

Серии научно-практических рецензируемых журналов



Медицинский АЛФАВИТ

26 (363) 2018



Modern
LABORATORY

MEDICAL ALPHABET
Russian Professional Medical Journal

Современная ЛАБОРАТОРИЯ

ТОМ № 3

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

Наш индекс в каталоге «РОСПЕЧАТЬ» 36228

www.medalfavit.ru



Витал Девелопмент Корпорэйшн

АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»
тел./факс +7 (812) 702-10-86 702-10-87
e-mail: sale@vital-spb.ru www.vital-spb.ru

Автоматический анализатор для биохимических исследований

VitaLine 200

Компактный:

415 (Ш) x 565 (Г) x 385 (В), 28 кг.

Производительность: 200 тестов в час.

40 позиций для образцов, стандартов, контролей по выбору пользователя.

60 реакционных кювет, 9 светофильтров в диапазоне от 340 до 690 нм.

Минимальный объем реакционной смеси на анализ - 152 мкл.

Малый мертвый объем реагента.

Скоро
в продаже



СДЕЛАНО
В
РОССИИ

Контрольные материалы для оценки качества анализа мочи

Аналиты

α-амилаза	мочевина
глюкоза	общий белок
кальций	неорганический фосфор
креатинин	хлориды
микроальбумин	натрий
мочевая кислота	магний

Наборы контрольных материалов «КОНТРОЛЬ МОЧИ-ВИТАЛ-НОРМА» и «КОНТРОЛЬ МОЧИ-ВИТАЛ-ПАТОЛОГИЯ» разработаны для контроля правильности и воспроизводимости результатов при определении содержания в моче человека аналитов.

«КОНТРОЛЬ МОЧИ-ВИТАЛ-НОРМА» и «КОНТРОЛЬ МОЧИ-ВИТАЛ-ПАТОЛОГИЯ»

- Лиофилизированы для увеличения стабильности при хранении.
- Указаны диапазоны значений содержания аналитов и ожидаемые средние.
- Стабильны в течение 5 дней после растворения в воде при хранении при 2-8 °С и в течение 14 дней при хранении при - 20 °С.
- Данные контрольные материалы подходят как для ручных методик, так и для исследований, проводимых с использованием автоматических анализаторов.

Современная лаборатория Том №3
Медицинский алфавит № 26 (363) 2018
www.medalfavit.ru

Издатель: издательство медицинской литературы ООО «Альфавит»
Тел.: (495) 616-48-00, 221-76-48
E-mail: medalfavit@mail.ru

Учредитель и главный редактор издательства
Т.В. Сеница

Почтовый адрес: 129515, г. Москва, а\я 94

Адрес редакции: 1129515, г. Москва, ул. Академика
Королева, д. 13, стр. 1, подъезд 4, к. 56, офис. 804 А

Главный редактор серии журналов
«Медицинский алфавит» А.С. Ермолов

Объединенный редакционный совет журнала
«Медицинский алфавит»

Акимкин Василий Геннадьевич, акад. РАН, д.м.н., проф.
Амхадова Малкан Абдурашидовна, д.м.н., проф.
Балан Вера Ефимовна, д.м.н., проф.
Брико Николай Иванович, д.м.н., проф.
Бутров Андрей Валерьевич, д.м.н., проф.
Вавилова Татьяна Владимировна, д.м.н., проф.
Голубев Валерий Леонидович, д.м.н., проф.
Громова Ольга Алексеевна, д.м.н., проф.
Данилов Алексей Борисович, д.м.н., проф.
Евдокимов Евгений Александрович, д.м.н., проф.
Ермолов Александр Сергеевич, д.м.н., проф.
Журавлева Марина Владимировна, д.м.н., проф.
Козлов Игорь Александрович, д.м.н., проф.
Королева Ирина Станиславовна, д.м.н., проф.
Крихели Нателла Ильинична, д.м.н., проф.
Кузнецова Ирина Всеволодовна, д.м.н., проф.
Кулаков Анатолий Алексеевич, акад. РАН, д.м.н., проф.
Малеев Виктор Васильевич, акад. РАН, д.м.н., проф.
Мартьянов Тамила Витальевна, д.м.н., проф.
Михин Вадим Петрович, д.м.н., проф.
Оганов Рафаэль Гегамович, д.м.н., проф.
Орлова Наталья Васильевна, д.м.н., проф.
Остроумова Ольга Дмитриевна, д.м.н., проф.
Плавунин Николай Филиппович, д.м.н., проф.
Проценко Денис Николаевич, д.м.н., проф.
Покровский Валентин Иванович, акад. РАН, д.м.н., проф.
Покровский Вадим Валентинович, акад. РАН, д.м.н., проф.
Скоромец Александр Анисимович, акад. РАН, д.м.н., проф.
Стручков Петр Владимирович, д.м.н., проф.
Стрюк Раиса Ивановна, д.м.н., проф.
Улитовский Сергей Борисович, д.м.н., проф.
Ушаков Рафаэль Васильевич, д.м.н., проф.
Шилова Маргарита Викторовна, д.м.н., проф.
Щербо Сергей Николаевич, д.б.н., проф.
Эмануэль Владимир Леонидович, д.м.н., проф.

Председатель редакционного совета журнала
«Медицинский алфавит» серии «Современная
лаборатория»: С.Н. Щербо

Руководитель отдела рекламы и маркетинга:
Т.Е. Чикмарева, medalfavit@bk.ru

Руководитель отдела продвижения,
распространения и выставочной деятельности
Б.Б. Будович, medalfavit_pr@bk.ru

Редакция оставляет за собой право сокращения Редакция
оставляет за собой право сокращения и стилистической
правки текста без дополнительных согласований с авторами.
Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения
авторов опубликованных материалов. Редакция не несет
ответственности за последствия, связанные с неправильным
использованием информации.

Журнал зарегистрирован Министерством РФ по делам печати,
теле-, радиовещания и средств массовых коммуникаций.
Рег. номер ПИ № 77-11514 от 04.01.2002.

Уст. тираж 12 000. Формат А4. Цена договорная.

При перепечатке ссылка на журнал «МА» обязательна. За
содержание рекламы ответственность несет рекламо-
датель. За достоверность сведений, изложенных в статьях,
ответственность несет автор.

Подписан в печать 27 сентября 2018 года.

Наш индекс в каталоге «РОСПЕЧАТЬ»
36228 (комплект)

Содержание

- 5 Методология ведомственного контроля качества и безопасности
медицинской деятельности в системе здравоохранения г. Москвы
Д.В. Мелик-Гусейнов, Л.А. Ходырева, П.С. Турзин, А.В. Эмануэль
- 10 Лабораторные маркеры в прогнозе неблагоприятных коронарных
событий у пациентов с ишемической болезнью сердца, подвергшихся
чрескожным коронарным вмешательствам
Е.Ю. Васильева, М.А. Карпенко, О.С. Мельничникова, Е.А. Стаброва,
Е.Е. Казакова, Т.В. Вавилова
- 18 Лабораторные маркеры гормонального баланса организма
Л.Б. Дрыгина
- 22 Практический подход к управлению гемолизированными образцами
в лаборатории
О.А. Клименкова, В.П. Пашкова, Т.В. Вавилова, В.С. Берестовская
- 26 Изменения показателей тромбоэластограммы у пациентов с тяжелым
сепсисом и септическим шоком
А.В. Михеева, В.С. Афончиков, В.А. Волчков
- 32 Физиологическое и прогностическое значение тромбоцитов без гранул
М.С. Макаров
- 38 Роль β -кетона крови при мониторинге сахарного диабета и некоторых
других видов патологии
И.А. Волкова, В.А. Беспалова, М.И. Савина
- 42 Роль гепсидина, как основного регулятора метаболизма железа,
в дифференциальной диагностике железодефицитных синдромов
у онкологических больных с колоректальным раком
В.Н. Блиндарь, Г.Н. Зубрихина, И.И. Матвеева
- 47 Микроциркуляторные расстройства и роль серотонина в формировании
сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса
М.В. Куркина, А.П. Ройтман, Н.Г. Ракова, А.Г. Автандилов
- 52 Исследование влияния липосомальной формы α -липоевой кислоты
на систему гемостаза человека
В.А. Шелконогов, К.С. Саврас, К.Н. Жигалова, А.В. Чеканов,
О.А. Баранова, К.Д. Казаринов, Г.М. Сорокумова, Н.С. Шастина,
В.П. Мудров, Э.Ю. Соловьева, А.И. Федин
- 58 Современное течение криптоспориоза, диагностика и лечение
Н.И. Леонтьева, В.С. Филиппов, Н.М. Грачева, Е.И. Лиханская,
А.И. Соловьева
- 62 Подписка

Contents

- 5 Methodology of departmental quality control of medical activities in Moscow city
healthcare system
D. V. Melik-Huseynov, L. A. Khodyreva, P. S. Turzin, A. V. Emanuel
- 10 Laboratory markers in prognosis of adverse coronary events in patients with
cardiovascular disease who underwent percutaneous coronary interventions
E. Yu. Vasilyeva, O. S. Melnichnikova, E. E. Kazakova, M. A. Karpenko, T. V. Vavilova
- 18 Laboratory markers of body's hormonal balance
L. B. Drygina
- 22 Practical approach to managing hemolyzed samples in laboratory
O. A. Klimenkova, V. P. Pashkova, T. V. Vavilova, V. S. Berestovskaya
- 26 Changes in indices of thromboelastogram in patients with severe sepsis and septic shock
A. V. Mikheeva, V. S. Afonchikov, V. A. Volchkov
- 32 Physiological and prognostic value of platelets without granules
M. S. Makarov
- 38 Role of β -ketone in monitoring of diabetes mellitus and some other types of pathology
I. A. Volkova, V. A. Bepalova, M. I. Savina
- 42 Role of hepcidin as main regulator of iron metabolism in differential diagnosis of iron
deficiency syndromes in cancer patients with colorectal cancer
V. N. Blindar, G. N. Zubrikhina, I. I. Matveeva
- 47 Microcirculatory disorders and role of serotonin in formation of heart failure with
preserved ejection fraction
M. V. Kurkina, A. P. Roytman, N. G. Rakova, A. G. Avtandilov
- 52 Study of liposomal form of alpha-lipoic acid effect on human hemostatic system
V. A. Shchelkonogov, K. S. Savras, K. N. Zhigalova, E. Yu. Solovyova, O. A. Baranova,
A. V. Chekanov, K. D. Kazarinov, V. P. Mudrov, A. I. Fedin
- 58 Current course of cryptosporidiosis, it's diagnosis and treatment
N. I. Leontieva, V. S. Filippov, N. M. Gracheva, E. I. Likhanskaya, A. I. Solovyova
- 62 Subscription

С 2008 года журнал «Медицинский алфавит» включен в Научную электронную библиотеку
и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), имеет Импакт-фактор.

Редакционная коллегия



Главный редактор серии «Современная лаборатория»

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Editorial Board

The Editor in Chief

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

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

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

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

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

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

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

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

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

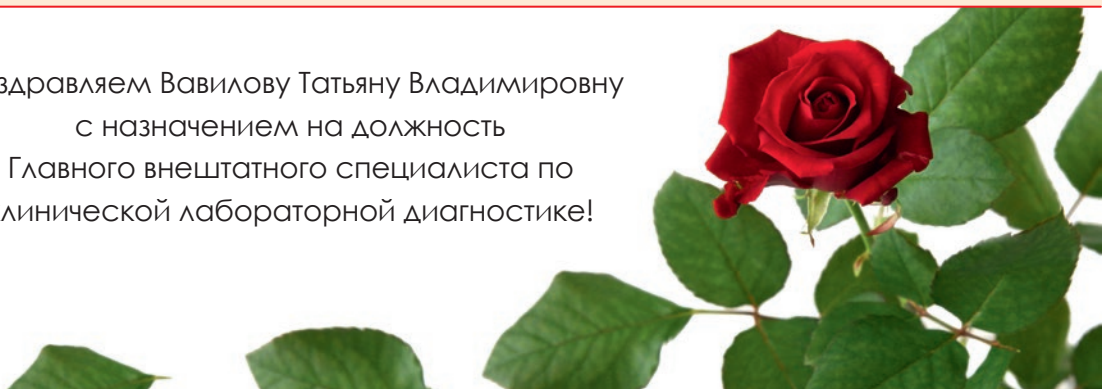
Teryokhina N. A., MD, DMSci, professor, Perm State Medical Academy n. a. acad. E. A. Wagner, Perm

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

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



Поздравляем Вавилову Татьяну Владимировну
с назначением на должность
Главного внештатного специалиста по
клинической лабораторной диагностике!



Методология ведомственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности в системе здравоохранения г. Москвы

Д. В. Мелик-Гусейнов, к. фарм. н., доцент директор

Л. А. Ходырева, д.м.н., зам. директора по науке

П. С. Турзин, д.м.н., проф., заслуженный врач Российской Федерации, в.н.с.

А. В. Эмануэль, к.т.н., начальник отдела

ГБУ г. Москвы «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента» Департамента здравоохранения г. Москвы

Methodology of departmental quality control of medical activities in Moscow city healthcare system

D. V. Melik-Huseynov, L. A. Khodyreva, P. S. Turzin, A. V. Emanuel

Research Institute for Healthcare Organization and Medical Management, Moscow, Russia

Резюме

Рассматривается содержание системы ведомственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности, организованной и реализуемой Департаментом здравоохранения города Москвы применительно к подведомственным государственным медицинским организациям наряду с государственным и внутренним контролем.

Ключевые слова: качество и безопасность медицинской деятельности, медицинские организации, система здравоохранения, ведомственный контроль.

Summary

The content of the system of departmental control of quality and safety of the medical activity organized and realized by Department of health care of the city of Moscow in relation to the subordinated state medical organizations, along with the state and internal control is considered.

Key words: quality of medical activity, medical organizations, health care system, departmental control.

Федеральный уровень управления контролем качества и безопасности медицинской деятельности

Контроль качества и безопасности медицинской деятельности в стране дифференцируется на государственный, ведомственный, внутренний и регламентируется статьями 88, 89 и 90 Федерального закона «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21.11.2011 № 323-ФЗ (см. табл.).

Государственный контроль качества и безопасности медицинской деятельности осуществляется органами государственного контроля в соответствии с их полномочиями [4, 7].

Федеральными органами исполнительной власти и органами исполнительной власти субъектов РФ осуществляется ведомственный контроль качества и безопасности медицинской деятельности подведомственных им органов и организаций посредством осуществления полномочий, предусмотренных пп. 3, 5 и 6 ч. 2 ст. 88 закона.

Внутренний контроль качества и безопасности медицинской деятельности осуществляется органами, организациями государственной, муниципальной и частной систем здравоохранения в порядке, установленном руководителями указанных органов, организаций.

На сегодняшний день действует «Порядок организации и проведения ведомственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности», утвержденный приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 21 декабря 2012 года № 1340н.

Ведомственный контроль включает проведение проверок:

- 1) соблюдения медицинскими организациями порядков оказания медицинской помощи и стандартов медицинской помощи;
- 2) соблюдения медицинскими организациями безопасных условий труда, требований по безопасному применению и эксплуатации медицинских изделий и их утилизации (уничтожению);

- 3) соблюдения медицинскими работниками, руководителями медицинских организаций, фармацевтическими работниками и руководителями аптечных организаций ограничений, применяемых к ним при осуществлении профессиональной деятельности.

Ведомственный контроль осуществляется уполномоченными должностными лицами органа исполнительной власти (далее — должностные лица) в соответствии с их должностными обязанностями на постоянной основе либо по решению руководителя или заместителя руководителя органа исполнительной власти на основании приказа органа исполнительной власти. Мероприятия по осуществлению ведомственного контроля должны быть включены в планы работы органов исполнительной власти.

Ведомственный контроль осуществляется посредством плановых и внеплановых документарных и (или) выездных проверок.

Таблица
Виды, цели, задачи и полномочия государственного, ведомственного и внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности

№ п/п	Содержание	Вид контроля		
		Государственный	Ведомственный	Внутренний
1	Полномочия, цели и задачи	Осуществление путем: 1) проведения проверок соблюдения органами государственной власти Российской Федерации, органами местного самоуправления, государственными внебюджетными фондами, медицинскими организациями и фармацевтическими организациями прав граждан в сфере охраны здоровья; 2) лицензирования медицинской деятельности в соответствии с законодательством Российской Федерации о лицензировании отдельных видов деятельности; 3) проведения проверок применения медицинскими организациями порядков оказания медицинской помощи и стандартов медицинской помощи; 4) проведения проверок соблюдения медицинскими организациями порядков проведения медицинских экспертиз, диспансеризации, медицинских осмотров и медицинских освидетельствований; 5) проведения проверок соблюдения медицинскими организациями требований по безопасному применению и эксплуатации медицинских изделий и их утилизации (уничтожению); 6) проведения проверок соблюдения медицинскими работниками, руководителями медицинских организаций, фармацевтическими работниками и руководителями аптек организаций ограничений, применяемых к ним при осуществлении профессиональной деятельности в соответствии с настоящим ФЗ; 7) проведения проверок организаций и осуществления ведомственного контроля и внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности органами и организациями, указанными в части 1 ст. 89 и в ст. 90 настоящего ФЗ	Полномочия: 1) проведение проверок применения медицинскими организациями порядков оказания медицинской помощи и стандартов медицинской помощи; 2) проведение проверок соблюдения медицинскими организациями безопасных условий труда, требований по безопасному применению и эксплуатации медицинских изделий и их утилизации (уничтожению); 3) проведение проверок соблюдения медицинскими работниками, руководителями медицинских организаций, фармацевтическими работниками и руководителями аптек организаций ограничений, применяемых к ним при осуществлении профессиональной деятельности в соответствии с настоящим ФЗ. Задачи: 1) предупреждение, выявление и пресечение нарушений требований к обеспечению качества и безопасности медицинской деятельности, установленных законодательством Российской Федерации об охране здоровья граждан; 2) принятие мер по пресечению и (или) устранению последствий и причин нарушений, выявленных в рамках государственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности; 3) обеспечение качества медицинской помощи, оказываемой в медицинских организациях, подведомственных органам исполнительной власти; 4) определение показателей качества деятельности подведомственных органов и организаций; 5) соблюдение объемов, сроков и условий оказания медицинской помощи в медицинских организациях, подведомственных органам исполнительной власти; 6) создание системы оценки деятельности медицинских работников, участвующих в оказании медицинских услуг	Цель: обеспечение прав пациентов на получение необходимого объема и надлежащего качества медицинской помощи в медицинских организациях в соответствии с установленными порядками оказания и стандартами медицинской помощи. Задачи: 1) выявление дефектов в организации лечебно-диагностического процесса, факторов, повлекших за собой снижение качества оказания медицинской помощи, и установление причин их возникновения; 2) выбор оптимальных управленческих решений и проведение мероприятий, направленных на предупреждение возникновения дефектов в организации и оказании медицинской помощи, повышение эффективности использования ресурсов медицинской организации, в том числе кадровых и материально-технических средств; 3) предупреждение, выявление и пресечение нарушений требований безопасности условий труда, требований по безопасному применению и эксплуатации медицинских изделий и их утилизации (уничтожению); 4) предупреждение, выявление и пресечение нарушений медицинскими и фармацевтическими работниками, руководителями медицинских организаций ограничений, применяемых к ним при осуществлении профессиональной деятельности

Документарные проверки проводятся путем анализа документов, представленных подведомственными органами и организациями, в том числе статистической отчетности и данных мониторинга.

Проверки при осуществлении ведомственного контроля по объему подразделяются на целевые и комплексные.

При проверке соблюдения медицинскими организациями порядков оказания медицинской помощи оцениваются:

- 1) соблюдение выполнения этапов, условий и сроков оказания меди-

цинской помощи по соответствующему виду, профилю заболеваний или состояний;

- 2) соответствие организации деятельности медицинской организации, ее структурного подразделения, врача требованиям положений, регламентированных порядками оказания медицинской помощи;
- 3) соблюдение требований стандартов оснащения медицинской организации, ее структурных подразделений;
- 4) соответствие штатного расписания рекомендуемым штатным нормативам;

- 5) соответствие деятельности организации иным установленным положениям, исходя из особенностей оказания медицинской помощи.

При проверке соблюдения медицинскими организациями стандартов медицинской помощи оцениваются:

- 1) соблюдение выполнения медицинских услуг в зависимости от усредненных показателей частоты и кратности их применения, обоснованность назначения медицинских услуг, имею-

- щих усредненную частоту менее 1,0, полнота выполнения услуг с усредненной частотой 1,0;
- 2) обоснованность и полнота назначения лекарственных препаратов, компонентов крови;
- 3) обоснованность и полнота назначения имплантируемых в организм человека медицинских изделий;
- 4) обоснованность и полнота назначения видов лечебного питания, включая специализированные продукты лечебного питания;
- 5) иные положения, исходя из особенностей заболевания (состояния).

При проверке соблюдения медицинскими организациями безопасных условий труда, требований по безопасному применению и эксплуатации медицинских изделий и их утилизации (уничтожению) оцениваются:

- 1) соответствие норматива численности службы охраны труда требованиям трудового законодательства Российской Федерации;
- 2) уровень подготовки специалистов по охране труда и повышение их квалификации;
- 3) организация обучения работников безопасным методам и приемам труда и т. д.

При проверке соблюдения медицинскими работниками руководителями медицинских организаций, фармацевтическими работниками и руководителями аптек организаций ограничений, применяемых к ним при осуществлении профессиональной деятельности, оцениваются:

- 1) наличие договоров о проведении клинических исследований лекарственных препаратов, клинических испытаний медицинских изделий, а также осуществление медицинским работником педагогической и (или) научной деятельности;
- 2) договоры о поставках лекарственных препаратов, медицинских изделий на предмет наличия в них условий о назначении или рекомендациях пациентам либо о предложении населению определенных лекарственных препаратов, медицинских изделий;

- 3) утвержденный администрацией медицинской организации порядок участия представителей организаций, занимающихся разработкой, производством и (или) реализацией лекарственных препаратов, медицинских изделий, организаций, обладающих правами на использование торгового наименования лекарственного препарата, организаций оптовой торговли лекарственными средствами, аптечных организаций (их представителей, иных физических и юридических лиц, осуществляющих свою деятельность от имени этих организаций) (далее соответственно — компания, представитель компании) в собраниях медицинских работников и иных мероприятиях, связанных с повышением их профессионального уровня или предоставлением информации, предусмотренной ч. 3 ст. 64 ФЗ «Об обращении лекарственных средств» и ч. 3 ст. 96 Закона и т. д.

К проверкам при осуществлении ведомственного контроля могут привлекаться научные и иные организации, ученые и специалисты (далее — экспертные организации, эксперты), за исключением лиц, состоящих с подведомственным органом или организацией в трудовых или иных договорных отношениях.

Проверки проводятся на основании приказа руководителя, заместителя руководителя органа исполнительной власти.

По результатам проверок в рамках ведомственного контроля должностными лицами органа исполнительной власти, проводящими проверку, составляется акт проверки. К акту проверки прилагаются протоколы или заключения по результатам проведенных исследований, экспертиз, анализов, оценок, объяснения работников проверяемого органа или организации, на которых возлагается ответственность за выявленные нарушения, предписания об устранении выявленных нарушений и иные связанные с результатами проверки документы или их копии.

Управление контролем качества и безопасности медицинской деятельности в г. Москве

Департаментом здравоохранения г. Москвы в соответствии с Федеральным законом от 21 ноября 2011 года № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» и приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 21 декабря 2012 года № 1340н «Об утверждении порядка организации и проведения ведомственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности» разработаны:

– *Приказ Департамента здравоохранения г. Москвы от 31.12.2013 № 1350 «Об организации ведомственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности»*, утверждающий:

- 1. Положение об организации и проведении ведомственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности в медицинских и аптечных организациях, подведомственных Департаменту здравоохранения города Москвы.
- 2. Форму Акта проверки органом ведомственного контроля подведомственной медицинской организации / аптечной организации.
- 3. Форму акта ведомственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности.
- 4. Форму предписания об устранении выявленных нарушений при осуществлении ведомственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности. Форму запроса об истребовании документов (информации) при осуществлении документарных проверок ведомственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности.
- 5. Форму Плана проведения плановых проверок ведомственного контроля качества и безопасности оказания медицинской деятельности в медицинских и аптечных организациях, подведомственных Департаменту здравоохранения города Москвы.

– *Приказ Департамента здравоохранения г. Москвы от 16 августа 2013 года № 820 «О совершенствовании*

вании организации внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности в медицинских организациях государственной системы здравоохранения города Москвы» (с изменениями на 15 декабря 2017 года), утверждающий «Рекомендации по организации внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности в медицинских организациях государственной системы здравоохранения города Москвы» и регламентирующий главным врачам медицинских организаций государственной системы здравоохранения города Москвы разработать и утвердить порядок организации внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности вверенной медицинской организации.

– *Приказ Департамента здравоохранения города Москвы от 17 августа 2015 года № 688 «О проведении независимой оценки качества оказания услуг медицинскими организациями, участвующими в реализации Территориальной программы государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи в городе Москве»*, утверждающий:

1. Положение о проведении независимой оценки качества оказания услуг медицинскими организациями, участвующими в реализации Территориальной программы государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи в городе Москве;
2. Типовой перечень информационных материалов для проведения независимой оценки качества оказания услуг медицинскими организациями.

– *Приказ Департамента здравоохранения города Москвы от 20 июня 2017 года № 446 «О внесении изменений в приказ Департамента здравоохранения города Москвы от 17.08.2015 № 688, наделяющий ГБУ г. Москвы «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здраво-*

охранения города Москвы» полномочиями по размещению от имени Департамента здравоохранения города Москвы информации о результатах независимой оценки качества оказания услуг медицинскими организациями государственной системы здравоохранения города Москвы на официальном сайте Департамента здравоохранения города Москвы и официальном сайте для размещения информации о государственных и муниципальных учреждениях в сети Интернет bus.gov.ru и своевременной актуализации, а также регламентирующий обеспечить техническую возможность заполнения гражданами Анкеты для независимого опроса мнения граждан в виде интерактивной формы на официальном сайте Департамента здравоохранения в информационно-телекоммуникационной сети Интернет.

Наряду с этим Приказом Департамента здравоохранения города Москвы от 15.07.2016 № 622 «О внедрении Стандарта качества управления ресурсами в государственных учреждениях Департамента здравоохранения города Москвы», дан старт очередному этапу внедрения в городе Москве инструментов оценки качества управления ресурсами медицинских организаций.

Кроме реализации актуализированных нормативно-правовых актов Российской Федерации и Правительства города Москвы в области контроля качества и безопасности медицинской деятельности, медицинские организации, подведомственные Департаменту здравоохранения города Москвы, при создании системы менеджмента качества медицинской помощи в медицинской организации используют введенные Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии:

- ГОСТ Р 1.12–2004. Стандартизация в Российской Федерации. Термины и определения;
- ГОСТ Р 1.0–2012. Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения (с Изменением N 1);
- ГОСТ Р ИСО 9001–2015. Системы менеджмента качества. Требования;

- ГОСТ Р 53092–2008. Системы менеджмента качества. Рекомендации по улучшению процессов в учреждениях здравоохранения;
- международный стандарт ИСО 9001:2015. «Системы менеджмента качества. Требования» (ISO 9001:2015 Quality management systems — Requirements, IDT).

Также медицинские организации, подведомственные Департаменту здравоохранения города Москвы, активно участвуют в сертификации систем менеджмента качества на соответствие стандарту ISO 9001.

Так, например, все больше медицинских организаций, подведомственных Департаменту здравоохранения города Москвы, стремятся организовать деятельность своих медицинских лабораторий в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 15189. Это является доказательством технической компетентности и наличия действующей системы менеджмента качества лабораторных услуг сотрудниками ГБУ города Москвы «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы» подготовлена серия из четырех методических пособий, в которых обобщен практический опыт лабораторий в области разработки и внедрения систем менеджмента качества, представленный в виде пошаговых инструкций, а также раскрыты ключевые моменты организации деятельности лабораторий.

Наряду с этим все большей популярностью пользуется подход к управлению качеством в здравоохранении, разработанный ФГБУ «ЦМИКЭЭ» РЗН:

- «Предложения по организации внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности в медицинской организации (стационаре)» [5];
- «Предложения (практические рекомендации) по организации внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности в поликлинике» [2].

Если стандарты ISO серии 9000 больший акцент делают на управленческих процессах, то Предложения... являются отраслевым стандартом и акцентируют внимание на медицинских процессах. Например, госпитальная эпидемиология, идентификация пациента, хирургическая безопасность и т.д.

Предложения... — это адаптированные под российскую систему законодательства стандарты JCI и ряд национальных систем аккредитации медицинских организаций (Нидерланды, Австрия и т.д.).

Применение Предложений во многом меняет ментальность работы медицинского персонала, формирует реально действующую пациент-центрированную организационную культуру. К примеру, одна из задач — внедрение комплексного менеджмента боли, сочетающего в себе стандартизацию (применение шкалы оценки боли и стандартных схем обезболивания) и индивидуальные подходы к обезболиванию.

Основная задача данного подхода — минимизация рисков для пациента. Применение хирургических чек-листов; алгоритмов идентификации пациента, систем внутривенных вливаний; стандартизаций антибиотикопрофилактики и лечения — небольшой перечень направлений, которые должны быть выполнены в процессе внедрения требований данного стандарта.

Первый раздел стандарта — требования по управлению персоналом, где применены современные подходы в этой наиважнейшей области: управление кадровым потенциалом; специальное обучение навыкам консультирования, коммуникаций с пациентами; деловые коммуникации; управление конфликтами; внутреннее постоянное обучение; создание «школы» наставников и т.д.

Предложения... выполнены в виде чек-листа, который применяется как для внутреннего контроля, так и экспертами-аудиторами.

Экспертами выступают сотрудники медицинских организаций, которые уже внедрили данный стандарт в практику. Тем самым обеспечивается обмен знаниями между организациями, а также аудиты проходят

в практическом русле, полностью отвечающем задачам обеспечения качества и безопасности медицинской помощи.

Выполнение законодательства — наиважнейшая задача, обеспечивающая гарантированный уровень качества и безопасности медицинской деятельности. Его должны выполнять все без исключения организации.

Ведомственные требования могут быть несколько жестче. Но для желающих быть лидерами необходимо использование наиболее продвинутых, в том числе добровольных стандартов.

Одновременное применение ISO 9001 и Предложений... при условии жесткого соблюдения законодательных и ведомственных требований позволяет организациям формировать пациент-центрированную оргкультуру, управлять рисками оказания медицинской помощи, при этом оптимизировать свою деятельности и достигать экономической эффективности [6].

Заключение

Организованная в соответствии с существующими нормативно-правовыми документами и реализованная Департаментом здравоохранения города Москвы система ведомственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности применительно к подведомственным государственным медицинским организациям, осуществляется наряду с государственным и внутренним контролем.

Эта система ведомственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности эффективно функционирует уже более пяти лет.

О ее несомненной эффективности свидетельствуют, например, следующие факты за период с 2012 по 2014 г. [1]:

- полный анализ первичной заболеваемости населения г. Москвы показал, что заболеваемость имеет тенденцию к снижению во всех основных возрастных группах (темпы убыли 8,0–11,5%). Структура первичной заболеваемости

во всех основных возрастных группах за исследуемый период не менялась;

- по всем приоритетным причинам смертности всего населения отмечена тенденция к убыли (темпы убыли 1,75–17,97%) или стабильность показателя и т.д.

За последние годы значительно улучшилось мнение населения г. Москвы о качестве оказываемых ему медицинских услуг.

Наряду с этим следует отметить, что в 2018 году Москва вошла в ТОП-5 в организованном консалтинговым агентством PWC рейтинге среди 50 мегаполисов страны по уровню развития системы здравоохранения города [3].

Список литературы

1. Андреева Е. Е., Онищенко Г. Г., Клейн С. В. Гигиеническая оценка приоритетных факторов риска среды обитания и состояния здоровья населения г. Москвы // Анализ риска здоровью. — 2016. — № 3. — С. 23–34.
2. Иванов И. В., Шарикадзе Д. Т., Боброва С. В. Предложения (практические рекомендации) по организации внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности в медицинской организации (поликлинике) // Вестник Росздравнадзора. — 2017. — № 4. — С. 79–82.
3. Лучший город земли. Москва вошла в топ-5 мегаполисов по уровню медицины. Консалтинговое агентство PWC сказало свое слово. URL: http://www.tvc.ru/playlist/show/id/1/episode/55863?source=DA&utm_source=DA&utm_medium=cpc.
4. Мурашко М. А., Иванов И. В., Панин А. И. Безопасность пациента: мировые тенденции и отечественный опыт // Управление качеством в здравоохранении. — 2018. — № 2. — С. 35–41.
5. Предложения (практические рекомендации) по организации внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности в медицинской организации (стационаре) (утв. Росздравнадзором) — М., 2015. — 116 с.
6. Эмануэль А. В., Кочеткова А. И., Швабский О. Р., Иванов Г. А., Аверьянова Е. В., Ефимушкина О. А. Управление организационным поведением в медицинском учреждении // Менеджмент качества в медицине. — 2018. — № 1. — С. 116–120.
7. Эмануэль А. В., Цибина С. М., Аверьянова Е. В., Авраменко А. В., Иванов Г. А., Швабский О. Р., Бошквич Р., Дуванова Е. А., Каленская А. В. Методические аспекты организации и проведения внутренних аудитов в медицинских организациях // Медицинский алфавит. — 2017. — № 20 (317). — С. 15–24.



