta KJ, Farnaud SJ, Sharp PA. Iron and liver fibrosis: Mechanistic and clinical aspects. *World J Gastroenterol*. 2019;25(5):521–538. DOI:10.3748/wjg.v25.i5.521
10. Siddique A, Nelson JE, Aouizerat B, Yeh MM, Kowdley KV. Iron deficiency in patients with nonalcoholic fatty liver disease is associated with obesity, female gender, and low serum hepcidin. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12: 1170–1178. DOI: 10.1016/j.cgh.2013.11.017
11. Les I, Doval E, Flavia M, Jacas C, Cardenas G, Esteban R, et al. Quality of life in cirrhosis is related to potentially treatable factors. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. (2010) 22:221–7. DOI: 10.1097/MEG.0b013e3283319975
12. Yang J, Yan B, Yang L, et al. Macrocytic anemia is associated with the severity of liver impairment in patients with hepatitis B virus-related decompensated cirrhosis: a retrospective cross-sectional study. *BMC Gastroenterol*. 2018;18(1):161. Published 2018 Nov 1. doi:10.1186/s12876-018-0893-9
13. WHO, UNICEF, UNU. Iron Deficiency Anemia: Assessment, Prevention and Control. Report of a joint WHO/UNICEF/UNU consultation. Geneva: World Health Organization; 1998
14. Ko C.W, Siddique Sh.M, Patel A., Harris A., Sultan Sh., Altayar O, Falck-Ytter Yn. AGA Clinical Practice Guidelines on the Gastrointestinal Evaluation of Iron Deficiency Anemia. 2020; 159(3):1085–1094. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.06.046.
15. Dignass A.U., Gasche C., Bettenworth D., et al. European consensus on the diagnosis and management of iron deficiency and anaemia in inflammatory bowel diseases. *J CrohnsColitis*. 2015; 9(3): 211–222. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jju009.
16. Weiss G., Ganz T., Goodnough L.T. Iron metabolism and its disorders. Anemia of inflammation. *Blood*. 2019; 133 (1): 40–50. DOI: 10.1182/blood-2018-06-856500.

Статья поступила / Received 11.03.24
 Получена после рецензирования / Revised 15.03.24
 Принята в печать / Accepted 15.03.24

Сведения об авторах

Рыбина Ольга Валерьевна, врач-гематолог отделения гематологии¹.
 ORCID: 0000-0002-9531-1025

Сахин Валерий Тимофеевич, к.м.н., начальник отделения реанимации и интенсивной терапии кардиоцентра². ORCID: 0000-0001-5445-6028

Крюков Евгений Владимирович, д.м.н., профессор, академик РАН, начальник академии³

Губкин Андрей Владимирович, кандидат медицинских наук, заведующий отделением⁴. ORCID: 0000-0003-3698-7751

Рукавицын Олег Анатольевич, д.м.н., проф., начальник гематологического центра⁵. ORCID: 0000-0002-1309-7265

¹ЧУЗ Центральная клиническая больница ОАО «РЖД-Медицина», Москва

²ФГБУЗ «Центральный военный клинический госпиталь им. А. А. Вишневецкого» Минобороны России, г. Красногорск

³ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия

⁴ФГБУЗ Московский клинический научный центр имени А. С. Логинова ДЗМ, Москва

⁵ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени Н. Н. Бурденко», Москва, Россия

Автор для переписки: Рыбина Ольга Валерьевна. E-mail: Olya.fishka@yandex.ru

Для цитирования: Рыбина О. В., Сахин В. Т., Крюков Е. В., Губкин А. В., Рукавицын О. А. Динамика показателей эритропоэза в зависимости от ведущего патогенетического фактора и лечебной тактики у пациентов с циррозом печени. *Медицинский алфавит*. 2024; (4): 35–40. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-35-40>

About authors

Rybina Olga V., hematologist at Dept of Hematology¹.
 ORCID: 0000-0002-9531-1025

Sakhin Valery T., PhD Med, head of the Dept of Resuscitation and Intensive Care of the Cardiac Center². ORCID: 0000-0001-5445-6028

Kryukov Evgeniy V., DM Sci (habil.), professor, academician of the Russian Academy of Sciences, head of the Academy³

Gubkin Andrey Vladimirovich, PhD Med, head of Dept⁴.
 ORCID: 0000-0003-3698-7751

Rukavitsyn Oleg Anatolyevich, DM Sci (habil.), professor, head of the Hematology Center⁵. ORCID: 0000-0002-1309-7265

¹Central Clinical Hospital Russian Railways, Moscow, Russia

²Central Military Clinical Hospital named after A. A. Vishnevsky, Krasnogorsk, Russia

³Military medical academy of S. M. Kirov, Saint-Petersburg, Russia

⁴Moscow Clinical Research Center named after A. S. Loginova, Moscow, Russia

⁵Main Military Clinical Hospital named after N. N. Burdenko, Moscow, Russia

Corresponding author: Rybina Olga V. E-mail: Olya.fishka@yandex.ru

For citation: Rybina O. V., Sakhin V. T., Kryukov E. V., Gubkin A. V., Rukavitsyn O. A. Dynamic changes in erythropoiesis parameters depending on the leading pathogenetic factor and treatment in patients with liver cirrhosis. *Medical alphabet*. 2024; (4): 35–40. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-35-40>



Анализ лекарственной устойчивости *Plasmodium falciparum* – возбудителей завозной тропической малярии в Санкт-Петербурге (молекулярно-генетическое исследование)

А. Р. Арюков¹, В. А. Капатына², А. И. Соловьев¹, А. Н. Коваленко¹,
В. А. Романенко¹, Р. В. Гудков¹, А. С. Зинин¹

¹ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны РФ, Санкт-Петербург

²ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина», Санкт-Петербург

РЕЗЮМЕ

Лекарственная устойчивость *Plasmodium falciparum* – одна из основных причин неэффективной этиотропной терапии тропической малярии у неиммунных лиц, возвращающихся после посещения эндемичных по этой инфекции регионов. Генетическими маркерами устойчивости к основным противомаларийным препаратам служат однонуклеотидные полиморфизмы генов (PfCRT, PfMDR1, PfDHFR, PfDhps, PfATP6, PfKelch 13), кодирующих ключевые белки энергетического и метаболического обмена паразитов. С помощью методов на основе полимеразной цепной реакции с использованием технологии альтернативных праймеров и ПЦР в режиме реального времени обследованы пробы венозной крови 63 больных тропической малярией, проходивших лечение в инфекционных стационарах Санкт-Петербурга в период 2018–2023 гг. Установлено, что в пробах крови больных завозной тропической малярией наиболее часто выявляются генетические маркеры лекарственной резистентности *P. falciparum*: S1034C (58,7%), A578S (55,56%) и S108N (49,21%). Реже встречались мутации D1246Y (4,76%) и A630S (6,35%). В большинстве случаев регистрировались мутации гена PfMDR1 (более 76%). Полиморфизмы генов PfATP6 и PfCRT выявлялись в 32% и 14% случаев соответственно. В большинстве случаев регистрировались маркеры устойчивости паразитов к мефлохину и его производным (около 80%). Доля маркеров устойчивости *P. falciparum* артемизинину и его производным составляла около 63,5%, к сульфадоксину-пириметамину – менее 10%. Установлена возможность множественной лекарственной устойчивости паразитов. Генетические маркеры устойчивости одновременно к мефлохину и артемизинину регистрировались в 39% исследованных образцов, к мефлохину и сульфадоксину – в 35% случаев. Сделан вывод о том, что при лечении завозных случаев тропической малярии целесообразно назначение комбинированных этиотропных препаратов с различными механизмами фармакологического действия. Такой подход в сочетании лабораторными методами раннего определения особенностей этиологии малярии позволит предупредить развитие осложнений и возможный летальный исход заболевания.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тропическая малярия, *Plasmodium falciparum*, ПЦР в реальном времени, лекарственная резистентность, антималярийные препараты.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Analysis of drug resistance in *Plasmodium falciparum* – the causative agent of imported tropical malaria in St. Petersburg (molecular-genetic research)

A. R. Aryukov¹, V. A. Kapatsyna², A. I. Soloviev¹, A. N. Kovalenko¹,
V. A. Romanenko¹, R. V. Gudkov¹, A. S. Zinin¹

¹Military Medical Academy n.a. S. M. Kirov, St. Petersburg, Russia

²Clinical Infectious Diseases Hospital n.a. S. P. Botkin, St. Petersburg, Russia

SUMMARY

Drug resistance to *Plasmodium falciparum* is a leading cause of ineffective etiotropic therapy for tropical malaria in non-immune individuals returning from regions endemic for this infection. Genetic markers of resistance to major antimalarial drugs are single nucleotide polymorphisms of genes such as PfCRT, PfMDR1, PfDHFR, PfDhps, PfATP6, and PfKelch 13, which encode key proteins involved in the metabolism parasites cells. PCR-based methods using alternative primer technology and real-time PCR were used to examine venous blood samples from 63 tropical malaria patients treated in infectious diseases hospitals in St. Petersburg during 2018–2023. The study found that the most frequently detected genetic markers of *P. falciparum* drug resistance in patients blood samples with imported tropical malaria were S1034C (58.7%), A578S (55.56%) and S108N (49.21%). The D1246Y (4.76%) and A630S (6.35%) mutations were less frequent. The majority of cases showed mutations in the PfMDR1 gene (over 76%). Polymorphisms in the PfATP6 and PfCRT genes were detected in 32% and 14% of cases, respectively. In most cases, markers of parasite resistance to mefloquine and its derivatives were present (about 80%). The proportion of *P. falciparum* resistance markers to artemisinin and its derivatives was about 63.5%, and to sulfadoxine-pyrimethamine, less than 10%. The study found that 39% of cases showed genetic markers of resistance to both mefloquine and artemisinin, while 35% of cases showed resistance to both mefloquine and sulfadoxine. Therefore, it is recommended to prescribe combination drugs with different mechanisms of pharmacological action for the treatment in each specific case of tropical malaria. Combining this approach with laboratory methods for early determination of the malaria drug resistance will reduce the fatal cases.

KEYWORDS: tropical malaria, *Plasmodium falciparum*, real-time PCR, resistance, antimalarial drugs

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

Введение

Тропическая малярия – одна из наиболее опасных и широко распространенных инвазий, вызываемая *Plasmodium falciparum*. У неиммунных лиц при неэффективной терапии заболевания сопровождается злокачественным течением, нередко с летальным исходом [1]. Основная причина неэффективной этиотропной терапии тропической малярии – широкое распространение *P. falciparum*, устойчивых к основным антималярийным препаратам [2]. Это имеет особое значение для стран, где отсутствуют местные очаги инфекции и регистрируются только завозные случаи тропической малярии в результате заражения плазмодиями неиммунных лиц, возвращающихся после посещения эндемичных по этой инфекции регионов. Лекарственная устойчивость возбудителей, отсутствие специфического иммунитета у зараженных, отсутствие практического опыта врачей по ведению таких пациентов, а также и ограниченные лечебно-диагностические возможности создают реальную угрозу неблагоприятного исхода случаев завозной тропической малярии. Это определяет актуальность исследований, направленных на поиск предикторов злокачественного течения малярийной инфекции и изучение распространения лекарственной резистентности *P. falciparum*.

Основными критериями лекарственной резистентности *P. falciparum* служат однонуклеотидные полиморфизмы генов, кодирующих ключевые белки энергетического и метаболического обмена паразитов. По данным литературы молекулярно-генетическими маркерами устойчивости к таким препаратам как хлорохин (CQ) и мефлохин (MQ) могут служить мутации генов *PfMDR1* (*Plasmodium falciparum* multidrug resistance 1) и *PfCRT* (*Plasmodium falciparum* Chloroquine Resistance Transporter) [3, 4]. Эти участки паразитарного генома кодируют полипептидные последовательности транспортных белков, обеспечивающих метаболизм лекарственных препаратов и их выведение из клетки паразита [5]. Мутация K76T гена *PfCRT* ассоциируется с устойчивостью *P. falciparum* к действию хлорохина. А такие мутации, как N86Y, N1042D, D1246Y, S1034C гена *PfMDR1* – к хлорохину и мефлохину одновременно [6, 7]. Мутации N569K, A630S гена *PfATP6* (*P. falciparum* Ca²⁺-ATPase), A578S гена *PfK13* (*P. falciparum* kelch13 propeller region gene) служат маркерами устойчивости к артемизинину и его производным (ATM) [8, 9, 10]. Показана связь этих полиморфизмов с нарушением заключительной стадии окислительного фосфорилирования в цепи переноса электронов внутри митохондрий *P. falciparum* [11]. Однонуклеотидные полиморфизмы S108N и K540E гена *PfDHPS* (*P. falciparum* dihydropteroate synthetase gene - дигидроптероатсинтетаза (DHPS) ассоциируются с изменением ключевого фермента синтеза нуклеиновых кислот возбудителя [12]. С этим связано формирование устойчивости к сульфадоксину-пириметамину (SP) [13].

Ранее нами были опубликованы результаты разработки методики выявления описанных выше маркеров лекарственной резистентности *P. falciparum* на основе полимеразной цепной реакции с использованием технологии альтернативных праймеров и рестрикционного анализа [14]. Настоящая работа посвящена изучению с помощью разработанных методов лекарственной чувствительности *P. falciparum* в препаратах крови, полученной от больных завозной тропической малярией в Санкт-Петербурге [15].

Материалы и методы

Клинический материал. Проведено обследование препаратов крови пациентов с тропической малярией, проходивших лечение в инфекционных стационарах Санкт-Петербурга в период 2018 – 2023 гг. Изучены пробы венозной крови от 63 больных. Все обследованные – граждане Российской Федерации, заболевшие тропической формой малярии после посещения эндемичных регионов.

Пробоподготовка. Суммарная ДНК выделялась из проб крови при помощи фенол-хлороформного метода [16].

Аmplификация. Праймеры для амплификации фрагментов паразитарной ДНК, включающие маркерные SNP, а также зонды для их выявления методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) подбирались на основе генома *P. falciparum* из базы данных NCBI (National Center for Biotechnology Information) GCF_000002765.6. Их специфичность проверялась при помощи инструмента (BLAST) Basic Local Alignment Search Tool (табл. 1, табл. 2).

Все праймеры и зонды синтезированы ООО «Синтол». Реакционная смесь для проведения амплификации включала следующие компоненты: деионизированная вода (7,5 мкл), 5X HS-qPCRmix (ЗАО «Евроген») (2,5 мкл), прямой и обратный праймеры (по 0,5 мкл, 20 мкм), зонд (0,5 мкл) и матрица выделенной ДНК (1 мкл). Каждый ингредиент добавлялся в оптимальном количестве для достижения эффективной амплификации ДНК. Учет результатов проводился на амплификаторе CFX96 Touch (Bio-Rad) при помощи программы CFX Manager (Bio-Rad).

Критерием положительных результатов служило пересечение экспонентной кривой пороговой линии в значении +10% от максимального показателя флуоресцентного сигнала отрицательного контроля. Об устойчивости *P. falciparum* к действию лекарственных препаратов судили на основании выявления мутантных вариантов маркерных полиморфизмов.

Таблица 1
Праймеры, использованные для амплификации участков генома *P. falciparum*

SNP	Праймеры (прямой / обратный)
K76T	F: 5' GGTGGAGGTTCTTGTCTTGG 3' R: 5' GTTGTGAGTTCGGATGTTAC 3'
N86Y	F: 5' CCGTTAAATGTTACCTGCAC 3' R: 5' CGTACCAATTCCTGAACCTAC 3'
S1034C	F: 5' TGTC AAGCGGAGTTPPGCAT 3' R: 5' GAAGGATCCAAACCAATAGGC 3'
N1042D	F: 5' GAAAATATGTC AAGCGGAGTTP 3' R: 5' GAAGGATCCAAACCAATAGGC 3'
D1246Y	F: 5' AGCAATCGTTGGAGAACAGGT 3' R: 5' TCCAATGTTCATCTTCTCTCC 3'
S108N	F: 5' GGTGAAAGCAAAAATGAGGGG 3' R: 5' CTGTATAAACAACCGAACCCTCC 3'
K540E	F: 5' ATTGCATAAAAGAGGAAATCCAC 3' R: 5' GTTCTTCGCAATCTAATCC 3'
N569K	F: 5' TGGAGACAGTACCGAATTAGCTT 3' R: 5' ACCCTTGGTATTATCTCTCT 3'
A630S	F: 5' ACTACAGCTCAGGCAACAACA 3' R: 5' GCAAAGCTAAGTGTCTTAATGC 3'
A578S	F: 5' AAAGCATGGGTAGAGGTGGC 3' R: 5' TGCTCCTGAACCTCTAGCTCT 3'

Таблица 2
Зонды, использованные для выявления SNP в ПЦР-РВ

Зона	Последовательность
K76	5' FAM-GTATGTGTAATGAATAAААТТТТТG-BHQ1
76T	5' ROX-GTATGTGTAATGAATACAАТТТТТG-BHQ2
N86	5' FAM-GAACATGAАТТТТG-BHQ1
86Y	5' ROX-GAACATGАТТТТG-BHQ2
S1034	5' FAM-GGGGATTCAGTCAAAGCGC-BHQ1
1034C	5' ROX-GGGGATTCGTCAAAGCGC-BHQ2
N1042	5' FAM-GCGCTCAАТТТТТG-BHQ1
1042D	5' ROX-GCGCTCAАТТТТТG-BHQ2
D1246	5' FAM-GATTATAACTTAAGAGATCTTAGAAAC-BHQ1
1246Y	5' ROX-GATTATAACTTAAGATCTTAGAAAC-BHQ2
S108	5' FAM-GGAAGAACAАCTGGGAAAGC-BHQ1
108N	5' ROX-GGAAGAACAАCTGGGAAAGC-BHQ2
K540	5' FAM-CAATGGATGAАCTAACAAАТТG-BHQ1
540E	5' ROX-CAATGGATAАCTAACAAАТТG-BHQ2
N569	5' FAM-GAATATGAAAAAATACAACACCTG-BHQ1
569K	5' ROX-GAATATGAAAAAAGACAACACCTG-BHQ2
A630	5' FAM-GATATGAAGCTATAGGAGAAAATAC-BHQ1
630S	5' ROX-GATATGAAGCTATAGGAGAAAATAC-BHQ2
A578	5' FAM-CCTAGATCATCAGCTATGTGTG-BHQ1
578S	5' ROX-CCTAGATCATCAGCTATGTGTG-BHQ2

Таблица 3
Частота выявления мутантных вариантов маркеров резистентности

SNP	Положительные пробы	
	Абс.	%
D1246Y	3	4,76
A630S	4	6,35
K76T	9	14,29
N86Y	16	25,40
N569K	18	28,57
N1042	23	36,51
K540E	29	46,03
S108N	31	49,21
A578S	35	55,56
S1034C	37	58,73

Таблица 4
Частота выявления мутаций в генах PfCRT, PfMDR1, PfDHPS, PfATP6, PfK13

Гены	Наличие мутаций	
	Абс.	%
PfCRT	9	14
PfMDR1	48	76
PfDHPS	43	68
PfATP6	20	32
PfK13	35	56

Таблица 5
Частота встречаемости штаммов *P. falciparum*, с признаками устойчивости к основным противомалярийным препаратам

Препарат	Чувствительные		Устойчивые		Отрицательные	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Хлорохин	42	66,67	7	11,11	12	19,05
Мефлохин	8	12,70	49	77,78	4	6,35
Артемизинин	21	33,33	40	63,49	2	3,17
Сульфадоксин	43	68,25	13	20,63	6	9,52

Результаты и их обсуждение

Анализ частоты встречаемости маркеров резистентности возбудителей тропической малярии показал, что в обследованных пробах наиболее часто регистрировались мутации S1034C (58,7% проб), A578S (55,56%), а также S108N (49,21%). Наименее часто выявлялись мутации D1246Y – 3 пробы (4,76%) и A630S – 4 пробы (6,35%) (табл. 3).

Чаще других выявлялись мутации гена множественной лекарственной резистентности (*PfMDR1* – 76% случаев), реже регистрировались мутации гена транспортного белка (*PfCRT* – 14% и гена *PfATP6* (32%) (табл. 4).

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о преобладании паразитарных штаммов с признаками резистентности к мефлохину и его производным. Доля обследованных пациентов, в препаратах крови которых выявлялись соответствующие генетические маркеры возбудителей, составила около 80% (табл. 5).

В значительной доле случаев регистрировались молекулярно-генетические маркеры устойчивости *P. falciparum* к артемизинину и его производным (около 63,5%). При этом резистентность паразитов к сульфодоксину-пириметамину сохранялась на низком уровне, не превышая 10%.

Анализ маркеров лекарственной устойчивости паразитов показал, что доля случаев завозной тропической малярии, вызванной паразитами чувствительными к основным противомаларийным препаратам, не превышала 8% (5 случаев). Изолированная резистентность только к одному лекарственному препарату регистрировалась лишь в 7 случаях (11%). У основной доли обследованных (73,2%) в препаратах крови регистрировались маркеры резистентности одновременно к двум и трем группам противомаларийных препаратов. В трех случаях (4,7%) были выявлены маркеры устойчивости к полному спектру анализируемых лекарственных средств.

Так, наиболее часто наблюдалась устойчивость одновременно к мефлохину и артемизинину (39%), а также к мефлохину и сульфадоксину (35%). Случаев устойчивости возбудителя к хлорохину в сочетании с сульфадоксином или артемизинином зафиксировано не было (табл. 7).

Одновременная устойчивость к мефлохину, сульфадоксину и артемизинину (86,96%) встречалась значительно чаще, чем к другим сочетаниям из трех препаратов (табл. 8).

Анализ полученных данных показал, что при выборе наиболее эффективной этиотропной терапии целесообразно использовать результаты лабораторных исследований на молекулярно-генетические маркеры лекарственной устойчивости *P. falciparum*. Полученные данные могут стать основой для повышения эффективности лечения и профилактики тропической малярии с учетом устойчивости возбудителя к различным антималярийным препаратам.

Заключение

Результаты проведенных исследований показали, что в пробах крови больных завозной тропической малярией наиболее часто выявляются генетические маркеры лекарственной резистентности *P. falciparum*: S1034N гена *PfMDR1*, A578S гена *PfKelch13*, S108N гена *PfDHFR*, 540E гена *PfDHPS*. Анализ полученных данных позволяет утверждать о лекарственной устойчивости паразитов одновременно к нескольким

Частота выявления маркеров множественной лекарственной устойчивости *P. falciparum*

Резистентность	Количество штаммов	
	Абс.	%
Отсутствует	5	7,94
1 препарат	7	11,11
2 препарата	23	36,51
3 препарата	23	36,51
4 препарата	3	4,76

Таблица 7

Частота встречаемости штаммов *P. falciparum*, устойчивых к двум препаратам

Комбинации препаратов	Количество случаев	
	Абс.	%
Хлорохин + Мефлохин	1	4
Мефлохин + Сульфадоксин	8	35
Мефлохин + Артемизинин	9	39
Артемизинин + Сульфадоксин	5	22

Таблица 8

Частота встречаемости штаммов *P. falciparum*, устойчивых к трем препаратам

Комбинации препаратов	Количество случаев	
	Абс.	%
Мефлохин + Сульфадоксин + Артемизинин	20	86,96
Хлорохин + Мефлохин + Артемизинин	2	8,70
Хлорохин + Мефлохин + Сульфадоксин	1	4,35

противомалярийным препаратам. При этом чаще резистентность к мефлохину сочетается с устойчивостью к артемизинину и его производным, а также к мефлохину и сульфадоксину. Высокая вероятность множественной лекарственной устойчивости *P. falciparum* определяет необходимость при лечении завозных случаев тропической малярии по возможности не применять терапию одним препаратом. При этом целесообразно сразу назначать наиболее эффективные комбинированные препараты, включающие лекарственные средства с различными механизмами фармакологического действия. Такой подход в сочетании лабораторными методами оценки лекарственной чувствительности плазмодиев позволит предупредить развитие осложнений и свести к минимуму возможность летального исхода заболевания.

Список литературы / References

- Sergiev V. P., Baranova A. M., Kozhevnikova G. M., Tokmalayev A. K., Chernyshev D. V., Chentsov V. B., Kouassi D. M. Проблемы клинической диагностики и лечения *P. falciparum*-малярии в Российской Федерации. Терапевтический архив. 2018; 90(11):4-8. <https://doi.org/10.26442/terarkh201890114-8>
- Yasri S., Wiwanitkit V. Artemisinin resistance: An important emerging clinical problem in tropical medicine. International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology. 2021; 6(1):152.
- Maiga H. et al. Selection of pfprt K76 and pfmdr1 N86 coding alleles after uncomplicated malaria treatment by artemether-lumefantrine in Mali. International journal of molecular sciences. 2021; 1(1):6057 <https://doi.org/10.3390/ijms2116057>
- Huang F. et al. Molecular surveillance of pfprt, pfmdr1 and pfk13-propeller mutations in Plasmodium falciparum isolates imported from Africa to China. Malaria journal. 2021; 20(1):1-11. <https://doi.org/10.1186/s12936-021-03613-5>
- Calçada C. Expansion of a specific Plasmodium falciparum PfMDR1 haplotype in Southeast Asia with increased substrate transport. Mbio. 2020; 6(6) <https://doi.org/10.1128/mbio.02093-20>
- Nguetse C. N., Adegniko A. A., Agbenyega T., Ogotu B. R., Krishna S., Krensner P. G., Velavan T. P. Molecular markers of anti-malarial drug resistance in Central, West and East African children with severe malaria. Malaria Journal. 2017; 16(1):1-9. <https://doi.org/10.1186/s12936-017-1868-y>
- Chenet S. M., Okoth S. A., Kelley J., Lucchi N., Huber C. S., Vredon S., Adhin M. R. Molecular profile of malaria drug resistance markers of Plasmodium falciparum in Suriname. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2017; 61(7):10-1128. <https://doi.org/10.1128/2FAAC.02655-16>
- Verity R., Aydemir O., Brazeau N. F., Watson O. J., Hathaway N. J., Mwandagaliwa M. K., Juliano J. J. The impact of antimalarial resistance on the genetic structure of Plasmodium falciparum in the DRC. Nature communications. 2020; 11(1):2107. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-1579-8>
- Krishna S. Artemisinins and the biological basis for the PfATP6/SERCA hypothesis. Trends in parasitology. 2010; 11(11):517-523. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.06.014>
- Brasil L. W. P. Molecular profile of Plasmodium falciparum isolates in the western Brazilian Amazon. Malaria Journal. 2012; 11(1):1-5. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-11-111>
- Wicht K. J., Mok S., Fidock D. A. Molecular mechanisms of drug resistance in Plasmodium falciparum malaria. Annual review of microbiology. 2020; 74(1):431-454. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-020518-115546>
- Yan H. High frequency mutations in pfdhfr and pfdhps of Plasmodium falciparum in response to sulfadoxine-pyrimethamine: a cross-sectional survey in returning Chinese migrants from Africa. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2021; 587. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.673194>

Сведения об авторах

Арюков Артем Русланович, преподаватель кафедры биологии¹.
Email: arukov.artem@yandex.ru. SPIN-код: 4073-6487. Researcher ID: IAO-0519-2023.
ORCID: 0000-0001-8774-5467

Капачына Владимир Александрович, зав. отделением, врач-инфекционист².
SPIN-код: 6401-4611. ORCID: 0000-0002-8959-0873

Соловьев Алексей Иванович, д.м.н., доцент, зав. кафедрой биологии¹.
Email: solopiter@gmail.com. SPIN-код: 2502-8831. ORCID: 0000-0002-3731-1756

Коваленко Александр Николаевич, д.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний¹.
Email: ank561@mail.ru. ORCID: 0000-0002-7553-0634

Романенко Владимир Александрович, преподаватель кафедры биологии¹.
Email: jeeper98creepers@gmail.com. SPIN-код: 9855-9483

Гудков Роман Владимирович, к.м.н., старший преподаватель кафедры инфекционных болезней с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний¹.
Email: gudkoff@mail.ru. SPIN-код: 8311-6296

Зинин Артем Сергеевич, оператор научной роты¹. Email: aretmz@list.ru

¹ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» Министерства обороны РФ, Санкт-Петербург

²ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С. П. Боткина», Санкт-Петербург

Автор для переписки: Арюков Артем Русланович. Email: arukov.artem@yandex.ru

About authors

Aryukov Artem R., teacher of the Department of Biology¹.
Email: arukov.artem@yandex.ru. SPIN code: 4073-6487. ResearcherID: IAO-0519-2023.
ORCID: 0000-0001-8774-5467

Kapatsyna Vladimir A., head of Dept, infectious disease physician².
SPIN code: 6401-4611. ORCID: 0000-0002-8959-0873

Soloviev Alexey I., DM Sci (habil.), associate professor, head of Dept of Biology¹.
Email: solopiter@gmail.com. SPIN: 2502-8831. ORCID: 0000-0002-3731-1756

Kovalenko Alexander N., DM Sci (habil.), associate professor of Dept of Infectious Diseases with a course in Medical Parasitology and Tropical Diseases¹.
Email: ank561@mail.ru. ORCID: 0000-0002-7553-0634

Romanenko Vladimir A., preparator at Dept of Biology¹.
Email: jee-pers98creepers@gmail.com. SPIN code: 9855-9483

Gudkov Roman V., PhD Med, senior lecturer at Dept of Infectious Diseases with a course in Medical Parasitology and Tropical Diseases¹. Email: gudkoff@mail.ru. SPIN code: 8311-6296

Zinin Artem S., scientific company operator¹. Email: aretmz@list.ru

¹Military Medical Academy n.a. C. M. Kirov, St. Petersburg, Russia

²Clinical Infectious Diseases Hospital n.a. S. P. Botkin, St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Aryukov Artem R. Email: arukov.artem@yandex.ru

Для цитирования: Арюков А. Р., Капачына В. А., Соловьев А. И., Коваленко А. Н., Романенко В. А., Гудков Р. В., Зинин А. С. Анализ лекарственной устойчивости Plasmodium falciparum – возбудителя завозной тропической малярии в Санкт-Петербурге (молекулярно-генетическое исследование). Медицинский алфавит. 2024; (4): 42–45. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-42-45>

For citation: Aryukov A. R., Kapatsyna V. A., Soloviev A. I., Kovalenko A. N., Romanenko V. A., Gudkov R. V., Zinin A. S. Analysis of drug resistance in Plasmodium falciparum – the causative agent of imported tropical malaria in St. Petersburg (molecular-genetic research). Medical alphabet. 2024; (4): 42–45. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-42-45>

Роли участников системы наблюдения за медицинскими изделиями *in vitro* после начала применения

К. Т. Момыналиев¹, В. С. Берестовская², О. С. Калачева³, А. В. Эмануэль⁴

¹ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский и испытательный институт медицинской техники» Росздравнадзора, Москва

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

³АО «ГК «Медси», Москва

⁴ООО «Тест-СПб», Санкт-Петербург

РЕЗЮМЕ

В статье проанализированы основные требования по организации системы наблюдения за медицинскими изделиями *in vitro* после начала их применения в Российской Федерации. Дана авторская позиция по ключевым ролям участников данного наблюдения, включая производителей медицинских изделий, медицинские лаборатории и медицинские организации, обозначены основные вопросы, требующие решения при разработке программы наблюдения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ГОСТ ISO 13485, ГОСТ ISO 14971, ГОСТ Р 70467–2022, ГОСТ Р 57449–2017, постпроизводственная стадия, постмаркетинговое/послепродажное наблюдение.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Roles of participants of post-marketing surveillance system for *in-vitro* diagnostics medical devices

K. T. Momynaliev¹, V. S. Berestovskaya², O. S. Kalacheva³, A. V. Emanuel⁴

¹All-Russian Research and Testing Institute of Medical Equipment, Moscow, Russia

²Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia

³Meds Group of Companies, Moscow, Russia

⁴Test-SPb LLC, St. Petersburg, Russia

SUMMARY

The article analyzes the basic requirements for organizing post-marketing surveillance of medical devices for *in vitro* diagnostics in the Russian Federation. The author's position on the key roles of participants in the surveillance, including the manufacturer of medical devices, medical laboratories and medical organizations, is given, and the main issues that need to be addressed when developing a post-marketing surveillance program are identified.

KEY WORDS: ISO 13485, ISO 14971, ISO/TR 20416:2020, ISO/TR 24971:2020, post-marketing surveillance, post-marketing clinical follow-up.

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

Медицинские изделия (далее – МИ) считаются ключевым звеном медицинских технологий, обеспечивая прогресс в здравоохранении для миллионов пациентов. При этом МИ также могут приводить к нежелательным событиям или инцидентам с серьезными последствиями для пациентов и пользователей. Общеизвестно, что любое МИ на протяжении всего жизненного цикла от проектирования до утилизации сохраняет остаточные риски в отношении эксплуатационных характеристик и безопасности. Остаточные риски отражают комплекс факторов, зависящих от свойств самого МИ, условий его эксплуатации и взаимодействия с конечным пользователем. Действия на этапе разработки и производства, подтверждаемые при испытаниях и итоговой регистрации МИ, обеспечивают понимание того, что остаточный риск

является приемлемым либо предполагаемая польза от МИ превышает остаточные риски для выпуска МИ в оборот. При этом важно собирать и анализировать информацию о МИ во время производства и постпроизводства, чтобы соответствовать требованиям относительно мониторинга продукта и процессов, связанных с его применением, а также гарантировать, что остаточный риск остается приемлемым [1].

В связи с этим в России и за рубежом законодательно закреплён мониторинг безопасности и эффективности тех медицинских изделий, которые уже одобрены и в настоящее время используются в клинической практике (послепродажное наблюдение) [2].

Процессы сбора и анализа информации на производстве и обратная связь при применении МИ в соот-

ветствующей реальной практике позволяют выявлять нежелательные эффекты на ранней стадии. Стратегия послепродажного наблюдения должна быть связана с областью применения МИ и соразмерна возможным рискам при его использовании. Постпродажное наблюдение позволяет производителям получать данные о фактическом использовании медицинских изделий, обрабатывать их и в последующем использовать эту информацию для информирования регулирующих органов, совершенствования продукта и/или управления рисками при его применении [3].

Участие в системе наблюдения за медицинскими изделиями для большинства медицинских лабораторий нашей страны явление достаточно новое, поэтому в начале обсуждения авторы сочли необходимым привести ряд терминов, включенных в нормативно-правовые акты, касающиеся этого процесса.

В ГОСТ Р 70467–2022 [3] используются термины: система наблюдения, применяемая изготовителем после выпуска изделий в обращение (определение понятия «обращение медицинских изделий» приведено в Федеральном законе от 21.11.2011 N 323-ФЗ), постпроизводственная стадия и система наблюдения, применяемая изготовителем после выпуска изделий в обращение (далее – постмаркетинговое или послепродажное наблюдение). В данном материале в рамках процесса наблюдения за МИ понимается этап обращения медицинского изделия, когда изделие после государственной регистрации передается пользователю и начинается его применение в реальной практике.

Приказ Минздрава РФ № 1113н [4] вводит понятие «мониторинг безопасности и клинической эффективности после его регистрации или сокращенно клинический мониторинг». В среде производителей медицинских изделий можно встретить термин пострегистрационный клинический мониторинг. В то же время широкое использование данного термина может вводить в заблуждение, так как клинический мониторинг применим в Российской Федерации только для определенных МИ, а система наблюдения на постпроизводственной стадии распространяется на все МИ. Напомним, что клинический мониторинг в нашей стране обязателен для медицинских изделий для *in vitro* диагностики класса потенциального риска применения 3.

Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 12.02.2016 N 46 «О Правилах регистрации и экспертизы безопасности, качества и эффективности медицинских изделий», приложение № 4, в перечень документов, необходимых для регистрации МИ всех классов риска, в том числе МИ для *in vitro* диагностики включен «План сбора и анализа данных по безопасности и эффективности медицинских изделий на постпродажном этапе» [5].

Обобщая понятия, используемые в различных нормативно-правовых актах, можно отметить, что сбор и анализ информации о медицинском изделии, в том числе для *in vitro* диагностики, которое прошло все необходимые испытания, зарегистрировано и находится в применении у пользователей, является частью общей системы наблюдения за МИ на постпроизводственной стадии.

В области управления качеством в здравоохранении на данном этапе можно выделить следующие тренды:

1. Тенденция к созданию экосистемы системы менеджмента качества в здравоохранении. Еще несколько лет назад системы менеджмента качества (СМК) и соответствующие им стандарты для разных участников системы здравоохранения были во многом изолированы, а основные задачи решались в рамках управления взаимодействием между подразделениями одной организации. В современной экосистеме СМК области приложения управленческих процедур распространяются на производителей медицинских изделий, дистрибьюторские и логистические транспортные компании, сервисные службы, медицинские организации, регулирующие органы и испытательные центры. Ее участники начинают функционировать как обособленные подразделения одной глобальной или национальной системы, а усилия по стандартизации и управлению качеством концентрируются на организации взаимодействия всех участников системы здравоохранения. Обращаем внимание, что речь идет о взаимодействии между заинтересованными участниками, в результате улучшения коммуникаций и стандартизации процессов, между которыми будут созданы условия для достижения долгосрочных задач. При усовершенствовании всей системы увеличивается надежность каждого элемента экосистемы.
2. Усиление акцента в системе здравоохранения на управление рисками. Устройства для *in vitro* диагностики имеют высокий инновационный потенциал и играют важную роль в здравоохранении, помогая в диагностике, мониторинге и лечении заболеваний. Традиционно зоны управления качеством в медицинских лабораториях были направлены на технические аспекты применения МИ для *in vitro* диагностики. В последнее время в регуляторных актах отмечается смещение акцента в сторону управления рисками, связанными с применением результатов лабораторных исследований клиницистами. Регуляторы все большее внимание уделяют вопросам влияния этих рисков на пациентов, что является новым аспектом менеджмента качества и управления рисками для производителей медицинских изделий для *in vitro* диагностики.

Связи участников экосистемы управления качеством в системе здравоохранения нашли отражение в современных стандартах по СМК. Ключевым международным документом, разработанным в первую очередь для организации национальных систем надзора за медицинскими изделиями на пострегистрационном этапе, а также для организации системы взаимодействия производителей, пользователей и регуляторов оборота медицинских изделий, является «Руководство по пострегистрационному надзору за медицинскими изделиями, в том числе используемыми для *in vitro* диагностики [6]. Деятельность по постмаркетинговому наблюдению регламентируется



Схема 1. Ключевые участники процесса пострегистрационного мониторинга.

ГОСТ Р 70467–2022/ISO/TR 20416:2020 «Изделия медицинские. Система наблюдения, применяемая изготовителем после выпуска изделий в обращение» [3], в котором также подчеркивается необходимость взаимодействия между производителями и пользователями медицинскими изделиями. Базовый стандарт для производителей медицинских изделий ISO 14971:2019 [7], рекомендации по его применению ISO/TR 24971:2020 [8, 9] и ГОСТ Р 57449–2017 [10], соответственно, включают ссылки на ISO 15189 [11]. Стандарт ГОСТ Р ИСО 22367–2022 [12] создан, в том числе, для содействия в реализации требований ГОСТ Р ИСО 15189 в части риск-менеджмента и построен на тех же принципах, что и ГОСТ ISO 14971 для производителей. Приказ Минздрава РФ № 1113н детализируют национальные требования к взаимодействию между субъектами обращения, производителями и регуляторами в сфере надзора за медицинскими изделиями [4].

Результаты анализа рисков, выявленные на этапе разработки медицинского изделия, необходимы пользователям как основа для создания плана проведения пострегистрационного мониторинга. В случае медицинских изделий для *in vitro* диагностики пользователем является медицинская лаборатория, для которой информация об остаточных рисках от производителя при выпуске МИ на рынок становится входными данными для системы риск-менеджмента лаборатории. Так, раздел 4.4. ГОСТ ISO 14971 [9] указывает, что в план управления рисками следует включать деятельность по сбору информации на пострегистрационном этапе, а раздел 10 этого же стандарта детализирует эту активность [9]. В рамках Решения Совета Евразийской экономической комиссии от 12.02.2016 N 46 [5] в перечень документов, необходимых для регистрации МИ, для МИ всех классов риска, включая МИ для *in vitro* диагностики должен входить «План сбора и анализа данных по безопасности и эффективности медицинских изделий на постпродажном этапе» (пункт 32).

Стандарт ГОСТ Р ИСО 15189 [11] в свою очередь указывает, что данные риск-менеджмента лаборатории должны быть транслированы клиницистам как потребителям результата лабораторного исследования. Информацию о рисках следует использовать для риск-менеджмента

в отношении пациентов уже на уровне медицинской организации (рис. 1). Важно, что пострегистрационное наблюдение применимо для всех медицинских изделий независимо от класса риска применения.

В нашей стране пострегистрационный мониторинг МИ является одним из элементов государственного контроля за обращением МИ. При использовании МИ для *in vitro* диагностики третьего, самого высокого класса риска, к мониторингу предъявляются повышенные требования по обеспечению безопасности и эффективности применения МИ. Так, в решении Коллегии Евразийской экономической комиссии

№ 174 от 22.12.2015 г. [13] определено, что для МИ третьего класса риска мониторинг необходимо проводить ежегодно в течение трех лет после получения регистрационного удостоверения даже в случае отсутствия неблагоприятных событий или рисков со стороны продукта. Письмо Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения (Росздравнадзор) от 16.10.2023 № 04И-877/23 детализирует требования к целям, задачам и содержанию пострегистрационного наблюдения. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 26.01.2024 N 7 [14] содержит определение клинической эффективности МИ для *in vitro* диагностики: клиническая эффективность медицинского изделия для диагностики *in vitro* – способность медицинского изделия для диагностики *in vitro* показывать результаты, коррелирующие с конкретным клиническим или физиологическим состоянием в целевой популяции при его применении предназначенным пользователем.