Лабораторные маркеры в прогнозе неблагоприятных коронарных событий у пациентов с ишемической болезнью сердца, подвергшихся чрескожным коронарным вмешательствам

Е. Ю. Васильева, аспирант кафедры лабораторной медицины и генетики, зав. центральной клиничко-диагностической лабораторией

М. А. Карпенко, зам. директора по научной и клинической работе

О. С. Мельничникова, с.н.с. научно-исследовательской лаборатории клинической ангиологии института сердца и сосудов

Е. А. Стаброва, врач клинической лабораторной диагностики центральной клиничко-диагностической лаборатории

Е. Е. Казакова, врач клинической лабораторной диагностики центральной клиничко-диагностической лаборатории

Т. В. Вавилова, д.м.н., проф., зав. кафедрой лабораторной медицины и генетики

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия

Laboratory markers in prognosis of adverse coronary events in patients with cardiovascular disease who underwent percutaneous coronary interventions

E. Yu. Vasilyeva, O. S. Melnichnikova, E. E. Kazakova, M. A. Karpenko, T. V. Vavilova

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

Резюме

Цель. Анализ концентрации лабораторных маркеров у пациентов с ишемической болезнью сердца до операции и в течение года после стентирования коронарных артерий. **Материал и методы.** В исследование был включен 71 пациент, перенесший чрескожное коронарное вмешательство (58 пациентов с неосложненным послеоперационным течением и 13 с осложнениями стентирования). Всем включенным в исследование был выполнен клинический анализ крови с автоматическим подсчетом лейкоцитарной формулы, измерены уровни С-реактивного белка, фибриногена, мочевой кислоты, показателей липидного обмена, с расчетом коэффициента атерогенности, концентрации секреторной фосфолипазы А2 и уровни антител к окисленным липопротеинам низкой плотности до операции и через 3, 6 и 12 месяцев после вмешательства. **Результаты.** Значимых различий в уровне периферических биомаркеров в группах с благоприятным и неблагоприятным вариантами течения послеоперационного периода выявлено не было. Показаны большая вариабельность значений маркеров воспаления на протяжении всего периода наблюдения и повышение уровня секреторной фосфолипазы А2 через 6 месяцев после чрескожных коронарных вмешательств в группе с последующими осложнениями стентирования ($p < 0,05$). Пациенты с неблагоприятным течением послеоперационного периода характеризуются более низким уровнем антител к окисленным ЛПНП, с меньшим коэффициентом вариаций по сравнению с группой контроля. **Заключение.** Определение активности секреторной фосфолипазы А2 (IIA) в сыворотке крови после ЧКВ может быть полезно в качестве прогностического маркера для идентификации пациентов с повышенным риском неблагоприятных коронарных событий.

Ключевые слова: секреторная фосфолипаза А2, чрескожные коронарные вмешательства, стентирование коронарных артерий, ишемическая болезнь сердца, кардиальные маркеры, сердечно-сосудистые заболевания.

Summary

Objective. Study analysis on the concentration of the laboratory markers in patients with cardiovascular disease (CVD) before percutaneous coronary intervention (PCI) and within a year after coronary stent introduction. **Material and methods.** This article presents the data collected through annual (one-year) observation of 71 patients after they had undergone PCI (58 patients, who didn't have any complications, and 13, who got stenosis or clinical significant stenosis in a new site). All participants of the study had their investigated clinical blood test with automatic counting of the leukocyte formula, C-reactive protein, fibrinogen, uric acid, markers of lipid metabolism, calculating the coefficient of atherogenicity, the concentration of secretory phospholipase A2 and the level of antibodies to oxidized low-density lipoproteins, before the operation as well as 3, 6 and 12 months after PCI. **Results.** Significant differences in the level of peripheral biomarkers in groups with different variants of postoperative course were not revealed. A greater variability in the values of inflammation markers throughout the observation period and an increase in the level of secretory phospholipase A2 at 6 months after percutaneous coronary interventions in the group followed by complications of stenting ($p < 0.05$) is shown. Patients with adverse course of the postoperative period are characterized by a lower level of antibodies to oxidized LDL, with a lower coefficient of variation, compared to the control group. **Conclusions.** Determination of the activity of secretory phospholipase A2 (IIA) in the serum after PCI can be useful as a prognostic marker for identifying patients at increased risk of adverse coronary events.

Key words: secretory phospholipase A2; percutaneous coronary intervention; coronary stent introduction; cardiac markers; biomarker; cardiovascular disease.

Введение

По данным ВОЗ, одной из ведущих причин смертности населения в экономически развитых странах являются сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ). Снижение смертности от болезней сердечно-сосудистой системы в РФ — важный вектор государственной политики в об-

ласти здравоохранения [1]. С учетом того, что в России выполняется более 700 тыс. чрескожных коронарных вмешательств ежегодно [2], поиск новых информативных методов раннего выявления риска осложнений в послеоперационном периоде приобретает важное медико-социальное значение.

Таблица 1
Исходная клиническая характеристика пациентов

Показатель	Все пациенты (n = 71)	Пациенты с благоприятным течением послеоперационного периода (n = 58)	Пациенты с неблагоприятным течением послеоперационного периода (n = 13)
Возраст, лет	58,50 ± 7,79 (40–75)	58,36 ± 7,79 (40–74)	60,20 ± 10,32 (41–75)
Мужчины, n (%)	56 (78%)	45 (77%)	11 (84%)
ИМТ, кг/м ²	29,65 ± 4,13 (23,2–40,6)	29,7 ± 4,2 (23,2–40,6)	29,80 ± 3,48 (24,2–34,9)
Статус курения	48 (67,6%)	37 (63,7%)	11 (84%)
Сахарный диабет	19 (26,7%)	16 (27%)	3 (23%)
Артериальная гипертензия	54 (76%)	43 (74%)	12 (92,3%)

Доступным способом диагностики являются лабораторные методы исследования. Лабораторные маркеры относятся к широкой подкатегории количественных и воспроизводимых характеристик биологических признаков. В широком смысле они являются «характеристикой, которая объективно измеряется и оценивается как показатель нормальных биологических процессов, патогенных процессов или фармакологических реакций на терапевтическое вмешательство» [3]. Большое количество биомаркеров в разное время были предложены в качестве потенциальных критериев риска развития сердечно-сосудистых событий и при стабильной ишемической болезни сердца, однако в настоящее время нет каких-либо твердых рекомендаций по этому вопросу.

Общепризнано, что основным этиологическим звеном развития ишемической болезни сердца является атеросклероз: полиэтиологическое заболевание со сложным патогенезом и вовлечением аутоиммунно-воспалительных процессов в сосудистой стенке. Прогрессирование атеросклероза и связанные с этим молекулярные процессы, а также пролиферация неоинтимы в зоне коронарного вмешательства могут лежать в основе послеоперационных осложнений.

Целью настоящего исследования является анализ динамики лабораторных маркеров воспаления, иммунного ответа и дестабилизации атеросклеротической бляшки у пациентов с ишемической болезнью сердца с благоприятным или осложненным течением отдаленного послеоперационного периода в течение года после стентирования коронарных артерий.

Материалы и методы исследования

Данная работа проведена как проспективное наблюдательное аналитическое исследование по типу «случай-контроль». В основную группу был включен 71 пациент со стабильной формой ишемической болезни сердца: 15 женщин и 56 мужчин в возрасте 58,50 ± 7,79 года (от 41 до 75 лет), которым по данным коронарографии было показано (стеноз более 70% по крайней мере в одной из основных коронарных артерий) и в последующем выполнено чрескожное коронарное вмешательство. В табл. 1 представлена исходная клинико-лабораторная сравнительная характеристика больных в группах с наличием и отсутствием неблагоприятных коронарных событий после чрескожных коронарных вме-

шательств. По данным коронарографии 28 (40%) пациентов имели однососудистое поражение, 43 (60%) — двухсосудистое; 31 пациенту был установлен один стент (в том числе 13 с лекарственным покрытием, 18 — без покрытия), 40 пациентам — два и более стента (34 без лекарственного покрытия, 6 — разные типы стентов); 54 (76%) человека из исследуемой группы страдали артериальной гипертензией, 19 (26,7%) — сахарным диабетом. У 21 пациента диагностирован I класс сердечной недостаточности, у 15 — II класс. Курильщики, в том числе курившие ранее, составили 67,6% (48 человек). Всем пациентам проводилось стандартное физикальное обследование, измерение роста, веса, окружности талии (ОТ) с расчетом индекса массы тела по Кетле (ИМТ). У 12 человек (16%) ИМТ составил 23–25, у 35 (49,2%) — 25–30, у 24 (34,8%) — 30 и более. Все пациенты получали стандартную терапию ИБС: антиагреганты, антиангинозные препараты, статины.

В контрольную группу (КГ) были включены 30 здоровых добровольцев без анамнеза и клинических проявлений ИБС, сопоставимых по полу и возрасту с исследуемой группой: 12 женщин и 18 мужчин, средний возраст которых составил 55,4 ± 11,7 (от 43 до 67 лет) года.

По результатам динамического наблюдения в течение года пациенты были разделены на две группы. Первую составили 13 больных с осложненным течением в отдаленном периоде, 11 мужчин и 2 женщины, средний возраст 60,20 ± 10,32 года (41 до 75 лет), у семи из которых был зафиксирован рестеноз стента (у трех пациентов со стентированием одной артерии и у четырех со стентированием двух и более артерий; все стенты кроме одного — голометаллические), а у шести больных были зафиксированы стенозы коронарных артерий другой локализации. В этой группе 84% (11 человек) были курильщиками, в том числе курившими ранее, 23% (3 человека) страдали сахарным диабетом. У восьми пациентов с осложнениями диагностирован I класс сердечной недостаточности, у пяти — II класс. Все пациенты этой группы имели ИМТ 24 и более.

Вторая группа состояла из 58 пациентов с благоприятным течением отдаленного послеоперационного периода (45 мужчин и 13 женщины), средний возраст 58,36 ± 7,79 года (от 40 до 74 лет), 22 из которых был установлен один стент, 36-ти — два и более стента (20-ти — без лекарственного покрытия, двум — с покрытием и 16-ти пациентам — стенты разных типов). Преобладали стенты голометаллические (у 34 пациентов в одной и более артериях).

Лабораторные методы исследования

Забор крови для лабораторных исследований осуществлялся в утренние часы натощак (после 8–10-часового голодания) из кубитальной вены. Исследования выполнялись в четырех точках: перед операцией, через 3, 6 и 12 месяцев после операции стентирования коронарных артерий. В течение часа после забора проводилось центрифугирование образцов 10–15 минут при ускорении 2000 g и разделение проб с последующим аликвотированием сыворотки.

Всем лицам, вошедшим в исследование, были измерены уровень С-реактивного белка, мочевой кислоты, холестерина, липопротеинов высокой, низкой и очень низкой плотности, триглицеридов высокочувствительным методом на автоматическом биохимическом анализаторе Abbot Architect 8000, произведен расчет коэффициента атерогенности.

Клинический анализ крови с автоматическим подсчетом лейкоцитарной формулы выполнен на гематологическом анализаторе Cell-Dyn Ruby Abbott (США).

Концентрация фибриногена в плазме крови была измерена в течение двух часов после забора биоматериала на автоматическом анализаторе STA-Compact Stago клоттинговым методом с использованием набора реагентов Sta-Fibrinogen.

Кроме того, была измерена концентрация секреторной фосфолипазы A2 методом твердофазного планшетного иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора sPLA2 (human Type IIА) для определения человеческой секреторируемой фосфолипазы типа IIА (sPLA2) иммуноферментным методом производства Cayman Chemical Company; исследования выполнялись в строгом соответствии с инструкцией производителя. Уровень антител к окисленным липопротеинам низкой плотности был измерен с помощью набора реагентов для количественного определения методом твердофазного планшетного иммуноферментного анализа производства Biomedica (Германия). Измерение оптической плотности проводилось с использованием планшетного ридера — фотометра BioRad 680 при длине волны 450 нм (с применением референсного фильтра 650 нм), оценка результатов — с помощью программного обеспечения Zemfira.

Полученные данные обрабатывали с использованием стандартного пакета программ прикладного статистического анализа STATISTICA for Windows (версия 10). Для описания количественных признаков использовались стандартные показатели описательной статистики (среднее арифметическое значение, стандартное отклонение ($M \pm SD$) или медиана, 25-й и 75-й перцентиль $Me [Q_1-Q_3]$). Для описания качественных данных использовался частотный анализ с учетом пропущенных значений, сравнение двух независимых групп проводили с помощью критерия χ^2 Пирсона, либо точным критерием Фишера в случае небольших выборок.

Для сравнения переменных, относящихся к порядковой шкале, но не относящихся нормальному закону распределения, использовались методы непараметрические статистики. Две группы независимых переменных

сравнивались тестом Манна-Уитни. При количестве независимых сравнимых групп больше двух использовался критерий Краскела-Уолиса.

Для изучения связи между количественными переменными пользовались методом корреляционного анализа. При отсутствии нормального распределения хотя бы у одной из двух переменных использовалась ранговая корреляция по Спирмену. Коэффициент корреляции r от 0,30 до 0,70 при $p < 0,05$ означал положительную умеренную, но достоверную корреляцию между признаками; $r > 0,70$ при $p < 0,05$ — сильную и достоверную связь; $r < 0,30$ при $p < 0,05$ — положительную, но слабую достоверную связь.

Уровень значимости всех статистических тестов принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Циркулирующие биомаркеры, связанные с риском сердечно-сосудистых событий, отражают различные патофизиологические процессы. Мы проанализировали ряд аналитов, традиционно используемых в наблюдении за пациентами с ИБС. Биомаркеры воспаления: С-реактивный белок, лейкоциты, фибриноген; уровень мочевой кислоты как маркер метаболического статуса и окислительного повреждения миокарда, маркер аутоиммунного повреждения — антитела к окисленным липопротеидам низкой плотности, а также маркер дестабилизации атеросклеротической бляшки и ремоделирования миокарда — секреторная фосфолипаза A2.

Значимость определения С-реактивного белка (СРБ) высока не только в оценке воспалительного ответа, но и в качестве маркера сердечно-сосудистых заболеваний, хотя в литературе нет единого мнения о том, является ли повышение СРБ причиной воспаления в сосудистой стенке или только отражает активность атеросклеротического процесса, как любого другого воспаления [4]. В современной медицинской практике используют термин «базовый уровень» СРБ, обозначающий концентрацию СРБ, которая стабильно выявляется у практически здоровых лиц, а также у пациентов при отсутствии острого воспалительного процесса или вне обострения заболевания. Именно для определения базового уровня СРБ используют методы высокочувствительного анализа [5].

Начиная с середины 90-х годов прошлого столетия, обширные проспективные эпидемиологические и клинические исследования показали, что величина базового уровня СРБ имеет важное практическое значение, т. к. она непосредственно связана с риском развития тяжелых сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений — острого инфаркта миокарда и инсульта, осложнений после хирургических вмешательств [6].

Базовый уровень СРБ не имел статистически значимых отличий в группах пациентов с благоприятным и осложненным течением после ЧКВ и составил 2,64 [1,14–4,79] мг/л и 2,74 [1,81–6,05] мг/л соответственно, находясь на верхней границе референсного интервала, рекомендуемого производителем. Обращает на себя внимание большая вариабельность значений в группе пациентов с последующим неблагоприятным течением послеоперационного

периода. В дискретные моменты времени уровень СРБ в обеих исследуемых группах имел однонаправленную динамику снижения и не превышал референсных значений.

Фибриноген представляет собой острофазовый белок, синтезированный в печени, его концентрация во время острого воспаления может превышать 7 мг/мл [7]. Кроме того, он участвует в агрегации тромбоцитов, реализации эндотелиального повреждения, вязкости плазмы и играет центральную роль в формировании тромба. Повышенные уровни фибриногена связаны с увеличением риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний. В исследовании FSC были оценены соотношение концентраций фибриногена и риска как основных сосудистых, так и внесосудистых исходов, основанные на 154211 индивидуальных данных участников без известных ССЗ 31 проспективного исследования [8]. Результаты исследования ERFC Kaptoge и др. [9] показали, что концентрация фибриногена была фактором риска для неблагоприятных коронарных событий, инсульта, и смертности.

Анализ концентрации фибриногена в исследуемой группе пациентов на дооперационном этапе не показал значимых различий в группе пациентов с благоприятным и неблагоприятным течением послеоперационного периода и составил 4,1 [3,8–4,6] г/л и 4,1 [3,1–4,2] г/л соответственно. В дальнейшем динамика уровня фибриногена имела однонаправленный характер, в пределах нормальных значений в обеих группах пациентов (рис. 1).

Мы выявили положительную корреляцию между уровнем фибриногена и С-реактивного белка у пациентов с ИБС с благоприятным течением отдаленного послеоперационного периода ($r = 0,5$; $p < 0,05$); примечательно, что у лиц с неблагоприятным течением послеоперационного периода такой взаимосвязи выявлено не было.

В продукции медиаторов воспаления принимает участие большое число клеток, ведущую роль среди которых играют лейкоциты. Лейкоциты крови являются источником множества факторов, оказывающих как прямое, так и опосредованное влияние на возникновение и течение атеросклероза. Анализ результатов экспериментальных и клинических исследований показал, что лейкоцитоз является таким же независимым фактором риска ИБС, как уровень общего холестерина, артериальная гипертензия, курение, сахарный диабет (СД), утолщение комплекса интима-медиа [10]. В ряде работ число лейкоцитов, помимо взаимосвязи с острыми сердечно-сосудистыми событиями, оценивалось как фактор отдаленного прогноза ИБС. Так, доказано, что повышение количества лейкоцитов в позднем послеоперационном периоде у пациентов, подвергшихся процедуре чрескожных коронарных вмешательств, имело прямую корреляцию с увеличением вероятности возникновения неблагоприятных сердечно-сосудистых событий и смерти [11]. Содержание лейкоцитов на дооперационном этапе у пациентов с ИБС в исследуемых группах пациентов не имело статистически значимых различий и составило $7,1 [5,7–7,8] \times 10^9/\text{л}$ в группе с благоприятным течением послеоперационного периода и $8,3 [7,0–9,6] \times$

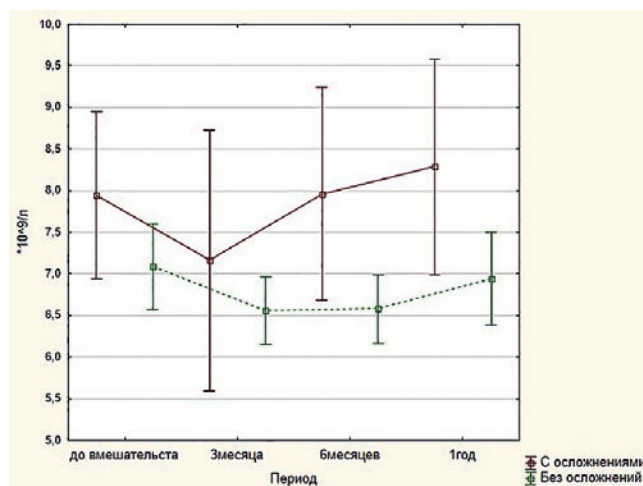


Рисунок 1. Динамика уровня фибриногена у пациентов с различными вариантами течения послеоперационного периода.

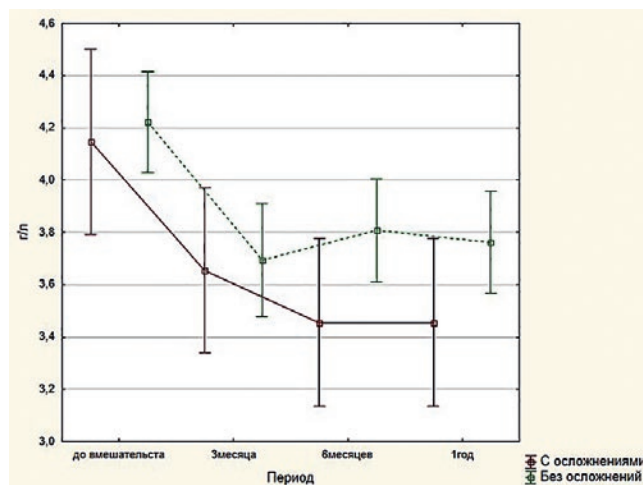


Рисунок 2. Динамика уровня лейкоцитов у пациентов с различными вариантами течения послеоперационного периода.

$10^9/\text{л}$ в группе с неблагоприятным. Динамика уровня лейкоцитов (рис. 2) в обеих группах пациентов была однонаправленной, в пределах референсного интервала.

Достоверных отличий между этими группами не было выявлено, однако группа с последующими осложнениями стентирования характеризовалась большей вариабельностью значений на протяжении всего периода наблюдения.

Мочевая кислота является конечным продуктом пуринового обмена у человека. Инактивация уриказы и увеличение уровня мочевой кислоты, как полагают, обеспечили эволюционные преимущества, защищая от окислительного повреждения [12]. Было высказано предположение, что повышенный уровень мочевой кислоты сыворотки может вносить вклад в развитие сердечно-сосудистых заболеваний даже в концентрации ниже клинического порога гиперурикемии [13] путем повышения окислительного стресса, стимулирования эндотелиальной дисфункции и усиления воспаления. Недавние исследования показали независимую положительную ассоциацию между уровнем мочевой кислоты и сердечно-сосудистой смертностью [14]. Мы отметили стабильно нормальный уровень

Таблица 2
Концентрация мочевой кислоты в сыворотке крови пациентов с ИБС после чрескожных коронарных вмешательств

	До вмешательства	3 месяца	6 месяцев	1 год
Благоприятное течение	377,1 ± 81,2	374,9 ± 88,3	381,7 ± 97,5	383,3 ± 84,2
Неблагоприятное течение	367,6 ± 58,2	371,1 ± 85,7	355,1 ± 76,4	346,4 ± 100,3

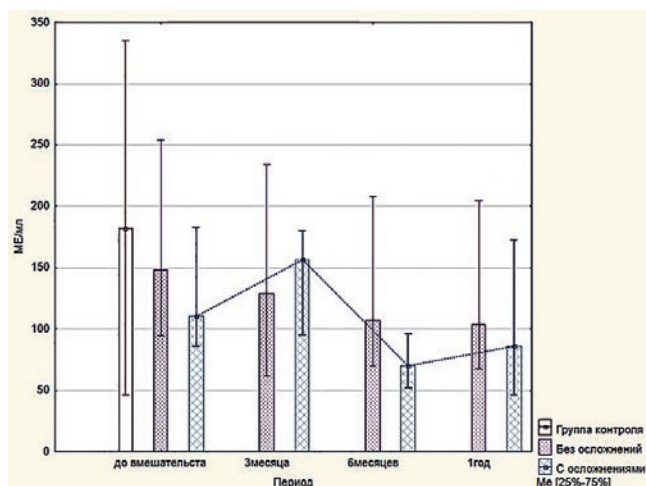


Рисунок 3. Уровень антител к окисленным липопротеинам низкой плотности у пациентов с ИБС с различными вариантами течения послеоперационного периода.

этого анализата в течение года наблюдения у пациентов обеих групп, не выходящий за рамки референсного интервала, рекомендованного производителем (табл. 2). Корреляция между уровнем мочевой кислоты и уровнем СРБ в обеих исследуемых группах отсутствовала во все дискретные моменты наблюдения.

Есть несколько антигенных стимулов, которые участвуют в патогенезе атеросклероза. Наиболее выраженными атерогенными свойствами обладают окисленные липопротеиды и антитела к ним. Наличие таких эпитопов на окисленных липопротеидах было продемонстрировано в сыворотке и атеросклеротических повреждениях как у экспериментальных животных, так и людей. Образовавшиеся детерминанты могут выступать в качестве аутоантигенов за счет взаимодействия с Toll-подобными рецепторами, активируя Т-лимфоциты, ответственные за индукцию и поддержание локального иммунного ответа в атеросклеротической бляшке, а также активацию В-клеток с сопутствующей выработкой антител [15].

Презентация аутоантигенов в сформированной атеросклеротической бляшке осуществляется при связывании их рецепторами макрофагов и дендритных клеток через МНС-белки II класса при взаимодействии с антиген-специфическими CD4⁺ Т-клетками. Далее происходит активация адаптивного иммунного ответа, включая клональную пролиферацию Т-клеток, продукцию цитокинов и иммуноглобулинов В-клетками. Th1-клетки активируют макрофаги и индуцируют воспаление. Th2-клетки посредством цитокинов принимают участие в продукции антител, аллергических реакциях и оказывают противовоспалительное действие [16]. Данные, полученные при анализе экспрессии цитокинов в атеросклеротической

бляшке, свидетельствуют о доминировании Th1-клеток, которые обычно ассоциируются с развитием органоспецифических аутоиммунных заболеваний. На ранних стадиях развития атеросклероза у апоЕ^{-/-} мышей IgG антитела к окисленным ЛПНП представлены главным образом 2а-подтипом IgG, характерным для Th1 — иммунного ответа, в то время как на поздних происходит экспрессия Th2-специфических Ig G. Установлено, что отсутствие функциональных Т- и В-клеток на 70 % редуцирует атеросклероз, а восстановление функциональных CD4⁺ Т-клеток способствует его развитию. Таким образом, уровень антител к окисленным липопротеинам низкой плотности может отражать окисление липидов в сосудистой стенке на тканевом уровне.

В нашем исследовании уровень антител к окисленным липопротеинам низкой плотности в группе пациентов с ИБС составил 124 [88–229] мЕ/мл, что ниже, чем в группе сравнения — 181 [46,63–335] мЕ/мл, однако различия оказались недостоверными (p = 0,59).

Среднее значение уровня антител к окисленным ЛПНП на дооперационном этапе у пациентов с ИБС с неблагоприятным течением отдаленного послеоперационного периода составил 110 [88–182] мЕ/мл, коэффициент вариации — 76,8 %, а у пациентов с благоприятным течением — 147 [93,9–254] мЕ/мл, коэффициент вариации — 100,9 %. Эти различия также оказались недостоверными (p = 0,6). На представленной диаграмме (рис. 3) видно, что и медиана, и межквартильный интервал у пациентов с ИБС значительно меньше, чем в группе доноров. Уровень антител к окисленным липопротеинам низкой плотности не имел статистически значимых различий на протяжении всего периода наблюдения в обеих группах пациентов.

Таким образом, для пациентов с ИБС характерен более низкий уровень антител к окисленным ЛПНП с меньшим коэффициентом вариации по сравнению с группой контроля, несмотря на то, что достоверных различий выявлено не было. Наименьшее значение показателя и его разброса отмечается у пациентов с развившимися после стентирования осложнениями, что также подтверждает эту тенденцию. Меньший разброс значений в этих группах может быть связан с проводимой терапией статинами, снижающими уровень холестерина фракции ЛПНП, хотя данных о влиянии терапии на уровень окисленных липопротеинов и антител к ним на сегодняшний день нет [17].

В гранулах лейкоцитов содержится свыше 20 видов различных ферментов, одним из активно изучаемых является семейство секреторной фосфолипазы (sPLA2), состоящее из 10 богатых дисульфидом изоферментов низкой молекулярной массы, эти изоферменты являются участниками различных биологических процессов [18]. Они были выявлены при атеросклеротических поражениях

и в участках миокарда, которые выдержали ишемическое повреждение. sPLA2 является гидролитическим ферментом, участвующим в образовании таких липидных медиаторов воспаления, как лейкотриены, простагландины, фактор активации тромбоцитов [19]. В последнее время повышенный интерес вызывает способность sPLA2 модифицировать липопротеиды плазмы крови, этот фермент может способствовать атерогенезу и воспалению, благоприятствуя связыванию липопротеинов с сосудистыми протеогликанами, индуцирующими активацию тромбоцитов через активацию простаноидного пути, облегчая окисление ЛПНП. В результате этих процессов образуются пенистые клетки, являющиеся ключевым фактором в возникновении и прогрессировании атеросклеротического процесса [20]. Под действием sPLA2 в липопротеидах низкой плотности (ЛПНП) происходят образование и накопление лизолецитина. Показано, что ЛПНП, накопившие лизолецитин, становятся атерогенными и захватываются сквенджер-рецепторами макрофагов, активно взаимодействуют с матриксными белками, что приводит к их задержке в стенке сосуда и увеличивает риск дальнейших модификаций [21]. Наблюдательные исследования показали, что более высокие уровни циркулирующих sPLA2-IIA и sPLA2 связаны с повышенным риском возникновения и рецидива сердечно-сосудистых событий (сердечно-сосудистая смерть, ОИМ и инсульт) [22, 23]. По мнению ряда авторов [24], определение активности sPLA2 в сыворотке крови после ЧКВ можно рекомендовать в качестве прогностического параметра для идентификации пациентов с повышенным риском развития рестеноза.

На протяжении всего периода наблюдения у лиц без осложнений стентирования концентрация этого фермента значимо не менялась (рис. 4). Мы также не выявили статистически значимых различий концентрации в группах с последующим благоприятным и неблагоприятным течением послеоперационного периода до вмешательства: 997,5 [693,8–1376,6] и 971,5 [932,8–1797,5] и через три месяца после него 871,6 [716,8–1153,9] и 923,1 [493,8–1201,5] пг/мл соответственно. Однако через шесть месяцев после вмешательства уровень секреторной фосфолипазы значительно вырос в группе пациентов с последующими осложнениями течения послеоперационного периода, составив 1903,5 [1125–2307,5] пг/мл по сравнению с 901,5 [556,2–1116,7] пг/мл в группе без осложнений ($p < 0,05$) (рис. 4), что подтверждает данные о том, что более высокие циркулирующие уровни sPLA2-IIA и sPLA2 связаны с повышенным риском возникновения и рецидива сердечно-сосудистых событий (сердечно-сосудистая смерть, ОИМ и инсульт) [22, 23].

Уровень секреторной фосфолипазы A2 на дооперационном этапе положительно коррелировал с уровнем С-реактивного белка ($p < 0,05$, $r = 0,7$), с другими маркерами воспаления и показателями липидного обмена корреляционная связь отсутствовала.

Заключение

У больных со стабильным течением ИБС, подготовленных к операции реваскуляризации миокарда,

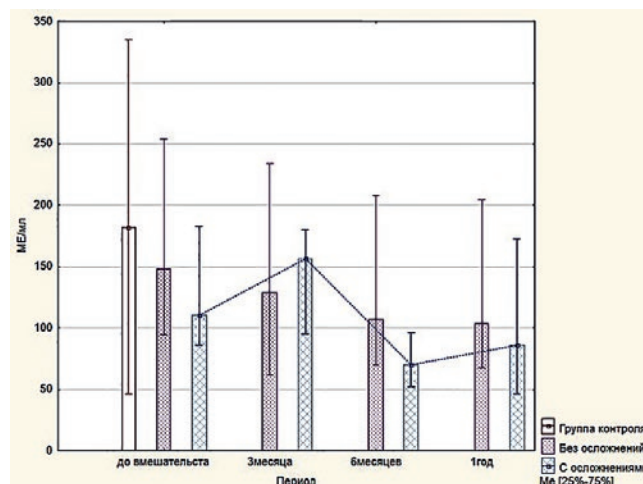


Рисунок 3. Уровень антител к окисленным липопротеинам низкой плотности у пациентов с ИБС с различными вариантами течения послеоперационного периода.

Примечание: * $p < 0,05$ — достоверность отличий в группах пациентов с благоприятным и осложненным течением послеоперационного периода.

получающих стандартную терапию (антиагреганты, антиангинозные и антигипертензивные препараты, статины), значимых различий в уровне периферических биомаркеров в группах с различными вариантами течения послеоперационного периода как до операции, так и в другие дискретные моменты времени не выявлено. Группа пациентов с последующими осложнениями стентирования отличается большей вариабельностью значений биомаркеров воспаления в пределах нормальных значений по сравнению с группой с благоприятным течением отдаленного послеоперационного периода. Имеет место положительная корреляционная связь между уровнем фибриногена и С-реактивного белка, уровнем лейкоцитов и антител к окисленным липопротеидам низкой плотности.

У пациентов с ИБС концентрация антител к окисленным липопротеинам низкой плотности ниже, чем в группе сравнения; отмечается тенденция к снижению концентрации этого маркера у пациентов с осложнениями после ЧКВ.

Активность секреторной фосфолипазы A2 (IIA) в сыворотке крови значимо повышается через шесть месяцев после ЧКВ у пациентов с последующими осложнениями стентирования, в связи с чем этот показатель можно рекомендовать в качестве прогностического маркера для идентификации пациентов с повышенным риском неблагоприятных коронарных событий.