Приведенные выше документы имеют разный статус и практику применения в системах менеджмента качества российского здравоохранения. Указанные нормативные требования и рекомендации приведены с точки зрения эволюции подхода к управлению качеством в сфере здравоохранения в целом и, в рамках пострегистрационного наблюдения за МИ, в частности.

В тоже время, проведение пострегистрационного наблюдения в сфере оборота изделий для *in vitro* диагностики имеет свою специфику. Основные вызовы связаны именно с пострегистрационным мониторингом в части оценки клинической эффективности МИ для *in vitro* диагностики. При этом важно различать задачи по оценке, детализации и верификации на больших массивах данных технических (аналитических) характеристик, которые могут косвенно влиять на клиническую эффективность и прямую оценку клинической эффективности. С организационной точки зрения провести анализ клинической эффективности МИ для *in vitro* диагностики представляется непростой задачей, так как большинство медицинских лабораторий имеют ограниченный доступ к медицинской информации по ведению пациентов и клиническим исходам, даже попадающих в сферу приложения рисков, установленных производителем.

Соответственно, выбор пользователя в качестве медицинского партнера для проведения такой оценки становится одной из ключевых задач производителя. Для решения данной задачи необходима медицинская лаборатория, имеющая организационную и техническую возможности получать выборочные данные по пациентам, взаимодействие с клиницистами и получение от них обратной связи. В этой связи видится, что крупные лаборатории, обладающих внушительными массивами данных для мониторинга аналитических характеристик МИ, могут быть ограничены в информации, необходимой для решения задач, по прямой оценке, клинической эффективности в сфере *in vitro* диагностики. Критерий применения МИ для *in vitro* диагностики с целью обследования различных популяций пациентов по половозрастному составу, нозологиям, проводимому лечению и коммуникации с клиницистами являются важным условием успешного проведения мониторинга клинической эффективности.

Еще одна проблема, требующая внимания на этапе разработки плана пострегистрационного мониторинга, это позиция по установлению клинической эффективности отдельно для каждого вида медицинского изделия для *in vitro* диагностики, а не аналитической системы в целом. Необходимо продумать цели для реагентов, контрольных материалов и калибраторов отдельно. С точки зрения достижения целей пострегистрационного мониторинга отправной точкой может служить объединение экспертных компетенций специалиста лабораторной медицины (принципы доказательной медицины) и производителя (глубокое знание разных аспектов оборота МИ). Участие в разработке и/или согласованию плана и схемы мониторинга – задача, требующая тесного контакта производителей и медицинских лабораторий, участвующих в проведении прстрегистрационного наблюдения.

Организация и проведение постпродажного наблюдения, как элемента процесса управления рисками, является достаточно сложной задачей для всех участников экосистемы управления качеством в здравоохранении. Позиция российского регулятора, которая заключается в необходимости

оценки именно клинической эффективности МИ, в том числе для *in vitro* диагностики, помимо других элементов постпродажного наблюдения, является, по мнению авторов, важным компонентом системы управления и надзора за рынком медицинских изделий. Акцент на оценку клинической эффективности находится в тренде развития современных систем менеджмента качества и требует нового уровня взаимодействия производителя, лаборатории и медицинской организации, что может существенно повысить качество и снизить риски применения МИ *in vitro*.

Список литературы / References

1. ISO/TR 20416:2020. Medical devices. Post-market surveillance for manufacturers.
2. Zippel C., Bohnet-Joschko S. Post market surveillance in the german medical device sector – current state and future perspectives. *Health Policy*. 2017; 121 (8):880–886. doi: 10.1016/j.healthpol.2017.06.005.
3. ГОСТ Р 70467–2022/ISO/TR 20416:2020. Изделия медицинские. Система наблюдения, применяемая изготовителем после выпуска изделий в обращение.
4. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 19 октября 2020 г. N 1113н «Об утверждении Порядка сообщения субъектами обращения медицинских изделий обо всех случаях выявления побочных действий, не указанных в инструкции по применению или руководстве по эксплуатации медицинского изделия, о нежелательных реакциях при его применении, об особенностях взаимодействия медицинских изделий между собой, о фактах и об обстоятельствах, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации медицинских изделий».
5. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 12.02.2016 № 46 «О Правилах регистрации и экспертизы безопасности, качества и эффективности медицинских изделий».
6. Руководство по пострегистрационному надзору за медицинскими изделиями, в том числе используемыми для диагностики *in vitro*. *Guidance for post-market surveillance and market surveillance of medical devices, including in vitro diagnostics*. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2021 г.
7. ISO 14971:2019. Medical devices. Application of risk management to medical devices.
8. ISO/TR 24971:2020 Изделия медицинские. Руководство по применению.
9. ГОСТ ISO 14971–2021 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям».
10. ГОСТ Р 57449–2017/ISO/TR 24971:2013. Изделия медицинские. Руководство по применению ИСО 14971.
11. ГОСТ Р ИСО 15189 [ГОСТ Р ИСО 15189–2015 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности».
12. ГОСТ Р ИСО 22367–2022 «Лаборатории медицинские. Применение менеджмента риска в медицинских лабораториях».
13. Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 22 декабря 2015 г. № 174 «Об утверждении Правил проведения мониторинга безопасности, качества и эффективности медицинских изделий».
14. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 26.01.2024 года № 7 «О внесении изменений в Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 12 февраля 2016 г. N 29».

Статья поступила / Received 10.03.24

Получена после рецензирования / Revised 15.03.24

Принята в печать / Accepted 15.03.24

Сведения об авторах

Момыналиев Куват Темиргалиевич, д.б.н., доцент, помощник генерального директора¹. E-mail: dhoroshun@gmail.com. ORCID: 0000-0003-4656-1025

Берестовская Виктория Станиславовна, к.м.н., доцент кафедры лабораторной медицины с клиникой². E-mail: viksta@inbox.ru. ORCID: 0000-0001-5916-8076

Калачева Ольга Сергеевна, рук. Единой клинико-диагностической лаборатории, заместитель медицинского директора по клинической лабораторной диагностике³. E-mail: olg2478@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-6596-4076

Эмануэль Артём Владимирович, к.т.н., эксперт-аудитор по сертификации систем менеджмента качества⁴. E-mail: e_artem@mail.ru. ORCID: 0000-0001-8438-6980

¹ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский и испытательный институт медицинской техники» Росздравнадзора, Москва

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

³АО «ГК «Медси», Москва

⁴ООО «Тест-СПб», Санкт-Петербург

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

Для цитирования: Момыналиев К.Т., Берестовская В.С., Калачева О.С., Эмануэль А.В. Роли участников системы наблюдения за медицинскими изделиями *in vitro* после начала применения. *Медицинский алфавит*. 2024; (4): 46–49. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-46-49>

About authors

Momynaliev Kuvat T., Dr Bio Sci, associate professor, assistant general director¹. E-mail: dhoroshun@gmail.com. ORCID: 0000-0003-4656-1025

Berestovskaya Victoria S., PhD Med, associate professor at Dept of Laboratory Medicine with Clinic². E-mail: viksta@inbox.ru. ORCID: 0000-0001-5916-8076

Kalacheva Olga S., head of Unified Clinical Diagnostic Laboratory, deputy medical director for Clinical Laboratory Diagnostics³. E-mail: olg2478@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-6596-4076

Emanuel Artyom V., PhD, quality management system lead auditor at Certification Body⁴. E-mail: e_artem@mail.ru. ORCID: 0000-0001-8438-6980

¹All-Russian Research and Testing Institute of Medical Equipment, Moscow, Russia

²Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia

³Medsi Group of Companies, Moscow, Russia

⁴Test-SPb LLC, St. Petersburg, Russia

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

For citation: Momynaliev K.T., Berestovskaya V.S., Kalacheva O.S., Emanuel A.V. Roles of participants of post-marketing surveillance system for *in vitro* diagnostics medical devices. *Medical alphabet*. 2024; (4): 46–49. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-46-49>



Эффект *Sedimentum Lateritium* XVI века раскрывает роль ренальных дисфункций в коморбидности болезней XXI века

А. В. Яковлева¹, К. Т. Момыналиев², М. Г. Залеский¹, Н. А. Верлов³, И. И. Скибо¹, В. Л. Эмануэль¹

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский и испытательный институт медицинской техники» Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения, Москва

³ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики имени Б. П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Ленинградская область, Гатчина

РЕЗЮМЕ

С целью изучения диагностической эффективности феномена *Sedimentum lateritium*, известного с XVI века, на основе сформированной лабораторной модели регистрации образования осадка в моче при ее охлаждении – холодной пробы мочи (ХПМ), **методами** динамического светорассеивания и измерения Z-потенциала, верифицирован механизм образования «криогеля» в моче при полимеризации патологических изоформ уромодулина (UMD), характерных для больных уролитиазом.

В результате анализа («непросфильной») когорты лиц кардиологического и пульмонологического профилей, описанный фазовый переход («гель-гель») выявлен с частотой 21–31% соответственно. Выдвинута гипотеза о коморбидности, обусловленной метаболизмом различных изоформ UMD: при уролитиазе, в следствии нарушений апикального посттрансляционного процессинга олиго-полимерных изоформ UMD и, в следствии воздействия ксенобиотиков и повреждений внутриклеточного метаболизма с деструкцией базальной мембраны и выходом мономерных изоформ UMD в интерстиций почек, инициирующего воспаление и, последующий фиброз с повышением внутрипочечного давления, снижающего СКФ, т.е. развитие ХБП.

Вывод: описанная биофизическая технология может рассматриваться как скрининговый метод доклинической верификации каскада метаболических последствий по «кардио-гепато-ренальному» континууму, формирующему коморбидность заболеваний в популяции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эффект *Sedimentum lateritium* (SI), холодная проба мочи (ХПМ), уромодулин (UMD), криогель, ренальные дисфункции, мочекаменная болезнь (МКБ), коморбидные заболевания.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The effect of *Sedimentum Lateritium* of the 16th century reveals the role of renal dysfunction in the comorbidity of diseases of the 21st century

A. V. Iakovleva¹, K. T. Momynaliev², M. G. Zalesky¹, N. A. Verlov³, I. I. Skibo¹, V. L. Emanuel¹

¹Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

²Russian Scientific and Research Institute for Medical Engineering, Moscow, Russia

³Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre “Kurchatov Institute”, Leningrad region, Gatchina, Russia

SUMMARY

For the purpose of studying the diagnostic effectiveness of the *Sedimentum lateritium* phenomenon, known since the XVI century, on the basis of a formed laboratory model for registering the formation of sediment in urine during cooling – a cold urine sample (CPM), **by methods** of dynamic light scattering and Z-potential measurement, the mechanism of formation of “cryogel” in urine during polymerization of pathological isoforms of uromodulin (UMD) was verified, characteristic of patients with urolithiasis.

As a result of the analysis of a “non-core” cohort of individuals with cardiological and pulmonological profiles, the described sol-gel phase transition was detected with a frequency of 21–31%, respectively. A hypothesis has been put forward about comorbidity due to the metabolism of various UMD isoforms: in urolithiasis, as a result of violations of apical posttranslational processing of oligo-polymer isoforms of UMD and, as a result of exposure to xenobiotics and damage to intracellular metabolism with destruction of the basement membrane and the release of monomeric isoforms of UMD into the interstitium of the kidneys, initiating inflammation and subsequent fibrosis with increased intrarenal pressure, reducing GFR, i.e. the development of CKD.

Conclusion: the described biophysical technology can be considered as a screening method for preclinical verification of the cascade of metabolic consequences along the “cardio-hepatorenal” continuum that forms the comorbidity of diseases in the population

KEY WORDS: *Sedimentum lateritium* (SI) effect, cold urine sample (CPM), uromodulin (UMD), cryogel, renal dysfunction, urolithiasis (ICD), comorbid diseases.

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

Введение

Протеом мочи представлен двумя фракциями, принципиально отличающимися геномным происхождением. К первой относятся многочисленные белки, попадающие из плазмы

крови в процессе формирования первичной мочи. Попадание белков плазмы крови в ультрафильтрат в капсуле Боумана зависит от соотношения размера белка и просвета пор, об-

разованных подоцитами висцерального слоя клубочковой камеры, и в меньшей степени от заряда белка. В норме размер поры капсулы Боумана человека от 3.5 до 4 нм в ширину. Молекулярная масса (MW) человеческого сывороточного альбумина составляет 69 кДа, поверхностный заряд –15 мВ, молекула белка представляет собою эллипсоид диаметром 3.8 нм и длиной 15 нм. Исходя из этих данных в ультраfiltrате плазмы – первичной моче альбумин содержится в количестве около 10мг/л, что соответствует экспериментально показанному коэффициенту фильтрации для альбумина человека составляет 0.00062 [1].

В процессе прохождения первичной мочи в нефроне последовательно происходят несколько разнонаправленные процессы: реабсорбции и секреции, в результате чего образуется вторичная моча. Реабсорбция – процесс обратного всасывания веществ из первичной мочи в кровь и лимфу. Вода и электролиты реабсорбируются в проксимальном сегменте канальца, аминокислоты, глюкоза, липиды и другие вещества – преимущественно в дистальных извитых канальцах и собирательных трубочках. Секреция обеспечивает выведение с мочой ряда метаболитов, например калия, так и инкреторную функцию *de novo* синтез в кровь витамина D₃, эритропоэтина, простагландинов, лейкотриенов и других.

Второй пул протеинового контура мочи представлен уромодулином, известным с 1950 года как гликопротеид Тамма-Хорсфалла. Уромодулин (UMD) синтезируется исключительно в толстом восходящем отделе петли Генле, белок играет важную роль в регуляции артериального давления, стабилизации коллоида мочи и ингибировании кристаллообразования в ней, кроме того, обладает антимикробными свойствами, предотвращая инфекции мочевыводящих путей [2].

Мономер UMD представляет собой белок с молекулярной массой 87 кДа, состоит из EGF-домена, двух кальций-связывающих EGF-доменов, богатого цистеином DC домена и С-концевого ZP-домена (Zona pellucida-like), состоящего из двух ZP-N и ZP-C доменов. В процессе созревания в клетке белок обильно

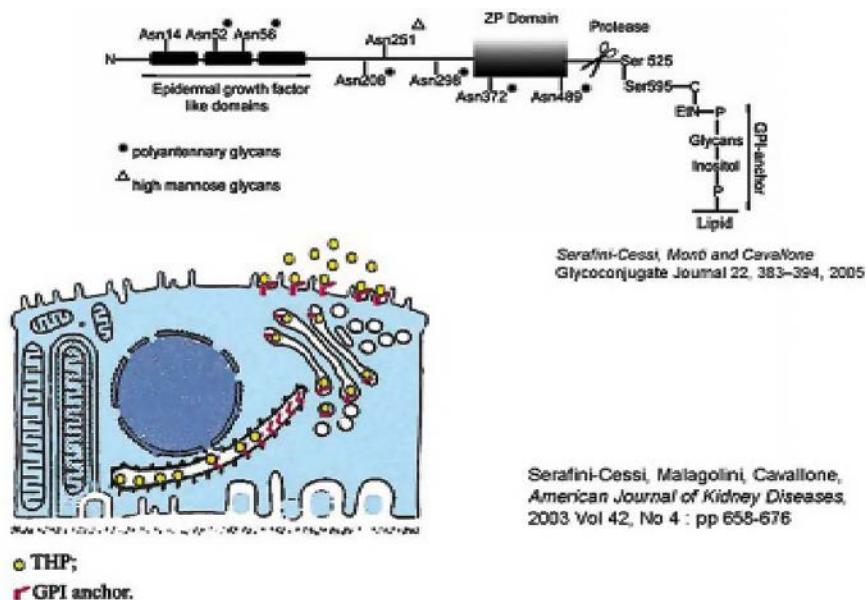


Рисунок 1. Схематическое представление структуры человеческого UMD и его синтез.

гликозилируется (N-гликозилирование 7 сайтов гликозилирования из 8 доступных), после чего экспонируется на поверхности мембраны внутрь просвета канальца (рис. 1). Важно отметить, что в таком виде белок не способен к полимеризации, т.к. ZP-домен, ответственный за образование полимерных нитей, закрыт GPI (гликозилфосфатидилинозитол) якорем, закрепленным на апикальной мембране эпителиоцита [3].

Уникальным свойством UMD – его высокая электроотрицательность, изоэлектрическая точка $pI = 3.2$, белок сохраняет свои электроотрицательные свойства во всем физиологическом диапазоне pH мочи (диапазон pH составляет от 4.5 до 8.0). Чтобы мономер уромодулина отсоединился от мембраны необходимо взаимодействие GPI-якоря с сериновой протеазой хепсин, циркулирующей в просвете канальца и чувствительной к концентрации одновалентных катионов в ее окружении. Взаимодействие с хепсином позволяет осуществлять регуляцию концентрации уромодулина в моче в зависимости от концентрации одновалентных катионов [4]. Мономер UMD, с открытым для полимеризации ZP-доменом, циркулирующий в моче в просвете толстого восходящего сегмента петли Генле, образует полимерные волокна, состоящие из нескольких сотен и тысяч мономеров. Матричная структура, образованная олигомерами UMD, представляет собой вытянутые белковые нити, состоящие из более мелких нитей первичных полимерных волокон. Точное структурное расположение филаментов UMD зависит от концентрации ионов, причем максимальное уплотнение наблюдается при концентрации, близкой к той, что присутствует в моче. Таким образом, несмотря на относительно небольшой молекулярный вес (мономера) уромодулин в моче представлен крупными макромолекулярными комплексами массой от 1 МДа и больше [5].

Высокая степень гликозилирования и крупный размер, способность в определенных условиях окружения формировать не только полимерные цепи, но и более крупные матричные структуры, обуславливают физиологическую роль UMD [6,7].

Методом динамического рассеяния света верифицированы три варианта размеров UMD в нативной моче [8]. У здоровых людей основная форма UMD ($97.3 \pm 2.6\%$) имеет средний гидродинамический радиус (R_h) 97.9 ± 4.93 нм с молекулярной массой порядка 7–9 МДа. В небольшом количестве ($2.6 \pm 0.93\%$) присутствуют частицы с R_h 368 ± 35 нм. Исходя из основополагающих биофизических принципов о том, что линейные размеры жесткого цилиндра пропорциональны первой степени массы частиц (или их молекулярной массы), то увеличение молекулярной массы в 4 раза должно приводить к увеличению R_h так же в 4 раза (около 400 нм). У больных уролитиазом выделены еще

более крупные конгломераты, имеющие размер от 1500 нм – нерастворимые комплексы UMD с минеральными кристаллами.

Механизм феномена, известного с XVI века – эффект *Sedimentum lateritium* (SI) – образование осадка в моче при ее охлаждении, дискутабелен, что затрудняет диагностическую интерпретацию. Исследования М. Г. Залеского [9, 10], Г. А. Иванова (2011) показали связь эффекта SI с наличием МКБ. Сопоставление технологии биокристалломики (тест-система Литос) с феноменом образования криогеля продемонстрировало высокую специфичность (100%), чувствительность (98%), и диагностическую эффективность (99%) ХПМ, как лабораторной модели SI, в верификации доклинической стадии МКБ. Однако, еще Ф. Блюменталь (1904) обращал внимание, что эффект SI наблюдался не только при болезнях почек, но и сердца и легких. Эпизодически коморбидность ренальных дисфункций, сердечно-сосудистых и легочных заболеваний отмечается в современных исследованиях [11, 12].

Цель исследования

Изучение диагностической эффективности ХПМ при коморбидных состояниях.

Материалы и метод

При охлаждении мочи в ряде проб образуется солевой осадок – эффект SI. Методика ХПМ: 10 мл утренней порции мочи в центрифужной пробирке помещается в холодильник при +4°- +5 °С на 5 часов. При положительной ХПМ на дне пробирки скапливается осадок, образованный криогелем – UMD и солями, в отрицательной ХПМ осадка не образуется. В течение первых двух часов охлаждения в положительной ХПМ начина-

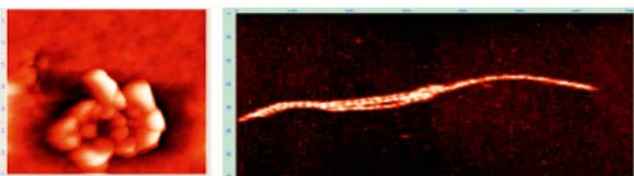


Рисунок 2. Атомно-силовое изображение глобулярной структуры UMD (7) (слева) и палочкоподобной структуры UMD (28) (справа).

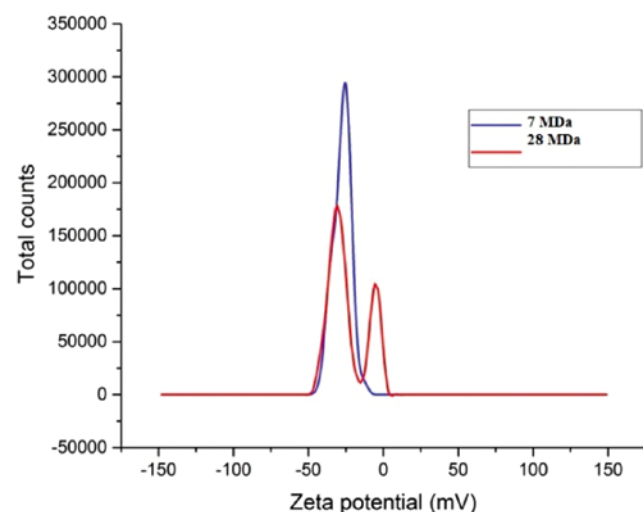


Рисунок 3. Дзета-потенциал UMD олигомерных форм 7 МДа и 28 МДа

ется образование осадка. На преаналитическом этапе в соответствии с п. 3.5.2. ГОСТ Р 530 79.4–2008, моча может храниться в холодильнике в течение 1,5–2 часов. В условиях преаналитического этапа при +4°С хранения мочи, происходит моделирование природного источника охлаждения и наблюдается возникновение эффекта SI. Методом ХПМ [13] было исследовано 1060 пациентов: 660 – с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) и 400 с заболеваниями легких (30% мужчин и 70% женщин в возрасте 21–81 лет).

Результаты и обсуждение

Из 1060 образцов мочи, исследованных методом ХПМ, у 265 человек (25%) выявлено образования криогеля, в том числе, среди пациентов с ССЗ у 139 (21%) и 126 пациентов с заболеваниями легких (31,5%), что отражает коморбидную связь с функциональным состоянием почки – центрального гомеостатического органа единой сосудистой системы. У больных пульмонологического профиля интегральными признаками интоксикаций и, следовательно, нефротоксичности, являлись следующие лабораторные «симптомы» (частота встречаемости): повышение СРБ (47%), токсическая зернистость нейтрофилов (12%), увеличение лейкоцитарного индекса интоксикации (12%), признаки инфекционно-токсического повреждения почек (18%), гипоксия (повышение лактата 21%), гипоксемия (респираторный ацидоз 19%), лейкоцитарная инфильтрация (67%) и десквамация альвеолярных макрофагов (34%) трахеобронхиального содержимого, дискриминанта осмоляльности >8 ммоль/л. У больных кардиологического профиля к лабораторным признакам системного влияния на метаболическую функцию почек, можно отнести дислипидемию (74%), повышение hsСРБ (39%), нарушения кислотно-основного состояния (19%), положительный водный баланс, снижение скорости клубочковой фильтрации <75мл/мин, микроальбуминурия > 10 мг/л.

Для понимания проявления изучаемого феномена в «непрофильной» когорте, нужно принять во внимание, что для здоровых лиц в моче характерно наличие в фазе «золя» олигомерной изоформы UMD 7 MDa (размер около 100нм) и переход этой формы в UMD 28 MDa (400нм) под влиянием ионной силы, катионного состава, pH и концентрации мочевины в моче с типичной «пороговой кривой» с точкой перегиба при концентрации 250 ммоль/л для натрия и аммония и 150 ммоль/л для калия. Иначе говоря, у здоровых людей, когда концентрация солей в моче и pH мочи находятся в физиологическом интервале, UMD существует преимущественно в виде формы UMD (7). При повышении концентрации солей (т.е. ионной силы) или сильном снижении pH, в моче происходит переход UMD (7) в форму UMD (28).

Изоформа UMD (28), в отличие от формы UMD (7), имеет не глобулярную, а палочкоподобную структуру (рис. 2). За счёт частичного десиалирования и экранирования поверхностного заряда олигомерная форма UMD (28) обладает существенно меньшим поверхностным зарядом (рис. 3) и, следовательно, его роль в препятствовании образования микрокристаллитов незначительна в сравнении с формой UMD (7).

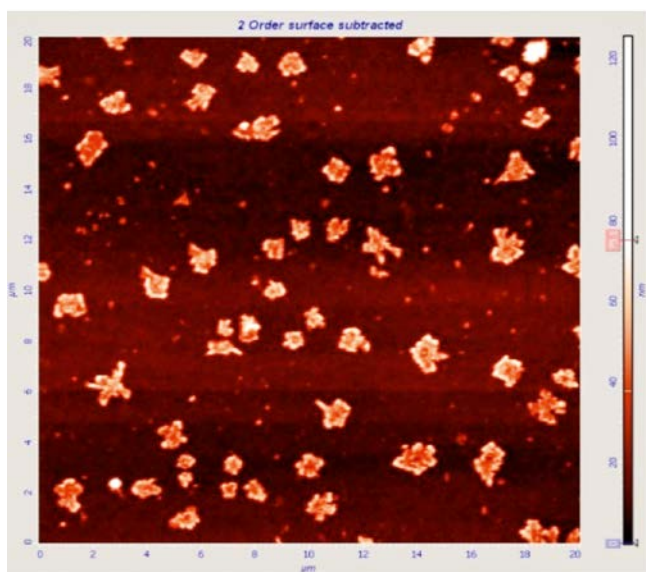


Рисунок 4. Макрочастицы олигомеров уромодулина и кристаллы неорганических компонентов в капле мочи (атомно-силовая микроскопия).

Однако, за счёт существенно большего гидродинамического радиуса, обусловленного не только увеличением массы, но и изменившейся формой (палочкоподобной структурой), изоформа UMD (28) увеличивает характеристическую вязкость раствора, замедляя рост уже сформировавшихся микрокристаллов и формирование из них крупных и трудно выводимых конкрементов. Можно предположить, что ингибирование роста уже образовавшихся микрокристаллов позволяет избежать патологических проявлений и манифестации мочекаменной болезни, за счёт удаления конкрементов малого размера (до 1 мм) в процессе мочеиспускания.

Макрочастицы олигомеров UMD, обладая выраженным поверхностным отрицательным зарядом, равномерно распределяются в жидкости, формируя коллоидную структуру мочи. На *рисунке 4* представлена фотография капли мочи в атомном силовом микроскопе, отражающая эти макрочастицы и отчетливо различимые точечного размера частицы минеральных нерастворимых компонентов, чаще всего – моно- и дигидрат оксалата кальция.

Современные технологии позволили реализовать прозорливую мысль Ученого секретаря Российской медицинской академии, известного морфолога Доната Семеновича Саркисова: «когда мы увидим «рисунок» функции – это будет революция в биологии». На *рисунке 5* представлена фотография из ряда видеозаписи образца биологической жидкости – мочи, на которой методом динамического рассеяния света, характеризующего биофизические свойства, отражаются функции конкретных биохимических структур – олигомеров UMD, находящихся в броуновском, колебательном, по сути, движении, с амплитудой, ограниченной отрицательным зарядом каждой макрочастицы, отражающих коллоидную структуру мочи.

Таким образом, система ингибирования камнеобразования мочи, обусловленная функцией уромодулина, обладает достаточно высокими реактивными характеристиками, т.е. способна к быстрой активации с высокой емкостью в части ингибирования кристаллогенеза, даже в случаях существенного превышения концентрации растворенных

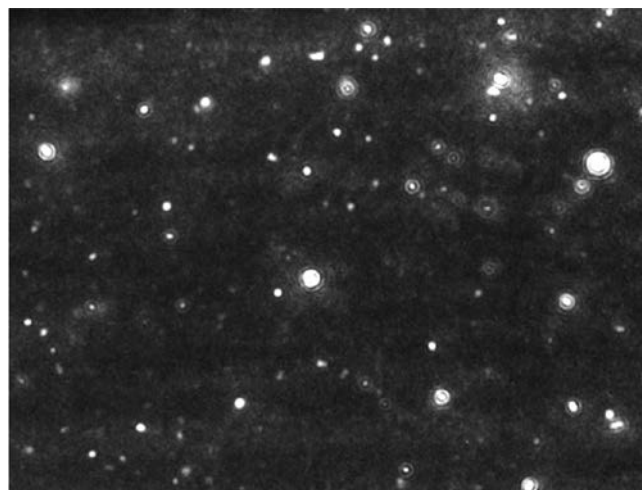


Рисунок 5. Макрочастицы UMD в свете лазерного луча анализатора треков наночастиц (Nanoparticle Tracking Analysis, NTA).



Рисунок 6. Полимерная форма – агрегат UMD с минеральными компонентами (атомно-силовая микроскопия).

солей, над пределом растворимости. Однако, в случае длительного превышения над пороговыми значениями, емкость системы снижается и развивается уролитиаз.

Биологический «дефект» UMD, возникающий на постгеномном уровне, обуславливающий снижение сialiрирования UMD и снижение поверхностного заряда с последующим захват кристаллов оксалатов мицеллами UMD(28) приводит к образованию устойчивых агрегатов UMD с минеральными кристаллами, чаще всего – оксалатов кальция, образует нерастворимые комплексы – макрочастицы, выступающие центрами кристаллизации и образования конкрементов (*рис. 6*), которые встречаются в 28 раз чаще чем у здоровых ($p < 0,001$).

Для валидации феномена фазового перехода «золя» в «гель» использован анализатор Zetasizer Nano ZS, позволяющий исследовать заряд UMD методом изоэлектрического фокусирования, а также размеры частиц

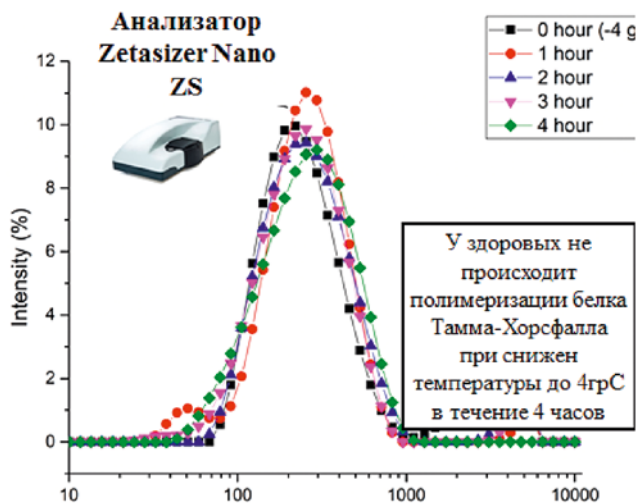


Рисунок 7. Изменение размера UMD здоровых лиц при охлаждении до 4С.

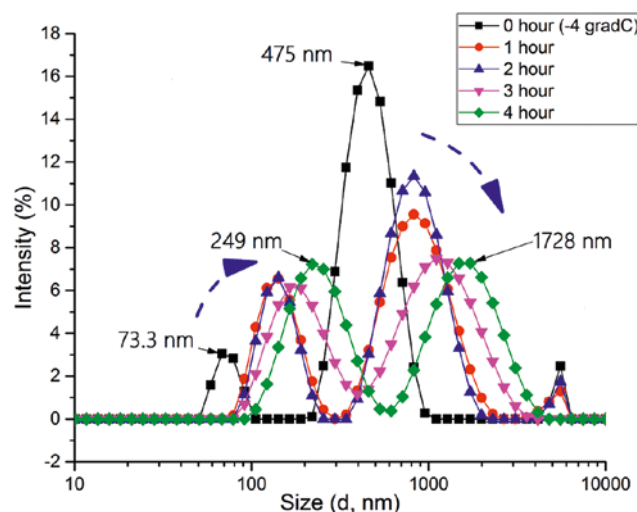


Рисунок 8. Изменение размера UMD больных уролитолизом при охлаждении до 4С.

по эффекту их взаимодействия с квантами лазерного излучения. Как видно из рисунке 7 UMD здоровых лиц сохраняет свои биофизические свойства, т.е. состояние «золя» при его охлаждении до 4 градусов в течение 4 часов наблюдения. При этом UMD больных уролитолизом в этих условиях уже через час увеличивает размеры и этот процесс продолжается в течение 4 часов наблюдения (рис. 8). Этот факт подтверждает факт полимеризации UMD при уролитолизе, т.е. переход в форму «геля».

В целом, при уролитолизе, регистрация феномена фазового перехода «золь-гель» является свидетельством наличия в моче патологических изоформ UMD.

Однако, структурный анализ молекулы UMD является прекрасной иллюстрацией эпигеномных возможностей, когда механизмы, регулирующие экспрессию того или иного структурного гена, создают возможность существованию большого числа производного протеина.

Так, регистрация этого биофизического феномена в «непрофильной» когорте, приобретает принципиально новое звучание и, позволяет рассматривать как проявление канальцевой дисфункции по обеспечению баланса

различных изоформ UMD – уникального протеома мочеобразования, Нарушения метаболических процессов в почечных канальцах закономерно происходят при характерных для респираторных и ССЗ: гипоксемии, гипоксии и нарушении почечной гемодинамики. Массовая ятрогенная фармакологическая атака ксенобиотиками (антибиотики, НПВП, Rn-контрастные вещества), наличие D-аминокислот в пищевом рационе современников, экологическая катастрофа (загрязнение мирового океана продуктами химического синтеза пластмасс), приводит к увеличению присутствия токсинов в ультраfiltrате и повреждению метаболических каскадов при их реабсорбции. Элиминация ксенобиотиков, как правило, индуцирует процессы перекисного окисления, мишенью которых, являются и базальная мембрана клеток почечных канальцев и поступлению мономеров UMD в интерстиций почек с инициацией воспаления в зоне дендритных клеток, как универсального механизма очищения и, последующего развития фиброза интерстиция, следовательно, повышения внутрипочечного давления и, неизбежного снижения СКФ, которая и манифестирует диагностику ХБП, что учитывая наличие кардио-гепато-ренального континуума, обуславливает дальнейшее расширение коморбидности «болезней цивилизации».

Заключение

ХПМ при стандартизации её проведения может стать неинвазивным методом скрининга ранних признаков ХБП. Так, представленные данные отражают известный философский постулат: научное исследование, ответив на определенные вопросы, всегда ставит ряд новых. В данном случае – необходимость создания объективной методики регистрации феномена SL-Залеского.

Список литературы / References

1. A. Tojo, S. Kinugasa Mechanisms of Glomerular Albumin Filtration and Tubular Reabsorption. International Journal of Nephrology. 2012;(2012): 9. <http://doi.org/10.1155/2012/481520>
2. Hajamohideen S, Raffi, James M. Bates Jr., Zoltan Laszik, Satish Kumar Tamm-Horsfall Protein Protects Against Urinary Tract Infection by Proteus Mirabilis. The Journal of Urology. 2009;181(5):2332–2338
3. <http://doi.org/10.1016/j.juro.2009.01.014>
4. Serafini-Cessi F, Malagolini N, Cavallone D. Tamm-Horsfall glycoprotein: biology and clinical relevance. American journal of kidney diseases. 2003;42(4):658–676. [http://doi.org/10.1016/S0272-6386\(03\)00829-1](http://doi.org/10.1016/S0272-6386(03)00829-1)
5. Brunati M, Perucca S, Han L, Cattaneo A, Consolato F, Andolfo A, Schaeffer C, Olinger E, Peng J, Santambrogio S, et al. The serine protease hepsin mediates urinary secretion and polymerisation of Zona Pellucida domain protein uromodulin. Elife. 2015; 4: e08887. <https://doi.org/10.7554/eLife.08887>
6. Weiss GL, Stanisich JJ, Sauer MM, Lin CW, Eras J, Zyla DS, Trück J, Devuyt O, Aebi M, Pilhofer M, et al. Architecture and function of human uromodulin filaments in urinary tract infections. Science. 2020; 369:1005–1010. <http://doi.org/10.1126/science.aaz9866>
7. Kaice A, LaFavers, Radmila Micanovic, Angela R. Sabo, Lauren A. Maghak, Tarek M. El-Achkar. Evolving Concepts in Uromodulin Biology, Physiology, and Its Role in Disease: a Tale of Two Forms. Hypertension. 2022;79:2409–2418. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.122.18567>
8. Верлов Н.А., Ланда С.Б., Егоров В.В., Эмануэль Ю.В., Эмануэль В.А. Уромодулин: связь олигомерных форм и функции. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2021;65(1):133–140 <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2021.01.133-140>
9. Эмануэль В.А., Ланда С.Б., Измайлов М. Исследование олигомерных форм белка Тамма-Хорсфалла у здоровых людей и больных мочекаменной болезнью методом динамического светорассеяния. Актуальные вопросы биологической химии и физики. 2016;1(2):189–194.

Emanuel V. L., Landa S. B., Izmailov M. Study of oligomeric forms of Tamm-Horsfall protein in healthy people and patients with urolithiasis using the dynamic light scattering method. *Current issues of biological chemistry and physics*. 2016; 1(2): 189–194.

10. Залеский М. Г. Способ формирования группы риска с заболеваниями почек. Пат. № 2402769. Рос. Федерация. Заявл. 27.04.09; Опубл. 27.10.10. Зарегистр. 27.10.2010. 9с.
Zalesky M. G. Method for forming a risk group with kidney diseases. Pat. No. 2402769. Russian Federation. Application 04/27/09; Publ. 27.10.10. Register 10/27/2010. 9s.

11. Залеский М. Г. Эффект Sedimentum Lateritium является маркером патологических процессов в почках. *Лаборатория ЛПУ*. 2018; 13:43–46.
Zalesky M. G. The effect of Sedimentum Lateritium is a marker of pathological processes in the kidneys. *Laboratory LPU*. 2018; 13:43–46.

12. Болотова Е., Являнская В., Дудникова А. Хроническая обструктивная болезнь легких как фактор развития дисфункции почек. *Врач*. 2018; 29(3): 22–26 <http://doi.org/10.29296/25877305-2018-03-05>

Bolotova E., Yavlyanskaya V., Dudnikova A. Chronic obstructive pulmonary disease as a factor in the development of kidney dysfunction. *Doctor*. 2018; 29(3): 22–26 <http://doi.org/10.29296/25877305-2018-03-05>

13. Смирнов А. В. Системный подход к анализу кардиоренальных взаимоотношений как первый шаг на пути к нефрологии формата П4. *Нефрология*. 2011; 15(2): 11–19. <http://doi.org/10.24884/1561-6274-2011-15-2-11-19>
Smirnov A. V. A systematic approach to the analysis of cardiorenal relationships as the first step towards nephrology in P4 format. *Nephrology*. 2011; 15(2): 11–19. <http://doi.org/10.24884/1561-6274-2011-15-2-11-19>

14. Залеский М. Г. Холодовая проба мочи – новый маркер патологических процессов в почках. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 9: 99–100.
Zalesky M. G. Cold urine test is a new marker of pathological processes in the kidneys. *Clinical laboratory diagnostics*. 2015; 9: 99–100.

Статья поступила / Received 15.03.24
Получена после рецензирования / Revised 15.03.24
Принята в печать / Accepted 15.03.24

Сведения об авторах

Яковлева Анастасия Владимировна, зав. лабораторией, врач клинической лабораторной диагностики¹. E-mail: gi_ns@mail.ru. ORCID: 0000-0001-6663-7045

Момыналиев Куват Темиргалиевич, д. б. н., доцент, помощник генерального директора². E-mail: dhoroshun@gmail.com. ORCID: 0000-0003-4656-1025

Залеский Михаил Григорьевич, к. б. н.¹. E-mail: zalab@yandex.ru

Верлов Николай Александрович, к. б. н., заведующий ресурсным центром Отделения молекулярной и радиационной биофизики³. E-mail: verlov_na@pnpi.nrcki.ru. ORCID: 0000-0002-3756-0701

Скибо Ирина Ивановна, врач клинической лабораторной диагностики высшей категории, ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины¹. E-mail: iskibo@invitro.ru. ORCID: 0000-0003-2418-647

Эмануэль Владимир Леонидович, д. м. н., профессор, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины¹. E-mail: vladimirem1@gmail.com. ORCID: 0000-0002-2079-0439

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский и испытательный институт медицинской техники» Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения, Москва

³ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики имени Б. П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Ленинградская область, Гатчина

Автор для переписки: Яковлева Анастасия Владимировна. E-mail: gi_ns@mail.ru

Для цитирования: Яковлева А. В., Момыналиев К. Т., Залеский М. Г., Верлов Н. А., Скибо И. И., Эмануэль В. Л. Эффект Sedimentum Lateritium XVI века раскрывает роль ренальных дисфункций в коморбидности болезней XXI века. *Медицинский алфавит*. 2024; (4): 50–55. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-50-55>

About authors

Iakovleva Anastasiia V., head of laboratory, clinical laboratory diagnostics physician¹. E-mail: gi_ns@mail.ru. ORCID: 0000-0001-6663-7045

Momynaliev Kuvat T., Dr Bio Sci, associate professor, assistant general director². E-mail: dhoroshun@gmail.com. ORCID: 0000-0003-4656-1025

Zaleskiy Mikhail G., PhD Bio Sci¹. E-mail: zalab@yandex.ru

Verlov Nikolay A., PhD Bio Sci, head of Resource Center of Dept of Molecular and Radiation Biophysics³. E-mail: verlov_na@pnpi.nrcki.ru. ORCID: 0000-0002-3756-0701

Skibo Irina I., clinical laboratory diagnostics physician of the highest category, assistant of Dept of Clinical Laboratory Diagnostics with a Course in Molecular Medicine¹. E-mail: iskibo@invitro.ru. ORCID: 0000-0003-2418-647

Emanuel Vladimir L., DM Sci (habil.), professor, head of Dept of Clinical Laboratory Diagnostics with a Course in Molecular Medicine¹. E-mail: vladimirem1@gmail.com. ORCID: 0000-0002-2079-04399

¹Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

²Russian Scientific and Research Institute for Medical Engineering, Moscow, Russia

³Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre "Kurchatov Institute", Leningrad region, Gatchina, Russia

Corresponding author: Iakovleva Anastasiia V. E-mail: gi_ns@mail.ru

For citation: Iakovleva A. V., Momynaliev K. T., Zalesky M. G., Verlov N. A., Skibo I. I., Emanuel V. L. The effect of Sedimentum Lateritium of the 16th century reveals the role of renal dysfunction in the comorbidity of diseases of the 21st century. *Medical alphabet*. 2024; (4): 50–55. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-50-55>



DOI: 10.33667/2078-5631-2024-4-55-59

Сезонные коронавирусы и SARS-CoV-2: структурно-функциональные, клинико-эпидемиологические характеристики и гуморальный перекрестный иммунитет

Ю. В. Шабалина, С. А. Ельчанинова

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

РЕЗЮМЕ

Предполагается, что формирование и поддержание иммунитета к SARS-CoV-2 может зависеть от иммунного статуса по другим инфекциям, возбудителями которых являются коронавирусы человека (HCoV), называемые сезонными: HCoV-OC 43, HCoV-HKU 1, HCoV-229E, HCoV-NL63. Эти вирусы распространены повсеместно и обычно вызывают легкие и умеренные респираторные заболевания сезонного характера, передающиеся преимущественно воздушно-капельным путем. В обзоре представлен сравнительный анализ основных структурно-функциональных, клинико-эпидемиологических характеристик сезонных HCoV и SARS-CoV-2. Систематизация такого рода информации в сочетании с данными о перекрестном иммунитете к разным HCoV может позволить выявить влияющие на иммунитет к SARS-CoV-2 факторы и учитывать их при совершенствовании стратегии санитарно-эпидемиологического контроля COVID-19.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сезонные коронавирусы, перекрестный иммунитет, SARS-CoV-2, HCoV-OC 43, HCoV-HKU 1, HCoV-229E, HCoV-NL63.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Seasonal coronaviruses and SARS-CoV-2: Structural, functional, clinical and epidemiological characteristics and humoral cross-immunity

Yu. V. Shabalina, S. A. Elchaninova

Altai State Medical University, Russia, Barnaul

SUMMARY

It is assumed that the formation and persistence of immunity to SARS-CoV-2 may depend on the immune status of other infections caused by human coronaviruses (HCoV), called seasonal: HCoV-OC43, HCoV-HKU1, HCoV-229E, HCoV-NL63. These viruses are ubiquitous and typically cause mild to moderate seasonal respiratory illness. A comparative analysis of the main structural, functional, clinical and epidemiological characteristics of seasonal HCoV and SARS-CoV-2 is presented in the review. Systematization of this information in combination with data on cross-immunity to different HCoV may make it possible to identify factors of immunity to SARS-CoV-2 and take them into account when improving the strategy for sanitary and epidemiological control of COVID-19.