Список литературы

1. В. С. Фисенко, Н. И. Рогинко, А. В. Корочкин. Выполнение основных целевых показателей по снижению смертности от болезней системы кровообращения в субъектах Российской Федерации (по результатам контрольно-надзорных мероприятий Росздравнадзора). Вестник росздравнадзора № 5–2016 с. 26–32.
2. Бокерия Л. А., Гудкова Р. Г. Сердечно-сосудистая хирургия. 2013.
3. Biomarkers Definitions Working G. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Clin Pharmacol Ther 2001; 69: 89–95.

4. Walter D.H., Fichtlscherer S., Sellwig M., et al. Preprocedural C-reactive protein levels and cardiovascular events after coronary stent implantation. // J Am Coll Cardiol. — 2001 — Vol. 37. — pp. 839–846.
5. Шевченко О.П. Высокочувствительный анализ С-реактивного белка и его применение в кардиологии. // Лабораторная медицина. — 2003. — № 6. — стр. 35–41.
6. Карпов Ю.А., Сорокин Е.В., Фомичева О.А.. Воспаление и атеросклероз: состояние проблемы и нерешенные вопросы. // Сердце. — 2003. — № 4. — стр. 190–193.
7. Lowe GD. Fibrinogen assays for cardiovascular risk assessment. Clin Chem 2010; 56: 693–695.
8. Danesh J, Lewington S, Thompson SG, et al. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant metaanalysis. JAMA.
9. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Pennells L, et al. C-reactive protein, fibrinogen, and cardiovascular disease prediction. N Engl J Med 2012; 367: 1310–1320.
10. Holme I, Aastveit AH, Hammar N, et al. Inflammatory markers, lipoprotein components and risk of major cardiovascular events in 65005 men and women in the Apolipoprotein Mortality rIsk study (AMoRIS) Atherosclerosis. 2010; Nov; 213(1):299–305.
11. Men M, Zhang L, Li t, et al. Prognostic Value of the Percentage of Neutrophils on Admission in Patients with St-elevated Myocardial Infarction Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention. Arch Med res. 2015 May; 46 (4): 274–9.
12. Fabbini E, Serafini M, Colic Baric I, et al. Effect of plasma uric acid on antioxidant capacity, oxidative stress, and insulin sensitivity in obese subjects. Diabetes 2014; 63: 976–981.
13. Jin YL, Zhu T, Xu L, et al. Uric acid levels, even in the normal range, are associated with increased cardiovascular risk: the Guangzhou Biobank Cohort Study. Int J Cardiol 2013; 168: 2238–2241.
14. Dutta A, Henley W, Pilling LC, et al. Uric acid measurement improves prediction of cardiovascular mortality in later life. J Am Geriatr Soc 2013; 61: 319–326.
15. Шогенова М.Х., Жетишева Р.А., Карпов А.М., Доценко Ю.В., Масенко В.П., Наумов В.Г. Роль окисленных липопротеинов низкой плотности и антител к ним в иммунно-воспалительном процессе при атеросклерозе. // Атеросклероз и дислипидемии. — 2015. — № 2 — с. 17–21
16. Душкин М.И. Вакцины против атеросклероза: настоящее и будущее. // Атеросклероз. Научно-практический журнал. — 2011. — № 1 — с35–37.
17. Огуркова О.Н., Суслова Т.Е., Левашкина Е.А., Кулагина И.В., Лихоманов К.С., Кошельская О.А. Изменение содержания окисленно-модифицированных липопротеинов низкой плотности и антител к ним при применении аторвастатина у больных с ишемической болезнью сердца // СМЖ — 2008. — № 4–2 — с. 21–23.
18. Stafforini DM, McIntyre TM, Zimmerman GA, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolases. J Biol Chem 1997; 272: 17895–17898.
19. Jonsson-Rylander AC, Lundin S, Rosengren B, et al. Role of secretory phospholipases in atherogenesis. Curr Atheroscler Rep 2008; 10: 252–259.
20. Rosengren B, Peilot H, Umaerus M, et al. Secretory phospholipase a2 group v: lesion distribution, activation by arterial proteoglycans, and induction in aorta by a western diet. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006; 26: 1579–1585.
21. Elinder LS, Dumitrescu A, Larsson P, Hedin U, Frostegard J, Claesson HE: Expression of phospholipase A2 isoforms in human normal and atherosclerotic arterial wall. Arterioscler Thromb Vase Biol 1997; 17: 2257–2263.
22. Mallat Z, Benessiano J, Simon T, et al. Circulating secretory phospholipase a2 activity and risk of incident coronary events in healthy men and women: the epic-norfolk study. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2007; 27: 1177–1183.
23. Lind L, Simon T, Johansson L, et al. Circulating levels of secretory- and lipoprotein-associated phospholipase a2 activities: relation to atherosclerotic plaques and future all-cause mortality. Eur Heart J 2012; 33: 2946–2954.
24. Коротаева А.А. Секреторная фосфолипаза А2 группы IIa в сыворотке крови больных после коронарной ангиопластики: регуляция липидами и липопротеидами. Автореферат диссертации. М., 2009.



Мэрия Москвы,
14-15 ноября 2018г.

IV Российская научно-практическая конференция «Актуальные проблемы менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов»

Документация по данному учебному мероприятию представлена в Комиссию по оценке учебных мероприятий и материалов для НМО. Регистрация на сайте обязательна

www.expodata.info

Оргкомитет конгресса:
 ООО «Экспо пресс»
 Москва, ул. Ак. Королева, 13;
 Тел.: +7 (495) 617-36-43/44;
 Факс: (495) 617-36-79;
 E-mail: lvov.m.g@inbox.ru;
www.expodata.info

эксподата пресс
expodata.info
образовательный портал

Надежность и безопасность в лабораторном секторе

- Профессиональная модель, электронное управление с ЖК-дисплеем и точностью заданной температуры до 0,1 °C
- Визуальная и звуковая сигнализация изменения температуры, открытия двери и отключения питания
- Визуальная и звуковая сигнализация изменения температуры, открытия двери и отключения питания
- Интегрированная регистрация и хранение данных о температуре и случаях аварийной сигнализации
- Последовательный интерфейс RS 485 для регистрации данных о температуре и беспотенциальные контакты для дополнительной сигнализации
- Калибровка по 3 точкам обеспечивает точность температуры хранения

LKPv 6520



lab.liebherr.com



home.liebherr.com

LIEBHERR

Качество, дизайн и инновации



Л.Б. Дрыгина

Лабораторные маркеры гормонального баланса организма

Л.Б. Дрыгина, д.б.н., проф., зав. лабораторией

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

Laboratory markers of body's hormonal balance

L. B. Drygina

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

Резюме

В кратком сообщении приведены сведения по патофизиологии стероидных гормонов кортизола и дегидроэпиандростерон-сульфата. Показана их роль в патогенезе ряда соматических заболеваний и депрессии. Обсуждаются данные по определению соотношения этих гормональных показателей и лабораторной оценке гормонального баланса организма.

Ключевые слова: гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система, кортизол, дегидроэпиандростерон-сульфат, соотношение стероидных гормонов.

Summary

The brief report provides information on the pathophysiology of steroid hormones cortisol and dehydroepiandrosterone sulfate. Their role in the pathogenesis of a number of somatic diseases and depression is shown. The data on the determination of the ratio of these hormonal parameters and the laboratory assessment of the hormonal balance of the body are discussed.

Key words: hypothalamic-pituitary-adrenal system, cortisol, dehydroepiandrosterone sulfate, steroid hormone ratio.

Современное состояние лабораторной диагностики, огромные успехи, достигнутые в области биохимии гормонов, расшифровки их структуры, выделения и биосинтеза, разработки эффективных методов анализа, значительно расширили возможности эндокринологии. Сегодня определение кортикотропина (адренокортикотропный гормон АКТГ), кортизола и дегидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭА-С) стало общедоступным лабораторным анализом и широко используется в медицине.

Традиционно гормоны гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой регуляторной оси (ГГН-оси) использовались для дифференциальной диагностики патологических процессов в надпочечниках. В последнее десятилетие вектор исследований расширился, стала актуальной разработка критериев гормонального баланса организма по соотношению катаболических и анаболических процессов для оценки адаптационных резервов организма и разработки прогностических критериев эффективности терапии [5].

Как известно, катаболические процессы связаны с распадом и высвобождением энергии, а анаболические, наоборот, с процессами роста. Одним

из важных показателей соотношения катаболических и анаболических процессов служит соотношение уровней кортизола и ДГЭА-С [1].

Известно, что возраст человека, болезни и стресс тесно взаимосвязаны с функционированием гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой регуляторной оси, поскольку все эти состояния приводят к нарушению продукции гормонов аденогипофизом и надпочечниками либо к изменению чувствительности на уровне тканей-мишеней.

Реакцией эндокринной системы на стресс является высвобождение гипоталамусом кортиколиберина, который стимулирует выход гипофизарного АКТГ и повышение продукции надпочечниками кортизола.

Кортизол секретируется корой надпочечников, тем самым считается истинным гормоном млекопитающих [7]. Принимает участие в регуляции углеводного и белкового обмена, повышает резистентность организма к различным раздражителям, обладает противовоспалительным и десенсибилизирующим действиями. Избыток кортизола увеличивает образование гликогена и продукцию глюкозы печенью и снижает поглощение и утилизацию глюкозы периферическими

тканями. Эффекты кортизола противоположны действию инсулина, концентрация которого повышается при гипергликемии.

Гиперсекреция кортизола вызывает сдвиг метаболизма в сторону катаболических процессов. Естественными антагонистами повышению уровня кортизола являются гормоны с анаболическим эффектом, к числу которых, кроме гормона роста и андрогенов, относятся ДГЭА и ДГЭА-С.

Нарушение секреции кортикотропин-рилизинг-гормона является патофизиологическим фактором развития депрессивных нарушений [6]. Неудивительно, что соотношение кортизол / ДГЭА-С нашло основное клиническое применение в психиатрической эндокринологии. Сегодня убедительно показано, что при депрессиях изменяется суточный ритм секреции кортизола и АКТГ, уменьшается количество рецепторов кортизола в структурах мозга, увеличиваются размеры надпочечников и концентрация кортизола [5]. Выявлена прямая корреляционная зависимость длительности заболевания и уровня кортизола в крови. Повышенная секреция кортизола у пациентов с депрессией наблюдается в течение первых двух лет

заболевания, затем происходит нормализация уровня кортизола на фоне углубления симптомов депрессии (концентрация кортизола составляет $567,7 \pm 198,2$ и $338,7 \pm 110,4$ нмоль/л соответственно; $p < 0,05$). В начале болезни наблюдается сдвиг метаболизма в сторону катаболических процессов, о чем свидетельствует повышение уровня кортизола, впоследствии анаболических, которые проявляются снижением уровня ДГЭА-С. Выявлена отрицательная корреляция ДГЭА-С с длительностью депрессии и уровнем тревоги. Показано понижение соотношения кортизол / ДГЭА-С с повышением степени тревоги. Так, в группе пациентов с легкой степенью тревоги оно составило 396 ± 71 отн. ед. (отн. ед. = нмоль/л/мкг/мл) и достоверно отличалось от группы с тяжелой степенью депрессии, 289 ± 91 отн. ед. ($p = 0,02$). При увеличении длительности заболевания наблюдается снижение уровня анаболических и катаболических гормонов, что свидетельствует об истощении адаптационного гормонального баланса.

Установлено, что ДГЭА-С секретируется надпочечниками, его в высокой концентрации определяют в моче и крови. В диагностическом плане на протяжении нескольких десятилетий после открытия ДГЭА гормон рассматривался в качестве предшественника в синтезе тестостерона и эстрадиола. Например, в диагностическом алгоритме, а также в выборе тактики лечения синдрома поликистозных яичников (СПКЯ) и гиперплазии коры надпочечников значительное место отводится лабораторным исследованиям ДГЭА-С [2].

ДГЭА образуется в основном в надпочечниках (90 %) и лишь в небольших количествах в яичниках. Подавляющая часть ДГЭА существует в форме сульфата — ДГЭА-С. Концентрация ДГЭА-С в крови в 400 раз больше, чем ДГЭА. Метаболический клиренс ДГЭА очень высокий, и постоянная его концентрация в крови поддерживается вновь синтезированным гормоном и гидролизом ДГЭА-С. ДГЭА может метаболизироваться в андростендион. В отличие от кор-

тизола синтез ДГЭА в надпочечниках находится под контролем не только АКТГ, но и какого-то другого пока неизвестного фактора [8]. Одним из доказательств этого является то, что синтез ДГЭА претерпевает существенные изменения в течение жизни без изменений секреции АКТГ: с началом адrenaрхе происходит увеличение его концентрации в крови и достигает пика на третьем десятилетии жизни, постепенно снижаясь по мере старения [9]. Ряд исследователей отмечают небольшое повышение ДГЭА и ДГЭА-С при СПКЯ. Высокие концентрации этих гормонов характерны для врожденной гиперплазии коры надпочечников [10, 11, 12].

Стероидные гормоны надпочечников и яичников подвергаются катаболическим превращениям в печени и отчасти в почках, а продукты их деградации выводятся главным образом с мочой в виде соединений серной или глюкуроновой кислот. Помимо лабораторного обнаружения гиперандрогении при СПКЯ, важным для выработки последующей тактики лечения является определение источника гиперандрогении. Повышение содержания ДГЭА и ДГЭА-С в крови и (или) суточной моче свидетельствует о надпочечниковом происхождении гиперандрогении.

Важно отметить, что ДГЭА вырабатывается только надпочечниками приматов — наиболее прогрессивного отряда плацентарных млекопитающих, включающих человека, высших и низших обезьян [1]. Также возможен синтез и метаболизм ДГЭА и ДГЭА-С в различных структурах мозга, и эти взаимно превращающиеся гормоны рассматриваются как нейростероиды. ДГЭА и его сульфатная форма являются естественными антагонистами кортизола.

В ряде работ представлены результаты принципиального улучшения качества жизни после введения фармакологических доз ДГЭА, однако физиологическая роль данного гормона так до конца и не установлена [9]. Этот стероид не проявляет классических гормональных эффектов, он не связывается с гормональными рецепторами. При стрессе ДГЭА

действует противоположно кортизолу на нервную и иммунную системы. При многих соматических заболеваниях наблюдается снижение уровней ДГЭА и ДГЭА-С.

Изучено изменение уровня гормонов ГГН-оси в течение жизни человека. Так концентрация кортизола с годами практически не изменяется, а ДГЭА и ДГЭА-С неуклонно снижается, к 50–60 годам наблюдается стремительное падение уровня гормона, что приводит к дисбалансу соотношения кортизол / ДГЭА-С. Максимальная концентрация ДГЭА-С достигается к 30 годам (3500 нмоль/л), она в десять раз превышает уровень кортизола (300 нмоль/л) [1]. Хотя биологическая роль ДГЭА-С до конца не раскрыта, исследователи склонны считать его естественным антиглюкокортикоидом, выполняющим в организме буферную роль. Снижение с возрастом уровня ДГЭА-С сопровождается значительным уменьшением образования андрогенов и эстрогенов в периферических тканях-мишенях. Заместительная терапия ДГЭА-С при его дефиците, обусловленном возрастными изменениями или патологическим состоянием, значительно улучшает качество жизни.

В нашем исследовании при изучении проблем ускоренного старения участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС было показано достоверное повышение соотношения кортизол / ДГЭА-С (нмоль/л/мкг/мл) в 1,3 раза при индексе преждевременного старения 20–40 % и в 1,7 раза при индексе преждевременного старения более 40 % по отношению к значениям для индекса преждевременного старения менее 20 % [3]. Выявлены выраженные индивидуальные колебания уровня ДГЭА-С у обследованных ликвидаторов, которые, по нашему мнению, были обусловлены стрессорным влиянием и наличием сочетанной соматической патологии. Более низкие соотношения кортизол / ДГЭА-С у обследованных ликвидаторов по сравнению с лицами, не имеющими в анамнезе радиационного фактора, свидетельствовали об истощении адаптационных возможностей эндокринной системы.

Повышение и понижение ДГЭА-С в широких пределах в сыворотке крови были показаны при обследовании ветеранов боевых действий [4]. Авторами выделены две наиболее опасные ситуации: с нормальным уровнем кортизола и относительно низким ДГЭА-С, а также повышенным кортизолом и нормальным ДГЭА-С, когда кортизол не встречает сопротивления со стороны ДГЭА-С и может оказывать нейротоксическое действие на головной мозг.

Определение соотношения кортизол / ДГЭА-С имеет важное значение в психопатологии.

Выводы

Определение кортизола и ДГЭА-С в сыворотке крови сегодня является общедоступным лабораторным показателем.

Оценка соотношения кортизол / ДГЭА-С позволяет получить важную информацию о направленности катаболических и анаболических процессов в организме, оценить адаптационные возможности эндокринной системы.

Проведение исследований с определением соотношения кортизол / ДГЭА-С при различных состояниях организма позволит получить диагностические критерии нормы.

Список литературы

1. Гончаров Н.П., Кация Г.В. Дегидроэпиандростерон: биосинтез, метаболизм, биологическое действие и клиническое применение (аналитический обзор) // Андрология и генитальная хирургия. — 2015. — № 1. — С. 13–22.
2. Дрыгина Л.Б., Зеленина Н.В. Проблемы лабораторной диагностики синдрома поликистозных яичников / Клин. лаб. диагностика. — 2008. — № 3. — С. 3–9.
3. Дрыгина Л.Б., Калинина Н.М., Соколяк Н.А. Эндокринные аспекты преждевременного старения участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС / Сборник тезисов V Международного форума «Окружающая среда и здоровье человека». — СПб, 2003. — С. 21.
4. Колов С.А., Шейченко Е.Ю. Значение дисфункции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в психопатологии у ветеранов боевых действий / Соц. и клин. психиатрия. — 2009. — Т. XIX, № 9. — С. 74–78.
5. Кочетков Я.А. Депрессия и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система: новые стратегии изучения // Со-

временные проблемы психиатрической эндокринологии. — М. 2004. — С. 160–175.

6. Лычкова А.Э. Серотонинергическая регуляция эндокринной и мочеполовой систем. — М.: Из-во РАМН, 2014. — 467.
7. Ткачева Г.А., Балаболкин М.И., Ларичева И.П. Радиоммунологические методы исследования. — М.: Изд-во Медицина, 1983. — 191.
8. Кэттайл В.М., Арки Р.А. Патофизиология эндокринной системы. Пер. с англ. — СПб-М: Невский диалект, 2001. — С. 238–243.
9. Роживанов Р.В., Вакс В.В. Дегидроэпиандростерон: физиологическая роль и возможности применения в качестве медикаментозного средства // Пробл. энд. — 2005. — Т. 51, № 2. — С. 46–51.
10. Legro R. S., Kusanman A. R., Demers L., Wang S. C., Bentley-Lewis R., Dunaif A. Elevated dehydroepiandrosterone sulfate levels as the reproductive phenotype in the brothers of women with PCOS // J Clin Endocrinol Metab. — 2002. — V. 87. — P. 2134–8.
11. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group // Fertil Steril. — 2004. — V. 81, № 1. — P. 19–25.
12. The evaluation and treatment of androgen excess. The Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine // Fertil Steril. — 2004. — V. 82, Suppl 1. — P. S173–80.



18-19 МОСКВА
октября КОНГРЕСС ЦЕНТР
2018 Сеченовского
университета



ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФГАОУ ВО ПЕРВЫЙ МГМУ ИМ. И.М. СЕЧЕНОВА МИНЗДРАВА РОССИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)
НАЦИОНАЛЬНАЯ АССОЦИАЦИЯ СПЕЦИАЛИСТОВ ПО КОНТРОЛЮ ИНФЕКЦИЙ,
СВЯЗАННЫХ С ОКАЗАНИЕМ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ (НП «НАСКИ»)



«АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ ИНФЕКЦИОННЫХ И НЕИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ»

совместно с проведением заседания профильной комиссии МЗ РФ
по специальности «Эпидемиология»

Официальные мероприятия в рамках конференции:

- Пленарные заседания, секционные заседания, семинары, Школы НАСКИ
- Заседание профильной комиссии по эпидемиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации
- Общее собрание членов НП «Национальной ассоциации специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи»
- Совместное заседание Учебно-методической комиссии по эпидемиологии Координационного Совета по области образования «Здравоохранение и медицинские науки» и заведующих кафедрами эпидемиологии медицинских вузов

г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8. Конгресс-центр ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)

Организационный комитет:
E-mail: info_nasci@mail.ru

www.nasci.ru

Организационный партнер:
Медицинское издательство
«РЕМЕДИУМ ПРИВОЛЖЬЕ»
E-mail: nn_remedium@medalmanac.ru

Техническая поддержка:
ООО «Триалог»
E-mail: trialogue@inbox.ru

КОАГУЛОМЕТРЫ ЭМКО



АПГ2-02 Двухканальный полуавтоматический анализатор показателей гемостаза.

АПГ2-02П Двухканальный полуавтоматический анализатор показателей гемостаза. Встроенный принтер.

АПГ4-02П Четырехканальный полуавтоматический анализатор показателей гемостаза. Встроенный принтер.

АПГ2-03П Двухканальный полуавтоматический анализатор показателей гемостаза. Сенсорный экран, встроенный контроль качества (по приказу МЗ РФ №220), принтер.

АПГ2-03ПХ Двухканальный полуавтоматический анализатор показателей гемостаза. Сенсорный экран, встроенный контроль качества (по приказу МЗ РФ №220), принтер, возможность выполнения хромогенных тестов.

АПГ4-03П Четырехканальный полуавтоматический анализатор показателей гемостаза. Сенсорный экран, встроенный контроль качества (по приказу МЗ РФ №220), принтер.

АПГ4-03ПХ Четырехканальный полуавтоматический анализатор показателей гемостаза. Сенсорный экран, встроенный контроль качества (по приказу МЗ РФ №220), принтер, возможность выполнения хромогенных тестов.

**МЛТ-РЕАГЕНТЫ ДЛЯ РУТИННЫХ ТЕСТОВ ПЛАЗМЕННОГО ГЕМОСТАЗА:
МЛТ-ТРОМБОПЛАСТИН, МЛТ-АЧТВ, МЛТ-ФИБРИНОГЕН, МЛТ-ТРОМБИН**



129301, г. Москва, ул. Касаткина, д. 11, стр.1;
тел. / факс: +7 (495) 287-81-00, 287-84-00;
www.emco.ru, www.stainer.ru, emco@bk.ru



АВТОМАТЫ ОКРАСКИ

ГЕМАТОЛОГИЯ, МИКРОБИОЛОГИЯ, ПАРАЗИТОЛОГИЯ, ЦИТОЛОГИЯ, ГИСТОЛОГИЯ

- Открытая система (любые реагенты и методики)
- Высококачественная однотипная окраска
- Высокая производительность
- Реализация сложных методик (ПАП-тест, гистология)
- Безопасные условия труда
- Низкая себестоимость окраски
- Шесть приборов, 6-8-13-16 станций:
АФОМК-6, АФОМК8-Г-01, АФОМК8-В-01,
АФОМК-13-ПАП, АФОМК-16, АФОМК-16-25



**НАБОР РЕАГЕНТОВ МЛТ-ПАП-ДИФФ
ДЛЯ ОКРАСКИ ПО ПАПАНИКОЛАУ**



О. А. Клименкова



В. П. Пашкова



Т. В. Вавилова



В. С. Берестовская

Практический подход к управлению гемолизированными образцами в лаборатории

О. А. Клименкова, врач клинической лабораторной диагностики¹

В. П. Пашкова, зам. гл. врача по лабораторной службе¹

Т. В. Вавилова, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики и генетики²

В. С. Берестовская, к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики и генетики²

¹СПб ГБУЗ «Консультативно-диагностический центр для детей», г. Санкт-Петербург

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

Practical approach to managing hemolyzed samples in laboratory

O. A. Klimenkova, V. P. Pashkova, T. V. Vavilova, V. S. Berestovskaya

Consultative and Diagnostic Centre for Children, National Medical Research Centre n.a. V. A. Almazov; Saint Petersburg, Russia

Резюме

В статье рассмотрен новый подход к оценке индекса гемолиза на примере двух аналитов — АЛТ и АСТ, измеренных в образцах сыворотки крови на автоматическом биохимическом анализаторе. Данный подход основан на вычислении величины критической разницы RCV с учетом референсных интервалов для АЛТ и АСТ. Такая оценка позволяет определить статистически значимую достоверность различий между двумя результатами лабораторных исследований у одного пациента и исключить получение ложноположительных результатов.

Ключевые слова: индекс гемолиза (HI), величина критической разницы, референсный интервал.

Summary

The article describes a new approach to the assessment of hemolysis index (HI) on the example of two tests — alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), measured in blood serum samples on an automatic biochemical analyzer cobas 6000. This approach is based on the calculation of the Reference Change Value (RCV) taking into account the reference intervals for ALT and AST. This allows you to define a statistically significant the significance of differences between the two laboratory results from one patient and the deletion of obtaining false positive results.

Key words: hemolysis index (HI), reference change value, reference interval.

Работа с гемолизированными образцами в лаборатории вызывает много вопросов, которые не решены до настоящего времени. Связано это, прежде всего, с отсутствием рекомендаций, позволяющих выявлять образцы сыворотки крови с гемолизом, правильно оценивать степень гемолиза, определять его влияние на достоверность получаемого лабораторного исследования, а также предупреждать его появление [1].

В лабораторном сообществе продолжается дискуссия о том, кто — сама лаборатория или производитель аналитической системы, которая подразумевает под собой совокупность реагента и анализатора, и каким образом должны давать оценку степени влияния свободного гемоглобина на результат измерения аналита. В публикации Lipri G. [1], посвященной организации работы с гемолизированными образцами, предлагается пересматривать максимальное значение индекса гемолиза (HI),

указанное производителем в инструкции к набору реагента, выше которого возможно влияние гемолиза на достоверность полученного результата сотрудниками самой лаборатории. Автор объясняет это тем, что для правильной оценки результатов лабораторных исследований необходимо учитывать влияние многих факторов: матрицу образца (например, сыворотка или плазма), концентрацию свободного гемоглобина в образце, выполняемый тест, используемую аналитическую систему, а также клиническую составляющую, лежащую в основе того или иного заболевания пациента [1]. Согласно стандарту CLSI EP07-A22 [2] каждый производитель набора реагента для конкретной аналитической системы определяет ту концентрацию свободного гемоглобина (индекс гемолиза HI), который отклоняет результат лабораторного исследования на 10 % как в сторону его увеличения, так и снижения [2]. В случае превышения индекса гемолиза для

Таблица 1

Оценка результатов повторного измерения АСТ у пациентов, в образцах сыворотки которых при первичном исследовании был обнаружен недопустимый уровень гемолиза (HI > 40)

№ группы	Первичное измерение; HI > 40 (n = 68)		Повторное измерение; HI < 40 (n = 68)	Процент от общего числа пациентов
1 (n = 11)	АСТ > референсного интервала	→	АСТ в пределах референсного интервала	16,2
2 (n = 6)	АСТ > референсного интервала	→	АСТ > референсного интервала	8,8
3 (n = 51)	В пределах референсного интервала	→	В пределах референсного интервала	75,0

исследуемого анализа выше допустимого, лаборатория должна запросить новый образец для исследования.

Цель исследования: оценить влияние гемолиза на достоверность лабораторного результата аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) с использованием величины критической разницы RCV (Reference Change Value).

Материалы и методы

Для оценки влияния гемолиза, превышающего рекомендуемый уровень, и определения тактики обработки таких проб нами были отобраны 729 образцов сыворотки, в которых была измерена активность аминотрансфераз, а HI превышал допустимый для теста согласно инструкции производителя. Активность АСТ была определена в 576 образцах с индексом гемолиза выше 40, активность АЛТ — в 163 образцах с HI более 200. Все измерения проводились на автоматическом биохимическом анализаторе cobas 6000 (cobas c 501).

Результаты

В соответствии с рекомендациями производителя для всех указанных результатов в лабораторной информационной системе было сформировано сообщение «Повторить. Гемолиз выше допустимого». В течение последующих двух недель повторное исследование АЛТ и АСТ было назначено лечащим врачом и выполнено для 109 паци-

ентов. Определение АСТ проведено повторно 68 пациентами, АЛТ — 41 пациенту, что составило 11,8 и 25 % от первоначальных проб с гемолизом соответственно. Ни в одном из повторных образцов уровень гемолиза не превышал допустимого. Сравнение результатов измерения аминотрансфераз показало, что медиана разницы между двумя измерениями для АЛТ составила 23 %, а для АСТ — 20 %, что в половине случаев превышает 10-процентное отклонение результата исследования в образце сыворотки крови без гемолиза и с гемолизом, а значит, может быть клинически значимым [2].

Для определения клинического значения разницы между активностью изучаемых ферментов в двух образцах было выполнено сравнение полученных результатов с референсными интервалами в гемолизированных (первичных) и негемолизированных (после повторного взятия) образцах сыворотки крови. Данные представлены в табл. 1 и 2.

Анализ результатов парных измерений позволил разделить пациентов на три группы для каждого анализа.

Группы 1 и 4 составили пациенты, для которых повторное измерение оказалось клинически важным: патологический результат при повторном исследовании в пробе с допустимым уровнем гемолиза не был подтвержден, что позволило сомневаться в наличии патологического процесса. Таким образом, примерно для 10–15 % пациентов повторным

измерением анализов на основании предупреждения в ЛИС, вероятно, были исключены ложноположительные результаты.

В группы 2 и 5 вошли пациенты, результат измерений у которых может быть расценен как истинно положительный: повторное исследование подтвердило наличие патологии, и для них влияние гемолиза не сыграло существенной роли.

Наибольшее количество пациентов оказались в группах 3 и 6: результаты измерения аминотрансфераз находились в пределах референсного интервала как при первичном, так и повторном измерении. Выявленный гемолиз не имел клинически значимого влияния на результаты, которые можно расценивать как истинно отрицательные.

Для получения количественной характеристики значимости разницы между двумя измерениями была рассчитана величина критической разницы (RCV) в соответствии с формулой

$$RCV = 2^{1/2} \times 1,96 \times (CVa^2 + CVi^2)^{1/2},$$

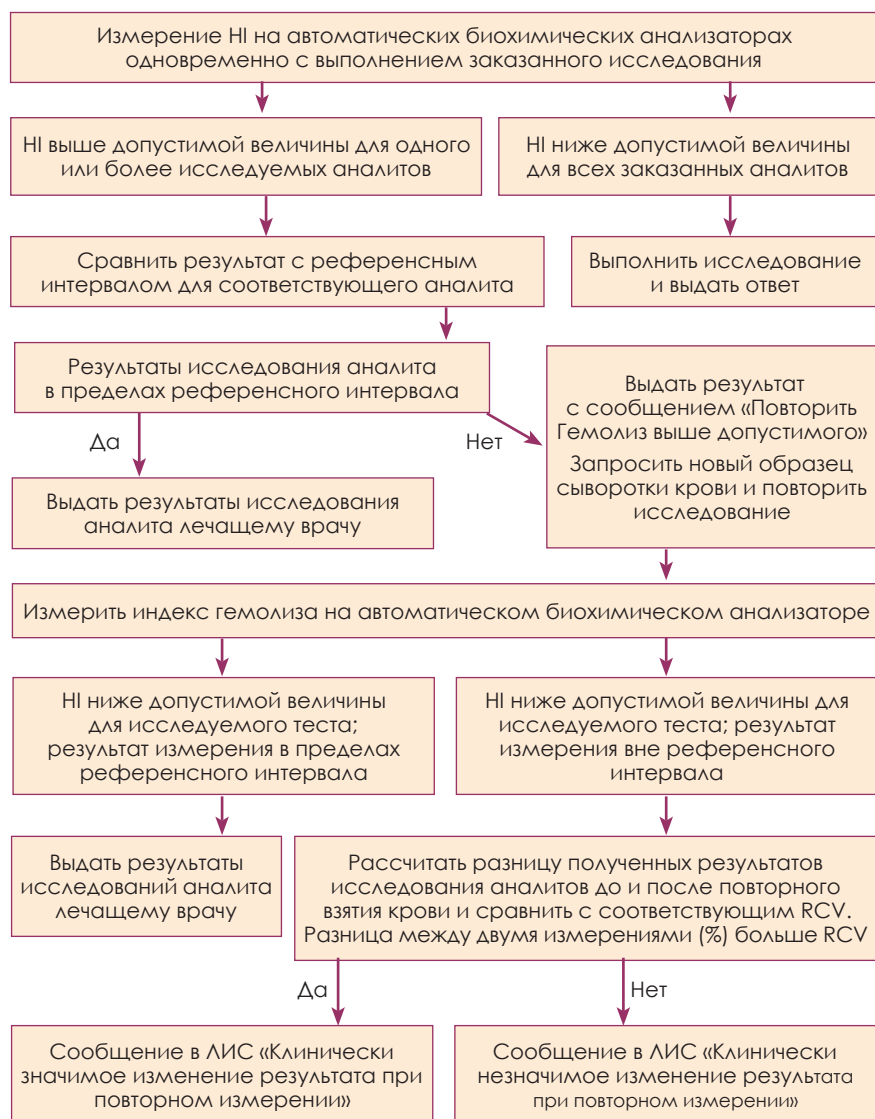
где CVi — это долгосрочный коэффициент аналитической вариации (100 точек), полученный из данных проведения внутрилабораторного контроля качества; CVi — коэффициент внутрииндивидуальной биологической вариации для АЛТ и АСТ [3]; 1,96 — константа, соответствующая 95-процентной вероятности доверительного интервала при двустороннем распределении с $p < 0,05$.