KEYWORDS: seasonal coronaviruses, cross immunity, SARS-CoV-2, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, HCoV-229E, HCoV-NL63.

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

Введение

Коронавирусные инфекции – это группа относительно недавно выявленных вирусных инфекционных заболеваний животных и людей (зоонозы и антропозонозы) разнообразного клинического течения и различной степени тяжести, от бессимптомных и легких до крайне тяжелых форм, способных вызывать эпидемию и пандемию [1].

Первые упоминания о коронавирусах появились в 30-е годы прошлого века. Исследователи A. F. Shalk и M. C. Hawn выделили возбудитель, который вызывал бронхит у цыплят. Позже были описаны инфекции, поражающие свиней, индеек, крупный рогатый скот, кошек и собак [2]. Штамм поражающего человека коронавируса был впервые обнаружен в носовом отделяемом у людей с простудой и получил название HCoV-B814. Вирус был изолирован в 60-х годах прошлого века и до наших дней не сохранился.

В настоящее время выделено 46 видов коронавирусов, которые объединены в семейство *Coronaviridae* [1]. В подсемейство *Orthocoronavirinae* этого семейства включено семь видов коронавирусов, способных поражать человека (Human coronavirus, HCoV) [1]. Четыре из этих коронавирусов – HCoV-OC43, HCoV-HKU1, HCoV-229E, HCoV-NL63 – получили название «сезонные» HCoV. Они вызывают в человеческой популяции 4–10% острых респираторных заболеваний, пик активности которых в регионах с умеренным климатом регистрируется в холодное время года [3–6]. Три вида коронавирусов, которые выявили в человеческой популяции в последние десятилетия, способны вызывать эпидемии и пандемии с тяжелым поражением легких и частыми летальными исходами: SARS-CoV (коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома) открыт в 2002 году, вызывает тяжелый острый респираторный синдром; MERS-CoV (коронавирус ближневосточного респираторного синдрома) открыт в 2012 году, вызывает ближневосточный респираторный синдром; SARS-CoV-2 открыт в 2020 году, вызывает новую коронавирусную инфекцию COVID-19 [7].

Предполагается, что формирование и поддержание иммунитета к SARS-CoV-2 может зависеть от иммунного статуса по другим инфекциям, возбудителями которых являются сезонные HCoV [8, 9].

Цель обзора

Сравнительный анализ основных структурно-функциональных, клинико-эпидемиологических характеристик сезонных HCoV и SARS-CoV-2. Систематизация такого рода информации в сочетании с данными о перекрестном иммунитете к разным HCoV может позволить выявить влияющие на иммунитет к SARS-CoV-2 факторы и учитывать их при совершенствовании стратегии профилактики COVID-19.

Структура вириона, стадии репликации сезонных коронавирусов и SARS-CoV-2

Вирионы всех HCoV, включая сезонные коронавирусы, однородны по размеру, имеют шаровидную форму диаметром 80–160 нм, снабжены липопротеиновой оболочкой с четко видимыми булавовидными выступами (пепломерами, шипами) длиной 5–10 нм, которые напоминают зубцы короны [10, 11]. У бета-коронавирусов имеется дополнительный тип поверхностных выступов из гомодимерного гликопротеина – гемагглютинин-эстеразы [12].

Вирионы содержат четыре структурных белка, которые необходимы для морфогенеза вириона и (или) инфекционности. Гомотримерный белок шипа, называемый также «спайк-белок» (S), состоит из N-концевого рецептор-связывающего домена (S1) и C-концевого трансмембранного домена (S2) и обеспечивает связывание рецепторов и слияние мембран вириона и клетки-хозяина [13]. Белок E и мембранный белок (M) в комплексе с неструктурными белками участвуют в сборке вириона [14, 15]. Нуклеокапсидный белок (N), РНК-связывающий фосфопротеин, помимо функции в инкапсидации генома, участвует в синтезе и трансляции РНК, проявляет РНК-шаперонную активность [16].

Неструктурные белки вирионов HCoV (nsp1–nsp16) вовлечены в протеолитический процессинг, репликацию генома, транскрипцию, способны модулировать продукцию интерферона организмом хозяина [1, 17].

Коронавирусы человека имеют сходство в организации и экспрессии генома [18]. Это одноцепочечные РНК-содержащие вирусы, имеющие самые крупные

РНК-геномы длиной от 26 до 32 тысяч оснований [19]. РНК экпирована на 5'-концах и полиаденилирована на 3'-концах. Около 2/3 генома содержат 16 последовательностей, кодирующих неструктурные белки *nsp1–nsp16* открытой рамкой считывания (ORF) на 5'-конце. Структурные белки кодируются в пределах 3>-проксимальной трети генома уже другими рамками считывания [20].

Выравнивание последовательности геномов коронавируса показывает гомологию 58% в кодирующей неструктурные белки области, 43% – в кодирующей структурные белки области и 4% – на уровне всего генома [21].

Механизм репликации коронавируса включает связывание вириона со специфическим рецептором клетки-хозяина при помощи S-белка [18]. После связывания с рецептором происходит проникновение вирусной частицы в клетку-мишень с последующим синтезом вирусной РНК. После завершения репликации вируса и синтеза РНК образуются зрелые вирусные частицы – вирионы, которые переносятся в везикулах на поверхность клетки, где идет их высвобождение путем экзоцитоза [18]. Биологический цикл *HCoV* сопровождается модуляцией различных процессов в клетках-мишенях, таких как апоптоз, стрессовая реакция, активация путей митоген-активируемой протеинкиназы, ядерного фактора каппа В и другие [22].

Клинико-эпидемиологические характеристики сезонных коронавирусных инфекций и COVID-19

Инфекционные заболевания, вызываемые сезонными *HCoV* зоонозного происхождения, рассматриваются как эндемичные [3–6]. Резервуаром *HCoV-NL63* и *HCoV-229E* считают летучих мышей [4], *HCoV-OC43* и *HCoV-YKU1* – грызунов [5]. Промежуточным хозяином *HCoV-OC43* является крупный рогатый скот [5]. Зоонозный источник *HCoV-HKU1* в настоящее время точно не установлен [6]. Основные клинико-эпидемиологические характеристики сезонных *HCoV* и *SARS-CoV-2* представлены в таблице 1.

Таблица 1
Клинико-эпидемиологические и биологические характеристики сезонных *HCoV* и *SARS-CoV-2*

Вирус (родовая принадлежность, год и страна открытия)	Распространенность	Пути передачи от человека к человеку	Типичные клинические симптомы	Основные клетки – мишени	Рецепторы на клетках-мишенях	Механизм интернализации
<i>SARS-CoV-2</i> (Betacoronavirus, 2019, КНР)	Глобальная	Воздушно-капельный, контактно-бытовой, воздушно-пылевой, фекально-оральный Путь, риск заражения минимальный [23]	Повышение температуры тела, сухой кашель с небольшим количеством мокроты, одышка, утомляемость, ощущение заложенности в грудной клетке, снижение обоняния и вкуса, признаки конъюнктивита [24]	Эндотелий, эпителий верхних дыхательных путей, эпителиоцита желудка и кишечника, альвеолярные клетки II типа легких [25]	Ангиотензинпревращающий фермент 2 [26]	Эндосомальный путь и слияние клеточных мембран [26]
<i>HCoV-229E</i> (Alphacoronavirus, 1962, США)	Глобальная. Дети болеют чаще в 5-7 раз [27]	Воздушно-капельный, возможен и фекально-оральный, и контактный [27]	Общая слабость, недомогание, головная боль, насморк, чихание, боль в горле. В 10-20% случаев – повышение температуры до субфебрильной, кашель [28]	Эпителий дыхательных путей, альвеолярные макрофаги [27]	Аминопептидаза N [26]	Эндоцитоз [26]
<i>HCoV-NL63</i> (Alphacoronavirus, 2004, Нидерланды)	Глобальная. Чаще болеют дети, пожилые люди и пациенты с ослабленным иммунитетом [29, 30]	Воздушно-капельный [29, 30]	Кашель, ринорея, тахипноэ, лихорадка, свистящее дыхание, лихорадка и гипоксия. Часто – obstructивный ларингит [31]	Эпителий дыхательных путей [29, 30]	Ангиотензинпревращающий фермент 2 [26]	Эндосомальный путь (ямки, покрытые кластрином) [26]
<i>HCoV-OC43</i> (Betacoronavirus, 1967, США)	Глобальная	Воздушно-капельный [32]	Слабость, лихорадка, кашель, чихание, насморк, боль в горле. Капельный [32]	Эпителий дыхательных путей [32]	N-ацетил-9-O-ацетилнейроаминовая кислота [26]	Кавеолин-1-зависимый эндоцитоз [26]
<i>HCoV-HKU1</i> (Betacoronavirus, 2005, Гонконг)	Глобальная. Чаще у пожилых пациентов с сопутствующими патологиями дыхательной и сердечно-сосудистой систем [33]	Воздушно-капельный [34]	Повышение температуры, кашель, насморк, одышка [33]. У детей инфекция протекает легко [30]. У взрослых более высокая частота фебрильных судорог (до 50%) [34, 36]	Эпителий дыхательных путей, альвеолярные макрофаги [34]	O-ацетилированные сиаловые кислоты как первичный рецептор [26]	Поверхностный TMPRSS2 к эндосомальным капелсинам [26]

Основные особенности длительного адаптивного гуморального иммунитета против сезонных коронавирусов и SARS-CoV-2

У детей при рождении выявляются материнские антитела к HCoV-229E и HCoV-NL63, которые исчезают через 3 месяца [37]. Первое инфицирование сезонными HCoV происходит в течение первых 5 лет жизни, затем наблюдаются частые повторные заражения на протяжении всей жизни [38]. Последнее свидетельствует о непродолжительности постинфекционной иммунной защиты от реинфекции [38]. Иммунитет быстро формируется в детстве, в возрасте около 10 лет регистрируется пик уровня антител IgG, а затем наблюдается снижение с сохранением антител во взрослом возрасте [39]. По данным отдельных исследований, частота серопозитивности к сезонным HCoV у взрослых увеличивается с возрастом, а титр антител IgG к этим вирусам у молодых людей ниже, чем у пожилых [40].

Адаптивный гуморальный иммунитет к SARS-CoV-2 в долгосрочном периоде продолжает изучаться в настоящее время. Анализ динамики антител IgG к N-белку, S-белку, RBD S-белка этого вируса свидетельствует о том, что после плато уровень антител постепенно снижается в сроки 6–8 месяцев от появления симптомов COVID-19 [41–44]. У части пациентов антитела могут сохраняться до 8–12 месяцев [45].

В целом кинетика антител IgG к указанным антигенам / антигенным эпитопам SARS-CoV-2 соответствует модели течения гуморального иммунного ответа на инфекцию: пик, фаза плато с последующим снижением. Однако надежно определить максимальную длительность сохранения антигенсвязывающих антител затруднительно, поскольку в большинстве исследований продолжительность наблюдений ограничивается относительно малыми сроками и (или) наблюдалась малочисленная выборка пациентов. Эти особенности исследований, очевидно, связаны со сложностью длительных наблюдений при современной эволюции генома SARS-CoV-2, а также в условиях пандемии при выбывании из исследований пациентов, желающих вакцинироваться против COVID-19, вероятности повторного COVID-19, других респираторных инфекций, возможно, оказывающих интерферирующее влияние на иммунный статус. Большая часть относительно немногочисленных данных о постинфекционном иммунитете к SARS-CoV-2 получена в основном в популяциях взрослых пациентов.

Исследование, проведенное в Китае в 2020 году, показало зависимость титра антител от возраста, уровень IgG к RBD белку в 4 раза выше у пожилых, чем у молодых пациентов [46]. В исследовании с участием пациентов Алтайского края России также установлено, что титр антител IgG к RBD положительно связан с возрастом пациентов [45].

Гипотеза и факты о перекрестном иммунитете против сезонных коронавирусов и SARS-CoV-2

Последовательности аминокислот белков оболочки, мембраны и нуклеокапсида сезонных HCoV и SARS-CoV-2 сходны, что позволяет предполагать наличие перекрестной реактивности связывающих антител к этим белкам [9]. Нельзя исключить и того, что В-клетки памяти к сезонным HCoV могут влиять на формирование адаптивного

иммунитета против SARS-CoV-2 [8]. В настоящее время исследования, направленные на проверку этой гипотезы, немногочисленны и неоднородны по дизайну, что ограничивает их систематический обзор.

По данным, полученным в Филадельфии (США), у большинства людей в сыворотке крови до пандемии COVID-19 были IgG-антитела к HCoV-229E, HCoV-JC43, HCoV-NL63, связывающиеся с S- и N-белком SARS-CoV-2 [47]. При этом способность этих антител *in vitro* вступать в реакции с гомологичным антигеном SARS-CoV-2 повышалась при развитии COVID-19 [47].

Исследование в Барселоне (Испания) выявило тенденцию к более высоким уровням антител против N-белков сезонных HCoV в группе индивидуумов, которые не заразились SARS-CoV-2 в период пандемии COVID-19 [48]. Серопозитивные по отношению к SARS-CoV-2 пациенты с бессимптомной формой COVID-19 до сероконверсии, как правило, имели более высокие уровни IgA и IgG к N-белку сезонных HCoV по сравнению с пациентами с симптомами COVID-19 [48].

Как показано в ряде исследований, в гуморальной иммунной защите от инфицирования SARS-CoV-2 наибольшее значение имеют антитела к S-белку этого вируса и RBD этого белка, опосредующего взаимодействие вириона с ангиотензинпревращающим ферментом II типа и запуск цикла репликации [49, 50]. В этой связи следует отметить, во-первых, что S-белок различных сезонных HCoV на стадии интернализации связывается с разными молекулами, экспонируемыми на мембране клеток-мишеней [26]. Так, HCoV-OC43, HCoV-HKU-1 связываются с сialовыми кислотами, HCoV-229E – с аминокислотой-N, тогда как HCoV-NL63, так же, как и SARS-CoV-2, – с ангиотензинпревращающим ферментом. Во-вторых, сезонные HCoV имеют сходство с SARS-CoV-2 по аминокислотным последовательностям S-белка, белка оболочки, мембраны и нуклеокапсида на 96, 91 и 91 % соответственно, и только около на 24–30 % – по последовательности S-белка [51]. Поэтому можно прогнозировать, что антитела против RBD S-белка при определенных условиях способны *in vivo* связываться с SARS-CoV-2, но перекрестного иммунитета может не быть [52]. С большей вероятностью можно ожидать перекрестную реактивность антител к другим структурным белкам вирионов и обусловленный этими антителами перекрестный иммунитет между сезонными HCoV SARS-CoV-2 [9].

Заключение

В свете продолжающейся эволюции генома SARS-CoV-2 актуальны вопросы закономерностей формирования индивидуального и коллективного иммунитета к этому вирусу, а также широты перекрестной реактивности с ранее существовавшими сезонными HCoV. Сообщаемые данные о перекрестной реактивности пока немногочисленны, противоречивы и получены на небольших выборках, что затрудняет их систематический анализ.

Основываясь на знаниях о сходстве структурно-функциональных, клинико-эпидемиологических характеристик SARS-CoV-2 и известных к настоящему времени сезонных HCoV можно прогнозировать определенный вклад прецедентного как гуморального, так и клеточного иммунитета к коронавирусам в формировании иммунитета против COVID-19.

С учетом результатов эпидемиологических исследований сезонных HCoV, маловероятно, что перекрестный защитный иммунитет после предыдущего или повторного заражения сезонными HCoV будет стерилизующим или долговременным, однако он может снизить контагиозность SARS-CoV-2 или тяжесть вызванного им заболевания.

Представляются перспективными дальнейшие исследования по рассматриваемым в обзоре вопросам, особенно с учетом того, что HCoV признаны одними из наиболее быстро развивающихся вирусов из-за относительно часто имеющих место геномных нуклеотидных замен и рекомбинаций [53, 54].