Таблица 2

Оценка результатов повторного измерения АЛТ у пациентов, в образцах сыворотки которых при первичном исследовании был обнаружен недопустимый уровень гемолиза (HI > 200)

№ группы	Первичное измерение; HI > 200 (n = 41)		Повторное измерение; HI < 200 (n = 41)	Процент от общего числа пациентов
43 (n = 4)	АЛТ > референсного интервала	→	В пределах референсного интервала	9,8
5 (n = 7)	АЛТ > референсного интервала	→	АЛТ > референсного интервала	17,0
6 (n = 30)	В пределах референсного интервала	→	В пределах референсного интервала	73,2

Схема
Алгоритм работы с образцами крови, поступившими в лабораторию
для биохимических исследований



RCV для АСТ составила 34,2%, для АЛТ — 54,0%. Для каждого пациента с повторным измерением мы сравнили разницу между результатами первичного и повторного исследования, выраженную в процентах, с уровнем RCV. В случае, если полученный процент отклонения повторного результата был выше величины RCV, данное отклонение признавалось достоверным [4].

Оказалось, что повторные значения АСТ в группе 1 достоверно отличались от первичного результата в 54,5% случаев и соответствовали референсному интервалу. Это позволило исключить ложноположительный результат первичного исследования. У оставшихся 45,5% пациентов не наблюдалось достоверно значимых различий в результатах АСТ между первичным

и повторным измерением, что может быть связано с вкладом внутрииндивидуальной биологической вариации у пациента и аналитической вариацией данного исследования в лаборатории. Во второй группе верифицировано достоверно значимое повышение уровня АСТ в 16,7%, что указывает на наличие патологического процесса.

Сопоставление результатов двух измерений АЛТ дало важные, хотя и не столь однозначные результаты: 25% достоверных отличий в группе 4, то есть у 25% пациентов исключены ложноположительные результаты и 14,2% достоверных отличий в группе 5. В образцах группы 5, включающей оба измерения с превышением референсного значения, сравнение на основе RCV позволило судить

о динамике показателей с соответствующим достоверным изменением в пределах патологического процесса.

Исходя из полученных данных, можно сделать заключение о том, что в случае нахождения результатов измерения АСТ или АЛТ в пределах референсного интервала даже при наличии уровня гемолиза, выше заявленного производителем как допустимого, повторное измерение не требуется, и сообщение в ЛИС о его необходимости передавать не надо. В тех случаях, когда первичные результаты исследований АСТ и АЛТ, полученные в гемолизированных образцах, превышают референсный интервал, необходимо оповестить врача о повторном взятии крови. Полученные результаты повторного измерения необходимо оценивать на основании RCV, который позволит определить статистическую достоверность различий между двумя результатами лабораторных исследований АЛТ и АСТ. Алгоритм работы с образцами крови, поступившими в лабораторию для биохимических исследований, в соответствии с такой идеологией представлен на схеме.

Предложенная модель управления гемолизированными образцами на основе определения RCV, позволяет избежать повторного проведения лабораторного исследования в образцах при нахождении результата АСТ и АЛТ в пределах референсных значений, а также подтвердить результаты, имеющие клиническую значимость и свидетельствующие о наличии патологического процесса у пациента. Меры, направленные на повышение достоверности результата, являются вкладом лаборатории в повышение безопасности пациентов.

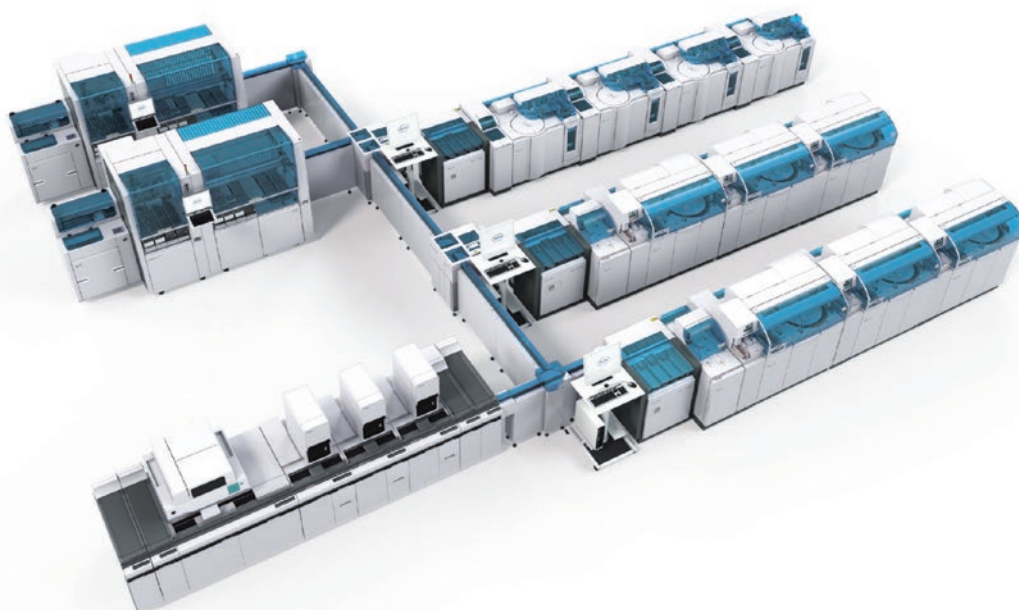
Список литературы

1. Lippi G., Cervellini G., Favaloro E. J., Plebani M. In vitro and in vivo hemolysis. Management of hemolyzed specimens. // Berlin / Boston: De Gruyter. — 2012. — P. 63–79 — ISBN 978-3-11-024614-8.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Interference testing in clinical chemistry; approved guideline. CLSI document EP07-A22nd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
3. Desirable Biological Variation Database specifications [Электронный ресурс] // Westgard-QC. URL: <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm> (дата обращения: 01.09.2018).
4. Фрейзер К. Г. Биологическая вариация: от теории к практике. Пер. с англ. М.: Медиздат; 2010. ISBN: 978-5-902943-12-9, пер. с англ. И. А. Арефьевой.



Модульные платформы cobas®

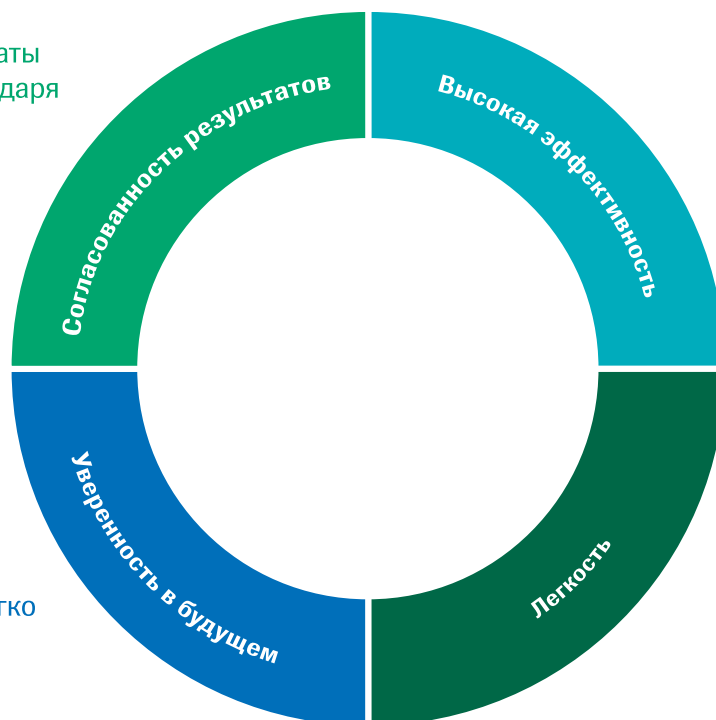
Концепция гибких и индивидуальных решений



Сегодня перед лабораториями стоит задача надежной и высококачественной аналитики и в то же время – обеспечения эффективного рабочего процесса. Для удовлетворения этих потребностей компания Рош разработала концепцию сывороточной рабочей зоны на основе модульной платформы **cobas**.

Сопоставимые результаты
на всех системах благодаря
единой реагентной
концепции

Консолидация более
чем 90% рутинных
параметров



Благодаря модульной
концепции системы легко
наращиваются

Единая концепция
реагентов значительно
облегчает их логистику

COBAS, LIFE NEEDS ANSWERS и ELECSYS являются товарными знаками Рош.

© 2018 Рош

ООО «Рош Диагностика Рус»:

Россия, 115114, Москва, ул. Летниковская, д. 2, стр. 2, Бизнес-центр «Вивальди Плаза»

Тел.: +7 495 229-69-99, Факс: +7 495 229-62-64

www.diagnostics.roche.com, www.rochediagnostics.ru

Изменения показателей тромбоэластограммы у пациентов с тяжелым сепсисом и септическим шоком

А. В. Михеева, аспирант кафедры анестезиологии и реаниматологии^{1,2}
В. С. Афончиков, к.м.н., доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии^{1,2}
В. А. Волчков, д.м.н., проф. кафедры анестезиологии и реаниматологии¹

¹ФГБОУ «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, Россия

²ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И. И. Джанелидзе», г. Санкт-Петербург, Россия

Changes in indices of thromboelastogram in patients with severe sepsis and septic shock

A. V. Mikheeva, V. S. Afonchikov, V. A. Volchkov

St. Petersburg State University, St. Petersburg Scientific Research Institute of Emergency Care n. a. I. I. Dzhanelidze;
St. Petersburg, Russia

Резюме

Пациенты с тяжелым сепсисом имеют разнонаправленные нарушения системы гемостаза [1]. Классические коагуляционные тесты позволяют оценить плазменную часть системы гемостаза, при этом не учитывая роли клеточного звена гемостаза. Появление глобальных коагуляционных тестов, таких как тромбоэластография, позволяет оценить физические свойства сгустка и кинетику его образования, а также фибринолиз и ретракцию сгустка. Для оценки роли тромбоцитарного звена в нарушении коагуляции у пациентов с сепсисом и септическим шоком проведено исследование состояния системы гемостаза. Пациенты были разделены на две группы: группу 1 составили 26 пациентов без тромбоцитопении, группу 2 — 18 пациентов с тромбоцитопенией. Выполнялись коагулограмма (включающая в себя протромбиновый тест по Квику, активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), уровень фибриногена), подсчет количества тромбоцитов и оценка их морфологических характеристик, тромбоэластография. Результаты: показатели классических коагуляционных тестов не зависели от уровня тромбоцитов; при оценке параметров тромбоэластограммы отмечено, что у пациентов с тромбоцитопенией удлинено время начала реакции (R), время достижения амплитуды 20 мм (K), уменьшены значения угла α и максимальной амплитуды. Полученные данные позволяют сделать вывод, что для пациентов с сепсисом и септическим шоком характерны дефицит плазменной части системы и активация тромбоцитарного звена системы гемостаза. При развитии тромбоцитопении у пациентов группы 2 не наблюдается выраженной гипокоагуляции. Совместная последовательная интерпретация данных рутинных коагуляционных тестов и тромбоэластографии позволяет комплексно оценить состояние системы гемостаза и определить тактику лечения.

Ключевые слова: сепсис; коагулопатия; тромбоэластография; гиперкоагуляция, тромбоцитопения.

Summary

Patients with severe sepsis have multiple dysfunction of coagulation system [1]. The routine coagulation tests provide possibility to estimate plasma part of system of coagulation, but without estimation of specific cellular part of this system. Appearance of new global coagulation tests provides assessment of physical characteristics of the clot and kinetics of its formation, so as fibrinolysis and retraction of clot. The clinical study of coagulation system has been conducted in order to estimate the role of the thrombocytic fraction, which causes the disturbance of coagulation in patients with sepsis and septic shock. The patients have been divided into two groups: Group 1 consisted of 26 patients without thrombocytopenia. As Group 2 we enrolled 18 patients with this disturbance. The routine coagulation tests (prothrombin index Quick's value, activated partial thromboplastin time (aPTT), fibrinogen testing included), platelet count and assessment of platelet's morphology and thromboelastography has been completed in every patient. Results: parameters of routine coagulation tests show no dependence of platelet count. Also, during the estimation of parameters of thromboelastogram has been noticed that patients with thrombocytopenia had increased clot reaction time (R), clot kinetics (K, time from clot formation to time amplitude reaches 20 mm), decreased value of angle α and maximum amplitude (MA). Based on data obtained during study, may be assumed that for patients with sepsis and septic shock are characteristic deficit of the coagulation proteins are the core components of the coagulation system and activation of cellular part of coagulation system. Developing of thrombocytopenia does not lead to manifest hypocoagulation. Using both routine coagulation tests and thromboelastography in interpretation of results gives us better insight of complex assessment of system of coagulation and provides guideline in treatment of those patients.

Key words: sepsis, coagulopathy; thromboelastography; hypercoagulation, thrombocytopenia.

Введение

Нарушения гемостаза у пациентов с сепсисом возникают часто и носят разнонаправленный характер [2, 3]. С одной стороны, пациенты с сепсисом и септическим шоком относятся к группе высокого риска с точки зрения вероятности развития венозных тромбозов и синдрома венозного тромбоза, что заставляет применять профилактическую антикоагулянтную терапию,

с другой стороны, у данной категории пациентов имеется высокий риск геморрагических осложнений [4, 5]. Классические лабораторные тесты для оценки системы гемостаза включают протромбиновое время с расчетом процента протромбина по Квику и международного нормализованного отношения (МНО) у пациентов, получающих варфарин и его аналоги, активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), уровень

фибриногена, количество тромбоцитов. Эти тесты традиционно используются для рутинной диагностики нарушений гемостаза, а также для определения показаний к проведению трансфузионной терапии. Однако применение классических коагуляционных тестов имеет некоторые ограничения. Во-первых, на основании этих параметров мы получаем данные только о плазменной части гемостаза без учета роли тромбоцитов в формировании тромба.

Таблица 1

Общая характеристика групп пациентов

Параметры	Группа 1 (n = 26)	Группа 2 (n = 18)
Возраст (годы)	62 (49–65)	50 (36–60)
SOFA(баллы)	6 (5–8)	7 (4–10)
Прокальцитонин (нг/мл)	2,2 (1,5–6,7)	13,8 (2,2–18,7)
Гемоглобин (г/л)	99 (73–116)	94 (74–112)
Лейкоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	15,2 (12,2–20,4)	10,0 (5,6–14,5)
Креатинин (мкмоль/л)	94 (69–168)	98 (67–306)
Общий белок (г/л)	51 (48–56)	47 (45–49)

В то же время тромбоциты активно участвуют в процессе тромбообразования, обеспечивают фосфолипидную поверхность для генерации тромбина и фазы амплификации коагуляционного каскада. Во-вторых, классические коагуляционные тесты не отражают процесса гемостаза *in vivo* и не дают данных, на основании которых можно принимать решения о коррекции нарушений. В-третьих, данные тесты не дают возможности оценить завершающую фазу (termination phase) процесса образования сгустка крови, а именно — характеристики образующегося сгустка, процессы ретракции сгустка и фибринолиза.

Глобальные коагуляционные методы, такие как тромбоэластография (ТЭГ) и тромбоэластометрия (ТЭМ), позволяют количественно оценить физические свойства образовавшегося сгустка, качественно и количественно охарактеризовать процесс тромбообразования, участие клеточного звена, а также процессы ретракции сгустка и фибринолиза [6, 7, 8]. Еще одним преимуществом использования ТЭМ/ТЭГ является возможность использования методики в реальном масштабе времени у кровати пациента и быстрое получение результата [9].

Цель исследования — изучить изменения параметров тромбоэластограммы и коагулограммы при развитии тромбоцитопении у пациентов с тяжелым сепсисом и септическим шоком.

Материалы и методы

Для изучения нарушений гемокоагуляции у пациентов с сепсисом выполнено проспективное, одноцентровое, обсервационное исследование, проведенное в реанимационном отделении для лечения больных с тяжелым сепсисом НИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе в 2016–2017 гг. Диагностика сепсиса проводилась на основании «Клинических рекомендаций по диагностике и лечению тяжелого сепсиса и септического шока» (Санкт-Петербург, 2016 год), в основу которых положены международные рекомендации, принятые на 45 конгрессе SocietyCriticalCareMedicine (SCCM) в 2016 году.

Критериями исключения являлись наличие гематологических заболеваний (врожденных, приобретенных), предшествующий прием антитромбоцитарных препаратов и антикоагулянтов, хронические заболевания печени с явлениями печеночной недостаточности, проведение трансфузии компонентов крови за 24 часа до включения в исследование. Обследовано 44 пациента; средний возраст пациентов составил 50 (40–64) лет. Мужчины составили 79 % и женщины 21 %, сопутствующую патологию имели 43 % (сахарный диабет второго типа (2 пациента), ишемическая болезнь сердца (7 пациентов), ХОБЛ (1 пациент)). Среднее значение оценки по шкале SOFA (Sepsis-related (Sequential) Organ Failure Assessments Score) на момент включения в исследование составило 6 (5–8) баллов (табл. 1). Основным источником сепсиса являлись абдоминальные инфекции в 38 % случаев, респираторные инфекции — 32 %, инфекции кожи и мягких тканей — 21 %, инфекции ЦНС — 9 %. Геморрагические осложнения (петехиальная сыпь, гематомы в местах инъекций, желудочно-кишечные кровотечения (ЖКК), геморрагический цистит) наблюдались у шести пациентов — 13 %.

Для оценки влияния тромбоцитарного звена на развитие коагулопатии пациенты были разделены на 2 группы: группу 1 составили 26 пациентов без тромбоцитопении, группу 2 — 18 пациентов с тромбоцитопенией (количество тромбоцитов менее $150 \times 10^9/\text{л}$).

Для оценки состояния плазменного звена системы гемостаза выполнялась коагулограмма, включающая

в себя ПТ по Квику (протромбиновый тест по Квику), АПТВ, уровень фибриногена, на коагулометре STA Compact (Stago, Швейцария). Для глобальной оценки состояния системы гемокоагуляции проводилась тромбоэластография (тромбоэластограф TEG® 5000, США). Проводились пробы с цельной цитратной кровью без использования индукторов агрегации. Клинический анализ крови и определение морфологических параметров тромбоцитов (средний объем тромбоцитов, содержание крупных тромбоцитов, тромбоцитрит, ширина распределения тромбоцитов) проводились на гематологическом анализаторе Sysmex XS-1000i. Учитывались данные клинических и биохимических анализов крови, выполнявшихся в ОРИТ — уровень гемоглобина, гематокрит, количество лейкоцитов и тромбоцитов, прокальцитониновый тест, креатинин и мочевины, общий и прямой билирубин, общий белок.

При использовании классических тестов для оценки системы гемокоагуляции критериями гипокоагуляции служил один из следующих показателей: ПТ по Квику ≤ 70 %, уровень фибриногена крови менее 1 г/л, АПТВ более 45 с. Также учитывалось снижение числа тромбоцитов менее $150 \times 10^9/\text{л}$ при наличии клинических проявлений геморрагического синдрома.

При анализе тромбоэластограмм в качестве признаков гипокоагуляции рассматривались следующие изменения основных показателей: удлинение времени начала образования сгустка (R), времени от начала

Таблица 2
Параметры классических коагуляционных тестов

Параметры	Группа 1 (n = 26)	Группа 2 (n = 18)	P
ПТ по Квику (%)	69 (63–76)	61 (53–70)	0,223
АПТВ (с)	32 (30,4–38,7)	33 (30,5–34,1)	0,973
Фибриноген (г/л)	4,7 (4,5–5,2)	3 (2,7–4,9)	0,393

Таблица 3
Параметры тромбоэластограммы

Параметры	Референсные значения	Группа 1 (n = 26)	Группа 2 (n = 18)	P
R (мин.)	9–27	7,5 (5,4–9)	10,6 (8,2–11,7)	0,029
K (мин.)	2–9	1,9 (1,6–2,5)	4 (3,1–5,2)	0,004
Angle α (°)	22–58	65 (57–66,5)	46,3 (38–52,3)	0,004
МА (мм)	44–64	72 (66,4–78)	63,5 (56,6–70,5)	0,085
CI	–3–3	3,5 (2,4–4,7)	2 (–0,2–3,1)	0,024



Рисунок. Коагуляционный профиль пациентов при оценке различными методами.

образования сгустка до достижения амплитуды 20 мм (K) и (или) уменьшение угла α и максимальной амплитуды (МА) ниже референтных значений. Соответственно гиперкоагуляция определялась как уменьшение времени начала образования сгустка (R), времени от начала образования сгустка до достижения амплитуды 20 мм (K) и (или) увеличение угла α и максимальной амплитуды (МА) выше референтных значений. Учитывался также коагуляционный индекс: при значении CI $\geq +3$ диагностировалась гиперкоагуляция, при значении CI ≤ -3 — гипокоагуляция.

Статистический анализ проведен с помощью программ SPSS Statistic 17.0 и Microsoft Excel 2010. Учитывая ненормальный характер распределения, данные представлены как

медиана [квартиль 1 — квартиль 3] (Me [Q1–Q3]). Различия между группами оценивали с применением непараметрического критерия Манна-Уитни. Критическим уровнем статистической значимости считали $p < 0,05$.

Результаты

Проведена оценка различных нарушений системы гемостаза у пациентов с сепсисом с использованием комплексной интерпретации данных, полученных с помощью классических коагуляционных тестов и методом тромбоэластографии.

У пациентов с тяжелым сепсисом и септическим шоком показатели классических коагуляционных тестов не зависели от уровня тромбоцитов. Это можно объяснить тем, что коагу-

лограмма оценивает плазменное звено системы гемостаза. Следует отметить, что у 13 пациентов группы 1 и у 11 пациентов группы 2 имелось снижение процента протромбина по Квику при сохранении нормального значения АЧТВ (табл. 2).

В то же время, выполнение тромбоэластографических проб с цельной кровью позволяет оценить как плазменное, так и тромбоцитарное звено системы гемостаза. Закономерно появление различий между группами пациентов с нормальным количеством тромбоцитов и с тромбоцитопенией. Хотя значения основных параметров тромбоэластограмм остаются в пределах нормальных значений, у пациентов с тромбоцитопенией имеется тенденция к развитию гипокоагуляционного состояния. При оценке параметров тромбоэластограммы отмечено, что у пациентов с тромбоцитопенией удлинено время начала реакции (R), время достижения амплитуды 20 мм (K), уменьшено значение угла α и максимальной амплитуды, которые характеризуют физические свойства и плотность сгустка. Не выявлено увеличения индекса лизиса сгустка (LY 30), что свидетельствует о том, что для пациентов с сепсисом и септическим шоком гиперфибринолиз не характерен.

В группе 1 гиперкоагуляционное состояние на основании значения коагуляционного индекса (≥ 3) выявлено у 14 (54%) пациентов. Параметры тромбоэластограммы остальных пациентов данной группы оставались в пределах референтных значений, гипокоагуляционного состояния выявлено не было. В группе 2 значение коагуляционного индекса ≥ 3 имели 5 пациентов (27%), что соответствует гиперкоагуляции; 1 пациент имел признаки гипокоагуляции (значение CI: –3,1). Данные представлены в табл. 3.

На основании метода тромбоэластографии гиперкоагуляция выявлена у 19 пациентов обеих групп. Показатели коагулограммы этих пациентов оставались в пределах нормальных значений или свидетельствовали о развитии гипокоагуляции (см. рис.).

Таблица 4
Морфологические характеристики тромбоцитов

Параметр	Референсные значения	Группа 1 (n = 26)	Группа 2 (n=18)	P
Количество тромбоцитов $\times 10^9/\text{л}$	150–400	265 (220–315)	96 (58–124)	
Средний объем тромбоцита, фл	9–13	10,29 ($\pm 1,3$)	11,02 ($\pm 1,2$)	0,059
Ширина распределения тромбоцитов, %	9–15	13,59 ($\pm 2,56$)	16,02 ($\pm 3,08$)	0,008
Содержание крупных тромбоцитов, %	13–43	28,7 ($\pm 9,2$)	34,4 ($\pm 8,8$)	0,038

При сравнении морфологических характеристик тромбоцитов пациентов двух групп наблюдались различия (табл. 4): в группе 1 содержание крупных тромбоцитов и ширина распределения тромбоцитов имели меньшее значение, чем у пациентов группы 2. Средний объем тромбоцитов у пациентов с тромбоцитопенией увеличивался.

При возникновении геморрагических осложнений комплексная оценка лабораторных данных позволяла выявить причину их возникновения и определить тактику лечения. Среди пациентов, включенных в исследование, геморрагические осложнения (эрозивная гастропатия, ЖКК, гематомы в местах инъекций, петехиальная сыпь, эрозивная гастропатия, геморрагический цистит) диагностированы в шести случаях. Показатели коагулограммы и количество тромбоцитов у трех пациентов оставались в пределах нормальных значений. Признаки гипокоагуляции имели два пациента, снижение тромбоцитов менее $150 \times 10^9/\text{л}$ наблюдалось у трех пациентов.

Для получения дополнительных сведений проводилась ТЭГ. Данные, полученные методом ТЭГ, свидетельствовали о дефиците плазменного звена — удлинение времени начала реакции (R), времени достижения амплитуды 20 мм (K), уменьшено значение угла α . Максимальная амплитуда, которая характеризует наибольшую плотность сгустка и зависит от активности тромбоцитов и уровня фибриногена, оставалась в пределах нормальных значений, в том числе и у пациентов с тромбоцитопенией.

Пример 1. Пациент С., 25 лет, поступил с диагнозом «язвенная болезнь ДПК, перфорация». Ос-

ложнения: флегмона забрюшинного пространства, тяжелый сепсис. Проведено оперативное лечение — ушивание язвы ДПК, вскрытие флегмоны. Лабораторные показатели при поступлении: ПТ по Квику 70 %, АЧТВ 34,4 с, фибриноген 5,2 г/л, количество тромбоцитов $164 \times 10^9/\text{л}$. На четвертый день заболевания появились обширные гематомы в местах инъекций, петехиальная сыпь. Показатели коагулограммы: ПТ по Квику 63 %, АЧТВ 38 с, фибриноген 4,1 г/л, количество тромбоцитов $102 \times 10^9/\text{л}$. Обращает внимание снижение уровня фибриногена и тромбоцитов. Для комплексной оценки состояния системы гемостаза дополнительно выполнена ТЭГ. Результаты: R — 29 мин, K — 8,5 мин, угол α 36°, MA — 57 мм. На основании этих данных можно предположить наличие у пациента гипокоагуляции, дефицита плазменных факторов. Проведена заместительная терапия (СЗП в объеме 15 мл/кг), клинические проявления регрессировали. При проведении контрольной тромбоэластографии выявлена нормокоагуляция.

Обсуждение

Развитие коагулопатии при сепсисе сопровождается повышением риска смертности, поэтому раннее распознавание нарушений коагуляции крайне необходимо [12, 13]. Использование классических коагуляционных тестов для оценки состояния системы гемостаза позволяет оценить лишь плазменное звено. Преобладание гипокоагуляционного состояния системы гемостаза у пациентов с тяжелым сепсисом при оценке плазменного звена можно объяснить снижением синтетической функции печени, пре-

обладанием процессов катаболизма и факторами свертывания крови [14].

Наши данные и данные литературы (Muzaffar et al., 2017) позволяют предположить, что патофизиологические и патохимические процессы при эндотелиальной дисфункции у данной категории пациентов связаны с закономерной активацией клеточного звена системы гемостаза. При этом классические коагуляционные методы с широким диапазоном референтных значений не позволяют выявлять гиперкоагуляцию. Метод ТЭГ более чувствителен для верификации биологического феномена перехода золя в гель — образования сгустка крови и позволяет регистрировать гиперкоагуляционные состояния. Совместное использование методик позволяет получить дополнительные данные о состоянии системы гемостаза.

Необходимы дальнейшие исследования, чтобы оценить информативность тромбоэластографии для определения показаний к проведению трансфузионной терапии или назначению антитромботических препаратов при сепсисе.

Выводы

У пациентов с тяжелым сепсисом и септическим шоком происходит активация тромбоцитарного звена системы гемостаза, что подтверждается глобальными коагуляционными тестами.

При развитии тромбоцитопении не наблюдается выраженной гипокоагуляции.

Данные, полученные при использовании классических коагуляционных тестов, позволяют предположить наличие дефицита плазменных факторов системы гемостаза.

Отсутствие достоверного различия максимальной амплитуды ТЭГ у пациентов с нормальным количеством тромбоцитов и при тромбоцитопении может быть объяснено наличием повышенного уровня фибриногена как белка острой фазы.

Совместная последовательная интерпретация данных рутинных коагуляционных тестов и тромбоэластографии позволяет комплексно оценить состояние системы гемостаза и определить тактику лечения.

Разделение пациентов в зависимости от коагуляционного профиля может быть полезно для определения риска развития кровотечения, тяжести сепсиса и возможного исхода.

Список литературы

1. Levi M., Schultz M. Coagulopathy and platelet disorder in critically ill patients. *Minerva Anesthesiol.* 2010; Vol. 76. 851–859.
2. Cheng-Ming Tsao, Shung-Tai Ho, Chin-Chen Wu. Coagulation abnormalities in sepsis. *Acta Anaesthesiologica Taiwanica.* 2015; Vol. 53: 16–22.
3. Simmons J., Pittet J.F. The Coagulopathy of Acute Sepsis. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2015; 28(2): 227–236.
4. Malgorzata Lipinska-Gediga. Coagulopathy in sepsis — a new look at an old problem. *Anaesthesiol Intensive Ther* 2016; 48(5): 352–359.
5. Mavrommatis AC, Theodoridis T, Orfanidou A, et al. Coagulation system and platelets are fully activated in uncomplicated sepsis. *Crit Care Med.* 2000; 28(2): 451–7.
6. Daudel F., Kessler U. et al. Thromboelastometry for the assessment of coagulation abnormalities in early and established adult sepsis: a prospective cohort study. *Crit. Care.* 2009; 13; Doi:10.1186/cc7765.

7. Bolliger D, Seeberger MD, Tanaka KA. Principles and Practice of Thromboelastography in Clinical Coagulation Management and Transfusion Practice. *Transfusion Medicine Reviews.* 2012; 26(1): 1–13.
8. Muzaffar SN, Baronia AK, Azim A, Verma A, Gurjar M, Poddar B, et al. Thromboelastography for evaluation of coagulopathy in nonbleeding patients with sepsis at intensive care unit admission. *Indian J Crit Care Med.* 2017; 21 : 268–73.
9. Müller MC, Meijers J, Vroom MB et al. Utility of thromboelastography and/or thromboelastometry in adults with sepsis: a systematic review. *Critical Care.* 2014; 18: R 30.
10. Seki Y., Wada H., Kawasugi K. A Prospective Analysis of Disseminated Intravascular Coagulation in Patients with Infections. *Intern Med.* 2013; 52: 1893–1898.
11. Fletcher B., Taylor Jr., Cheng-Hock Toh, Hoots W.K., Wada H., Levi M.. Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost.* 2001; 86(5): 1327–30.
12. Бгане Н. М., Синьков С. В., Заболотских И. Б., Трёмбач А. В. Анализ коагулопатий у детей при различных стадиях септического процесса. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2011; 5 (128):16–21.
13. Кузьмин М. А., Типисев Д. А., Цветков Д. С., Анисимов М. А. Нарушения в системе гемостаза у больных с тяжелым сепсисом и септическим шоком. *Вестник анестезиологии и реаниматологии.* 2011; 8(3): 28–41.
14. Dempfle C E. Coagulopathy of sepsis. *Thrombosis and Haemostasis.* 2004; 91(2): 213–224.

References:

1. Levi M., Schultz M. Coagulopathy and platelet disorder in critically ill patients. *Minerva Anesthesiol.* 2010; Vol. 76. 851–859.
2. Cheng-Ming Tsao, Shung-Tai Ho, Chin-Chen Wu. Coagulation abnormalities in sepsis. *Acta Anaesthesiologica Taiwanica.* 2015; Vol. 53: 16–22.
3. Simmons J., Pittet J.F. The Coagulopathy of Acute Sepsis. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2015; 28(2): 227–236.