Список литературы / References

1. Woo P.C.Y., de Groot R.J., Haagmans B. et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Coronaviridae 2023. *J Gen Virol.* 2023; 104 (4): 10.1099/jgv.0.001843. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001843>
2. Schalk A.F., Hawn M.C. An apparently new respiratory disease of baby chicks. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1931 (78): 19.
3. Li Z., Tomlinson A.C., Wong A.H. et al. The human coronavirus HCoV-229E S-protein structure and receptor binding. *Elife.* 2019 (8): e51230. <https://doi.org/10.7554/elifesc.51230>
4. Cui J., Li F., Shi Z.L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2019; 17 (3): 181–192. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
5. Ekrami E., Poursaeidi M., Barati F. et al. Potential Diagnostic Systems for Coronavirus Detection: A Critical Review. *Biol Proced Online.* 2020 (22): 21. <https://doi.org/10.1186/s12575-020-00134-4>
6. Hamre D., Procknow J.J. A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1966; 121 (1): 190–193. <https://doi.org/10.3181/00379727-121-30734>
7. Tyrrell D.A., Bynoe M.L. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *Br Med J.* 1965; 1 (5448): 1467–1470. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.5448.1467>
8. Ortega N., Ribes M., Vidal M. et al. Seven-month kinetics of SARS-CoV-2 antibodies and role of pre-existing antibodies to human coronaviruses. *Nat Commun.* 2021; 12 (1): 4740. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24979-9>
9. Berezina A., Cranage M., Zipeto D. Is Cross-Reactive Immunity Triggering COVID-19 Immunopathogenesis? *Front Immunol.* 2020; (11): 567710. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.567710>
10. Almeida J.D. et al. Virology: Coronaviruses. *Nature.* 1968 (220): 650. <https://doi.org/10.1038/220650b0>
11. Yao H., Song Y., Chen Y. et al. Molecular Architecture of the SARS-CoV-2 Virus. *Cell.* 2020; 183 (3): 730–738. e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.018>
12. Weiss S.R., Leibowitz J.L. Coronavirus pathogenesis. *Adv Virus Res.* 2011 (81): 85–164. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-385885-6.00009-2>
13. Li F. Receptor recognition mechanisms of coronaviruses: A decade of structural studies. *J Virol.* 2015; 89 (4): 1954–1964. <https://doi.org/10.1128/jvi.02615-14>
14. Schoeman D., Fielding B.C. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virus J.* 2019; 16 (3): 69. <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1182-0>
15. Kumar P., Kumar A., Garg N. et al. An insight into SARS-CoV-2 membrane protein interaction with spike, envelope, and nucleocapsid proteins. *J Biomol Struct Dyn.* 2023; 41 (3): 1062–1071. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.2016490>
16. Grunewald M.E., Fehr A.R., Ahmer J. et al. The coronavirus nucleocapsid protein is ADP-ribosylated. *Virology.* 2018 (517): 62–68. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.11.020>
17. Brian D.A., Baric R.S. Coronavirus genome structure and replication. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2005 (287): 1–30. https://doi.org/10.1007/3-540-26765-4_1
18. V'kovski P., Kratzel A., Steiner S. et al. Coronavirus biology and replication: Implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol.* 2021; 19 (3): 155–170. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6>
19. Langereis M.A., van Vliet A.L., Boot W. et al. Attachment of mouse hepatitis virus to O-acetylated sialic acid is mediated by hemagglutinin-esterase and not by the spike protein. *J Virol.* 2010; 84 (17): 8970–8974. <https://doi.org/10.1128/jvi.00566-10>
20. Zhang W., Zheng Q., Yan M. et al. Structural characterization of the HCoV-229E fusion core. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018; 497 (2): 705–712. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.02.136>
21. Wu A., Peng Y., Huang B. et al. Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. *Cell Host Microbe.* 2020; 27 (3): 325–328. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.02.001>
22. Lim Y.X., Ng Y.L., Tam J.P. et al. Human Coronaviruses: A Review of Virus-Host Interactions. *Diseases.* 2016; 4 (3): 26. <https://doi.org/10.3390/diseases4030026>
23. Li Q., Guan X., Wu P. et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med.* 2020; 382 (13): 1199–1207. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001316>
24. Chen N., Zhou M., Dong X. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study. *Lancet.* 2020; 395 (10223): 507–513. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30211-7)
25. Neftland J., Meyerholz D.K., Moore S. et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection causes neuronal death in the absence of encephalitis in mice transgenic for human ACE2. *J Virol.* 2008; 82 (15): 7264–7275. <https://doi.org/10.1128/jvi.00737-08>
26. Kesheh M.M., Hosseini P., Soltani S. et al. An overview on the seven pathogenic human coronaviruses. *Rev Med Virol.* 2022; 32 (2): e2282. <https://doi.org/10.1002/rmv.2282>
27. Akerlund A., Greiff L., Andersson M. et al. Mucosal exudation of fibrinogen in coronavirus-induced common colds. *Acta Otolaryngol.* 1993; 113 (5): 642–648. <https://doi.org/10.3109/00016489309135878>
28. Monto A.S. Medical reviews. *Coronaviruses.* Yale J Biol Med. 1974; 47 (4): 234–251.
29. Fouchier R.A., Hartwig N.G., Bestebroer T.M. et al. A previously undescribed coronavirus associated with respiratory disease in humans. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101 (16): 6212–6216. <https://doi.org/10.1073/pnas.0400762101>
30. Abdul-Rasool S., Fielding B.C. Understanding Human Coronavirus HCoV-NL63. *Open Virol J.* 2010 (4): 76–84. <https://doi.org/10.2174/1874357901004010076>
31. Woo P.C., Lau S.K., Chu C.M. et al. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol.* 2005; 79 (2): 884–895. <https://doi.org/10.1128/jvi.79.2.884-895.2005>
32. Lau S.K., Lee P., Tsang A.K. et al. Molecular epidemiology of human coronavirus OC43 reveals evolution of different genotypes over time and recent emergence of a novel genotype due to natural recombination. *J Virol.* 2011; 85 (21): 11325–11337. <https://doi.org/10.1128/jvi.05512-11>
33. Sloots T.P., McErlean P., Speicher D.J. et al. Evidence of human coronavirus HKU1 and human bocavirus in Australian children. *J Clin Virol.* 2006; 35 (1): 99–102. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2005.09.008>
34. Lau S.K., Woo P.C., Yip C.C. et al. Coronavirus HKU1 and other coronavirus infections in Hong Kong. *J Clin Microbiol.* 2006; 44 (6): 2063–2071. <https://doi.org/10.1128/jcm.02614-05>
35. Gaunt E.R., Hardie A., Claas E.C. et al. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *J Clin Microbiol.* 2010; 48 (8): 2940–2947. <https://doi.org/10.1128/jcm.00636-10>
36. Vabret A., Dina J., Gouarin S. et al. Detection of the new human coronavirus HKU1: A report of 6 cases. *Clin Infect Dis.* 2006; 42 (5): 634–639. <https://doi.org/10.1086/500136>
37. Anderson E.M., Goodwin E.C., Verma A. et al. Seasonal human coronavirus antibodies are boosted upon SARS-CoV-2 infection but not associated with protection. *Cell.* 2021; 184 (7): 1858–1864. e10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.02.010>
38. Dijkman R., Jebbink M.F., El Drissi N.B. et al. Human coronavirus NL63 and 229E seroconversion in children. *J Clin Microbiol.* 2008; 46 (7): 2368–73. <https://doi.org/10.1128/jcm.00533-08>
39. Zhou W., Wang W., Wang H. et al. First infection by all four non-severe acute respiratory syndrome human coronaviruses takes place during childhood. *BMC Infect Dis.* 2013 (13): 433. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-433>
40. Dispinseri S., Secchi M., Pirillo M.F. et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in symptomatic COVID-19 is persistent and critical for survival. *Nat Commun.* 2021; 12 (1): 2670. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22958-8>
41. Jamiruddin M.R., Haq M.A., Tomizawa K. et al. Longitudinal Antibody Dynamics Against Structural Proteins of SARS-CoV-2 in Three COVID-19 Patients Shows Concurrent Development of IgA, IgM, and Ig G. *J Inflamm Res.* 2021 (14): 2497–2506. <https://doi.org/10.2147/JIR.S313188>
42. Deisenhammer F., Bauer A., Kavelar C. et al. 12-month SARS-CoV-2 antibody persistency in a Tyrolean COVID-19 cohort. *Wien Klin Wochenschr.* 2021; 133 (23–24): 1265–1271. <https://doi.org/10.1007/s00508-021-01985-x>
43. Sherina N., Piralla A., Du L. et al. Persistence of SARS-CoV-2-specific B and T cell responses in convalescent COVID-19 patients 6–8 months after the infection. *Med.* 2021 2 (3): 281–295. e4. <https://doi.org/10.1016/j.medj.2021.02.001>
44. Terpos E., Stellas D., Rosati M. et al. SARS-CoV-2 antibody kinetics eight months from COVID-19 onset: Persistence of spike antibodies but loss of neutralizing antibodies in 24% of convalescent plasma donors. *Eur J Intern Med.* 2021 (89): 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2021.05.010>
45. Kolosova E.A., Shaprova O.N., Shanshin D.V. et al. Antibodies to the Spike Protein Receptor-Binding Domain of SARS-CoV-2 at 4–13 Months after COVID-19. *J Clin Med.* 2022 11 (14): 4053. <https://doi.org/10.3390/jcm11144053>
46. Li K., Huang B., Wu M. et al. Dynamic changes in anti-SARS-CoV-2 antibodies during SARS-CoV-2 infection and recovery from COVID-19. *Nat Commun.* 2020; 11 (1): 6044. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23977-1>
47. Dispinseri S., Secchi M., Pirillo M.F. et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in symptomatic COVID-19 is persistent and critical for survival. *Nat Commun.* 2021; 12 (1): 2670. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22958-8>
48. Aydllo T., Rombauts A., Stadlbauer D. et al. Immunological imprinting of the antibody response in COVID-19 patients. *Nat Commun.* 2021; 12 (1): 3781. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23977-1>
49. Lotfi R., Kalmazi R.N., Roghani S.A. A review on the immune responses against novel emerging coronavirus (SARS-CoV-2). *Immunol Res.* 2021; 69 (3): 213–224. <https://doi.org/10.1007/s12026-021-09198-0>
50. Byrnes J.R., Zhou X.X., Lui I. et al. Competitive SARS-CoV-2 Serology Reveals Most Antibodies Targeting the Spike Receptor-Binding Domain Compete for ACE2 Binding. *mSphere.* 2020; 5 (5): e00802–20. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00802-20>
51. Bates A.A., Weinstein J.B., Farley S. et al. Cross-reactivity of SARS-CoV structural protein antibodies against SARS-CoV-2. *Cell Rep.* 2021; 34 (7): 108737. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.108737>
52. Zedan H.T., Nasrallah G.K. Is preexisting immunity to seasonal coronaviruses limited to cross-reactivity with SARS-CoV-2? A seroprevalence cross-sectional study in north-eastern France. *Ebio Medicine.* 2021 (71): 103580. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103580>
53. Lim Y.X., Ng Y.L., Tam J.P. et al. Human Coronaviruses: A Review of Virus-Host Interactions. *Diseases.* 2016; 4 (3): 26. <https://doi.org/10.3390/diseases4030026>
54. Lu R., Zhao X., Li J. et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: Implications for virus origins and receptor binding. *Lancet.* 2020; 395 (10224): 565–574. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30251-8)

Статья поступила / Received 06.02.24
Получена после рецензирования / Revised 15.03.24
Принята в печать / Accepted 15.03.24

Сведения об авторах

Шабалина Юлия Вадимовна, ст. преподаватель кафедры биологической химии, клинической лабораторной диагностики. E-mail: shabalinajv@gmail.com
Ельчанинова Светлана Александровна, д.б.н., проф. кафедры биологической химии, клинической лабораторной диагностики. E-mail: saelch@mail.ru

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

Автор для переписки: Шабалина Юлия Вадимовна. E-mail: shabalinajv@gmail.com

About authors

Shabalina Yulia V., senior lecturer at Dept of Biological Chemistry, Clinical Laboratory Diagnostics. E-mail: shabalinajv@gmail.com
Elchaninova Svetlana A., DBio Sci (habil.), professor at Dept of Biological Chemistry, Clinical Laboratory Diagnostics. E-mail: saelch@mail.ru

Altai State Medical University, Russia, Barnaul

Corresponding author: Shabalina Yulia V. E-mail: shabalinajv@gmail.com

Для цитирования: Шабалина Ю. В., Ельчанинова С. А. Сезонные коронавирусы и SARS-CoV2: структурно-функциональные, клинико-эпидемиологические характеристики и гуморальный перекрестный иммунитет. *Медицинский алфавит.* 2024; (4): 55–59. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-55-59>

For citation: Shabalina Yu. V., Elchaninova S.A. Seasonal coronaviruses and SARS-CoV2: Structural, functional, clinical and epidemiological characteristics and humoral cross-immunity. *Medical alphabet.* 2024; (4): 55–59. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-55-59>

Влияние коморбидной патологии и ее нозологических форм на уровень аннексина А5 у больных с вирусной пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2

А. Ш. Курмаева, Т. В. Прокофьева, О. С. Полунина, Е. А. Полунина

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценить влияние коморбидности на уровень аннексина А5 у больных с вирусной пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2.

Материалы и методы. Обследовано 90 больных с диагнозом коронавирусная инфекция COVID-19 (вирус идентифицирован), проходивших стационарное лечение в инфекционном госпитале. По результатам компьютерной томографии органов грудной клетки у 76 (84,4%) пациентов имела место III степень поражения легких, у 14 (15,6%) – IV степень. 84,4% пациентов являлись коморбидными. Исследование уровня аннексина А5 (нг/мл) в сыворотке крови проводилось методом иммуноферментного анализа с помощью анализатора иммуноферментных реакций ELISA Kit for Annexin A5, производство Cloud-Clone Corp. (США). Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ SPSS26.0.

Результаты исследования. 84,4% пациентов с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2, имели значимую сердечно-сосудистую, бронхолегочную или эндокринную патологию. У 50% обследованных был сахарный диабет II типа. Уровень аннексина А5 у коморбидных пациентов был статистически значимо выше, чем у пациентов, не имевших сопутствующих заболеваний. Уровень аннексина А5 у лиц с множественной сопутствующей патологией существенно превосходил уровень данного показателя у лиц, имевших 1–2 сопутствующих заболевания. Выявлена прямая корреляционная связь умеренной силы между уровнем аннексина А5 и количеством имеющихся у больного коморбидных патологических состояний (0,437, $p < 0,001$).

Заключение: Полученные результаты свидетельствуют о необходимости учитывать наличие коморбидности и ее нозологические формы при изучении апоптотических процессов у больных с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: коморбидность, коронавирусная инфекция, COVID-19, пневмония, ассоциированная с SARS-CoV-2, аннексин А5.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Effect of comorbid pathology and its nosologic forms on annexin A5 levels in patients with SARS-COV-2-associated viral pneumonia

A. Sh. Kurmaeva, T. V. Prokofieva, O. S. Polunina, E. A. Polunina

Department of Internal Medicine, Faculty of Pediatrics, Astrakhan State Medical University, Astrakhan

SUMMARY

Purpose. To evaluate the effect of comorbidity on annexin A5 levels in patients with SARS-CoV-2 associated viral pneumonia.

Materials and Methods. We examined 90 patients diagnosed with coronavirus infection COVID-19 (virus identified), who were treated as inpatients in an infectious disease hospital. According to the results of computed tomography of the chest organs, 76 (84.4%) patients had III degree of lung lesions, 14 (15.6%) – IV degree. 84.4% of patients were comorbid. The level of annexin A5 (ng/ml) in serum was studied by enzyme immunoassay method using ELISA Kit for Annexin A5 immunoenzyme reaction analyzer, produced by Cloud-Clone Corp. (USA). Statistical processing of the data was performed using the SPSS26.0 program package.

Results of the study. 84.4% of patients with SARS-CoV-2 associated pneumonia had significant cardiovascular, pulmonary or endocrine pathology. 50% of the subjects had type II diabetes mellitus. Annexin A5 levels were statistically significantly higher in comorbid patients than in patients without comorbidities. The level of annexin A5 in those with multiple comorbidities was significantly higher than in those with 1–2 comorbidities. A direct correlation of moderate strength between the level of annexin A5 and the number of pathologic conditions present in the patient was revealed (0.437, $p < 0,001$).

Conclusion: The obtained results indicate the necessity to take into account the presence of comorbidity and its nosologic forms when studying apoptotic processes in patients with SARS-CoV-2-associated pneumonia.

KEYWORDS: comorbidity, coronavirus infection, COVID-19, SARS-CoV-2 associated pneumonia, annexin A5.

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

Введение

Одной из актуальных проблем последних десятилетий в клинике внутренних болезней является ведение коморбидного больного [1, 2]. Коморбидность, то есть сочетание нескольких заболеваний, на врачебном приеме является не исключением, а, скорее, правилом. Увеличение продолжительности жизни способствуют формированию коморбидности, а улучшение диагностических стратегий – выявлению множественной патологии у одного индивидуума [3]. В результате нередко перед врачом оказывается

пациент с «букетом» заболеваний. Задачей специалиста при этом является попытка разобраться во вкладе коморбидности в клиническую картину заболевания и в результаты обследования, а также минимизация возможного негативного воздействия на «спровоцированные» органы.

Пандемия новой коронавирусной инфекции 2019 года (COVID-19) поставила мировую медицину в новые условия работы. Неизвестность возбудителя, быстрота охвата регионов, мультисистемность поражения заставили медицинское сообщество оперативно решать огромное количество

вопросов, касающихся диагностики и лечения COVID-19 [4, 5]. Одним из немаловажных вопросов стал вопрос коморбидности пациентов с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2 [6]. Отмечено, что риск инфицирования вирусом SARS-CoV-2 у коморбидных пациентов выше, а протекает COVID-19 у них более тяжело. У коморбидных пациентов более высок риск полиорганного поражения и летального исхода заболевания [7]. Поэтому вопросы, касающиеся влияния коморбидности на течение пневмонии, ассоциированной с SARS-CoV-2, являются актуальными.

Одним из сравнительно новых и активно изучаемых маркеров, потенциально способных отражать тяжесть течения и прогноз заболеваний, являются аннексины. Это белки, обладающие способностью избирательно связываться с кальцием и фосфолипидами эукариотических клеток. За счет влияния на Ca²⁺-зависимые каналы на клеточных мембранах, белки данного семейства могут влиять на различные процессы, такие как воспаление, сигнализация и пролиферация, выполнять иммуномодулирующие функции при вирусных инфекциях и бактериальных повреждениях легких [8, 9]. Один из представителей семейства аннексинов является аннексин A5. Данный протеин обладает возможными диагностическими свойствами в визуализации гибели клеток [10, 11]. Интересным представляется изучение уровня аннексина A5 у коморбидных пациентов с вирусной пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2. Подобные работы в доступной литературе немногочисленны [12, 13].

Цель исследования: Оценить влияние коморбидности на уровень аннексина у больных с вирусной пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2.

Материалы и методы

Обследовано 90 больных с диагнозом коронавирусная инфекция COVID-19 (вирус идентифицирован), проходивших стационарное лечение в инфекционном госпитале ГБУЗ АО «Александро-Мариинская областная клиническая больница» г. Астрахани в 2020–21 гг. Все пациенты за время госпитализации получали стандартное лечение согласно документу «Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Продолжительность стационарного лечения составила 16 [13–19] койко-дней. Медиана возраста пациентов с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2, составила 47 [39; 57] лет. Среди обследованных данной группы было 47 мужчин и 43 женщины.

При анализе результатов компьютерной томографии органов грудной клетки при поступлении в стационар у 76 (84,4%) пациентов обнаружена среднетяжелая форма пневмонии, что соответствует объему поражения легких 50–75% (КТ III степени), у 14 (15,6%) пациентов – тяжелая форма пневмонии, объем поражения легких более 75% (КТ IV степени). Среди пациентов с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2, 76 человек (84,4%) имели одно или несколько коморбидных состояний, в качестве которых

Таблица 1
Структура сопутствующих заболеваний у больных с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2

Заболевание	Больные с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2, n (%)
Сахарный диабет II типа	45 (50)
Артериальная гипертензия	16 (17,8)
Ожирение	31 (34,4)
Хроническая ишемическая болезнь сердца	38 (42,2)

учитывались значимые заболевания сердечно-сосудистой, бронхолегочной, эндокринной систем. Структура коморбидной патологии представлена в таблице 1.

У 50% пациентов в анамнезе имелся сахарный диабет II типа, у 42% – ишемическая болезнь сердца, тогда как около 34% пациентов имели в своем анамнезе ожирение различной степени, а более чем 17% пациентов – артериальную гипертензию.

Группу контроля составили 30 соматически здоровых лиц, проходивших диспансеризацию в поликлиниках города. Лица группы контроля были сопоставимы по возрастным и половым характеристикам с обследуемыми больными.

Проведение данного исследования было одобрено Региональным Независимым Этическим комитетом (от 30.12.2021, протокол № 3). Все участники исследования дали документированное согласие на участие в исследовании.

Исследование уровня аннексина A5 (нг/мл) в сыворотке крови проводилось методом иммуноферментного анализа с помощью анализатора иммуноферментных реакций ELISA Kit for Annexin A5, производство Cloud-Clone Corp. (США), согласно инструкции.

Анализ полученных данных проводился при помощи SPSS, версия 26.0. Проверка на нормальность распределения количественных признаков осуществлялась с использованием критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Так как распределение было отличным от нормального, анализировались медиана, 25-й и 75-й процентиля. Для выявления статистической значимости в 2-х исследуемых группах использовался критерий Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Корреляция между непрерывными значениями в группах с распределением, отличным от нормального, выполнялась методом Спирмена.

Результаты

На начальном этапе мы сопоставили уровень аннексина A5 в группах наблюдения (табл. 2).

Таблица 2
Уровень аннексина A5 (нг/мл) у больных с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2, при поступлении в стационар

Показатель	Контроль (n=30)	Больные с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2 (n=90)	p
Аннексин, нг/мл	1,19 [0,84; 1,62]	11,71 [2,48; 28,24]	<0,001

Примечание: p – уровень статистической значимости по сравнению с группой контроля (критерий Манна-Уитни).

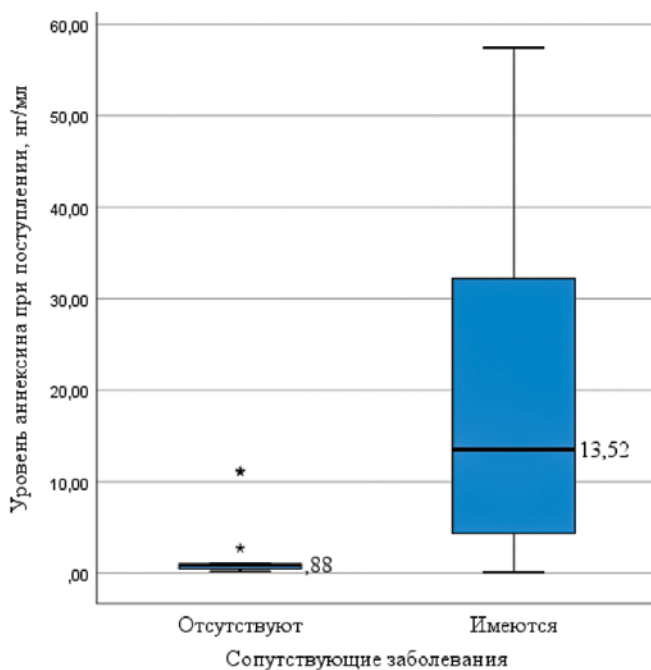


Рисунок 1. Уровень аннексина А5 (нг/мл) у больных с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2, при поступлении в стационар в зависимости от наличия сопутствующих заболеваний.