4. Malgorzata Lipinska-Gediga. Coagulopathy in sepsis — a new look at an old problem. *Anaesthesiol Intensive Ther* 2016; 48(5): 352–359.
5. Mavrommatis AC, Theodoridis T, Orfanidou A, et al. Coagulation system and platelets are fully activated in uncomplicated sepsis. *Crit Care Med.* 2000; 28(2): 451–7.
6. Daudel F., Kessler U. et al. Thromboelastometry for the assessment of coagulation abnormalities in early and established adult sepsis: a prospective cohort study. *Crit. Care.* 2009; 13; Doi:10.1186/cc7765.
7. Bolliger D, Seeberger MD, Tanaka KA. Principles and Practice of Thromboelastography in Clinical Coagulation Management and Transfusion Practice. *Transfusion Medicine Reviews.* 2012; 26(1): 1–13.
8. Muzaffar SN, Baronia AK, Azim A, Verma A, Gurjar M, Poddar B, et al. Thromboelastography for evaluation of coagulopathy in nonbleeding patients with sepsis at intensive care unit admission. *Indian J Crit Care Med.* 2017;21:268–73.
9. Müller MC, Meijers J, Vroom MB et al. Utility of thromboelastography and/or thromboelastometry in adults with sepsis: a systematic review. *Critical Care.* 2014; 18: R 30.
10. Seki Y., Wada H., Kawasugi K. A Prospective Analysis of Disseminated Intravascular Coagulation in Patients with Infections. *Intern Med.* 2013; 52: 1893–1898.
11. Fletcher B., Taylor Jr., Cheng-Hock Toh, Hoots W.K., Wada H., Levi M.. Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost.* 2001; 86(5): 1327–30.
12. Bganе N. M., Sin'kov C. V., Zabolotskikh I. B., Trembach A. V. Analysis of coagulopathies in children at different stages of the septic process. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik.* 2011; 5 (128):16–21. (in Russian).
13. Kuz'min M. A., Tipisev D. A., Tsvetkov D. S., Anisimov M. A. Disturbances in the system of hemostasis in patients with severe sepsis and septic shock. *Vestnik anesteziologii i reanimatologii.* 2011; 8(3): 28–41. (in Russian).
14. Dempfle C E. Coagulopathy of sepsis. *Thrombosis and Haemostasis.* 2004; 91(2): 213–224.

РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ



План мероприятий, проводимых Российской ассоциацией медицинской лабораторной диагностики в 2018 году

Конференции и выставки

17–18 октября

Всероссийская межведомственная научно-практическая конференция «Инфекционная иммунология в многопрофильном учреждении: традиции и новации»
Организатор: РАМЛАД

24–25 октября

Научно-практический образовательный форум «Новые лабораторно-клинические решения, усовершенствованные и инновационные аналитические технологии как основополагающие компоненты современной лабораторной медицины»
Место проведения: г. Липецк (Гостиничный комплекс «Липецк») (г. Липецк, ул. Ленина, д. 11)
Организатор: РАМЛАД

21–22 ноября

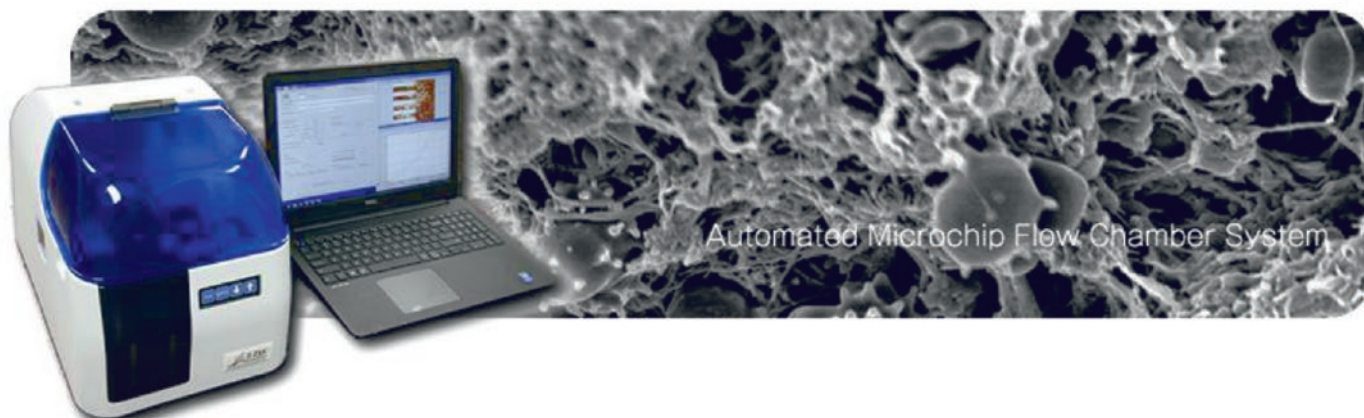
Научно-практический образовательный форум «Достоверность лабораторных исследований и применение современных технологий — основа эффективности клинических лабораторий»
Место проведения: Брянский клинико-диагностический центр (г. Брянск, ул. Бежицкая, д. 2)
Организатор: РАМЛАД

**Российская ассоциация
медицинской лабораторной диагностики:**

119526, Россия, Москва, а/я 117

E-mail: ramld@ramld.ru.

АНАЛИЗАТОР ТРОМБООБРАЗОВАНИЯ **T-TAS[®] plus**



**РЕВОЛЮЦИОННЫЙ МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ
ТРОМБООБРАЗОВАНИЯ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ КРОВотоКА**
Использование T-Tas plus позволяет количественно оценить формирование «белого» тромбоцитарного и «красного» тромбов в картриджах, имитирующих условия тромбообразования, в артериальной и венозной части сосудистого русла.

ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ВОЗМОЖНО:

- оценить скорость тромбообразования.
- измерение требует 350-500 мл цельной стабилизированной крови
- время от 10 до 30 минут.

ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИМЕНЯЕТСЯ 2 ТИПА КАРТРИДЖА



PL картридж (покрытый коллагеном)

Применение: наблюдение и анализ тромбоцитарного тромбообразования



AR картридж (покрытый коллагеном и тканевым тромбoplastином)

Применение: наблюдение и анализ смешанного тромбообразования

Область применения:

- Оценка действия новых антикоагулянтов
- Оценка действия антиагрегантов
- Диагностика патологии системы гемостаза
- Контроль качества препаратов крови

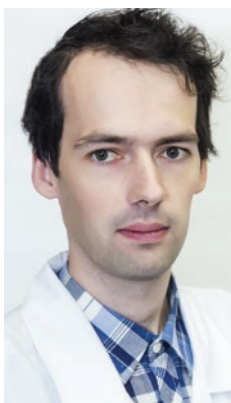
Product manufacturer:



Head office:
1-23-7 Nishi-Shinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo,
JAPAN

Дистрибьютор в РФ:

ООО «ТПО "Медиа Лаб"»
109028, г. Москва, Тессинский пер., д. 5, стр. 1.
Тел./факс: +7 (495) 638-51-96/97
www.mediolab.ru | E: mediolab@mail.ru



М.С. Макаров

Физиологическое и прогностическое значение тромбоцитов без гранул

М.С. Макаров, к.б.н., научный сотрудник

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

Physiological and prognostic value of platelets without granules

M.S. Makarov

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

Резюме

В работе представлены данные о биологических особенностях тромбоцитов человека, не содержащих или содержащих очень незначительное число гранул. Тромбоциты без гранул имеют несколько подтипов с разными структурными характеристиками, оценка которых может иметь значение для фундаментальных и практических исследований.

Ключевые слова: тромбоциты, дискоциты, гранулы, мембраны, P-селектин.

Summary

We discussed data about biological properties of human platelets, not containing or containing very small granules' volume. There are few types of granule-devoted platelets with different structural features, which may be relevant for fundamental and applied research.

Key words: platelets, discocytes, granules, membranes, P-selectin.

Общепринято, что дисковидная форма является отличительным признаком неактивированных тромбоцитов, находящихся в «стадии покоя» и потенциально способных к активации [10, 27, 29]. Во многих работах такие тромбоциты описываются как наиболее жизнеспособные, поэтому оценка их процентного содержания в крови или плазме используется для характеристики качества тромбоцитарного пула в целом [2, 3, 11, 15, 19]. С другой стороны, известно, что не все дисковидные тромбоциты насыщены гранулами, и не все они способны проявлять функциональную активность [4, 5]. Для клинической диагностики, производственной трансфузиологии, а также для разных направлений регенеративной медицины всегда важно определить содержание биологически полноценных тромбоцитов — для их обозначения в наших работах используется термин «тромбоциты с гранулами» [5–7]. При этом тромбоциты без гранул в значительной степени остаются вне исследовательского поля. Естественно предположить, что структурно неполноценные тромбоциты являются биологически инертными и играют сугубо пассивную роль в системе гемостаза, а также в жизнедеятельности всего организма в целом. Однако существующие данные говорят

о том, что далеко не все тромбоциты без гранул находятся на терминальной стадии развития. Так, суммарная доля тромбоцитов, экспрессирующих P-селектин (необратимо активированные клетки) и фосфатидилсерин (клетки в стадии апоптоза), в крови здоровых людей варьирует от 9 до 16% [14, 18, 28], а доля тромбоцитов соответствующего морфологического типа (многоотростчатые тромбоциты и дегенеративные тромбоциты) — от 10 до 15% [2, 3, 27], т.е. среди тромбоцитов терминальных стадий практически отсутствуют клетки дисковидной формы. В то же время общее содержание тромбоцитов с гранулами в норме составляет 35–75%, тогда как общая доля тромбоцитов дисковидной и близкой к ней формы составляет 84–90%; таким образом, даже у здоровых людей доля дисковидных тромбоцитов без гранул может варьировать от 9 до 55% в пересчете на всю тромбоцитную популяцию. Действительно, в ходе ретроспективного анализа витально окрашенных препаратов (их цифровых фотографий) нами выявлено, что практически у всех доноров крови уровень дисковидных тромбоцитов без гранул был в пределах от 10 до 50%, составляя в среднем $32,6 \pm 5,4\%$. Это довольно значительная величина, особенно если учесть, что эти

клетки не находятся в стадии явной инактивации или распада. Поэтому чрезвычайно интересно выяснить их физиологическое значение.

Морфологический анализ дисковидных тромбоцитов без гранул

К дискоцитам мы относим все те тромбоциты, форма которых не претерпела значительных изменений по сравнению с интактной (рис. 1). В частности, тромбоцит может иметь выпячивания ламеллы, но при этом его диаметр и общие очертания больше соответствуют стадии покоя, нежели стадии активации [3]; кроме того, наличие мелких выпячиваний практически не влияет на содержание гранул в тромбоцитах. Часть дисковидных тромбоцитов обладает уплощенной блинообразной формой с округлыми очертаниями, что увеличивает их диаметр; в разных источниках такие тромбоциты называют сферическими или распластанными (spread platelets) [15, 21, 24]. Показано, что spread-форму тромбоцит формирует при контакте с адгезивным субстратом, находясь на ранней стадии активации, которая не всегда автоматически запускает процесс необратимой активации [7, 8, 10]. Как и в случае дискоцитов, количество гранул в уплощенных тромбоцитах может заметно варьировать от клетки

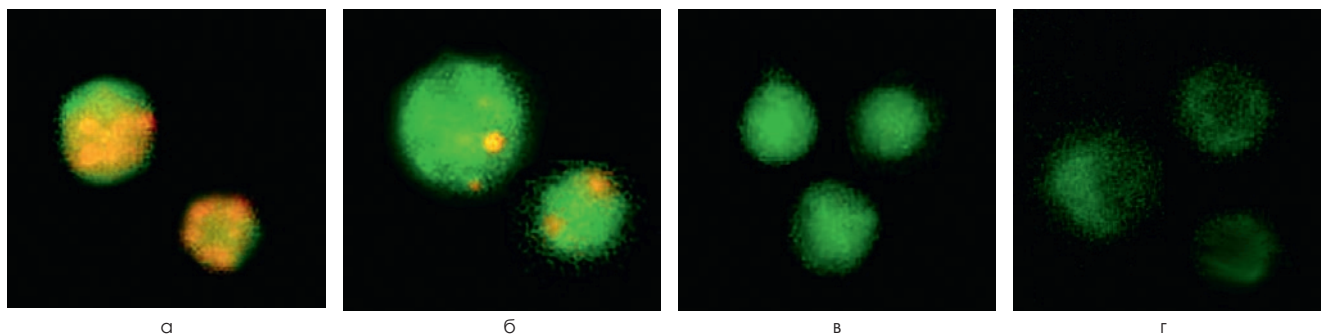


Рисунок 1. Морфологические типы дисковидных тромбоцитов человека. Витальное окрашивание трипафлавином — акридиновым оранжевым. Ув. 2000×; а — тромбоциты, насыщенные гранулами; б — тромбоциты с 1–2 гранулами; в — тромбоциты без гранул; г — тромбоциты без гранул с низкой яркостью цитоплазмы.

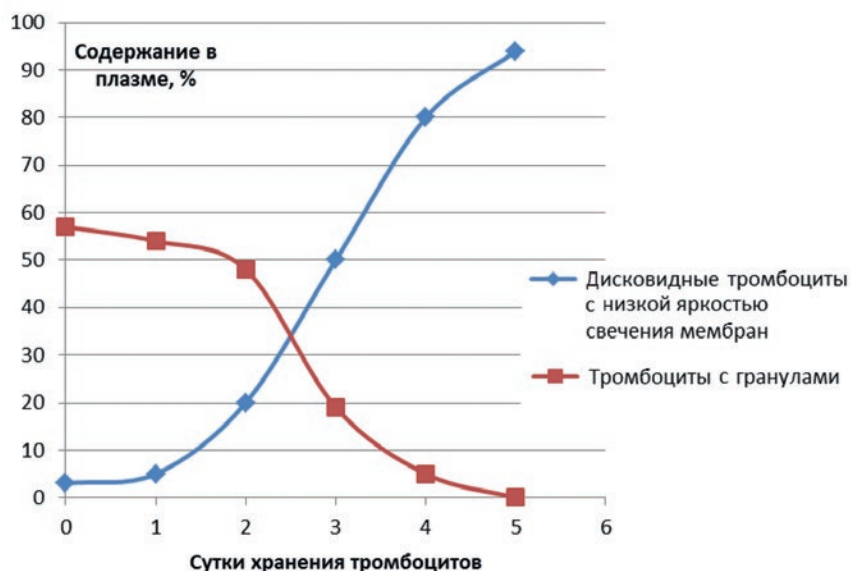
к клетке, при этом линейные размеры никак не влияют на их функциональные свойства. Таким образом, морфологически все наиболее значимые различия между дискоцитами должны определяться их внутренним составом.

Ранее, говоря о тромбоцитах без гранул, мы подразумевали в том числе и те клетки, которые при витальном окрашивании содержат 1–2 визуально различимые гранулы, причем в некоторых случаях диаметр таких гранул может достигать 700–800 нм, т.е. по всей видимости, они являются результатом оптического слияния нескольких гранул. Отличительным моментом здесь является то, что в интактном, структурно полноценном тромбоците гранулы распределены по значительному объему цитоплазмы (рис. 1 а), тогда как в клетках с 1–2 гранулами эти гранулы тесно ассоциированы с клеточной границей, с плазматической мембраной (рис. 1 б), и нередко можно видеть частичное выпячивание гранулы за пределы тромбоцита. Подобное «выпирающее» гранул наблюдается в процессе активации тромбоцитов, их адгезии или агрегации, когда происходит массовый выброс гранул (дегрануляция) [5]. В связи с этим можно предположить, что дискоциты с 1–2 гранулами представляют собой клетки, где дегрануляция уже почти завершена, и большая часть секреторного материала уже вышла. Примечательно, что такие клетки совершенно не экспрессируют Р-селектин — стандартный маркер активации тромбоцитов [24]; с другой стороны, известно, что тромбоциты человека могут быть активированы большим количеством разных неканонических факторов, способных влиять на разные сигнальные пути,

в том числе в обход Р-селектина [6]. Более того, не всегда дегрануляция тромбоцитов сопровождается резким изменением их формы [6, 7]. В циркулирующей крови доноров наблюдается устойчивая корреляция между содержанием тромбоцитов с гранулами и содержанием тромбоцитов с 1–2 гранулами ($r = 0,702$). Весьма вероятно, что дисковидные тромбоциты с 1–2 гранулами относятся к особому типу / пулу тромбоцитов, который осуществляет конститутивный экзоцитоз (выброс секреторных везикул). В результате в циркулирующей крови выявляются тромбоциты, содержащие лишь остаточный объем гранул. Можно предположить, что определенная часть тромбоцитов с гранулами постоянно переходит к конститутивному экзоцитозу без необратимой активации. С другой стороны, сокращение гранул в тромбоцитах также может быть вызвано их старением [22]. Безусловно, изучение жизненного цикла тромбоцитов представляет важную фундаментальную и практическую задачу и требует детальных исследований.

Для жизнедеятельности любых клеток большое значение имеет структурная целостность их мембранных компонентов. Благодаря витальному окрашиванию появляется возможность оценить качество тромбоцитарных мембран на основе интенсивности их свечения. Наш метод показывает, что у биологически полноценных тромбоцитов с гранулами уровень свечения цитоплазмы (отдельно от гранул) составляет в среднем 25 фут-кандел [5]; это значение отмечается также у подавляющего большинства тромбоцитов с 1–2 гранулами и тромбоцитов без

гранул (рис. 1 б, в). Однако среди дисковидных тромбоцитов без гранул встречается группа клеток, где уровень свечения цитоплазмы заметно снижен и в среднем не превышает 12–13 фут-кандел (рис. 1 г); стоит особо подчеркнуть, что заметное снижение яркости цитоплазмы при витальном окрашивании всегда наблюдается у дегенеративных форм тромбоцитов, т.е. у разрушенных или разрушающихся клеток. В цельной крови доноров дискоциты с низким уровнем свечения цитоплазмы обычно составляют не более 10–11 % от всего пула тромбоцитов без гранул, а в пересчете на всю популяцию тромбоцитов — не более 2–3 %. Вместе с тем в процессе короткого хранения тромбоцитарных концентратов число дискоцитов с дефектами мембран начинает возрастать, особенно заметно через 2–3 суток хранения, а через пять суток почти все дисковидные тромбоциты имеют очень низкую яркость цитоплазмы при витальном окрашивании (рис. 2). Очевидно, это является результатом массового повреждения тромбоцитов при хранении. В циркулирующей крови доля дискоцитов с выраженными повреждениями мембран резко возрастает у пациентов с острыми экзогенными отравлениями [5], хронической почечной недостаточностью [2], сепсисом [11, 28], у пациентов с гематологическими заболеваниями [12]; помимо этого, разрушение мембран дискоцитов может быть вызвано *in vitro* такими факторами, как ультразвукие температуры, высокие концентрации диметилсульфоксида (ДМСО) и перекиси водорода, токсические наночастицы [5–9, 29]. Стоит особо подчеркнуть, что у дискоцитов, насыщенных грану-



Сутки хранения	Дисковидные тромбоциты с низкой яркостью свечения мембран	Тромбоциты с гранулами
0	3	57
1	5	54
2	20	48
3	50	19
4	80	5
5	94	0

Рисунок 2. Изменение уровня тромбоцитов с гранулами и тромбоцитов с повреждениями мембран в процессе хранения при комнатной температуре.

лами, яркость мембран не снижается в течение нескольких часов контакта с ДМСО или перекисью водорода, тогда как у дискоцитов без гранул в этих же условиях свечение цитоплазмы начинает падать уже через 10 минут [5]. Это подтверждает предположение о том, что дискоциты без гранул являются клетками с низкой жизнеспособностью.

Среди дисковидных тромбоцитов с низкой яркостью свечения следует выделить особую группу клеток, которая практически не встречается в циркулирующей крови доноров, но может быть выявлена *in vitro*. Отличительной чертой таких тромбоцитов является наличие плотного участка цитоплазмы в виде узкого серпа или округлой «шляпки» (cap), а также выраженная экспрессия Р-селектина и фосфатидилсерина на наружной мембране [1, 13, 24]. В литературе эти клетки называют прокоагулянтными, поскольку они способны связывать на своей поверхности большое количество факторов гемостаза,

включая фибриноген, X, XI факторы и др. [20, 22, 30]. Внутренняя морфология прокоагулянтных тромбоцитов является характерной для апоптотических клеток [24], но одновременно с этим прокоагулянтные тромбоциты представляют собой высокоактивированные клетки, чем принципиально отличаются от остальных дискоцитов без гранул [13]. Поэтому выявление прокоагулянтных тромбоцитов в ряде случаев может иметь особое значение.

Участие тромбоцитов без гранул в функциональном ответе

Во всех предыдущих работах мы подчеркивали, что активно функционировать могут лишь тромбоциты с гранулами. В частности, при контакте с адгезивным субстратом только у таких тромбоцитов происходит формирование ламеллоподий и псевдоподий, что увеличивает возможность взаимодействия с другими тромбоцитами [4–7]. При нанесении на коллагеновый матрикс тромбоциты с гранулами уже через 10–15 минут образуют тесные

скопления, аналогичные уплотненным агрегатам, на поверхности которых очень хорошо видны секретируемые гранулы [8]. С другой стороны, на периферии таких агрегатов нередко можно выявить дискоциты с 1–2 гранулами, и даже без гранул, при том что полная дегрануляция не наступает в течение 10–15 минут [5, 6, 8]. Более того, морфофункциональный анализ тромбоцитов в плазме до и после агрегации *in vitro* указывает на способность дискоцитов без гранул участвовать в образовании агрегатов. Так, например, в богатой тромбоцитами плазме до начала агрегации общая концентрация клеток составляла 356 тысяч на 1 мкл клеток, из них 60% содержали гранулы. После активации коллагеном и инкубации пробы в течение 30 минут при 37 °С общая концентрация тромбоцитов в плазме составила всего 40 тысяч на 1 мкл, при этом почти все тромбоциты в суспензии были представлены многоотростчатыми или деформированными клетками, т.е. в плазме остались преимущественно те тромбоциты, которые изначально были функционально непригодными. В то же время исходное содержание тромбоцитов без гранул составляло 142 тысяч на 1 мкл, из них около 100 тысяч на 1 мкл — клетки дисковидной формы [5]. Следовательно, дискоциты без гранул также вошли в состав агрегатов. Стоит особо подчеркнуть, что этот эффект наблюдается лишь в пробах с нормальным содержанием тромбоцитов с гранулами или близким к нормальному (не менее 30%). В пробах с исходно низким качеством тромбоцитов дискоциты без гранул не участвуют в формировании агрегатов [4]. По всей вероятности, многие дискоциты без гранул сохраняют небольшой функциональный потенциал, но он может быть реализован лишь кумулятивно, когда общий морфофункциональный статус тромбоцитов находится на нормальном уровне.

По данным литературы, прокоагулянтные тромбоциты способны значительно усиливать агрегацию и тромбообразование [1, 13, 25, 26]. На препаратах, окрашенных методом иммунофлуоресценции, вся периферия прокоагулянтных тромбоцитов покрыта сплошным ободком фибрина, поэтому для их обозначения также исполь-

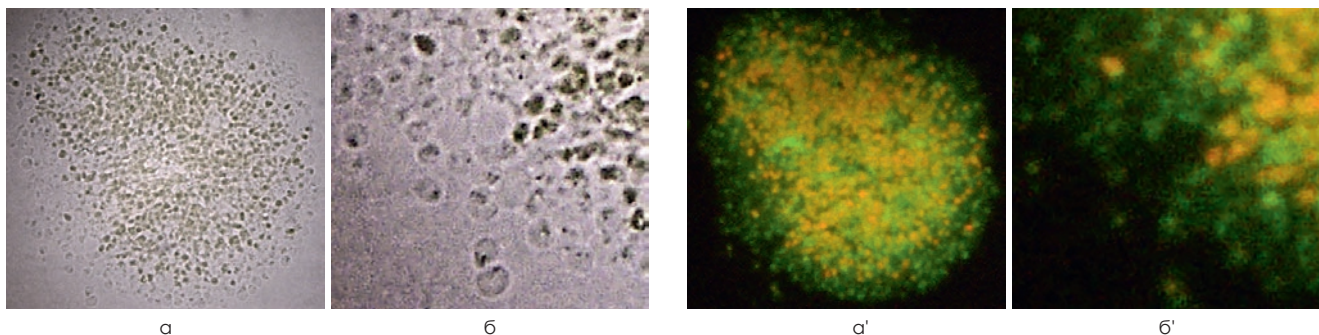


Рисунок 3. Выявление тромбоцитов без гранул в составе тромбоцитарного агрегата при активации 0,1 М хлорида натрия. Слева — фазовый контраст, справа — витальное окрашивание трипропиламином — акридиновым оранжевым. а, а' — ув. 400×; б, б' — ув. 1 000×.

зуется термин «фибрин-укутанные», fibrin-coated [20]. В работе Н. А. Подоплеловой и соавт. замечательно показан рисунок распределения фибрина и других плазменных факторов на прокоагулянтных тромбоцитах [24]; на интактных или адгезирующих тромбоцитах эти факторы полностью отсутствуют. При активации тромбином *in vitro* до половины всех тромбоцитов в агрегате представлены именно прокоагулянтными формами преимущественно по периферии агрегата [24]. По нашим данным, тромбоциты, морфологически идентичные прокоагулянтным, можно выявить в составе агрегатов после воздействия коллагена или высоких доз АДФ, однако их доля очень незначительная (менее 5%). Гораздо чаще клетки с такой морфологией выявляются в условиях умеренной гипотонии (плазма с концентрацией хлорида натрия 0,1 М). Ранее мы видели, что концентрации 0,075–0,100 М хлорида натрия способны активировать тромбоциты даже при комнатной температуре [6], что нередко приводит к образованию очень крупных агрегатов (рис. 3). Примечательно, что в составе таких агрегатов в большом количестве выявляются клетки с характерными сар-структурами и очень низкой яркостью цитоплазмы, которые располагаются по периферии агрегата (рис. 3 а', б'). Подобные клетки массово образуются и при воздействии ДМСО, когда проницаемость тромбоцитарных мембран резко увеличивается. Этот эффект наблюдается как при высоких (20–40%), так и при более низких (5–10%) дозах ДМСО [7]. Поэтому в процессе криоконсервирования тромбоцитов с использованием ДМСО необходимо минимизировать время между внесением ДМСО в тромбокон-

центрат и непосредственной заморозкой. *In vivo* повреждение тромбоцитов за счет веществ, аналогичных ДМСО, маловероятно; вместе с тем анализ мембранных компонентов тромбоцитов может дать значительную информацию о состоянии клеточного звена гемостаза, в том числе при различных патологиях.

Тромбоциты без гранул как маркер патофизиологических реакций

Неоднократно показано, что тромбоциты человека очень чувствительны к огромному числу факторов [8, 9, 25]. Поэтому при многих патологиях происходит заметное изменение морфофункционального статуса тромбоцитов, мониторинг их биологической полноценности имеет значение в первую очередь с точки зрения прогнозирования кровотечений и тромбозов. При выраженном геморрагическом синдроме (2–3 балла по шкале ВОЗ) доля тромбоцитов с гранулами не превышает 9–10% [4, 5, 12], соответственно доля тромбоцитов без гранул составляет 90% и более. Однако соотношение основных морфологических типов среди тромбоцитов без гранул может сильно варьировать как у разных пациентов, так и у одного и того же пациента на разных сроках лечения. Так, у пациентов с тяжелой ожоговой травмой (ожоги 30–50% всей поверхности тела) на 1–3-и сутки лечения во всех случаях доля поврежденных дискоцитов была очень высокой, составляя в среднем 32,4%, на фоне очень низкой морфофункциональной активности тромбоцитов. При последующем лечении у ожоговых пациентов с благоприятным исходом происходило постепенное

восстановление биологической полноценности тромбоцитов, к 30-м суткам лечения уровень поврежденных дискоцитов снижался до нормальных или почти нормальных значений. Напротив, у ожоговых пациентов с летальными исходами на 10–30-е сутки уровень поврежденных дискоцитов был таким же высоким, как и на 1–3-и сутки лечения, заметного улучшения качества тромбоцитов не наблюдалось [16]. По нашим данным, у пациентов с обширными ожогами на 1–3-и сутки после ожога доля дискоцитов со сниженной интенсивностью свечения мембран во всех случаях составляет не менее 30% от всей популяции тромбоцитов, но при дальнейшем лечении их содержание в крови у одних пациентов падает, а у других практически не меняется, вследствие чего доля поврежденных дискоцитов остается очень высокой даже через 20–30 суток лечения [16]. У пациентов с острыми экзогенными отравлениями в 60% случаев доля поврежденных дискоцитов была такой же, как у доноров, в 25% составляла 5–10%, и лишь в 15% случаев была выше 10%, хотя общий уровень тромбоцитов с гранулами и морфофункциональной активности были достоверно ниже нормы [5, 11]. С другой стороны, у пациентов с хроническими заболеваниями (ишемическая болезнь сердца, хроническая почечная недостаточность) на фоне нормального содержания тромбоцитов с гранулами более чем в 30% случаев доля дискоцитов с низкой яркостью цитоплазмы была в 3–5 раз выше нормы [5]; увеличение доли таких тромбоцитов нередко наблюдается после искусственного кровообращения. По всей видимости,

безгранульные дискоциты с низкой яркостью цитоплазмы представляют собой некротические клетки, поэтому их мониторинг может иметь особое значение у пациентов с тяжелыми патологиями. Скорее всего, это справедливо и для прокагулянтных тромбоцитов, хотя данные относительно их содержания в норме и патологии весьма противоречивы [13, 25, 26]. Безусловно, проблема исследования таких форм тромбоцитов очень интересна.

Известно, что в крови человека постоянно присутствуют секреторные микрочастицы, из которых подавляющее большинство имеет мегакариоцитарное и тромбоцитарное происхождение [21]. Тромбоцитарные микрочастицы (ТМч) фактически представляют собой цельные гранулы, вышедшие из тромбоцитов и содержащие большое количество сигнальных молекул [17]. Неоднократно показана роль тромбоцитарных микрочастиц во многих физиологических и патофизиологических процессах [21, 23], при этом их мониторинг методами проточной флуориметрии является весьма затратным, особенно при большом количестве пациентов. Если удастся выявить взаимосвязь между уровнем ТМч в крови и содержанием тромбоцитов с 1–2 гранулами, то появится возможность оценить уровень ТМч путем морфофункционального исследования тромбоцитов с помощью витального окрашивания [4], который является малозатратным и весьма оперативным методом анализа тромбоцитов.

Нужно признать, что тромбоциты без гранул представляют интерес ничуть не меньший, чем биологически полноценные тромбоциты, поскольку их присутствие в крови напрямую связано с жизненным циклом тромбоцитной популяции. Изучение тромбоцитов без гранул позволит точнее понять физиологию кровеносной системы и всего гомеостаза в целом.

Список литературы

1. Артеменко Е. О., Свешникова А. Н., Пантелеев М. А. Программируемая клеточная смерть тромбоцитов при их сверхактивации // Онкогематология.—2014.—№ 3.—С.63–66.
2. Василенко И. А., Валов А. Л., Ватазин А. В., Нестеренко И. В., Круглов Е. Е. Некоторые особенности морфофункционального

- состояния тромбоцитов периферической крови доноров и реципиентов почечного аллотрансплантата // Вестник трансплантологии и искусственных органов.—2009.—Т.11, № 4.—С.69–74.
3. Василенко И. А., Тычинский В. П., Валов А. Л., Кардашова З. З., Иванюта И. В., Агаджанян Б. Я., Вишенская Т. В., Лифенко Р. А. Клеточная диагностика: возможности витальной компьютерной микроскопии // Вестник последипломного медицинского образования.—2009.—№ 3–4.—С. 64–68.
4. Макаров М. С., Боровкова Н. В., Кобзева Е. Н., Высочин И. В., Хватов В. Б. Способ оценки морфофункционального статуса тромбоцитов человека и его применение в клинической практике // Медицинский алфавит. Современная лаборатория.—2012.—Т.3, № 14.—С. 32–34.
5. Макаров М. С. Особенности морфофункционального статуса тромбоцитов человека в норме и патологии. // Дис. ... канд. биол. наук: 14.01.21 — Гематология и переливание крови / НИИ СП им. Н.В. Склифосовского.—М. 2014.—124с.
6. Макаров М. С. Неканонические способы активации тромбоцитов человека // Медицинский алфавит. Современная лаборатория.—2015.—Т. 3, № 11.—С. 30–35.
7. Макаров М. С. Влияние высоких концентраций диметилсульфоксида на биологическую активность тромбоцитов человека в плазме // Медицинский алфавит. Современная лаборатория.—2016.—№ 2.—С. 48–52.
8. Макаров М. С. Актуальные аспекты подготовки тромбоцитов человека к использованию в регенеративной медицине // Медицинский алфавит. Современная лаборатория.—2017.—Т. 4, № 28.—С. 46–51.
9. Макаров М. С. Влияние наночастиц на биологическую полноценность тромбоцитов человека // Молекулярная медицина.—2017.—Т. 15, № 6.—С. 9–14.
10. Мазуров А. В. Физиология и патология тромбоцитов.—М.: Литерра, 2011.—248с.
11. Фолмин А. М., Кошелев Р. В., Ватазин А. В., Василенко И. А., Волгина Ю. Д., Метелин В. Б. Морфометрические критерии эффективности гемофильтрации при полиорганной недостаточности у больных хирургическим сепсисом // Альманах клинической медицины.—2009.—№ 21.—С. 52–57.
12. Хватов В. Б., Макаров М. С., Костин А. И., Кобзева Е. Н., Боровкова Н. В. Прогнозирование геморрагического синдрома у гематологических больных на основе морфофункционального флуоресцентного анализа тромбоцитов // Молекулярная медицина.—2013.—№ 5.—С.28–31.
13. Шабалина А. А., Костырева М. В., Танащян М. М. («Кутанные») тромбоциты — новые возможности лабораторной диагностики нарушений тромбообразования // Анналы клинической и экспериментальной неврологии.—2015.—Т.9, № 3.—С. 56–60.
14. Akay O. M., Gündüz E., Başyigit H., Gulbas Z. Platelet function testing during 5-day storage of single and random donor platelet apheresis // Transfus Apher Sci.—2007.—Vol.36, № 3.—P. 285–289.
15. Bandyopadhyay D., Baruah H., Gupta B., Sharma S. Silver nano particles prevent platelet adhesion on immobilized fibrinogen // Indian J Clin Biochem.—2012.—Vol.27, № 2.—P. 164–170.
16. Borisov V. S., Makarov M. S., Kaplunova M. Yu. Morfofunctional status of platelets in

- burn patients with severe injury // 25th Biennial international Congress on Thrombosis, Venice, 23–26 may 2018, P. 148.
17. Dean W. L., Lee M. J., Cummins T. D., Schultz D. J., Powell D. W. Proteomic and functional characterisation of platelet microparticle size classes // Thromb Haemost.—2009.—Vol.102, № 4.—P. 711–718.
18. Delobel J., Rubin O., Prudent M. Biomarker analysis of stored blood products: emphasis on pre-analytical issues // Int J Mol Sci.—2010.—№ 11.—P. 4601–4617.
19. Egidi M. G., D'Alessandro A., Mandarello G., Zolla L. Troubleshooting in platelet storage temperature and new perspectives through proteomics // Blood Transfus.—2010.—№ 8.—P. 73–81.
20. Kotova Y. N., Ataullakhanov F. I., Panтелеev M. A. Formation of coated platelets is regulated by the dense granule secretion of adenosine 5'diphosphate acting via the P2Y12 receptor // J Thromb Haemost.—2008.—Vol.6, № 9.—P.1603–1605.
21. Lannan K. L., Richard P. P., White R. J. Thrombosis, platelets, microparticles, and PAH: More than clot // Drug Discov Today.—2014.—Vol.19, № 8.—P. 1230–1235.
22. Mason K. D., Carpinelli M. R., Fletcher J. I., Collinge J. E., Hilton A. A., Ellis S., Kelly P. N., Ekert P. G., Metcalf D., Roberts A. W., Huang D. C., Kile B. T. Programmed anuclear cell death delimits platelet life span // Cell.—2007.—Vol.128, № 6.—P. 1173–1186.
23. Nomura S., Ozaki Y., Ikeda Y. Function and role of microparticles in various clinical settings // Thromb Res.—2008.—Vol. 123, № 1.—P. 8–23.
24. Podoplelova N. A., Sveshnikova A. N., Kotova Y. N., Eckly A., Receveur N., Nechipurenko D. Y., Obyednyy S. I., Kireev I. I., Gachet C., Ataullakhanov F. I., Mangin P. H., Panтелеev M. A. Coagulation factors bound to procoagulant platelets concentrate in cap structures to promote clotting // Blood.—2016.—Vol.128, № 13.—P. 1745–1755.
25. Prodan C. I., Joseph P. M., Vincent A. S., Dale G. L. Coated-platelets in ischemic stroke: differences between lacunar and cortical stroke // J Thromb Haemost.—2008.—Vol.6, № 4.—P. 609–614.
26. Prodan C. I., Stoner J. A., Cowan L. D., Dale G. L. Lower coated platelet levels are associated with early hemorrhagic transformation in patients with non-lacunar brain infarction // Journ. of Thrombosis and Haemostasis.—2010.—Vol. 8, № 6.—P. 1185–1190.
27. Rebull P. In vitro and in vivo properties of various types of platelets // Vox Sang.—1998.—Vol. 74(suppl 2).—P. 217–222.
28. Sharron M., Hoptay C. E., Wiles A. A., Garvin L. M., Geha M., Benton A. S., Nagaraju K., Freishtat R. J. Platelets induce apoptosis during sepsis in a contact-dependent manner that is inhibited by GPIIb/IIIa blockade // PLoS One.—2012.—Vol.7, № 7.—P. e41549.
29. Valeri C. R., Macgregor H., Ragno G. Correlation between in vitro aggregation and thromboxane A2 production in fresh, liquid-preserved, and cryopreserved human platelets: effect of agonists, pH, and plasma and saline resuspension // Transfusion.—2005.—Vol. 45.—P. 596–603.
30. Zakharova N. V., Artemenko A. N., Podoplelova N. A., Sveshnikova A. N., Demina I. A., Ataullakhanov F. I., Panтелеev M. A. Platelet surface-associated activation and secretion-mediated inhibition of coagulation factor XII // PLoS One.—2015.—Vol.10, № 2.—P. e0116665.



Компания БиоВитрум предлагает

Комплексное оснащение и поддержка генетических лабораторий

- Консервация образцов
- Выделение, очистка и концентрирование н.к.
- Оценка концентрации и качества н.к.
- Анализ материала методом ПЦР в реальном времени
- Анализ материала методом цифровой ПЦР
- Секвенирование по Сенгеру
- Подготовка NGS библиотек
- Секвенирование нового поколения (NGS)
- Анализ материала с помощью микрочипов
- Инновационная технология NanoString для прямой цифровой детекции ДНК, РНК и белков



Роль β -кетона крови при мониторинге сахарного диабета и некоторых других видов патологии

И. А. Волкова, к.м.н., доцент
В. А. Беспалова, к.м.н., доцент
М. И. Савина, д.б.н., проф.

Кафедра клинической лабораторной диагностики ФДПО ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

Role of β -ketone in monitoring of diabetes mellitus and some other types of pathology

I. A. Volkova, V. A. Bepalova, M. I. Savina

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

Резюме

При сахарном диабете и ряде других заболеваний наблюдается избыточное накопление β -кетона, который в моче стандартным методом не выявляется. Определения концентрации β -кетона в крови необходимо для диагностики и мониторинга проводимого лечения при кетозах. Оценка состояния пациента с учетом данного показателя способствует более эффективному и быстрому выведению больного из патологического состояния. Доступность исследования обеспечивается наличием наборов реагентов и приборов для экстренного определения аналита.

Ключевые слова: кетоновые тела, кетонемия, кетонурия, β -гидроксибутират, β -кетон.

Summary

In diabetes mellitus and a number of other diseases, an excessive accumulation of β -ketone is observed, which is not detected in the urine by the standard method. Determination of the concentration of β -ketone in the blood is necessary for diagnosis and monitoring of the treatment under ketosis. Evaluation of the patient's condition with this indicator helps to more efficient and quick removal of the patient from the pathological condition. The availability of the study is provided by the availability of sets of reagents and devices for the rapid determination of the analyte.

Key words: ketone bodies, ketonemia, ketonuria, β -hydroxybutyrate, β -ketone.

Определение β -гидроксибутирата (β -гидроксимасляной кислоты) крови в нашей стране стали проводить сравнительно недавно, не более 10 лет назад, в то время как в ряде других стран его измеряли еще в прошлом веке [5, 8]. Запоздалость использования теста, видимо, связана с невостребованностью метода со стороны врачей-клиницистов и, как следствие, отсутствием наборов реагентов для лабораторного использования и приборов для экстренного определения и самоконтроля. В последнее время термин « β -гидроксибутират» все чаще заменяется термином « β -кетон».

β -кетон является слабой органической кислотой и относится к кетоновым телам (кетонам), к которым также относятся ацетоуксусная кислота (ацетоацетат) и ацетон.

Кетоновые тела в малых количествах в организме человека образуются постоянно, поступают в кровь, часть их них потребляется тканями, остальные фильтруются в мочу, ацетон дополнительно выводится через легкие. Количество выделяемых кетоновых тел с мочой (кетонурия) отражает содержание кетоновых тел

в крови (кетонемия). У здорового человека уровень кетонов в крови и моче не превышает 0,5 ммоль/л, выделение с мочой за сутки составляет не более 20–50 мг [1]. Уровень кетонов в моче ниже чувствительности стандартного метода их определения, поэтому у здорового человека кетоны в моче не выявляются (проба отрицательная).

До последнего времени кетоны считали побочными продуктами метаболизма, не имеющими физиологического значения. Однако работы Георга Кэхилла (George Kahill) и других исследователей показали, что кетокислоты играют важную роль в поддержании энергетического равновесия [2]. Универсальным источником энергии в организме человека является глюкоза. Минимально необходимая концентрация глюкозы в крови поддерживается для обеспечения энергией в первую очередь клеток мозга, не способных к запасу энергетических субстратов. При нарушении энергетического баланса, например, при недостатке глюкозы в крови или тканях, кетокислоты выполняют функцию резервного энергетического субстрата, который

позволяет обеспечить дополнительной энергией большинство органов, включая головной мозг, сердце, почки, мышцы и некоторые другие органы, предотвращая излишнюю потерю жирных кислот, гликогена и структурных белков в процессах глюконеогенеза.

Механизмы образования кетоновых тел

Источниками кетоновых тел являются кетогенные аминокислоты и продукты β -окисления жирных кислот.

Аминокислоты в процессе глюконеогенеза способны превращаться в глюкозу и (или) ацетоацетат. Большая часть аминокислот превращается только в глюкозу (гликогенные аминокислоты). Лизин и лейцин могут образовывать ацетоацетат (кетогенные аминокислоты), а тирозин, изолейцин, фенилаланин и триптофан могут превращаться как в глюкозу, так и ацетоацетат (гликокетогенные аминокислоты). Кетогенные и гликокетогенные аминокислоты являются источниками кетонового тела ацетоацетата, образование которого повышается при дефиците энергии.

Жирные кислоты, образующиеся в процессе липолиза, поступают в клетки печени, где подвергаются процессу β -окисления с образованием в качестве побочного продукта кетонов, которые выделяются в кровь, частично потребляются тканями и выводятся из организма (рис. 1). Печень утилизировать кетоны не может из-за отсутствия необходимых ферментов.

Механизм образования кетонов при β -окислении жирных кислот связан с образованием значительного количества ацетил-КоА и накоплением НАДН. В митохондриях печени из двух молекул ацетил-КоА образуется ацетоацетат, который подвергается дальнейшим превращениям (рис. 2).

НАДН при участии фермента β -гидроксибутиратдегидрогеназы восстанавливает ацетоацетат в β -гидроксибутират (β -кетон). Избыток ацетоацетата неферментативно декарбоксилируется, превращаясь в ацетон. При определенных условиях возможно превращение β -гидроксибутирата в ацетоацетат.

Кетоновые тела, образовавшиеся при липолизе, включают примерно 2% ацетона, 20% ацетоацетата и 78% β -гидроксибутирата, который используется как энергетический субстрат клетками ЦНС и других органов. β -гидроксибутират расценивается как источник быстрой энергии в клетке, так как он направляется в цикл Кребса, минуя реакции гликолиза.

Отношение β -гидроксибутират / ацетоацетат в крови корректируется дополнительным образованием ацетоацетата из аминокислот, и у здорового человека составляет примерно 3/1 [2]. Кетонурия является отражением кетонемии, поэтому в моче также преимущественно содержится β -кетон — 60–70% [1]

Таким образом, основным кетоном крови и мочи является β -кетон.

Стандартный метод полуколичественного определения кетонов в моче с помощью диагностических тест-полосок выявляет кетоновые тела, содержащие кетогруппу, которую β -гидроксибутират не имеет и указанным методом не определяется (рис. 3).

Основные причины и виды кетонемии

Кетонемия наблюдается в значительной группе заболеваний и состоя-

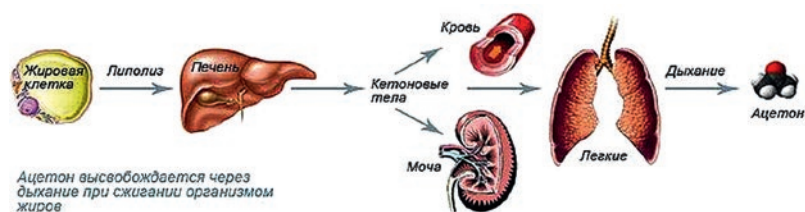


Рисунок 1. Образование и выведение кетоновых тел при липолизе.

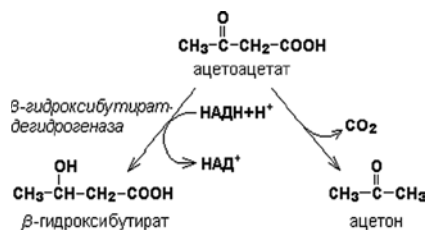


Рисунок 2. Превращение ацетоацетата в клетках печени.

ний. Однако при одних заболеваниях повышается преимущественно ацетоацетат, а при других — β -кетон [2, 5].

Повышение ацетоацетата характерно для лечения глюкокортикоидами, при интоксикациях, в том числе после наркоза, беременности, некоторых гликогенозах, ряде состояний у детей. В детском возрасте кетонемия может провоцироваться стрессами, инфекциями, интоксикациями, лихорадкой с высокой температурой, погрешностями в диете, недокормом при грудном вскармливании, переутомлением и др.

Повышение уровня β -гидроксибутирата наблюдается при инсулиновой недостаточности, инсулинорезистентности и низких концентрациях глюкозы в крови. К таким заболеваниям и состояниям относятся сахарный диабет с кетозом, алкогольная интоксикация, послеоперационный кетоз, голодание, ограничение углеводов в пище, кетогенная диета, инсулинома.

Патогенез метаболических изменений больных с тяжелыми заболеваниями и после обширных операций обусловлен голоданием, которое ведет к потере мышечной массы и активации глюконеогенеза. Потеря мышечной массы приводит к снижению утилизации кетоновых тел и накоплению их в крови. Мониторинг β -кетона крови позволяет объективно оценить

показания к проведению парентерального и (или) зондового питания.

У пациентов при голодании повышается уровень всех кетонов с преимущественным повышением уровня β -кетона, механизм повышения которого аналогичен вышеизложенному для тяжелобольных. На фоне голодания клетки головного мозга используют кетоны в качестве энергетического субстрата с последующим снижением концентрации β -кетона в крови. Уровень β -кетона позволяет оценить метаболические особенности организма пациента для решения вопроса о продолжении или прекращении голодания.

Кетогенная диета, то есть диета с ограниченным количеством углеводов ($\approx 5\%$) и повышенным содержанием жиров ($\approx 75\%$), используется в основном для похудения и направлена на переключение энергетического метаболизма с углеводов на жиры. При недостатке углеводов и активации процесса липолиза повышается количество β -кетона, что обеспечивает альтернативный источник энергии. Регулярный мониторинг β -гидроксибутирата в крови полезен при коррекции кетогенной диеты.

Определение β -кетона важно при наблюдении за пациентами с алкогольным кетоацидозом. Этиловый спирт подвергается метаболическим превращениям в печени с образованием в качестве конечных продуктов ацетоацетата и избытка НАДН, которые обеспечивают образование β -гидроксибутирата. Уровень ацетоацетата повышается незначительно и в моче может показать отрицательный результат. При лечении пациента β -кетон в печени превращается в ацетоацетат, который выявляется в моче, несмотря на улучшение состояния пациента, и не отражает реальную клиническую

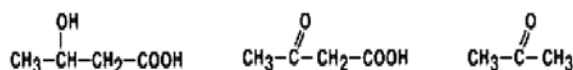


Рисунок 3. Формулы кетонов (слева направо): β -гидроксибутират, ацетоацетат, ацетон.

ситуацию. Мониторинг β -кетона крови позволит объективно оценить степень кетоза и адекватность лечения.

Значение определения β -кетона крови при сахарном диабете

Наиболее актуально определение β -кетона в крови у больных сахарным диабетом (СД). У пациентов с диабетическим кетоацидозом, включая кетоацидотическую кому (декомпенсированный кетоацидоз, ДКА), информация о содержании β -кетона сравнима по значению с уровнем глюкозы в крови. Важную роль определение β -кетона крови играет при дифференциальной диагностике ДКА и гипергликемического гиперосмолярного некетотического синдрома (ГГНС, гиперосмолярной комы).

Стандартный метод полуколичественного определения кетонов в моче выявляет ацетоацетат и с существенно меньшей чувствительностью (в 10 раз) — ацетон. Другими недостатками определения кетонов в моче являются влияние на результаты исследования лекарственных препаратов, уровня гидратации, а также отражение уровня кетонов крови за 2–4 часа до сбора мочи, поэтому кетонурия — лишь косвенное свидетельство кетонемии [3].

В основе патогенеза кетоацидоза у больных сахарным диабетом лежит нарастающий дефицит инсулина, вызывающий энергетическое клеточное голодание, что приводит к увеличению секреции гормонов, обладающих жиромобилизирующим действием и активацией глюконеогенеза. При инсулиновой недостаточности большую часть энергии (до 80%) организм получает за счет окисления свободных жирных кислот, что приводит к накоплению кетоновых тел, скорость образования которых превышает скорость их утилизации и почечной экскреции [4]. Основным кетоном при окислении жирных кислот

является β -гидроксибутират, уровень которого отражает степень недостаточности инсулина и риск развития кетоацидотической комы [7].

У больных в начальной стадии ДКА уровень кетоновых тел в моче может быть низким, так как и в крови, и моче увеличивается уровень преимущественно β -кетона, который стандартными методами в моче не выявляется. При введении инсулина β -гидроксибутират в печени окисляется до ацетоацетата, уровень которого в крови и выделение с мочой возрастают. При успешном лечении ДКА уровень кетонов крови снижается, а содержание ацетоацетата в моче возрастает [2], что не отражает реального состояния пациента. Адекватно оценить метаболизм пациента позволяет только определение уровня β -кетона крови.

Гипергликемия при наличии кетонемии может расцениваться как маркер ургентного состояния и является показанием для экстренной госпитализации пациента [3, 4]. Основным кетоном при ДКА является β -кетон. Ценность определения β -кетона крови при лечении ДКА экзогенным инсулином обусловлена высокой информативностью показателя и возможностью оптимизации лечения кетонемии. Во-первых, падение уровня β -кетона происходит на два часа раньше, чем снижение уровня глюкозы; во-вторых, метод позволяет определить концентрацию кетонов крови на момент измерения и мало подвержен влиянию экзогенных факторов (лекарств и др.) и степени гидратации [3].

Определение β -кетона играет важную роль в дифференциальной диагностике ДКА и ГГНС (гиперосмолярной комы), которые существенно различаются по терапии и прогнозу заболевания. По разным литературным источникам, летальность при указанных состояниях варьирует в широких пределах. Ориентировочные значения при ДКА — 3,5–14,0%, при ГГНС — 15–35% [3, 4].

Таблица 1

Лабораторные показатели при дифференциальной диагностике ДКА и ГГНС

Показатель	Декомпенсированный кетоацидоз (ДКА)	Гиперосмолярная кома (ГГНС)
β -кетон крови	Повышен	Не повышен
Кетонурия	От отрицательного до положительного (рост на фоне лечения)	Чаше отрицательно (иногда следы ацетоацетата)
Гипергликемия	Чаше умеренная (до 30 ммоль/л)	Обычно выраженная (30–60 ммоль/л и более)
Ацидоз	Выражен (рН резко снижен)	Не выражен

ДКА и ГГНС в начале заболевания близки по характеру клинических проявлений. Различия выявляются по метаболическим изменениям, которые отражаются в лабораторных тестах. Кетонемия при ДКА связана преимущественно с избытком β -кетона. При гиперосмолярной коме может быть незначительное повышение ацетоацетата, обусловленное активацией протеолиза, глюконеогенеза и повышением уровня кетогенных аминокислот, образующих ацетоацетат. Незначительная кетонурия при ГГНС клиницистами часто оценивается как ложная [3]. При ДКА в связи со значительным накоплением β -гидроксибутирата и частичным ацетоацетата наблюдается кетоацидоз с выраженным снижением рН крови. Отсутствие гиперкетонемии, оцениваемой по уровню β -кетона крови, при высокой гипергликемии и непостоянном незначительном ацидозе расценивается как признак ГГНС (табл. 1). Своевременная диагностика с использованием современных методов исследования позволяет оптимизировать лечение пациента.

Современная оценка уровня β -кетона крови

В настоящее время используются следующие критерии для оценки уровня β -кетона крови [3]:

- допустимые значения — ниже 0,5 ммоль/л;
- повышенный уровень — 0,5–1,0 ммоль/л;
- состояние декомпенсированного кетоацидоза (ДКА) — выше 3 ммоль/л.

По рекомендациям Американской диабетической ассоциации (АДА) 2005 года уровень β -кетона в крови у больных сахарным диабетом следует определять во время обострения заболевания, стрессе, беременности и при стабильном уровне глюкозы крови натошак более 13,4 ммоль/л. Частота определения зависит от состояния пациента (табл. 2) [3, 7].

Оценка состояния пациента по уровню β -гидроксибутирата крови отражает реальное состояние энергетического метаболизма пациента на момент взятия крови и позволяет корректировать дозу инсулина с большей степенью надежности, что способствует более эффективному и быстрому выведению больных из состояния кетоза [6, 7].

В настоящее время определение концентрации β -кетона в крови может проводиться в лабораторных условиях на биохимических анализаторах с использованием готовых коммерческих наборов реагентов, что обеспечивает доступность определения показателя для большинства КДЛ.

Для экстренного определения β -кетона и самоконтроля пациентов с сахарным диабетом первого типа, при корректировке диеты и некоторых других ситуациях для применения доступны портативные анализаторы, аналогичные глюкометру, которые позволяют контролировать уровень глюкозы и β -кетонов в капиллярной крови пациента на одном приборе.

Таким образом, измерение содержания β -гидроксibuтирата крови является предпочтительным методом диагностики и мониторинга проводимого лечения при кетозах, обусловленных сахарным диабетом первого типа и другими заболеваниями с накоплением β -кетона, так как методы определения кетонов в моче β -кетон не выявляют. Как показали клинические испытания, добавление мониторинга кетонемии к традиционным маркерам метаболической декомпенсации кетоацидоза способствует

более эффективному и быстрому выведению больных из указанного состояния, снижая продолжительность и стоимость стационарного лечения [3]. Определение уровня β -кетона крови также полезно при дифференциальной диагностике ДКА и ГГНС.

Доступность исследования обеспечивается наличием коммерческих наборов реагентов и приборов для экстренного и (или) индивидуального пользования, позволяющих определить концентрацию β -гидроксibuтирата в короткие сроки.

Список литературы

1. Клиническая лабораторная диагностика. Национальное руководство, т. 1, М., 2012.
2. Н. Тиц. Клиническое руководство по лабораторным тестам. 4-е издание, М., 2013.

Таблица 2
Рекомендации АДА по определению β -кетона крови пациентов с сахарным диабетом (СД)

Группы пациентов	Периоды определения	Частота определения
Больные СД 1 (с кетозом)	Во время болезни или стресса	Каждые 2–4 часа
	При постоянном росте гликемии (выше 16,7; даже более 13,3 ммоль/л)	До уровня гликемии (ниже 13,3 ммоль/л)
	При наличии симптомов ДКА (тошнота, рвота, боль в животе, др.)	До купирования симптомов
Женщины с любым типом СД	Во время беременности	Каждый день

3. Е. Е. Петрайкина, Е. А. Пронина, Т. Д. Михайлова, И. Г. Рыбкина, Э. Т. Манджиева, И. В. Гаряева. Роль определения кетонемии в диагностике, самоконтроле и лечении при сахарном диабете. Фарматека, 2008, 17: 64–69.
4. Е. Г. Старостина. Диабетический кетоацидоз и гиперосмолярное состояние при сахарном диабете. В мире лекарств, № 31999.
5. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Под ред. Н. Тица, М., 1997.
6. ADA Position Statement: Tests of Glycemia in Diabetes, Diabetes Care, 2004; 27 (Supplement 1): 91.
7. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2006; 29 (Suppl. 1): S43–48.
8. Stephens JM, Sulway MJ, Watkins JP. Relationship between acetoacetate and 3-hydroxybutyrate in diabetes. Diabetes 1971; 20: 485–489.



IV Российский конгресс лабораторной медицины

С 3 по 5 октября 2018 года в Москве, в 75 павильоне ВДНХ состоится IV Российский конгресс лабораторной медицины. Организатором конгресса выступает Ассоциация специалистов и организаций лабораторной службы «Федерация лабораторной медицины» и ряд профильных профессиональных объединений. Официальную поддержку Конгрессу оказывают Министерство здравоохранения РФ, Департамент здравоохранения г. Москвы, Министерство промышленности и торговли РФ, Национальная медицинская палата, «ОПОРА РОССИИ», Международная федерация клинической химии и лабораторной медицины IFCC.

В первый день конгресса начнет свою работу II Форум «Экономика и организация лабораторной службы». Во второй раз на РКЛМ-2018 пройдут: Форум «Молекулярная диагностика», впервые в программу конгресса включен Форум «Персонализированная медицина». Также новым программным мероприятием РКЛМ-2018 станет Форум по масс-спектрометрии.

В рамках научной программы РКЛМ-2018 будет проходить секция «Лабораторная диагностика в урологии»

под руководством Д. Ю. Пушкаря, д.м.н., проф., член-корреспондента РАН. В числе других мероприятий состоятся следующие симпозиумы и дискуссии: «Лабораторная диагностика социально значимых вирусных инфекций»; «Вопросы практического применения федерального закона ФЗ 242 (о телемедицине) в лабораторной медицине. Ожидания общества»; «Лабораторная диагностика орфанных заболеваний»; «Сепсис — проблема мирового масштаба»; «Лабораторная диагностика в неотложной медицине»; «Лабораторная диагностика в кардиологии»; «Лабораторная диагностика женского здоровья»; «Перспективы развития и стандартизации микробиологических исследований в практике гинеколога, акушера и неонатолога».

В рамках конгресса состоятся 72 научные секции, 35 сателлитных симпозиумов и мастер-классов. В мероприятии примут участие около 400 российских и зарубежных докладчиков.

Российский конгресс лабораторной медицины — крупнейшее профессиональное событие.

Роль гепсидина, как основного регулятора метаболизма железа, в дифференциальной диагностике железодефицитных синдромов у онкологических больных с колоректальным раком

В. Н. Блиндарь, д.б.н., вед. научный сотрудник
Г. Н. Зубрихина, д.м.н., врач высшей квалификации
И. И. Матвеева, д.м.н., зав. лабораторией

Клинико-диагностическая лаборатория ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва

Role of hepcidin as main regulator of iron metabolism in differential diagnosis of iron deficiency syndromes in cancer patients with colorectal cancer

V. N. Blindar, G. N. Zubrikhina, I. I. Matveeva

National Medical Research Center of Oncology n. a. N. N. Blokhin, Moscow, Russia

Резюме

Проведено исследование основных метаболитов феррокинетики (гепсидин 25, интерлейкин 6, растворимые рецепторы трансферрина, ферритин, эритропоэтин) с целью дифференциальной диагностики железодефицитных синдромов (АЗН). Обследовано 62 больных колоректальным раком до лечения: 35 мужчин и 27 женщин. Возраст от 31 до 89 ($61,5 \pm 1,7$) лет. Выделены три типа анемии. 21 человек — с железодефицитной (ЖДА), 23 человека — с железодефицитным эритропоэзом (ЖДЭ) и с функциональным дефицитом железа (ФДЖ) — 18 человек. Для всех видов анемий были характерны микроцитоз и гипохромия эритроцитов. Концентрация РФ, ГП25, ИЛ-6 была снижена у пациентов с ЖДА и значительно повышена в группе с ФДЖ по сравнению с контролем. В отличие от ЖДА у пациентов с ЖДЭ отмечен высокий уровень РФ. Показатели рРТФ превышали верхнюю границу нормы во всех 3-х группах. Анализ ЭПО показал, что более низкая продукция отмечалась у 100 % больных с ФДЖ, а следовательно, у пациентов с распространенным опухолевым процессом (III–IV стадия), в меньшей степени — у пациентов с ЖДА и ЖДЭ. Дальнейшее исследование экспрессии ГП25, ИЛ-6 особенно важно в дифференциальной диагностике АЗН в сочетании с ЖДА и ФДЖ, так как лечение принципиально различается. Перспектива состоит в патогенетическом подходе к лечению АЗН у онкологических больных с применением антигепсидиновых препаратов на основе антител к гормону, ингибиторов и блокаторов его экспрессии под контролем концентрации ГП25 и, возможно, ИЛ-6.

Ключевые слова: анемия, микроцитоз и гипохромия эритроцитов, железодефицитный эритропоэз, функциональный дефицит железа, гепсидин 25, интерлейкин 6, растворимые рецепторы трансферрина, ферритин, эритропоэтин

Summary

A study was made of the main metabolites of ferrokinetics (hepcidin 25, interleukin 6, soluble transferrin receptors, ferritin, erythropoietin) for the differential diagnosis of iron deficiency syndromes (AZN). 62 patients with colorectal cancer were examined before treatment: 35 men and 27 women. Age from 31 to 89 (61.5 ± 1.7) years. Three types of anemia are distinguished. 21 people — with iron deficiency (IDA), 23 people with iron deficiency erythropoiesis (ZHDE) and with functional iron deficiency (FJD) — 18 people. Microcytosis and hypochromia of erythrocytes were characteristic for all types of anemia. The concentration of RF, HP25, IL-6 was reduced in patients with IDA and significantly increased in the group with PDJ in comparison with the control. In contrast to IDA, a high level of RF was noted in patients with ZHDE. The indicators of rRTF exceeded the upper limit of the norm in all 3 groups. EPO analysis showed that lower production was observed in all (100%) patients with FJD, and therefore in patients with a common tumor process (stage III–IV), to a lesser extent in patients with IDA and ZHDE. Further investigation of the expression of GP25, IL-6 is especially important in the differential diagnosis of AZN in combination with IDA and PDJ, since the treatment is fundamentally different. The prospect is a pathogenetic approach to the treatment of AZN in cancer patients using anti-hepatic drugs based on antibodies to the hormone, inhibitors and blockers of its expression under the control of the concentration of GP25 and, possibly, IL-6.

Key words: anemia, microcytosis and hypochromia of erythrocytes, iron-deficiency erythropoiesis, functional iron deficiency, hepcidin 25, interleukin, 6 soluble transferrin receptors, ferritin, erythropoietin.

Введение

В настоящее время известно, что гепсидин-25 (ГП25) или в другой транскрипции гепсидин является ключевым контролером системного метаболизма железа. Экспериментально доказано, что ГП25 может быть отрицательным регулятором захвата железа (Fe) в тонком кишечнике и выхода Fe из макрофагов [1] для обеспечения нормального эритропоэза. Важным механизмом, обуславли-

вающим нарушение продукции эритроцитов в костном мозге, является нарушение метаболизма железа и, как следствие, развитие анемического синдрома (АС). У онкологических больных АС выявляется еще до начала лечения. Его частота зависит от стадии злокачественной опухоли. Например, при колоректальном раке (КР) I–II стадии АС развивается в 40 % случаев, III–IV стадии — в 80 % [2]. В ряде исследований [3]

показано, что истинный дефицит железа характерен для КР. Однако микроцитоз и гипохромия эритроцитов не всегда указывают на дефицит железа, а при длительном течении заболевания могут свидетельствовать о функциональном дефиците железа (ФДЖ). Важно дифференцировать ЖДА и ФДЖ, так как подходы к лечению принципиально различаются. Имеется предположение [4, 5], что гиперпродукция ГП25 может быть

ответственна за анемию, ассоциированную со злокачественными новообразованиями (АЗН). Вместе с тем клиническая значимость этого показателя окончательно не определена.

Цель работы — исследование основных метаболитов феррокинетики для выявления их роли в дифференциальной диагностике АС. Основной задачей была оценка показателей крови, исследование которых в дальнейшем сможет помочь в прогнозировании, ранней диагностике и адекватной коррекции АС.

Материал и методы

Исследование проведено у 62 больных КР (рак прямой кишки у 33 человек, рак сигмовидной кишки у 11, рак ободочной кишки у 13, рак слепой кишки у 5 человек) до лечения. I стадия выявлена у 2 больных, II — у 11, III — у 38, IV стадия — у 11 больных. В исследование были включены 35 мужчин и 27 женщин в возрасте от 31 до 89 ($61,5 \pm 1,7$) лет. Контрольная группа составила 143 человека.

Расширенный клинический анализ крови с ретикулоцитограммой выполняли на гематологическом анализаторе Sysmex ХЕ-2100. В плазме крови методом иммуноферментного анализа определяли содержание ферритина (ФР) с помощью наборов фирмы Orgentec Diagnostica GmbH (Германия), растворимых рецепторов трансферрина (рРТФ) фирмы BioVendor (Чехия), уровень эндогенного эритропоэтина (ЭПО) с использованием наборов фирмы Biomerica (США), гепсидина 25 (ГП25) с наборами Peninsula Laboratories International, Inc. (США) и интерлейкин-6 (ИЛ-6) с помощью наборов Bender MedSystem (Австрия).

Подсчитывали лейкоцитарную формулу, и проводили детальный анализ морфологии эритроцитов. Число гипохромных и микроцитарных эритроцитов определяли на анализаторе Advia-120 (США).