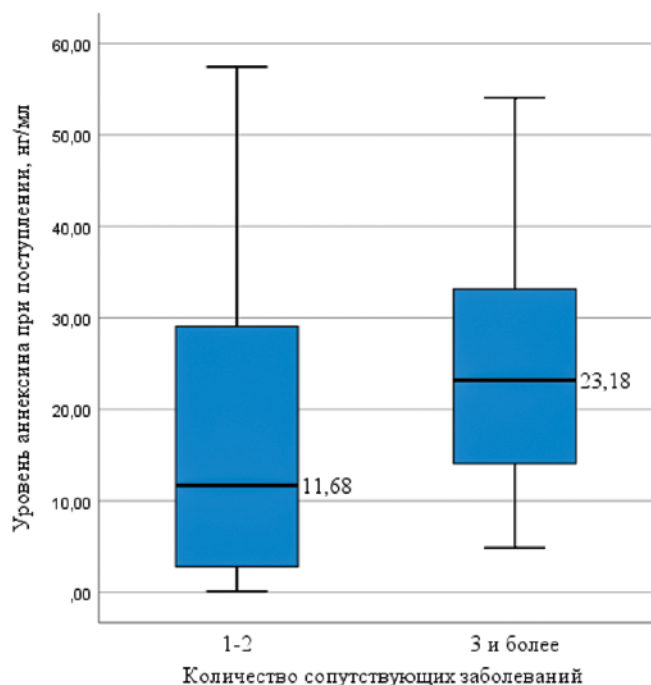


Рисунок 2. Уровень аннексина А5 (нг/мл) у больных с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2, при поступлении в стационар, в зависимости от количества сопутствующих заболеваний.

У больных с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2, при поступлении в стационар уровень аннексина А5 составил 11,71 [2,48; 28,24] нг/мл, что было статистически значимо выше ($p < 0,001$), чем в контрольной группе – 1,19 [0,84; 1,62] нг/мл.

Далее мы сравнили уровень аннексина А5 у больных с коморбидной патологией и без нее (рис. 1). При наличии сопутствующих заболеваний уровень аннексина А5 у больных с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2, при поступлении в стационар составил 13,52 [4,38; 32,21]

нг/мл, что было статистически значимо выше, чем у пациентов, не имеющих сопутствующей патологии, где уровень аннексина А5 составил 0,88 [0,47; 1,01] нг/мл ($p < 0,001$).

Мы предприняли попытку определить, различается ли уровень аннексина А5 у коморбидных пациентов с различным количеством имеющихся заболеваний (рис. 2).

Уровень аннексина А5 при поступлении в стационар в группе пациентов с наличием 3 и более сопутствующих заболеваний составил 23,18 [14,08; 33,15] нг/мл, что было статистически значимо выше, чем у пациентов, имеющих 1–2 сосуществующих заболевания ($p = 0,006$).

При проведении корреляционного анализа нами была установлена прямая корреляционная связь между уровнем аннексина А5 и количеством имеющихся у больного патологических состояний (0,437, $p < 0,001$).

Заключение

Результаты проведенного исследования продемонстрировали, что подавляющее большинство пациентов (84,4%) с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2, имели значимую сердечно-сосудистую, бронхолегочную или эндокринную патологию. Доминирующим заболеванием, наблюдавшимся у 50% обследованных, был сахарный диабет II типа.

Уровень аннексина А5 у коморбидных пациентов был статистически значимо выше, чем у пациентов, не имеющих сопутствующих заболеваний. Уровень аннексина А5 у пациентов с множественной коморбидностью существенно превосходил уровень данного показателя у лиц, имевших 1–2 коморбидных заболевания. Между уровнем аннексина А5 и количеством имеющихся у больного патологических состояний выявлена прямая корреляционная связь умеренной силы.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости учитывать наличие коморбидности и ее нозологические формы при изучении апоптотических процессов у больных с пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2.

Список литературы / References

1. Дрaпкина О. М., Шyтов А. М., Ефремова Е. В. Коморбидность, мyльтиморбидность, двойной диагноз – синонимы или разные понятия? Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2019; 18(2): 65–69 doi:10.15829/1728-8800-2019-2-65-69. Drapkina O. M., Shutov A. M., Efremova E. V. Comorbidity, multimorbidity, and dual diagnosis: synonyms or different concepts? Cardiovascular therapy and prevention. 2019; 18(2): 65–69.
2. Верткин А. Л. Коморбидность: история, современное представление, профилактика и лечение. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2015; 14(2): 74–79. doi:10.15829/1728-8800-2015-2-74-79. Vertkin A. L. Comorbidity: history, recent views, prevention and treatment. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2015; 14(2): 74–9.
3. Оганов Р. Г., Денисов И. Н., Симаненков В. И. и др. Коморбидная патология в клинической практике. Клинические рекомендации. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2017; 16(6): 5–56. doi:10.15829/1728-8800-2017-6-5-56. Oganov R. G., Denisov I. N., Simanenkov V. I., et al. Comorbidities in practice. Clinical guidelines. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2017; 16(6): 5–56.
4. Sharma A., Ahmad Farouk I., Lal S. K. COVID-19: A Review on the Novel Coronavirus Disease Evolution, Transmission, Detection, Control and Prevention. Viruses. 2021; 13(2): 202. doi: 10.3390/v13020202.
5. Laine C., Moyer D. V., Coffon D. COVID-19: Challenging Clinical Questions. Ann Intern Med. 2022; 175(2): 276–277. doi: 10.7326/M21-4611. Epub 2021 Dec 14.
6. Ejaz H., Alsharani A., Zafar A., Javed H., Junaid K., Abdalla A. E., Abosalif K. O. A., Ahmed Z., Younas S. J. COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients. Infect Public Health. 2020; 13(12): 1833–1839. doi: 10.1016/j.jiph.2020.07.014. Epub 2020 Aug 4.
7. Silaghi-Dumitrescu R., Patrascu I., Lehene M., Bercea I. Comorbidities of COVID-19 Patients. Medicina (Kaunas). 2023; 59(8): 1393. doi: 10.3390/medicina59081393.
8. Vago J., Tavares L., Riccardi C., Teixeira M., Lirlândia P. S. Exploiting the pro-resolving actions of glucocorticoid-induced proteins Annexin A1 and GILZ in infectious diseases. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2021; 133:111033. doi: 10.1016/j.biopha.2020.111033.
9. Ampomah P., Kong W., Zharkova O., Chua S., Samy R., Lim L. Annexins in influenza virus replication and pathogenesis / Frontiers in Pharmacology. 2018; 15(9): 1282. doi: 10.3389/fphar.2018.01282. eCollection 2018.

10. D'Arcy M.S. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell biology international*. 2019; 43(6): 582–592.
11. Kupcho K., Shultz J., Hurst R., Hartnett J., Zhou W., Machleidt T., Graier J., Worzella T., Riss T., Lazar D., Cali J., Niles A. A real-time, bioluminescent annexin V assay for the assessment of apoptosis. *Apoptosis*. 2019; 24(1): 184–197.
12. Patil P., Shetty P., Patil P., Shetty P., Kuriakose N., Gollapalli P., Shetty S., Bhandary R., Vishwanatha J., Ghate S. Molecular Insights on the Possible Role of Annexin A2 in COVID-19 Pathogenesis and Post-Infection Complications. *International journal of molecular sciences*. 2021; 22(20): 11028. doi: 10.3390/ijms222011028.
13. Canacik O., Sabirli R., Altintas E., Karsli E., Karis D., Kaymaz B., Tukenmez S., Kurt Ö., Koseler A. Annexin A1 as a potential prognostic biomarker for COVID-19 disease: Case-control study. *International Journal of Clinical Practice*. 2021; 75(10): e14606. doi: 10.1111/ijcp.14606. Epub 2021 Jul 14.

Статья поступила / Received 14.09.23
Получена после рецензирования / Revised 15.03.24
Принята в печать / Accepted 15.03.24

Сведения об авторах

Курмаева Асия Шаукатовна, аспирант кафедры.
E-mail: asiy_92@mail.ru. ORCID: 0009-0008-4449-5275

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

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

Полунина Екатерина Андреевна, д.м.н., профессор кафедры.
E-mail: gilti2@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-3679-432X

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

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

About authors

Kurmaeva Asiya Sh., postgraduate student.
E-mail: asiy_92@mail.ru. ORCID: 0009-0008-4449-5275

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

Prokofieva Tatyana V., PhD Med, associate professor. E-mail: prokofeva-73@inbox.ru. ORCID: 0000-0002-3260-2677

Polunina Ekaterina A., DM Sci (habil.), professor. E-mail: gilti2@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-3679-432X

Dept of Internal Medicine, Faculty of Pediatrics, Astrakhan State Medical University, Astrakhan

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

Для цитирования: Курмаева А.Ш., Прокофьева Т.В., Полунина О.С., Полунина Е.А. Влияние коморбидной патологии и ее нозологических форм на уровень аннексина А5 у больных с вирусной пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV2. *Медицинский алфавит*. 2024; (4): 60–63. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-60-63>

For citation: Kurmaeva A. Sh., Prokofieva T. V., Polunina O. S., Polunina E. A. Effect of comorbid pathology and its nosologic forms on annexin A5 levels in patients with SARS-COV2-associated viral pneumonia. *Medical alphabet*. 2024; (4): 60–63. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-60-63>

DOI: 10.33667/2078-5631-2024-4-63-67

Оптимальный уровень витамина D как проблема современности

Л. Ю. Замаховская¹, С. В. Хабаров^{1,2,3}, В. Г. Волков¹

- ¹ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет», Медицинский институт, г. Тула
- ²Академия постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», Москва
- ³ВитроКлиник, Сеть клиник ЭКО «Геном», Группа компаний «Медма», Москва

РЕЗЮМЕ

Изучение свойств витамина D и его влияния на организм продолжает ставить перед клиницистами и исследователями новые задачи. В современном мире оптимальная доза витамина D должна обеспечивать не только поддержание костной системы и минерального обмена, но и проводить профилактику большого количества других, не «классических» для витамина D нозологий. В статье рассмотрены спорные вопросы подбора профилактических и лечебных дозировок, мероприятия по поддержанию общего здоровья населения всех возрастных групп.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Витамин D, колекальциферол, эргокальциферол, осложненная беременность, преждевременные роды, аутизм.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Optimal level of health D as a modern problem

L. Yu. Zamakhovskaya¹, S. V. Khabarov^{1,2,3}, V. G. Volkov¹

- ¹Medical Institute of Tula State University, Tula, Russia
- ²Academy of Postgraduate Education of the Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Care and Medical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Moscow
- ³VitroClinic, Network of Clinics for Assisted Reproduction "Genom", Medical Group "Medma", Moscow, Russia

SUMMARY

The study of the properties of vitamin D and its properties in the human body continues to pose new challenges for clinicians and researchers. In the modern world, the optimal dose of vitamin D should ensure not only the maintenance of the skeletal system and mineral metabolism, but also prevent a large number of other nosologies that are not "classical" for vitamin D. The article discusses controversial issues of selection of preventive and therapeutic doses, measures to maintain the general health of the population of all age groups.

KEY WORDS: Vitamin D, cholecalciferol, ergocalciferol, complicated pregnancy, premature birth, autism.

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

Хотя витамин D был открыт более ста лет назад, интерес к этому веществу только возрастает, как и научные дебаты о его роли в метаболизме человека и необходимых лечебных и профилактических дозах. В электронной Национальной Медицинской Библиотеке PubMed зарегистрировано более 100 тыс. научных статей на эту тему, причем максимальное количество публикаций приходится на 2021 год – более 6 тыс. [1].

Недостаточность витамина D включена в Международную классификацию болезней 10 пересмотра под кодом E55. Вопросы диагностики и лечения этого состояния остаются открытыми, междисциплинарными и не однозначными.

В 2022 году вышли российские клинические рекомендации «Дефицит витамина D», целью которых была стандартизация в РФ подхода к подбору лечебной и профилактической дозы, определены группы высокого риска тяжелого дефицита, интерпретация концентраций 25(OH)D в крови и схемы медикаментозного лечения [2]. Медицинское сообщество продолжает искать оптимальные подходы к лечению данного заболевания и совершенствовать тактику ведения пациентов.

В РФ на 2020 год 84% населения имели дефицит или недостаточность витамина D, которые не связаны с географической широтой проживания и антропометрическими параметрами. Среди женского населения РФ по данным ряда исследований в 61–72% выявляется дефицит витамина D, в 21–28% – недостаточность и только у 7–11% обследованных содержание витамина D соответствует норме. При этом каждая шестая российская женщина страдает от выраженного дефицита витамина D, уровень которого не превышает 10 нг/мл [3,4]. Картина имеет вид тихой пандемии и самое тревожное, что в перспективе это может отразиться на здоровье последующих поколений. Большинству населения страны показана коррекция уровня витамина D до оптимального [5].

Патогномичные клинические симптомы для данного заболевания отсутствуют. Расчеты для разных групп пациентов сложны и порождают больше вопросов, чем ответов. Побочные действия проводимого лечения стерты и более похожи на проявления ОРВИ. Самые тяжелые побочные эффекты развиваются у детей младшего возраста и престарелых людей. При этом существует высокий риск низкой комплаентности пациентов к проводимой терапии в виду ее продолжительности.

Витамин D имеет несколько путей поступления в организм человека. Самым древним из них является ультрафиолетовое (УФ) облучение кожи. По меньшей мере 1,2 миллиарда лет эукариоты были способны синтезировать стероиды и, следовательно, вырабатывать витамин D под воздействием УФ-излучения. Около 550 миллионов лет назад у животных появился высокоаффинный ядерный рецептор VDR – рецептор витамина D, а также транспортные белки и ферменты для метаболизма данного витамина. Это позволило витамину D регулировать через свои гены-мишени физиологические процессы, первыми из которых были детоксикация и энергетический обмен [6].

Даже легкое покраснение кожи после солнечного УФ-излучения через сутки обеспечивает синтез витамина D эквивалентного до 25 тыс. МЕ. Чрезмерное пребывание на солнце не вызывает токсичности витамина D благодаря регуляции и превращению витамина D в его неактивные метаболиты [7].

Нидерландское исследование на людях старше 65 лет продемонстрировало, что фактор инсоляции по-прежнему является важным путем поступления витамина D в организм и находится на первом месте, затем следует генетический и завершает тройку лидеров энтеральный путь. У людей, живущих и работающих преимущественно под открытым небом примерно в таких же географических условиях, в которых жили наши далекие предки по данным исследователей показатели витамина D составляют от 42 до 65 нг/мл [8]. Однако адекватная выработка D-гормона для большинства современного населения (включая жителей РФ) невозможна из-за географических, климатических, экологических и социальных особенностей территорий проживания [2, 5].

Носители основных генетических аллелей SNP, связанных с DHCR7, CYP24A1 и GC, а также носители минорных аллелей CYP2R1 имеют самые высокие концентрации 25(OH)D [9].

Для обеспечения населения достаточным количеством колекальциферола перорально, особенно проживающего в условиях дефицита солнечного света были разработаны лекарственные средства и пищевые добавки.

Хотя витамин D присутствует в обычных пищевых продуктах таких как рыба, мясо, яйца, молочные и другие продукты, его количества там явно недостаточно для поддержания необходимого уровня в организме даже при сбалансированном питании [10].

Обязательная витаминизация пищевых продуктов ушла в далекое прошлое вместе с распадом СССР. В РФ существует только добровольное фортификация пищевых продуктов витаминами в крайне низких количествах – менее 15% от суточной потребности и, скорее всего, преследует маркетинговые цели, а не вопросы охраны здоровья граждан. В настоящее время только 14% предприятий выпускает обогащенные пищевые продукты, а объем их общего производства составляет 5%. [11,12].

Во многих странах, преимущественно развитых, существуют обязательные программы по обогащению продуктов питания витамином D (и другими витаминами). Так, в Канаде закон обязывает обогащать колекальциферолом молоко (180 МЕ/250 мл) и маргарин (530 МЕ/100 г). В США и Канаде более 60% всего полученного с пищей витамина D поступает из обогащенных продуктов питания, в том числе 44% – за счет фортификации большей части молока. Некоторые компании в США добавляют витамин D в сухие завтраки, соевое молоко, рисовое молоко и апельсиновый сок, сырные продукты как правило, вместе с кальцием [12,13]. В Иордании программа фортификации муки с 2010 года включает витамин D [14]. В Германии в качестве продукта – носителя витамина D предлагается хлеб. Математическое

моделирование показало, что зимой для повышения концентрации 25(OH)D в сыворотке крови до 75 нмоль/л 100 г хлеба должны содержать 11,3 мкг, в результате чего суточное потребление достигнет 23,7 мкг [15]. Расчеты, проведенные для Юго-Восточной Азии, показали, что растительное масло, обогащенное витамином D в дозе 10 мкг/100 г, может обеспечить увеличение потребления этого витамина на 3,9–21% от рекомендованной нормы населению [16].

И хотя наша страна не обеспечивает минимальную потребность в витаминах с помощью обогащенных продуктов, следует помнить, что чрезмерное обогащение продуктов питания или добавок повышенным, чем предполагалось, количеством витамина D может привести к отравлениям. У здоровых людей токсические эффекты витамина D могут возникнуть в результате сознательного или случайного превышения дозировки. Появляется все больше задокументированных случаев отравления препаратами витамина D, в том числе у младенцев и пожилых людей. Токсическое влияние повышенных доз во время беременности оценить крайне сложно.

В 2015 году управление по контролю качества пищевых продуктов и медикаментов США отозвало поливитамины компании Glades Drugs из-за чрезмерного количества витамина D. В 2016 году в Дании отозвали добавку, в которой уровень витамина D был в 75 раз выше рекомендованного. По крайней мере у 20 детей после приема этой добавки развилось отравление [17]. В связи с широким применением биологически активных добавок по данным отчета об отравлениях американских токсикологических центров за 2022 год было зарегистрировано более 6 тыс. случаев отравления витамином D. Более половины этих случаев пришлось на детей в возрасте до 5 лет. Общее число случаев токсичности витамина D превышало общее количество случаев токсичности витаминов B, A, C и E вместе взятых. Пациенты с некоторыми хроническими заболеваниями, которые принимают высокие дозы витамина D и непреднамеренно увеличивают количество обогащенного молока, также подвергаются повышенному риску токсичности витамина D. Токсичность, возникающая из-за отсутствия мониторинга, часто наблюдается у пациентов, которым требуются высокие дозы для лечения таких заболеваний, как остеопороз, почечная остеодистрофия, псориаз, шунтирование желудка, целиакия или воспалительные заболевания кишечника [17, 18, 19].

Как же дело обстоит с лекарственными препаратами? Клинические рекомендации РФ для лечения дефицита и недостаточности витамина D рекомендуют использовать колекальциферол (D3) в виде масляного или водного раствора, капсул, таблеток. В США наряду с вышеописанными средствами, широко используют парентеральные формы витамина D (внутримышечно), запатентован трансдермальный пластырь витамина D как обезболивающее средство пролонгированного действия (более 8 недель) [20].

Целевой уровень витамина D, принимаемый Российской ассоциацией эндокринологов составляет 30–60 нг/мл или 75–150 нмоль/л. Поддерживающие дозы для взрослых составляют 1000–2000 МЕ ежедневно [21].

Согласно консенсусу Центральной и Западной Европы о профилактике, диагностике и лечению дефицита витамина D (2022) для лечения дефицита витамина D у пациентов без других факторов риска рекомендуется начальная доза 6000 МЕ, эквивалентная суточной дозе.

У определенных лиц или при определенных состояниях для лечения рекомендуются более высокие дозы колекальциферола, до 10000 МЕ, что эквивалентно суточной дозировке, по сравнению со здоровыми взрослыми без других факторов риска. Как только достигается концентрация 25(OH)D 30–50 нг/мл (75–125 нмоль/л), рекомендуется поддерживающая доза 800–2000 МЕ/сут, которая также может быть использована в качестве начальной лечебной дозы, если нет необходимости в быстрой коррекции дефицита витамина D. Пациентам с остеопорозом рекомендуется прием 800–2000 МЕ/сут перорального колекальциферола в комбинации с кальцием, если это показано [22].

Касаемо мировой дискуссии о рекомендациях по дозировке витамина D, следует отметить, что одним из основных научных споров является вопрос о том целевых показателях ≥ 50 нмоль/л (20 нг/мл) или ≥ 75 нмоль/л (30 нг/мл) и безопасность общего приема добавок с витамином D в дозах, направленных на достижение ≥ 75 нмоль/л (30 нг/мл), то есть около 2000 МЕ (50 мкг) [21, 23, 24].