Статистическую обработку данных (определение среднего значения, среднего квадратического отклонения, статистической значимости результатов) выполняли по Стьюденту с использованием критерия t , а при непараметри-

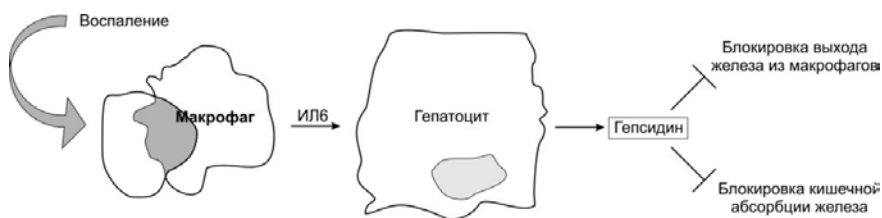


Рисунок 1. Регуляция продукции гепсидина при воспалении.

ческом распределении — с помощью критерия Вилкоксона-Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

АС у онкологических больных имеет мультифакторное происхождение. Наиболее общим звеном патогенеза АС является участие провоспалительных цитокинов, которые индуцируют экспрессию гепатоцитами гормона гепсидина.

В течение продолжительного периода искал претендента на роль гуморального регулятора метаболизма железа. Только в последние годы пришли к заключению, что универсальным регулятором метаболизма железа является гепсидин [6, 7]. Установлено, что ГП25 влияет не только на адсорбцию пищевого железа, но и высвобождение его из макрофагов. ГП25 является 25-аминокислотным пептидом, который синтезируется в печени [8]. Экспериментально доказано, что ГП25 относится к отрицательным регуляторам метаболизма железа, при избытке железа его уровень значительно повышается, тем самым снижается всасывание и рециркуляция железа, при недостатке они снижаются. Железо экспортируется из тканей с помощью ферропортина — основного клеточного транспортера железа и рецептора для ГП25. Показано [9, 10, 11], что под воздействием ИЛ-6 ГП25 блокирует ферропортины и, следовательно, высвобождение железа макрофагами (см. рис. 1). Развивается функциональный дефицит железа. Функциональным дефицитом железа называют ситуацию, когда, несмотря на достаточные его запасы, эритропоэз неадекватно обеспечивается железом. В периферической крови появляются эритроциты с низким объемом и гипохромией. Такая же

картина отмечается при ЖДА, поэтому необходим дифференциально-диагностический критерий выявления АС с функциональным дефицитом железа. По предварительным данным, полученным нами ранее, это может быть метод определения ГП25 [12, 13]. На экспериментальных моделях и у добровольцев было показано, что внутривенное введение ИЛ-6 сопровождается повышением продукции гепсидина с последующим развитием гипоферремии и железодефицитного эритропоэза, а при длительном воздействии провоспалительных цитокинов развивается анемия хронического заболевания [14, 15, 16].

ИЛ-6 является одним из важнейших медиаторов острой фазы воспаления [17, 18]. Синтезируется активированными макрофагами, Т-клетками и стимулирует иммунный ответ. Из литературных источников [19, 20] известно, что ИЛ-6 может продуцироваться также опухолевыми клетками различного гистогенеза.

В настоящее время проводится изучение новых лекарственных средств, мишенью которых являются основные патогенетические звенья АЗН, в частности, цитокины, корректоры ветви ИЛ-6 — гепсидин — ферропортин. Однако большая часть разработок находится в стадии экспериментальных исследований, другие — в разных стадиях клинических исследований [21]. В свою очередь, установлен интересный факт, что эритрокарициты костного мозга синтезируют белок, который подавляет образование ГП25. Это вещество получило название «эритроферон» — регулятор железа, продуцируемый клетками эритрона, но какими именно, пока не установлено [22]. Этот белок считается долгожданным эритропоидным фактором, который ингибирует ГП-25 и может способствовать железодефицитным анемиям.

Таблица 1
Сравнительная оценка показателей красной крови у пациентов с разными типами АС ($X \pm m$)

Группы	Показатели							
	RBC, $10^{12}/л$	HGB, г/л	MCV, фл	MCH, пг	MICRO, %	HYPO, %	RET, %	RET-HE, пг
Контроль (n = 143)	$4,5 \pm 3,7$	$146,0 \pm 7,3$	$87,3 \pm 5,5$	$28,9 \pm 1,7$	$0,5 \pm 0,04$	$0,7 \pm 0,1$	$0,91 \pm 0,40$	$30,9 \pm 1,7$
ЖДА (n = 21)	$4,2 \pm 0,2$	$96,0 \pm 6,0^*$	$75,3 \pm 1,4^*$	$22,7 \pm 0,9^*$	$9,9 \pm 2,2^*$	$12,1 \pm 4,0^{**}$	$1,1 \pm 0,2$	$23,1 \pm 1,0^*$
ЖДЭ (n = 23)	$4,2 \pm 0,2$	$93,0 \pm 3,2^*$	$73,9 \pm 4,2^*$	$22,3 \pm 1,7^*$	$33,4 \pm 9,6^{**}$	$22,2 \pm 4,4^{**}$	$1,7 \pm 0,3$	$22 \pm 1,6^*$
ФДЖ (n = 18)	$4,0 \pm 0,1$	$96,0 \pm 1,0^*$	$77,7 \pm 1,2^*$	$24,0 \pm 0,5^*$	$5,0 \pm 1,6^*$	$21,2 \pm 1,4^{**}$	$2,7 \pm 1,1^*$	$24,6 \pm 0,6^*$

Примечание. Здесь и в табл. 3: RBC — эритроциты; HYPO — гипохромные эритроциты; MICRO — микроциты. Здесь и в табл. 2 и 3: * — различия показателей по сравнению с группой контроля статистически значимы ($p < 0,05$); ** — различия показателей по сравнению с группой контроля статистически значимы ($p < 0,01$).

Высокоинформативными маркерами, характеризующими железодефицитный эритропоэз, являются ФР, рРТФ в комплексе с клиническим анализом крови, особенно с определением среднего содержания гемоглобина в ретикулоците (RET-HE) [23]. Следует учитывать, что ФР не всегда может отражать истинный запас железа в организме и его доступность. ФР является острофазным белком, содержание которого может повышаться при острых и хронических воспалительных процессах, что дает неоднозначные результаты. В отличие от ФР концентрация рРТФ повышается при недостатке железа и существенно не изменяется при хронических болезнях. Таким образом, определение концентрации рРТФ наряду с ФР в значительной степени повышает точность лабораторного диагноза железодефицитного состояния даже у больных со злокачественными и сопутствующими хроническими заболеваниями. Однако традиционные

методы исследования метаболизма железа (сывороточное железо, трансферрин, ФР, рРТФ, общая железосвязывающая способность (ОЖСС), RET-HE) не позволяют диагностировать функциональный дефицит железа у онкологических больных.

Современные автоматические анализаторы крови дали объективную информацию о состоянии кровотока больных. Больные КР и анемией имели одинаковые морфологические признаки эритроцитов крови, а именно микроцитоз ($MCV = 76,6 \pm 1,2$ фл) и гипохромия ($MCH = 23,5 \pm 0,5$ пг). Уровень HGB колебался от 79 до 118 г/л и в среднем по группе составил $76,6 \pm 12,1$ г/л, преобладали больные АС I и II степени тяжести. В анализаторах высшего класса возможно определение RET-HE. Это имеет важное диагностическое значение, так как в отличие от эритроцитов ретикулоциты характеризуются коротким сроком жизни. Они формируются и созревают в костном мозге за 1–2 дня, после чего покидают

его и еще 1–3 дня дозревают в кровотоке [24]. Показатель RET-HE дает четкое представление о количестве гемоглобина во вновь поступающих из костного мозга эритроцитах. У пациентов с АС этот показатель в среднем по группе был низким ($23,8 \pm 0,6$ пг). В норме RET-HE колебался от 28 до 35 пг ($30,9 \pm 1,7$ пг).

При анализе показателей ФР, рРТФ, ГП25 и ИЛ-6 среди пациентов были выделены три типа АС (табл. 2). Первый тип — истинная ЖДА (n = 21 человек; 33,8%) с очень низкой ($13,2 \pm 1,0$ нг/мл) концентрацией ФР и высокой концентрацией рРТФ ($3,8 \pm 0,06$ мкг/мл). О ЖДА свидетельствовал и показатель ГП25, который был значительно ниже ($2,5 \pm 0,09$ нг/мл) нормы ($4,3 \pm 0,7$; Me = 5,6 нг/мл). ИЛ-6 колебался от 2 до 3,1 пг/мл ($2,7 \pm 0,4$ пг/мл; Me = 2,62 пг/мл). Следует отметить, что у единичных больных с ЖДА, которые не вошли в статистическую разработку, выявлены, наряду с классическими признаками ЖДА,

Таблица 2
Содержание ФР, рРТФ, ИЛ-6, ГП25, ЭПО у пациентов с разными типами АС ($X \pm m$)

Группы	Число больных	Величина показателей	ФР, нг/мл	рРТФ, мкг/мл	ГП25, нг/мл	ИЛ-6, пг/мл	ЭПО, МЕ/мл
Контроль	95	$X \pm m$	$97,9 \pm 15,8$	$0,90 \pm 0,08$	$4,3 \pm 0,7$	$2,00 \pm 0,07$	$15,4 \pm 3,7$
		Me	78,1	0,7	5,6	1,9	20,1
		Диапазон	34,6–234,1	0,3–1,1	0,5–7,5	0,09–4,60	3,7–35,3
ЖДА	21	$X \pm m$	$13,2 \pm 1,0^{**}$	$3,8 \pm 0,6^{**}$	$2,50 \pm 0,09^{**}$	$2,70 \pm 0,06$	$73,8 \pm 28,0$
		Me	16	4,0	2,35	2,6	49,2
		Диапазон	4,7–19	1,2–5,1	0–6	2–3,1	3,2–498,0
ЖДЭ	23	$X \pm m$	$191,7 \pm 39,0^*$	$3,1 \pm 1,0^*$	$3,9 \pm 0,8^{**}$	$2,48 \pm 6,90$	$63,1 \pm 33,0$
		Me	122,9	1,8	2	2,9	9,9
		Диапазон	42–842	1,3–3,7	0,01–7,00	3–6	5,0–227,7
ФДЖ	18	$X \pm m$	$312,3 \pm 101,5^*$	$2,3 \pm 0,6^*$	$35,1 \pm 7,3^{**}$	$24,8 \pm 6,9^*$	$23,7 \pm 9,0$
		Me	124	2,0	25,5	21,4	8
		Диапазон	38,8–1596,4	0,1–9,0	4,9–100,0	6–45	3,2–46,2

Таблица 3
Сравнительная оценка показателей красной крови у пациентов с разными стадиями заболевания ($X \pm t$)

Группы	Показатели							
	RBC, $10^{12}/л$	HGB, г/л	MCV, фл	MCH, пг	MICRO, %	HYPO, %	RET, %	RET-HE, пг
Контроль (n = 143)	$4,5 \pm 3,7$	$146,0 \pm 7,3$	$86,9 \pm 4,7$	$28,7 \pm 1,6$	$0,50 \pm 0,04$	$0,7 \pm 0,1$	$0,91 \pm 0,40$	$30,9 \pm 1,7$
I — II стадия (n = 13)	$4,5 \pm 0,3$	$121,3 \pm 2,5^*$	$85,2 \pm 1,4$	$27,6 \pm 1,0$	$9,4 \pm 4,2^*$	$2,7 \pm 1,1^*$	$1,4 \pm 0,3$	$29,2 \pm 1,0$
III стадия (n = 38)	$4,2 \pm 0,1$	$104,1 \pm 4,9^*$	$76,4 \pm 2,2^*$	$24,7 \pm 0,7^*$	$15,8 \pm 1,8^*$	$6,7 \pm 2,4^*$	$2,4 \pm 1,0$	$24,5 \pm 0,8^*$
IV стадия (n = 11)	$4,3 \pm 0,2$	$96,0 \pm 4,0^{**}$	$74,6 \pm 1,8^{**}$	$22,6 \pm 0,7^{**}$	$27,5 \pm 2,7^{**}$	$15,4 \pm 6,2^{**}$	$1,3 \pm 0,1$	$23,7 \pm 1,0^{**}$

высокие показатели экспрессии ГП-25 и ИЛ-6. Можно предположить, что эти метаболиты явились причиной развития ЖДА, однако небольшое число больных в этой группе не позволяет сделать однозначный вывод и требует дальнейшего накопления материала для исследования. Второй тип (n = 23; 37%) АС был расценен как железодефицитный эритропоэз (ЖДЭ). Отличительной особенностью этой группы по сравнению с ЖДА была высокая концентрация ФР ($191,7 \pm 39,0$; Me = $122,9$ нг/мл), которая значительно превышала норму ($97,7 \pm 15,8$; Me = $78,1$ нг/мл) (табл.). Возможно, это может свидетельствовать о переходе ЖДА в хроническую фазу АС. Несмотря на условно «большие запасы железа», ФР, являясь острофазным белком, вероятнее всего, необъективно отражал запасы железа. Уровень рРТФ был высоким, свидетельствуя о «железном голоде» эритрокариоцитов костного мозга. Концентрация рРТФ ($3,1 \pm 1,1$; Me = $1,8$ мкг/мл) превышала верхнюю границу нормы ($0,9 \pm 0,08$; Me = $0,7$ мкг/мл), но в меньшей степени, чем у пациентов с ЖДА. При этом среднее содержание гемоглобина в ретикулоците, как и у пациентов с ЖДА, оказалось сниженным ($22,0 \pm 1,6$ пг), что свидетельствовало о ЖДЭ на фоне АЗН. Низкие показатели ГП25 ($1,2 \pm 0,4$ нг/мл) доказывали это. ИЛ-6 колебался от 3 до 6 пг/мл ($3,2 \pm 0,7$ пг/мл; Me = $2,9$ пг/мл).

АС третьего типа (табл. 2; рис. 2) диагностирован у 18 (29%) больных. Как и у больных ЖДЭ концентрация RET-HE была низкой, ФР — высокой. Показатели рРТФ, как и в группе со вторым типом у больных ЖДЭ, превышали ($2,10 \pm 0,06$; Me = $2,0$ мкг/мл) верхнюю границу нормы, что указывало на дефицит железа. Однако в отличие от второго типа АС с ЖДЭ выявлена очень

высокая концентрация ГП25 ($43,0 \pm 8,1$ нг/мл) и ИЛ-6 ($23,7 \pm 9,0$ пг/мл; Me = 8 пг/мл), превышающая норму в десятки раз, что в большей степени свидетельствовало о функциональном дефиците железа на фоне АЗН.

Большое значение для дифференциальной диагностики АС имеет определение ЭПО в плазме крови. ЭПО является ключевым регулятором эритропоэза. Неадекватно низкая продукция ЭПО по отношению к степени АС — характерная особенность АХЗ и в меньшей степени — ЖДА. Для оценки адекватности гормонального ответа на степень тяжести анемии у большинства больных АС определяли концентрацию эндогенного ЭПО. Анализируя уровень ЭПО, следует сказать, что его повышение отмечается при состоянии гипоксии. Среди больных АС (n = 62) адекватное повышение ЭПО относительно степени тяжести АС отмечено у 19 (30,6%) в диапазоне от 57 до 227 МЕ/мл. У 43 (69,4%) больных ЭПО колебался от 3,2 до 46,2 МЕ/мл, т.е. был неадекватным степени анемии. Как показало наше исследование (табл. 2), более

низкая продукция ЭПО отмечалась у всех (100%) больных с ФДЖ, а следовательно, у пациентов с распространенным опухолевым процессом (III–IV стадия), в меньшей степени у пациентов с ЖДА и ЖДЭ.

Точное измерение уровней ЭПО в крови при ряде первичных и вторичных нарушений эритроэза имеет как диагностическое, так и терапевтическое значение. Что касается необходимости определения эндогенного ЭПО перед введением рекомбинантного человеческого ЭПО (рчЭПО), его адекватности при оценке положительного ответа, мы не согласны с рядом авторов [25, 26], которые считают, что это делать не обязательно. Наши исследования, проведенные ранее [27] на большом клиническом материале, свидетельствуют об обратном: только 70–78% пациентов имеют относительно низкий уровень ЭПО, у остальных он более чем достаточный, иногда превышает норму в десятки раз. Есть ли необходимость вводить этой группе пациентов дополнительно рч-ЭПО? Вопрос дискуссионный.

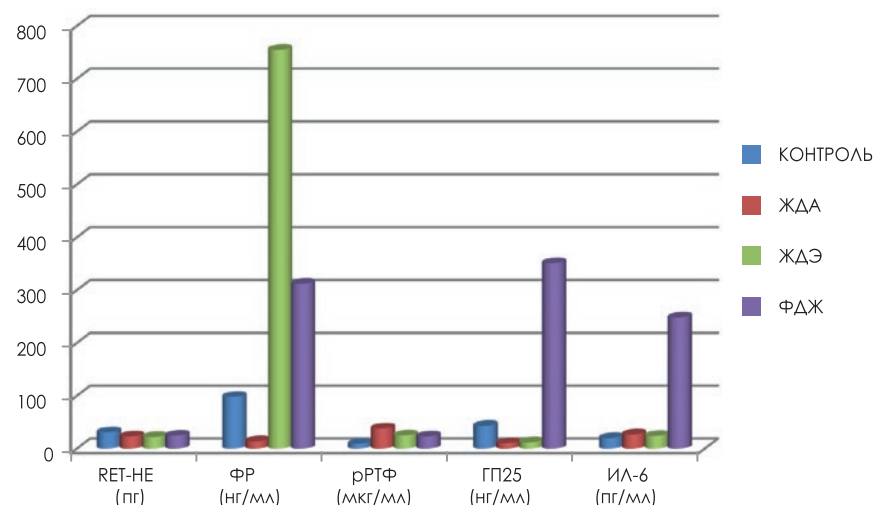


Рисунок 2. Среднее содержание гемоглобина в ретикулоците, ФР, рРТФ, ГП25, ИЛ-6 (по оси ординат) у больных КР с разными типами АС (по оси абсцисс).

Таблица 4
Частота встречаемости различных типов АС у пациентов
в зависимости от стадии заболевания

Группы	ЖДА	ЖДЭ	ФДЖ
I — II стадия (n = 13)	5	3	5
III стадия (n = 38)	11	20	7
IV стадия (n = 11)	5	1	5
Всего	21	23	18

Был проведен анализ частоты (табл. 3, 4) встречаемости различных типов АС в зависимости от стадии заболевания. Более глубокие изменения красной крови отмечались у пациентов с IV стадией (табл. 3). У пациентов этой группы выявлены самые низкие показатели красной крови (HGB, MCV, MCH, RET-HE), а число гипохромных и микроцитарных эритроцитов, напротив, было значительно выше по сравнению с предыдущими группами (см. табл. 3). Случаи ЖДА и ФДЖ встречались во всех группах в одинаковой степени. ЖДЭ чаще всего наблюдался у пациентов с III стадией заболевания (табл. 4).

Таким образом, определение уровня ГП25 и ИЛ-6 в комплексе с другими традиционными методами, характеризующими АС (оценка уровня ферритина, растворимых рецепторов трансферрина, клинический анализ крови, определение RET-HE), позволяет провести более объективную оценку метаболизма железа. АС с микроцитарными, гипохромными характеристиками эритроцитов не всегда указывает на дефицит железа, а может свидетельствовать о функциональных нарушениях метаболизма железа на фоне хронических болезней. Важно дифференцировать ЖДА, ЖДЭ от ФДЖ при АЗН, так как подходы к лечению принципиально различаются.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Список литературы

1. Цветаева, Н.В. Основы регуляции обмена железа [Текст] / Н.В. Цветаева, А.А. Левина, Ю.И. Мамукова // Клиническая онкогематология. — 2010. — Т.3. — № 3. — С. 278–283.

2. Снеговой, А.В. Анемия в онкологии: возможности поддерживающей терапии [Текст] / А.В. Снеговой, В.Б. Ларионова, Л.В. Манзюк, И.Б. Кононенко // Клиническая онкогематология. — 2016. — Т.3. — № 9. — С.326–35.
3. Beale, A.L. The prevalence of iron deficiency among patients presenting with colorectal cancer [Text] / A. L. Beale, M. D. Penney, M. C. Allison // Colorectal Disease. — 2005. — V.4. — N7. — P. 398–402.
4. Ganz, T. Hepcidin and disorders of iron metabolism [Text] / T. Ganz, E. Nemeth // Annu. Rev. Med. — 2011. — № 62. — P. 347–60.
5. Coyne, D. Hepcidin: clinical utility as a diagnostic tool and the therapeutic target [Text] / D. Coyne // Kidney Int. — 2011-V. 80. — N3. — P. 240–9.
6. Park, C.H. Hepcidin a urinary antibacterial peptide synthesized in the liver [Text] / C.H. Park, E. V. Valore, A. J. Wanng et al // J. Biol. Chem. — 2001. — N276. — P.7806–10.
7. Deicher, R. Hort W.H. New insights into the regulation of iron homeostasis [Text] / R. Deicher, W. H. Hort // Eur. J. Clin. Inv. — 2006. — N36. — P. 301–8.
8. Camaschella, C. Iron and hepcidin: a story of recycling and balance [Text] / C. Camaschella // Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Program. — 2013. — P. 1–8.
9. Pigeon, C. Courselaud. A new mouse liver-specific protein homologous to human antibacterial peptid hepcidin is overexpressed during iron overload [Text] / C. Pigeon, G. Igin // Courselaud Journal Biological Chemistry. — 2001 — № 276 — P.7811–9.
10. Gardenghy, S. Distinct roles for hepcidin and interleukin-6 the recovery from anemia in mice with-killed Brucella abortus. [Text] / S. Gardenghy, T. M. Renaud, A. Meloni, C. Casu, B. J. Crieleard, L.M. Bystrom, N. Greeberg-Kushnir, B. J. Sasu, K. S. Cooke, S. Rivella // Blood. — 2014. — V.123. — № 8. P. 1137–45.
11. Блиндарь, В.Н. Новая концепция диагностики анемии с нарушением метаболизма железа [Текст] / В.Н. Блиндарь, Г.Н. Зубрихина, И.И. Матвеева // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина. — 2015–2016. — Т.26. — № 4–1. — С.77–85.
12. Блиндарь, В.Н. Особенности метаболизма железа у онкологических больных [Текст] / В.Н. Блиндарь, Г.Н. Зубрихина // Ж. Технология живых систем // — 2013 — Т. 10 — № 5. — С.3–12.
13. Блиндарь, В.Н. Основные метаболиты феррокинетики в дифференциальной диагностике анемического синдрома. [Текст] / В.Н. Блиндарь, Г.Н. Зубрихина, И.И. Матвеева // Клин. лаб. диагн. — 2016. — Т. 61. — № 4. — С. 219–223.

14. Nemeth, E. IL6 mediates hypoferrremia inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin [Text] / E. Nemeth, S. Rivera, V. Gabajan // Jour. Clin. Investigation. — 2004. — 9. — 113-№ 9. — P. 1271–1276.
15. Павлов, А.Д. Эритропоэз, эритропоэтин, железо. Молекулярные и клинические аспекты [Текст] / А.Д. Павлов, Е.Ф. Морщакова, А.Г. Румянцев // М.—ГЭОТАР-Медиа. — 2011. — 299 с.
16. D'Angelo, G. Role of hepcidin in the pathophysiology and diagnosis of anemia / G. D' Angelo // Blood Res. — 2013. — V. 48. — N1 — P.10–5.
17. Sapmaz, F. Correlation between Anaemia and Hepcidin-25 and Interleukin 6 Levels in Early Stage and Advanced Chronic Renal Disease [Text]. / F. Sapmaz, S. Unverdi, A. Azak, M. Duranau, Y. Fidan, D. Yucel // West Indian Med. J. — 2016. — 2015 — P.338.
18. Ibricevic-Balic, L. Dilemma: Correlation Between Serum Level of Hepsidin and IL-6 Anemic Myeloma Patients [Text] / L. Ibricevic-Balic, E. Icidic-Nakas, S. Hasic, E. Kiseljakovic, A. Sofo-Hafizovic, S. Balic // Med. Arch. — 2016. — V.70. — № 6. — P. — 429–432.
19. Алехнович, Л.И. Характеристика биохимических маркеров метаболизма костной ткани [Текст] / Л.И. Алехнович // Респект. — 2009. — № 2. — С. 17–25.
20. Блиндарь, В.Н. Алгоритм современной лабораторной диагностики анемического синдрома онкологических больных [Текст] / В.Н. Блиндарь, Г.Н. Зубрихина, И.И. Матвеева // Клин. лаб. диагн. — 2012. — № 7. — С. 19–24.
21. Nemeth, E. Anemia of Inflammation [Text] / E. Nemeth, T. Ganz // Hematol. Oncol. Clin. North. Am. — 2014 Aug. — 28-№ 4 — С. 671–78.
22. Стуков, Н.И. Железодефицитные синдромы при заболеваниях желудочно-кишечного тракта: перспектива лечения [Текст] / Н.И. Стуков // Клиническая медицина. — 2016. — № 6. — С. 410–418.
23. Brugnara, C. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret-He) and assessment of iron-deficient states [Text] / C. Brugnara, B. Schiller, J. Moran // Clin. Laboratory Hematology. — 2006 — V. 28 — № 5 — P. 303–308.
24. Зубрихина, Г.Н. Возможности современного автоматизированного клинического анализа крови в дифференциальной диагностике истинного и перераспределительного (функционального) дефицита железа при анемическом синдроме онкологических больных [Текст] / Г.Н. Зубрихина, В.Н. Блиндарь, И.И. Матвеева // Клин. лаб. диагн. — 2014. — № 5 — С. 21–25.
25. Schrijvers, D. Erythropoiesis-stimulating agents the treatment of anaemia in cancer patients: ESMO Clinical Practice for use [Text] Oncology — 2010 — № 21 — P. 244–247.
26. Рукавицын, О.А. Актуальные вопросы диагностики и лечения анемии при хронических заболеваниях [Текст] / О.А. Рукавицын // Клин. Онкогем. — 2012. — 5-№ 4. — С. 296–304.
27. Зубрихина, Г.Н. Анемический синдром у онкологических больных [Текст] / Г.Н. Зубрихина, В.Н. Блиндарь, И.И. Матвеева, Ю.А. Нестерова // Вестн. РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. — 2009. — Т. 4 — № 6. — 57–62.



Микроциркуляторные расстройства и роль серотонина в формировании сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса

М. В. Куркина, аспирант кафедры терапии и подростковой медицины
А. П. Ройтман, д.м.н., проф. кафедры клинической лабораторной диагностики
Н. Г. Ракова, к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики
А. Г. Автандилов, д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии и подростковой медицины

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

Microcirculatory disorders and role of serotonin in formation of heart failure with preserved ejection fraction

M. V. Kurkina, A. P. Roytman, N. G. Rakova, A. G. Avtandilov
Russian Medical Academy of Continuing Vocational Education; Moscow, Russia

Резюме

За последние десятилетия зарегистрирован неуклонный рост числа пациентов с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ), которая является сложным клиническим синдромом и включает сочетание нескольких сопутствующих заболеваний. По результатам некоторых исследований предполагается, что в основе развития СНсФВ лежат изменения на уровне артериоларно-капиллярного русла. В проведенном исследовании изучены расстройства микроциркуляции у пациентов с СНсФВ и определена концентрация серотонина в плазме крови как возможного биомаркера оценки системной rareфикации микроциркуляторного русла.

Ключевые слова: сердечная недостаточность, сохраненная фракция выброса, микроциркуляция, серотонин (5-гидрокситриптамин).

Summary

Over the past decades, has been recorded a steady increase of patients with heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF), which is a complex clinical syndrome and includes a combination of several concomitant diseases. Based on the results of some studies, it is suggested that at the base of HFpEF there are alterations of the arteriolar-capillary bed. In our research, we've studied the microcirculation disorders in patients with HFpEF and the concentration of serotonin in the blood plasma as a possible biomarker for assessing of systemic microcirculation.

Key words: heart failure, preserved ejection fraction, microcirculation, serotonin (5-hydroxytryptophan).

Введение

В последние годы особое внимание уделяется изучению развития и прогрессирования сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ). Известно, что пациенты с признаками СНсФВ имеют длительный стаж гипертонической болезни, ожирение, сахарный диабет и нарушения почечной функции, а при эхокардиографическом исследовании наблюдаются признаки диастолической дисфункции (ДД) разного типа [1]. Однако наличие ДД левого желудочка не определяет сердечную недостаточность (СН) и не играет ключевой роли в ее развитии, соответственно, определение этих пока-

зателей не является чувствительным и специфическим для диагностики СНсФВ [2].

Большинство исследований посвящено повреждению крупных артериальных сосудов, и гораздо меньшее внимание уделяется изменениям микроциркуляторного русла, которое является самой объемной и разветвленной сетью в человеческом организме. Там регулируется обмен питательных веществ и жидкости не только в органах и тканях, но и более крупных сосудах эластического и мышечно-эластического типов (*vasa vasorum*), состоящее из артериол, прекапилляров и капилляров [3]. В микроциркуляторном русле

формируется самое низкое внутрисосудистое давление и высокое напряжение. Артериолы и их медиальная часть состоят из одного слоя миоцитов, на которых лежит пласт эндотелиальных клеток покрытых тонким слоем гликокаликса.

Коморбидные заболевания способствуют развитию воспаления, оксидативному стрессу и образованию активных форм кислорода, которые приводят к повреждению эндотелиального слоя не только крупных сосудов, но и микроциркуляторного русла. В связи с чем расстройства последних и их изучение в последние годы ста-



М. В. Куркина



А. П. Ройтман



Н. Г. Ракова



А. Г. Автандилов

ли привлекать все большее внимание исследователей. В доступной литературе имеются работы, посвященные расстройствам микроциркуляции у пациентов с вазоспастической стенокардией, которая описана как синдром, наиболее часто встречающийся у женщин без выраженных поражений коронарных артерий [4]. Вместе с тем микроциркуляторное русло пациентов с СНсФВ изучено недостаточно, однако в исследовании Kitzman M. D. и соавторов при биопсии скелетной мускулатуры бедра пациентов с СНсФВ было обнаружено значительное снижение плотности капилляров [5]. При исследовании аутопсийного материала миокарда пациентов с СНсФВ в клинике Mayo также обнаружено уменьшение плотности капилляров миокарда [6]. Полученные результаты позволили предположить, что редификация микроциркуляторного русла может лежать в основе развития СНсФВ. Также многочисленными исследованиями было показано, что большое влияние на развитие СНсФВ оказывает возраст и артериальная гипертензия, а сопутствующие коморбидные заболевания усиливают сосудистое воспаление с нарастанием оксидативного стресса, снижением биодоступности оксида азота, с образованием пероксинитрита, который в еще большей степени усиливает окислительный стресс и приводит к повреждению эндотелия [7]. Повреждение эндотелиального слоя сопровождается нарушением соотношения между вазоконстрикторами и вазодилататорами, высвобождением провоспалительных цитокинов, растет проницаемость эндотелия, из субэндотелиального слоя в просвет сосуда поступает коллаген, который может взаимодействовать с тромбоцитами через их гликопротеиновые рецепторы. В результате чего в поврежденном участке эндотелия происходит адгезия тромбоцитов, при этом происходит усиленная секреция аденозинфосфата, тромбоксана A₂ и серотонина, что способствует замедлению кровотока и еще большей адгезии тромбоцитов, высвобождению тромбина и агрегации тромбоцитов [8].

На сегодняшний день существуют ряд биомаркеров, которые позволяют

определять тяжесть СН (натрийуретические пептиды и растворимый ST₂), степень фиброза миокарда — галектилин-3, ММП и их ингибиторы, уровень коллагена и воспаление, как в сосудистой стенке, так и в миокарде: С-реактивный белок, цистатин, интерлейкины и другие [9]. Однако в клинической практике до сих пор не определены биомаркеры, участвующие в развитии микрососудистой дисфункции. Y. Odaka и соавт. провели клиническое исследование определения концентрации серотонина в плазме у пациентов с микрососудистой дисфункцией коронарных артерий и обнаружили у них повышение уровня серотонина, что позволило им обозначить его как сильный предиктор в диагностике микрососудистой дисфункции [10]. Серотонин является вазоактивным веществом и оказывает различные кардиофизиологические эффекты, например, посредством серотонинергических рецепторов (5-HT) он регулирует сосудистый тонус, усиливает высвобождение и активность ангиотензина и норадреналина, может действовать непосредственно на кардиомиоциты и стимулировать хемочувствительные нервы. Уровень циркулирующего серотонина является одним из факторов поддержания нормальной сердечно-сосудистой функции, а повышение его концентрации может играть роль при заболеваниях периферических сосудов и артериальной гипертензии [11]. В экспериментальных исследованиях на животных моделях была установлена связь между серотонинергической системой и сердечной недостаточностью. Marzak H. и соавт. обнаружили, что 5-HT через Gq-связанный 5-HT_{2b}-рецептор участвует в патофизиологических механизмах СНсФВ, способствуя дилатации ЛЖ и развитию субэндокардиального фиброза [12]. Selim A. M. и соавт. установлено, что серотонин является маркером для диагностики хронической СН, а его более высокие уровни связаны с ухудшением симптомов СН [13]. Таким образом, актуальной задачей является поиск и изучение биомаркеров, позволяющих оценить их вклад в нарушениях микроциркуляторного русла у пациентов с СНсФВ.

Цель

Изучить возможную роль серотонина в формировании расстройств микроциркуляции у пациентов с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса.