В обзоре 2024 года авторами из США, Польши, Австрии, Греции и Германии были представлены доказательства в пользу приема 2000 МЕ (50 мкг) витамина D в сутки как эффективного и безопасного подхода к профилактике и лечению его дефицита [25].

Наиболее острые дискуссии разворачиваются, когда речь заходит не о профилактике рахита и остеомаляции, а о неклассических эффектах витамина D. Фертильность, течение беременности, эмбриональное развитие и здоровье новорожденного в значительной степени зависит от достаточного поступления витамина D в организм матери [26]. Во время гестации дефицит витамина D у эмбриона компенсируется увеличением количества активного витамина D независимо от уровня кальция, фосфата или парагормона [26]. Прием витамина D в период прегравидарной подготовки доказано ассоциирован со снижением риска преэклампсии, гестационного сахарного диабета [27]. Риск преждевременных родов снижается на 60%, при сывороточном уровне колекальциферола более 40 нг/мл. Механизм протекции в этом случае осуществляется через плаценту, кортикотропин-релизинг-гормон и другие медиаторы родов в синцитиотрофобластах человека, через увеличение биодоступности комплекса VDR-D3 и противовоспалительное действие. Витамин D влияет на плаценту, инвазию плаценты, имплантацию и ангиогенез. Он также снижает уровень окислительного стресса в плаценте [4, 28, 29]. Уровень 25(OH)D менее

37,5 нмоль/л является фактором риска оперативного родоразрешения, увеличивая его частоту почти в 4 раза [30].

Национальное исследование США (2023) выявило связь между дефицитом витамина D (содержание менее 65,21 МЕ) с такими врожденными аномалиями развития как анэнцефалия, гипоспадия, дефекты сердечной перегородки, диафрагмальная грыжа, гастрошизис [31]. В ходе исследований последних лет стало известно о серьезных негативных последствиях дефицита витамина D для потомства: задержка внутриутробного развития и низкая масса тела при рождении, врожденные пороки развития, рахит и остеопения, увеличение риска юношеской астмы, шизофрении, расстройства аутистического спектра, рассеянного склероза, сахарного диабета 1 типа и инсулинорезистентность [32]. Дети, страдающие аутизмом или которым суждено стать аутистами, имеют более низкие уровни 25(OH)D на 3-м месяце беременности, при рождении и в возрасте 8 лет по сравнению с их здоровыми братьями и сестрами. Для детей с аутизмом рекомендуются дозы витамина D от 300 МЕ/кг/день до максимальной 5000 МЕ/день (наивысший достигнутый конечный уровень 25(OH)D крови составлял 45 нг/мл). В другом исследовании использовалось 150000 МЕ/месяц внутримышечно, а также 400 МЕ/день (самый высокий конечный уровень 25(OH)D составлял 52 нг/мл). Для профилактики рождения второго ребёнка с аутизмом и снижения риска с 20 до 5% рекомендуют высокодозные схемы приема витамина D во время беременности (5000 МЕ/сутки), а также в младенчестве и раннем детстве (1000 МЕ/сутки), контролируя уровни 25(OH)D каждые 3 месяца. Прием витамина D матерью во время лактации в количестве более 4000 МЕ приводит к аналогичному повышению уровня 25(OH)D у грудного ребенка [33].

Помимо общепринятых схем и высоких лечебных доз появились протоколы с экстремально высокими дозами витамина D. В 2013 г. группа Cicero Coimbra из Бразилии впервые сообщила о клинической эффективности лечения высокими дозами витамина D у пациентов, страдающих аутоиммунными заболеваниями кожи – «Протокол Коимбры». Такие неоднозначные лечебные назначения основаны на концепции врожденной или приобретенной формы резистентности к витамину D. Опирается данная концепция с одной стороны на полиморфизмах в генах, влияющих на систему витамина D, вызывающих предрасположенность к развитию низкой чувствительности к витамину D и аутоиммунных заболеваний; с другой стороны, она основана на блоке передачи сигналов рецепторов витамина D в следствие патогенных инфекций, глюкокортикоидов (хронический стресс) и, предположительно, токсинами окружающей среды, такими как тяжелые металлы. Приверженцы данного протокола утверждают, что можно безопасно вводить суточные дозы витамина D до 35000 МЕ в день, с периодом лечения до 3,5 лет, при этом ключевыми для подбора правильной дозы являются уровни паратгормона в сыворотке крови [34,35].

Заключение

Несмотря на накопление данных о роли витамина D, его статус остается предметом дискуссий. Разнородность информации и отсутствие унифицированного подхода к ведению пациентов свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований. Научному сообществу еще предстоит писать полную систему взаимодействий витамина D в организме человека, усовершенствовать методы определения дефицита и недостаточности D-гормона, разработать персонализированные подходы к его применению в различных возрастных и социальных группах и оценить долгосрочные эффекты. Достижение реальных результатов по оптимизации уровня витамина D в популяции, позволяющее улучшить здоровье нации, возможно лишь при совместных усилиях исследователей, врачей и фармацевтов.

Список литературы / References

1. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=vitamin+d&filter=years.2021-2021&timeline=expanded>.
2. Дефицит витамина D у взрослых: диагностика, лечение и профилактика: учеб. пособие / ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. М.: Тверь: Триада, 2020. 48 с. // Deficit vitamina D u vzroslykh: diagnostika, lechenie i profilaktika: ucheb. posobie [Vitamin D deficiency in adults: diagnosis, treatment and prevention: textbook. stipend]. FGBU «NMIc endokrinologii» Minzdrava Rossii. Moscow, Tver': Triada; 2020. Russian.
3. Платонова Н. М., Рыбакова А. А., Никанкина Л. В., Малышева Н. М., Андреева Е. Н., Покусеева В. Н., Бойко Е. Л., Трошина Е. А. Витамин D и беременность: современное состояние проблемы в центральных регионах РФ. Пробл. эндокр. 2020; (66-6): 81–87. <https://doi.org/10.14341/probl12693> Platonova N. M., Rybakova A. A., Nikankina L. V., Malysheva N. M., Andreeva E. N., Pokusaeva V. N., Bojko E. L., Troshina E. A. Vitamin D and pregnancy: the current state of the problem in the central regions of the Russian Federation]. *Probl. endokr.* 2020; (66-6): 81–87. <https://doi.org/10.14341/probl12693> Russian.
4. Пигарова Е. А., Рожинская Л. Я., Катамадзе Н. Н., Поваляева А. А., Трошина Е. А. Распространенность дефицита и недостаточности витамина D среди населения, проживающего в различных регионах Российской Федерации: результаты 1-го этапа многоцентрового поперечного рандомизированного исследования. Остеопороз и остеопатии. 2020; (23-4): 4–12. <https://doi.org/10.14341/osteo12701> Pigarova E. A., Rozhinskaya L. Ya., Katamadze N. N., Povalyaeva A. A., Troshina E. A. Rasprostranennost' defitsita i nedostatochnosti vitamina D sredi naseleniya, prozhivayushchego v razlichnykh regionakh Rossijskoj Federacii: rezul'taty 1-go etapa mnogocentrovogo poperechnogo randomizirovannogo issledovaniya [Prevalence of vitamin D deficiency and insufficiency among the population living in various regions of the Russian Federation: results of the 1st stage of a multicenter cross-sectional randomized study]. *Osteoporoz i osteopatii.* 2020; (23-4): 4–12. <https://doi.org/10.14341/osteo12701> Russian.
5. Вислоцкий Н. А., Хабаров С. В. Международный опыт применения препаратов витамина D с целью профилактики осложнений беременности и неблагоприятных перинатальных исходов (литературный обзор). Вестник новых медицинских технологий. 2020; (27-3): 47–53. <https://doi.org/10.24411/1609-2163-2020-16704> Vislockij N. A., Khabarov S. V. Mezhdunarodnyj opyt primeneniya preparatov vitamina D s cel'yu profilaktiki oslozhenij beremennosti i neblagopriyatnykh perinatal'nykh iskhodov [literaturnyj obzor] [International experience in the use of vitamin D preparations for the prevention of pregnancy complications and adverse perinatal outcomes (literature review)]. *Vestnik novykh medicinskih tekhnologii.* 2020; (27-3): 47–53. <https://doi.org/10.24411/1609-2163-2020-16704> Russian.
6. Carlberg C. Vitamin D in the Context of Evolution. *Nutrients.* 2022; 14(15): 3018. <https://doi.org/10.3390/nu14153018>
7. Геринг Х., Кожухова С. Витамин D – гормон солнца. А если солнечного света недостаточно? Биохимия. 2015; (80-1): 14–28. Gering H., Kozhuhova S. Vitamin D – gormon solnca. A esli solnechnogo sveta nedostatochno? [Vitamin D is a hormone of the sun. And if there is not enough sunlight?]. *Biokhimiya.* 2015; (80-1): 14–28. Russian.
8. Haddad JG, Chyu KJ. Competitive protein-binding radioassay for 25-hydroxycholecalciferol. *J Clin Endocrinol.* 1971; (33-6): 992–995. <https://doi.org/10.1210/jcem-33-6-992>
9. Brouwer-Brolsma EM, Vaes AMM, van der Zwaluw NL, van Wijngaarden JP, Swart KMA, Ham AC, van Dijk SC, Enneman AW, Sohl E, van Schoor NM, van der Velde N, Uitterlinden AG, Lips P, Feskens EJM, Dhonukshe-Ruffen RAM, de Groot LCPGM. Relative importance of summer sun exposure, vitamin D intake, and genes to vitamin D status in Dutch older adults: The B-PROOF study. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016; (164): 168–176. <https://doi.org/10.1016/j.jsmb.2015.08.008>

10. Hoon EJ, Zietse R. Disorders of calcium and magnesium balance: a physiology-based approach. *Pediatr Nephrol*. 2013; (28–8): 1195–1206. <https://doi.org/10.1007/s00467-012-2350-2>
11. Valerie T. Discretionary fortification—a public health perspective. *Nutrients*. 2014; (6–10): 4421–4433. <https://doi.org/10.3390/nu6104421>
12. Коденцова В. М., Вржесинская О. А. Анализ отечественного и международного опыта использования обогащенных витаминами пищевых продуктов. *Вопр. питания*. 2016; (2): 31–50. Kodenцова V. M., Vrzhesinskaya O. A. Analiz otechestvennogo i mezhdunarodnogo opyta ispol'zovaniya obogashchennykh vitaminami pishchevykh produktov [Analysis of domestic and international experience in the use of vitamin-enriched foods]. *Vopr. pitaniya*. 2016; (2): 31–50. Russian.
13. Backstrand JR. The history and future of food fortification in the United States: a public health perspective. *Nutr. Rev*. 2002; (60–1): 15–26. <https://doi.org/10.1301/002966402760240390>
14. Gayer J, Smith G. Micronutrient fortification of food in Southeast Asia: recommendations from an expert workshop. *Nutrients*. 2015; (7–1): 646–658. <https://doi.org/10.3390/nu7010646>
15. Brown J, Sandmann A, Ignatius A, Amling M, Barvencik F. New perspectives on vitamin D food fortification based on a modeling of 25(OH)D concentrations. *Nutr J*. 2013; (12–1): 151. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-12-151>
16. Yang Z, Laillou A, Smith G, Schofield D, Moench-Pfanner R. A review of vitamin D fortification: implications for industrial programming in Southeast Asia. *Food Nutr Bull*. 2013; (34–2 Suppl): S81–S89. <https://doi.org/10.1177/156482651303425110>
17. Kaur P, Mishra SK, Mithal A. Vitamin D toxicity resulting from overzealous correction of vitamin D deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015; (83–3): 327–331. <https://doi.org/10.1111/cen.12836>
18. Gummin DD, Mowry JB, Beuhler MC, Spyker DA, Rivers LJ, Feldman R, Brown K, Nathaniel PTP, Bronstein AC, Weber JA. 2021 Annual Report of the National Poison Data System® (NPDS) from America's Poison Centers: 39th Annual Report. *Clin Toxicol (Phila)*. 2022; (60–12): 1381–1643. <https://doi.org/10.1080/15563650.2022.2132768>
19. Asif A, Farooq N. Vitamin D Toxicity, 2023 May 24. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. PMID: 32491799.
20. Jefferson A, Borges C. Evaluation of the safety, tolerability and plasma vitamin D response to long-term use of patented transdermal vitamin D patches in healthy adults: a randomised parallel pilot study. *BMJ Nutr Prev Health*. 2022; (5–2): 217–226. <https://doi.org/10.1136/bmjnp-2022-000471>
21. Хабаров С. В., Денисова О. В., Далинская А. В. Референтные значения статуса витамина D: почему все не так однозначно? Медицинский алфавит. Серия «Современная лаборатория». 2023; (23): 34–39. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2023-23-34-39> Khabarov S. V., Denisova O. V., Dalinskaya A. V. Referentnye znacheniya statusa vitamina D: pochemu vse ne tak odnoznachno? [Reference values of vitamin D status: why is everything not so clear?]. *Medicinskij alfavit. Seriya «Sovremennaya laboratoriya»*. 2023; (23): 34–39. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2023-23-34-39> Russian.
22. Pludowski P, Takacs I, Boyanova M, Belaya Z, Diaconu CC, Mokhort T, Zherdova N, Rosa I, Payer J, Pilz S. Clinical Practice in the Prevention, Diagnosis and Treatment of Vitamin D Deficiency: A Central and Eastern European Expert Consensus Statement. *Nutrients*. 2022; (14–7): 1483. <https://doi.org/10.3390/nu14071483>
23. McCullough PJ, Lehrer DS, Amend J. Daily oral dosing of vitamin D3 using 5000 TO 50,000 international units a day in long-term hospitalized patients: Insights from a seven year experience. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2019; (189): 228–239. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2018.12.010>
24. Хабаров С. В., Вислоцкий Н. А., Денисова О. В., Навасардянц Д. Г. Современные тенденции в аналитическом определении витамина D. Медицинский алфавит. Серия «Современная лаборатория». 2020; 1–5(419): 54–58. [https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-1-5\(419\)-54-58](https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-1-5(419)-54-58) Khabarov S. V., Viskolckij N. A., Denisova O. V., Navasardjanc D. G. Sovremennye tendencii v analiticheskom opredelenii vitamina D [Current trends in the analytical determination of vitamin D]. *Medicinskij alfavit. Seriya «Sovremennaya laboratoriya»*. 2020; 1–5(419): 54–58. [https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-1-5\(419\)-54-58](https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-1-5(419)-54-58) Russian.
25. Pludowski P, Grant WB, Karras SN, Zittermann A, Pilz S. Vitamin D Supplementation: A Review of the Evidence Arguing for a Daily Dose of 2000 International Units (50 µg) of Vitamin D for Adults in the General Population. *Nutrients*. 2024; (16–3): 391. <https://doi.org/10.3390/nu16030391>
26. Хабаров С. В., Денисова О. В., Далинская А. В. Роль дефицита и недостаточности витамина D у женщин в период гестации (обзор литературы). Вестник новых медицинских технологий. 2023; (30–3): 11–17. <https://doi.org/10.24412/1609-2163-2023-3-11-17> Khabarov S. V., Denisova O. V., Dalinskaya A. V. Rol' deficita i nedostatocnosti vitamina D u zhenshchin v period gestacii (obzor literatury) [The role of vitamin D deficiency and insufficiency in women during gestation (literature review)]. *Vestnik novykh medicinskih tekhnologij*. 2023; (30–3): 11–17. <https://doi.org/10.24412/1609-2163-2023-3-11-17> Russian.
27. Прегравидарная подготовка: Клинический протокол Междисциплинарной ассоциации специалистов репродуктивной медицины (МАРС). Версия 3.0. М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2023, 104 с. Pregravidarnaya podgotovka: Klinicheskij protokol Mezhdisciplinarnoj associacii specialistov reproduktivnoj mediciny (MARS). Versiya 3.0. M.: Redakciya zhurnala StatusPraesens, 2023, 104 s.
28. McDonnell SL, Baggerly KA, Baggerly CA, Aliano JL, French CB, Baggerly LL, Ebeling MD, Riffenberg CS, Goodier CG, Mateus Niño JF, Wineland RJ, Newman RB, Hollis BW, Wagner CL. Maternal 25(OH)D concentrations ≥ 40 ng/mL associated with 60% lower preterm birth risk among general obstetrical patients at an urban medical center. *PLoS One*. 2017; (12–7): e0180483. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180483>
29. Brodowski L, Burlakov J, Myerski AC, von Kaisenberg CS, Grundmann M, Hubel CA, von Versen-Höyneck F. Vitamin D prevents endothelial progenitor cell dysfunction induced by sera from women with preeclampsia or conditioned media from hypoxic placenta. *PLoS One*. 2014; (9–6): e98527. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098527>
30. Várbró S, Takács I, Túó L, Nas K, Sziva RE, Hetthéssy JR, Török M. Effects of Vitamin D on Fertility, Pregnancy and Polycystic Ovary Syndrome – A Review. *Nutrients*. 2022; (14–8): 1649. <https://doi.org/10.3390/nu14081649>
31. Adrien N, Orta OR, Nestoridi E, Carmichael SL, Yazdy MM; National Birth Defects Prevention Study. Early pregnancy vitamin D status and risk of select congenital anomalies in the National Birth Defects Prevention Study. *Birth Defects Res*. 2023; (115(3)): 290–301. <https://doi.org/10.1002/bdr2.2101>
32. Grundmann M, von Versen-Höyneck F. Vitamin D—roles in women's reproductive health? *Reprod Biol Endocrinol*. 2011; (9): 146. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-146>
33. Wang C, Gao J, Liu N, Yu S, Qiu L, Wang D. Maternal factors associated with neonatal vitamin D deficiency. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2019; (32–2): 167–172. <https://doi.org/10.1515/jpem-2018-0422>
34. Amon U, Yaguboglu R, Ennis M, Holick MF, Amon J. Safety Data in Patients with Autoimmune Diseases during Treatment with High Doses of Vitamin D3 According to the «Coimbra Protocol». *Nutrients*. 2022; (14–8): 1575. <https://doi.org/10.3390/nu14081575>
35. Lemke D, Klement RJ, Schweiger F, Schweiger B, Spitz J. Vitamin D Resistance as a Possible Cause of Autoimmune Diseases: A Hypothesis Confirmed by a Therapeutic High-Dose Vitamin D Protocol. *Front Immunol*. 2021; (12): 655739. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.655739>

Статья поступила / Received 15.03.24
Получена после рецензирования / Revised 15.03.24
Принята в печать / Accepted 15.03.24

Сведения об авторах

Замаховская Любовь Юрьевна, аспирант кафедры «Акушерство и гинекология»¹. E-mail: zama_87@mail.ru. ORCID: 0000-0001-8852-9037
Хабаров Сергей Вячеславович, д.м.н., доцент, проф. кафедры «Акушерство и гинекология»¹, проф. кафедры клинической лабораторной диагностики и патологической анатомии², гл. врач клиники³. E-mail: s.v.habarov@mail.ru. SPIN-code: 1896-1300. Scopus AuthorID: 57220038210., AuthorID: 1025053. Researcher ID: ABB-2726-2021. ORCID: 0000-0002-1736-9408
Волков Валерий Георгиевич, д.м.н., профессор, зав. кафедрой «Акушерство и гинекология»¹. E-mail: medins@tsu.tula.ru. ORCID: 0000-0002-7274-3837

¹ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет», Медицинский институт, г. Тула

²Академия постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», Москва

³ВитроКлиник, Сеть клиник ЭКО (геном), Группа компаний «Медма», Москва

Автор для переписки: Хабаров Сергей Вячеславович. E-mail: s.v.habarov@mail.ru

Для цитирования: Замаховская Л. Ю., Хабаров С. В., Волков В. Г. Оптимальный уровень витамина D как проблема современности. *Медицинский алфавит*. 2024; (4): 63–67. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-63-67>

About authors

Zamakhovskaya Lyubov Yu., postgraduate student at Dept of Obstetrics and Gynecology¹. E-mail: zama_87@mail.ru. ORCID: 0000-0001-8852-9037
Khabarov Sergey V., DM Sci (habil.), associate professor, professor at Dept of Obstetrics and Gynecology¹, professor at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics and Pathological Anatomy², chief physician of the clinic³. E-mail: s.v.habarov@mail.ru. SPIN code: 1896-1300. Scopus AuthorID: 57220038210., AuthorID: 1025053. Researcher ID: ABB-2726-2021. ORCID: 0000-0002-1736-9408
Volkov Valery G., DM Sci (habil.), professor, head of Dept of Obstetrics and Gynecology¹. E-mail: medins@tsu.tula.ru. ORCID: 0000-0002-7274-3837

¹Medical Institute of Tula State University, Tula, Russia

²Academy of Postgraduate Education of the Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Care and Medical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Moscow

³VitroClinic, Network of Clinics for Assisted Reproduction "Genom", Medical Group "Medma", Moscow, Russia

Corresponding author: Khabarov Sergey V. E-mail: s.v.habarov@mail.ru

For citation: Zamakhovskaya L. Yu., Khabarov S. V., Volkov V. G. Optimal level of health D as a modern problem. *Medical alphabet*. 2024; (4): 63–67. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-63-67>