Материалы и методы

Всего обследовано 180 пациентов в возрасте от 20 до 80 лет, имеющих сочетание нескольких коморбидных заболеваний (гипертоническая болезнь, ожирение I–IV степени, сахарный диабет второго типа и хроническую болезнь почек). Пациенты были разделены на пять групп в зависимости от возраста и типа ДД, в первую группу вошло 43 пациента в возрасте от 20 до 39 лет с доклинической ДД I типа; во вторую группу включено 37 пациентов в возрасте от 40 до 59 лет с ДД I типа; в третью — 27 пациентов от 40 до 59 лет с ДД по псевдонормальному типу; в четвертую — 43 с ДД I типа старше 60 лет и в пятую — 30 пациентов старше 60 лет также имеющих ДД по псевдонормальному типу. Хроническая болезнь почек регистрировались у пациентов старше 40 лет. Всем пациентам были выполнены стандартные инструментальные методы исследования, производились антропометрические измерения. Хроническая болезнь почек и ее стадия определялись по скорости клубочковой фильтрации с использованием формулы MDRD. На момент исследования пациенты получали лекарственную терапию согласно основному и сопутствующим заболеваниям, которая включала ингибиторы ангиотензин превращающего фермента, β-адреноблокаторы, антагонисты кальция, антиагреганты, тиазидные и тиазидоподобные диуретики, антагонисты альдостерона, пероральные гипогликемические препараты группы сульфонилмочевины II поколения.

В исследование не включались пациенты, перенесшие инфаркт миокарда, нарушение мозгового кровообращения, имеющие нарушения ритма сердца и проводимости на момент исследования и в анамнезе, врожденные и приобретенные пороки сердца, кардиомиопатию, онкологические и психические заболевания.

Таблица 1
Клинико-демографическая характеристика пациентов исследованных групп, n = 180

Показатели	Группы	ДД 1 тип 20–39 лет, n = 43	ДД 1 тип 40–59 лет, n = 37	ДД 2 тип 40–59 лет, n = 27	ДД 1 тип старше 60 лет, n = 43	ДД 2 тип старше 60 лет, n = 30
Возраст, лет		27,5 ± 7,0	51,4 ± 4,9	48,9 ± 6,0	67,8 ± 5,7	67,4 ± 6,1
ИМТ, кг/м ²		38,8 ± 5,2	35,8 ± 4,1	39,6 ± 6,1	34,0 ± 4,3	36,9 ± 5,7
Стаж ожирения, лет		12,9 ± 5,0	10,1 ± 6,3	14,8 ± 6,5	9,4 ± 6,3	12,4 ± 8,0
САД, мм рт. ст.		158,8 ± 11,	167,0 ± 14,3	168 ± 13	166 ± 18	171 ± 18,9
ДАД, мм рт. ст.		88,6 ± 8,8	90,2 ± 7,6	92,9 ± 9,5	87,6 ± 11	92,0 ± 10,7
Стаж ГБ, лет		8,0 ± 4,9	10,8 ± 5,2	12,8 ± 6,9	19,1 ± 8,0	18,0 ± 8,6
ТШХ, м		596 ± 100	412,6 ± 96,0	396,4 ± 89,0	281,3 ± 77,5	289,7 ± 92,8
Наличие сопутствующих заболеваний						
Гипертоническая болезнь		100%	100%	100%	100%	100%
Ожирение		100%	100%	100%	100%	100%
Сахарный диабет		–	35,1%	48,1%	58,1%	83,3%
Глюкоза, ммоль/л		4,3 ± 0,4	7,1 ± 1,9	7,4 ± 1,5	8 ± 2,4	8,2 ± 1,3
Хроническая болезнь почек		–	37,8%	51,8%	69,7%	96,6%
СКФ, мл/мин/1,73 м ²		90,2 ± 5,9	68,0 ± 4,1	69,2 ± 8,7	47,1 ± 7,3	44,3 ± 4,7

Примечание: данные представлены в виде М ± SD.

Эхокардиографическое исследование выполнялось на аппарате Vivid E 9 GE (США). Оценивали фракцию выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ), массу миокарда левого желудочка (ММЛЖ, г), индекс ММЛЖ (по формуле R. B. Devereux) и относительную толщину стенки (ОТС) ЛЖ, измеряли объем левого предсердия (ЛП) и индекс объема левого предсердия (ИОЛП) [14, 15]. Диастолическую функцию определяли по соотношению пиков скоростей раннего и позднего диастолического наполнения левого желудочка (Е/А), конечно-диастолическое давление (Е/е') оценивали по отношению скоростей раннего диастолического наполнения (Е, м/с) и максимальной скорости движения фиброзного кольца митрального клапана (е', м/с) [16]. С целью определения функционального класса СН и толерантности к физической нагрузке проводился тест шестиминутной ходьбы.

Объемной компрессионной осциллометрией определяли податливость сосудистой системы (ПСС, мл/мм рт. ст.), податливость плечевой артерии (П_{арт}, мл/мм рт. ст.), общее периферическое сопротивление (ОПС, дин × с × см⁻⁵) — показатель, который отражает свойства мелких резистивных сосудов (артериол), удельное пе-

риферическое сопротивление (УПС, у.е.), которое характеризует состояние прекапиллярного русла [17].

Концентрацию серотонина (5-НТ-гидрокситриптами) определяли методом конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) в плазме крови набором реактивов фирмы Cloud-Clone Corp. CEA 808 Ge (Китай) на анализаторе Microplate Reader 680 (США). Принцип метода основан на конкурентной реакции между немаркированным 5-НТ и маркированным биотином 5-НТ, и сорбированными антителами специфичными к 5-НТ. После инкубации несвязанный конъюгат удаляли отмывкой. Затем, в каждую лунку планшета добавлялся авидин и проводилась инкубация. Количество связанного конъюгата обратно пропорционально концентрации 5-НТ в образце. После добавления раствора субстрата интенсивность окрашивания обратно пропорциональна концентрации 5-НТ в образце.

Статистическая обработка результатов выполнена в программе GraphPadPrism 6.0. Данные в таблице представлены в виде М ± SD. Для проверки параметров распределения применены критерии Колмагорова-Смирнова, Д'Агостина-Пирсона и Шапиро-Уилка. Применялись ме-

тоды непараметрической статистики — однофакторный дисперсионный анализ по ранговому критерию Краскела-Уоллиса и пост-хок тест по критерию Данна. Корреляционный анализ проводился по ранговому критерию Спирмена.

Результаты

Клинико-демографическая характеристика пациентов указана в табл. 1. В соответствии с разделением пациентов на пять групп у всех отмечались ожирение, нарастание уровня артериального давления и увеличение стажа гипертонической болезни с 8,0 ± 4,9 года в первой группе до 18,0 ± 8,6 года в пятой группе. У пациентов от 20 до 39 лет отсутствовали признаки нарушения толерантности к углеводам и снижения почечной функции. У пациентов 40–59 лет наблюдались признаки нефропатии в виде легкого снижения СКФ — 68,0 ± 4,1 и 69,2 ± 8,7 мл/мин./1,73 м² соответственно, повышение уровня глюкозы в указанных группах выявлено у 35,1 и 48,1 % пациентов и составляло 7,1 ± 1,9 и 7,4 ± 1,5 ммоль/л, что указывало на наличие сахарного диабета второго типа. У 58,1 % пациентов третьей и 83,3 % пятой групп уровень глюкозы был 8,0 ± 2,4 и 8,2 ± 1,3 ммоль/л,

Таблица 2
Структурно-функциональные изменения миокарда и сосудов, n = 180

Показатели	Группы	ДД 1 тип 20–39 лет, n = 43	ДД 1 тип 40–59 лет, n = 37	ДД 2 тип 40–59 лет, n = 27	ДД 1 тип старше 60 лет, n = 43	ДД 2 тип старше 60 лет, n = 30
ФВ, %		65,6 ± 4,4	66,3 ± 5,6	65,2 ± 4,2	66,7 ± 5,0	64,0 ± 6,6
иММ, г/м ²		110 ± 15 ^{‡§†}	123,8 ± 14,7 [‡]	120,0 ± 13,2	129,6 ± 11,0 [§]	134 ± 22 [†]
ОТС		0,47 ± 0,03 ^{‡§†}	0,53 ± 0,07 [‡]	0,52 ± 0,04 [§]	0,54 ± 0,05 [‡]	0,54 ± 0,06 [†]
Е/А		0,93 ± 0,20 ^{‡§†}	0,78 ± 0,08 ^{‡§†}	1,2 ± 0,3 ^{‡§†}	0,8 ± 0,1 ^{‡§†}	1,2 ± 0,2 ^{‡§†}
Е', м/с		0,09 ± 0,02 ^{‡§†}	0,060 ± 0,008 ^{‡§†}	0,060 ± 0,007 ^{‡§†}	0,050 ± 0,009 ^{‡§†}	0,050 ± 0,007 ^{‡§†}
Е/Е'		7,6 ± 2,8 ^{‡§†}	13,0 ± 1,3 ^{‡§†}	14,8 ± 1,7 ^{‡§†}	15,3 ± 1,9 ^{‡§†}	15,9 ± 1,2 ^{‡§†}
Индекс объема ЛП, мл/м ²		30,4 ± 6,2 ^{‡§†}	37,5 ± 6,2 [‡]	38,8 ± 4,8 [§]	39,3 ± 6,9 [‡]	41,3 ± 6,9 [†]
Парт, мл/мм рт. ст.		1,2 ± 0,2 ^{‡§†}	0,60 ± 0,03 [‡]	0,59 ± 0,03 [§]	0,4 ± 0,03 [‡]	0,40 ± 0,03 [†]
ПСС, мл/мм рт.ст.		1,8 ± 0,3 ^{‡§†}	1,2 ± 0,2 [‡]	1,0 ± 0,2 [§]	1,0 ± 0,3 [‡]	0,9 ± 0,2 [†]
ОПС, дин		1496 ± 488 ^{‡§†}	1948 ± 215 [‡]	1908 ± 171 [‡]	2097 ± 302 [§]	1991 ± 216 [†]
УПС, у.е.		46,2 ± 13,0 ^{‡§†}	55,4 ± 7,8	60,6 ± 11,0 [§]	58,8 ± 10,2 [‡]	63,8 ± 18,0 [†]
Серотонин, нг/мл		10,97 ± 4,60 ^{‡§†}	20,6 ± 5,4 ^{‡§†}	21,8 ± 4,5 ^{‡§†}	31,06 ± 11,70 ^{‡§†}	38,5 ± 17,3 ^{‡§†}

Примечание: данные представлены в виде М ± SD, проведен однофакторный дисперсионный анализ по ранговому критерию Краскела-Уоллиса с пост-хок тестом Данна; различия между группами считались достоверными при p < 0,05;

‡ — достоверные отличия между 1 и 2 группами; § — достоверные отличия между 1 и 3 группами; ‡ — достоверные отличия между 1 и 4 группами; ‡ — достоверные отличия между 1 и 5 группами; ‡ — достоверные отличия между 2 и 3 группами; ‡ — достоверные отличия между 2 и 4 группами; ‡ — достоверные отличия между 2 и 5 группами; ‡ — достоверные отличия между 3 и 4 группами; ‡ — достоверные отличия между 3 и 5 группами; ‡ — достоверные отличия между 4 и 5 группами.

а выявленное снижение СКФ (47,1 ± 7,3 и 44,3 ± 4,7 мл/мин./1,73 м²) указывало на наличие ХБП умеренной стадии. По результатам проведенного теста шестиминутной ходьбы зарегистрировано планомерное снижение пройденной дистанции с 596 ± 100 м в первой группе до 289,7 ± 92,8 м в пятой, что соответствовало II–III ФК СН (табл. 1). Также у пациентов старше 40 лет на фоне снижения пройденной дистанции отмечались клинические проявления СН, которые проявлялись усталостью, одышкой и сердцебиением.

Анализ показателей, отражающих свойства артериол и прекапиллярного русла, показал прогрессивное увеличение общего (ОПС дин × с × см⁻⁵) и удельного периферического сопротивления (УПС, у.е.) с достоверностью различий p < 0,05. В первой группе ОПС и УПС составили 1496 ± 488 дин × с × см⁻⁵ и 46,2 ± 13 у.е., во второй — 1948 ± 215 дин × с × см⁻⁵ и 55,4 ± 7,8 у.е., в третьей группе они были 1908 ± 171 дин × с × см⁻⁵ и 60,6 ± 11 у.е., в четвертой — 2097 ± 302 дин × с × см⁻⁵ и 58,8 ± 10,2 у.е. и в пятой — 1991 ± 216 дин × с × см⁻⁵ и 63,8 ± 18 у.е. Показатели, отражающие изменения в более крупных сосудах мышечного типа (П арт, мл/

мм рт. ст. и ПСС, мл /мм рт. ст.) постепенно снижались в каждой группе (табл. 2), указанное может быть обусловлено спазмом и редификацией артериоларно-капиллярного русла, снабжающих кровью (*vasa vasorum*) более крупные артериальные сосуды, что подтверждается достоверной отрицательной корреляционной зависимостью между увеличением общего периферического сопротивления и снижением податливости сосудистой системы — R = -0,39 (p < 0,001).

При определении уровня серотонина в плазме крови обнаружено, что его концентрация увеличивается с высокой степенью достоверности (p < 0,05) не только с возрастом, но и в зависимости от сочетания коморбидных заболеваний и клинических проявлений СН. У пациентов с ДД без признаков СН (первая группа) уровень серотонина был 10,97 ± 4,60 нг/мл, во второй группе его уровень увеличился до 20,6 ± 4,5 нг/мл, в третьей — 21,8 ± 4,5 нг/мл, в четвертой он составлял 31,06 ± 11,7 нг/мл и максимальные значения регистрировались у пациентов пятой группы — 38,5 ± 17,3 нг/мл. При сопоставлении некоторых параметров отражающих изменения микроциркуляторного русла и уровня серотонина

обнаружена достоверная корреляционная зависимость между параметрами, характеризующими артериоларно-капиллярный тонус, и увеличением концентрации серотонина (R = 0,30; p < 0,001). Также обнаружена достоверная корреляционная зависимость между повышением общего периферического сопротивления и снижением толерантности к физическим нагрузкам — R = 0,30 (p < 0,001), повышением уровня серотонина и снижением пройденной дистанции по тесту шестиминутной ходьбы — R = -0,59 (p < 0,001), на основании чего можно предположить, что ухудшение переносимости физической нагрузки обусловлено снижением массы скелетной мускулатуры и системной редификацией микроциркуляторного русла.

По результатам эхокардиографического исследования у всех пациентов была зарегистрирована нормальная фракция выброса левого желудочка, однако в каждой группе наблюдалось увеличение индекса массы миокарда и относительной толщины стенки ЛЖ, в первой группе иММ составил 110 ± 15 г/м², ОТС 0,47 ± 0,03, что указывало в пользу концентрического ремоделирования ЛЖ, в пятой группе значения иММ и ОТС достигали 134 ± 22 г/м²

и $0,54 \pm 0,06$, что свидетельствовало о концентрическом типе гипертрофии ЛЖ. Анализ диастолической функции у пациентов указанных групп позволил определить два типа ДД: замедленную релаксацию и псевдонормальный тип. При этом связи ДД с тяжестью СНсФВ, уровнем серотонина и некоторыми гемодинамическими параметрами обнаружено не было. Вместе с тем более детальная оценка параметров миокарда отражающих его жесткость позволила выявить прогрессивное снижение скорости движения фиброзного кольца митрального клапана (e') с $0,09 \pm 0,002$ м/с в первой группе до $0,05 \pm 0,007$ м/с в пятой с достоверностью различий $p < 0,05$. На фоне увеличения стажа гипертонической болезни и возраста пациентов происходило повышение давления наполнения ЛЖ (E/e') и индекса объема ЛП (табл. 2). По результатам некоторых исследований известно, что индекс объема ЛП и E/e' достоверно коррелирует с продолжительностью и тяжестью симптомов СНсФВ [18]. При анализе взаимосвязи жесткостных параметров ЛЖ обнаружены связь между увеличением концентрации серотонина и снижением e' ($R = -0,45$; $p < 0,001$), ростом E/e' ($R = 0,54$; $p < 0,001$) и немного меньшая корреляционная связь уровня серотонина с индексом ЛЖ ($R = 0,31$; $p < 0,001$) и ОТС ЛЖ ($R = 0,37$; $p < 0,001$), что свидетельствовало о возможном нарушении микроциркуляции стромы миокарда на фоне разрежения плотности капилляров и уменьшения коронарного резерва. По результатам некоторых исследований обнаружено, что уровень серотонина увеличивается у пациентов с гипертрофией миокарда ЛЖ и нарушениями его диастолической функции [19]. Единичными исследованиями доказано, что пациенты с СН имеют более высокие уровни серотонина в плазме крови, и его концентрация изменяется в течении болезни и коррелирует с тяжестью симптомов СН [13].

Заключение

Таким образом, формирование СНсФВ связано не только с увеличением возраста, но и с изменением фенотипической картины сочетаний коморбидных состояний. Системное

расстройство микроциркуляторного русла затрагивает всю артериальную сеть, включая стенки крупных сосудов (*vasa vasorum*), нарушения в которых способствуют увеличению их жесткости, снижению демпфирующей функции аорты и ухудшению кровоснабжения миокарда. В основе этого процесса лежат расстройства микроциркуляции, причиной которых может быть разрежение сосудистого русла на фоне нарастающей адгезии и агрегации тромбоцитов в артериоларно-капиллярном русле, что проявляется повышением уровня серотонина.

Высвобождаясь из тромбоцитов, серотонин вызывает вазоконстрикцию и агрегацию тромбоцитов, тем самым способствуя системному сужению микрососудов. Указанное подтверждается достоверной положительной корреляцией между уровнем серотонина и состоянием периферического артериоларного и прекапиллярного русла. Вероятно, в миокарде происходят подобные процессы, что проявляется нарастанием фиброза, увеличением КДД ЛЖ и прогрессированием сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса.

Список литературы

- Barry A. Borlaug, Redfield M. M. et al. Diastolic and Systolic Heart Failure are Distinct Phenotypes of the Heart Failure Syndrome // *Circulation*.— 2011.— Vol. 123, № 18.— P. 2006–14.
- Zile M. R., Gaasch W. H. et al. Heart failure with a normal ejection fraction: is measurement of diastolic function necessary to make the diagnosis of diastolic heart failure // *Circulation*.— 2001.— Vol. 104, № 7.— P. 779–82.
- Narang N., Medvedofsky D., Kathryn D. et al. Microvascular dysfunction and cardiac fibrosis in heart failure with preserved ejection fraction: a case report // *Heart Failure*.— 2017.— Vol. 4, № 4.— P. 645–48.
- Crea F., Noel Bairey Merz C. et al. The parallel tales of microvascular angina and heart failure with preserved ejection fraction: a paradigm shift // *European Heart Journal*.— 2017.— Vol. 38, № 7.— P. 473–77.
- Kitzman D. W., Nicklas B. et al. Skeletal muscle abnormalities and exercise intolerance in older patients with heart failure and preserved ejection fraction // *Am J Physiol Heart Circ. Physiol*.— 2014.— Vol. 306, № 9.— P. 1364–70.
- Mohammed S. F., Hussain S., Mirzoyev S. A., et al. Coronary microvascular rarefaction and myocardial fibrosis in heart failure with preserved ejection fraction // *Circulation*.— 2015.— Vol. 131, № 6.— P. 550–59.
- Kitzman D. W., Upadhyay B. et al. What the dead can teach the living: the systemic nature of heart failure with preserved ejection fraction // *Circulation*.— 2015.— Vol. 131, № 6.— P. 522–24.
- May A. E., Seizer P., Gawaz M. Platelets: Inflammatory firebugs of vascular walls // *Arterioscler. Thromb Vasc. Biol*.— 2008.— Vol. 28, № 3.— P. 5–10.
- Natalia Lopez-Andres, Patrick Rossignol et al. Association of galectin-3 and fibrosis markers
- with long-term cardiovascular outcomes in patients with heart failure, left ventricular dysfunction, and dyssynchrony: insights from the CARE-HF (Cardiac Resynchronization in Heart Failure) trial // *European Journal of Heart Failure*.— 2012.— Vol. 14, № 1 — P.74–81.
- Odaka Y., Takahashi J. et al. Plasma concentration of serotonin is a novel biomarker for coronary microvascular dysfunction in patients with suspected angina and unobstructive coronary arteries // *European Heart Journal*.— 2017.— Vol. 38, № 7.— P. 489–96.
- Nagatomo T., Rashid M. et al. Functions of 5-HT_{2A} receptor and its antagonists in the cardiovascular system // *Pharmacology and therapeutics*.— 2014.— Vol. 104; P. 59–81.
- Marzak H, Ayme-Dietrich E, Lawson R, Mokni W, Combe R, Becker J, et al. Old spontaneously hypertensive rats gather together typical features of human chronic left-ventricular dysfunction with preserved ejection fraction // *J Hypertens*.— 2014.— Vol. 32, № 11.— P. 1307–16.
- Ahmed M. Selim, Nitasha Sarswat, Losif Kelesidis et al. Plasma serotonin in heart failure: possible marker and potential treatment target // *Heart lung and circulation*.— 2017.— Vol.26, № 5.— P.442–9.
- Ganau A., Devereux R. B., Roman M. J. et al. Patterns of left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension // *J. Am. Coll. Cardiol*.— 1992.— Vol.19.— P. 1550–58.
- Gaasch W. H., et al. Left ventricular structural remodeling in health and disease: with special emphasis on volume, mass, and geometry // *J Am Coll Cardiol*.— 2011.— Vol. 58, № 17.— P.1733–40.
- Свищенко Е. П., Матова Е. А., Мищенко А. А. Диастолическая дисфункция левого желудочка у больных гипертонической болезнью: возможности коррекции с помощью валсартана // *Артериальная гипертензия*.— 2012. № 2 (22).— С. 39–46.
- Иванов С. В., Рябиков А. Н., Мажути-на С. К. Жесткость сосудистой стенки и отражение пульсовой волны в связи с артериальной гипертензией // *Бюллетень со РАМН*.— 2008. № 3 (131).— С. 9–12.
- Kim H, Jun D. W. et al. The correlation of left atrial volume index to the level of N-terminal pro-BNP in heart failure with a preserved ejection fraction // *Echocardiography*.— 2008.— Vol.25, № 9.— P. 961–7.
- Birkeland J. A., Sjaastad I., Qvigstad E., Moberg E. R., Krobert K. A. et al. Effects of treatment with a 5-HT₂ receptor antagonist in heart failure // *Br J Pharmacol*.— 2007.— Vol. 150 № 2.— P. 143–52.



Исследование влияния липосомальной формы α -липоевой кислоты на систему гемостаза человека

В. А. Щелконогов, аспирант, м.н.с.^{1,2}

К. С. Саврас, студент¹

К. Н. Жигалова, студент¹

А. В. Чеканов, к.б.н., с.н.с.¹

О. А. Баранова, к.б.н., с.н.с.¹

К. Д. Казаринов, к.б.н., вед. научный сотрудник³

Г. М. Сорокоумова, к.х.н., доцент кафедры биотехнологии и промышленной фармации²

Н. С. Шастина, к.х.н., доцент кафедры биотехнологии и промышленной фармации²

В. П. Мудров, к.м.н., врач клинко-диагностической лаборатории⁴

Э. Ю. Соловьева, д.м.н., проф., зав. лабораторией¹

А. И. Федин, д.м.н., проф., заслуженный врач России, зав. кафедрой неврологии ФДПО¹

¹ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» (РНИМУ) Минздрава России, г. Москва

²ФГБОУ ВО «МИРЭА — Российский технологический университет» Минобрнауки России, г. Москва

³Фрязинский филиал ФГБУН «Институт радиотехники и электроники имени В. А. Котельникова» РАН, г. Фрязино

⁴ФГБУ «9-й лечебно-диагностический центр» Минобороны России, г. Москва

Study of liposomal form of alpha-lipoic acid effect on human hemostatic system

V. A. Shchelkonogov, K. S. Savras, K. N. Zhigalova, E. Yu. Solovyova, O. A. Baranova, A. V. Chekanov, K. D. Kazarinov, V. P. Mudrov, A. I. Fedin
Russian National Research Medical University n. a. N. I. Pirogov, Moscow; MIREA — Russian Technological University, Moscow;
Fryazino Branch of the Institute of Radio Engineering and Electronics n. a. V. A. Kotelnikov, Fryazino, Moscow Region; Russia

Резюме

Проведено исследование влияния липосомальной формы α -липоевой кислоты на систему свертывания крови человека. Не было выявлено достоверного влияния фосфатидилхолиновых липосом, содержащих и не содержащих α -липоевую кислоту на плазменное звено гемостаза. Показано, что липосомальная форма α -липоевой кислоты при концентрациях 0,2–0,4 мг/мл дозозависимо подавляет агрегацию тромбоцитов в составе обогащенной тромбоцитами плазмы крови человека, индуцированную арахидоновой кислотой, а также препятствует снижению гранулярности тромбоцитов.

Ключевые слова: фосфолипиды, проточная цитофлуориметрия, спектрофлуориметрия, наночастицы, тромбоциты, α -липоевая кислота, липосомы, наноконтейнеры.

Summary

The study of the effect of the liposomal form of α -lipoic acid on the human blood coagulation system. There was no significant effect of phosphatidylcholine liposomes containing and not containing α -lipoic acid on the plasma link of haemostasis. It is shown that the liposomal form of α -lipoic acid at concentrations of 0.2–0.4 mg/ml dose-dependent inhibits platelet aggregation in the platelet-rich human blood plasma induced by arachidonic acid, and prevents the reduction of platelet granularity.

Key words: phospholipids, flow cytometry, spectrofluorimetry, nanoparticles, platelets, α -lipoic acid, liposomes, nanocontainers.

Нарушение функционирования головного мозга происходит вследствие развивающегося ишемического повреждения, в результате которого прекращается доставка к нему кровью кислорода и глюкозы, что приводит к нарушению мозгового кровоснабжения и последующему повреждению мозговой ткани [1].

Происходит активизация сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза и нарушение реологических свойств крови, что может привести к опасным последствиям для организма, тромбообразованию [2–4]. Развивается воспаление, способствующее повреждению гематоэнцефалического барьера и ведущее к дальнейшему повреждению мозговой ткани. Нарастающий окислительный стресс приводит к образованию активных форм кислорода (АФК), интенсивно взаимодействующих с молекулярными соединениями, формирующими нейрональные и внутриклеточные мембраны [5, 6].

Применение нейропротективных и антиоксидантных препаратов вызывает снижение развития острого повреждения нейрональной ткани и способствует восстановлению функций мозга [7, 8]. В качестве адекватной терапии на сегодняшний день применяют водорастворимую форму α -липоевой кислоты. Данный лекарственный препарат используется как антиоксидант при лечении острого и хронического воспаления периферической нервной системы. Однако биодоступность этого средства невысока из-за воздействия ферментных систем организма, быстрой деградации, отсутствия возможности пройти через ГЭБ. Поэтому главным вопросом остается способ доставки лекарственного вещества. Нейропротективное действие водорастворимой формы α -ЛК, связанное с предотвращением повреждающего воздействия свободных радикалов на клеточные мембраны и уменьшением выраженности

окислительного стресса, является патогенетическим обоснованием использования его как антиоксидантного средства при ишемическом поражении головного мозга [9].

На протяжении последних лет одним из популярных исследуемых транспортеров являются липосомы. Достоверное определение характеристик данных наноконструкций и их влияния на систему гемостаза человека является необходимым условием для их применения в практике.

Таким образом, целью нашей работы было исследовать влияние липосомальной формы α -ЛК на систему гемостаза в условиях *in vitro*.

Материалы и методы

Химические реактивы. Все соли, используемые в работе для приготовления буферных растворов были получены от фирмы Sigma-Aldrich (США), $C_{40}H_{70}N_5O_{11}P$ Avanti Polar Lipids (США), фосфатидилхолин (ФХ) Avanti Polar Lipids (США), α -липовая кислота Sigma-Aldrich (США), этилендиаминовая соль α -липовой кислоты Sigma-Aldrich (США), арахидоновая кислота НПО «Ренам» (Россия), $C_2H_5O_2N$ «ХимМед» (Россия).

Получение обогащенной тромбоцитами плазмы. Кровь забиралась у здоровых доноров ($n = 14$) в полистироловые вакуумные пробирки с цитратом натрия. Стабилизированную цитратом натрия кровь центрифугировали 10 минут при 200 g для получения ОТП. Далее ОТП отбиралась в чистую пробирку. Оставшуюся плазму повторно центрифугировали в течение 25 минут при 400 g. Получали бедную тромбоцитами плазму. Также отбирали в чистую пробирку. Инкубировали при $+37^\circ\text{C}$ не более трех часов.

Получение липосом. Липосомы были получены в МИРЭА — Российский технологический университет в лаборатории кафедры биотехнологии и фармация, методом экструзии из чистого неокисленного соевого ФХ (с концентрацией малонового альдегида [МДА] 0,464 нмоль/мл и индексом окисления 0,17). Для выделения был использован экструдер LiposoFast basic (Avestin Inc., США). Размер полученных липосом определяли методом турбодиметрии с использованием спектрофотометра Shimadzu UV. Спектр поглощения регистрировали в интервале 200–400 нм.

Для получения липосом с альфа-липовой кислотой готовили стоковый раствор из 50 мг альфа-липовой кислоты, растворенной в 10 мл 96-процентного этанола с конечной концентрацией ЛК = 5 мг/мл. Отбирали 1 мл в эппендорф и растворяли в нем 40 мг ФХ. Полученный раствор анализировали спектрофотометрическим методом в диапазоне длин волн от 200 до 400 нм. Содержание препарата в липосомах определяли по поглощению ЛК на длине волны 330 нм. В результате дальнейшей работы

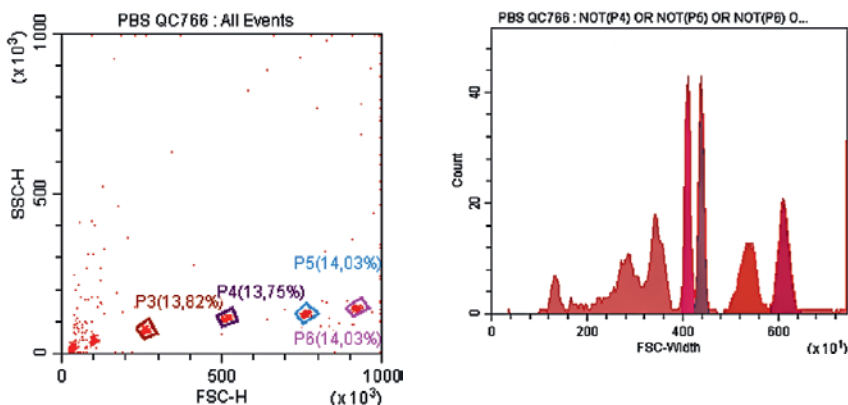


Рисунок 1. Параметры фронтального, бокового светорассеяния и размеров стандартизированных калибровочных частиц CytoFLEX Daily QC от 0,9–6,5 мкм. Измерения проводились в суспензии клеток тромбоцитов (1 млн Кл) при длине волны 488 нм. К клеткам добавляли исследуемый препарат α -ЛК. Объем пробы 250 мкл.

были получены флуоресцентно-меченные фосфатидилхолиновые липосомы. Полученные меченные липосомы имеют высокую интенсивность зеленой флуоресценции ($E_m = 530$ нм), обусловленную наличием флуоресцентной метки на конце гидрофобной части ФХ.

Проточная цитофлуориметрия. Для измерения оптических свойств индивидуальных клеток в суспензии использовали проточный цитофлуориметр CytoFLEX (Beckman, США). При помощи данного прибора измерялись такие параметры клеток, как светорассеяние под разными углами и флуоресценция в различных диапазонах спектра. Когда клетка проходит через лазерный луч, свет рассеивается во всех направлениях. Свет, рассеянный в прямом направлении под малыми углами ($0,5$ – 10°) от оси, пропорционален квадрату радиуса сферы и, следовательно, размеру клетки или частицы. Детектор прямого светорассеяния (FSC, от англ. forward scatter) располагается по ходу лазерного луча. Центральная часть FSC-детектора экранирована, поэтому нерассеянное лазерное излучение им не регистрируется [10]. Свет может проникать в клетку, и отражаться и преломляться ядром и другим содержимым клетки. Детектор бокового светорассеяния (SSC, от англ. side scatter) располагается под углом в 90° относительно направления лазерного луча. Боковое светорассеяние можно считать пропорциональным гранулярности клетки [10]. Калибровку проточного цитометра осуществляли, используя стандартные калибровочные частицы CytoFLEX Daily QC Fluorospheres (Beckman Coulter, США).

Агрегометрия. С целью определения антиагрегационной активности α -липовой кислоты производили агрегометрию тромбоцитов с использованием прибора AggRam Helena (Великобритания) при температуре 37°C . Проба представляла 250 мкл плазмы с добавлением различных концентраций исследуемых веществ: водорастворимая форма α -ЛК; ФХ-липосомы; липосомы с α -ЛК. В течение минуты регистрировали спонтанную агрегацию тромбоцитов, после чего добавляли индуктор активации, с конечной концентрацией 0,05 мг/мл. В качестве активатора использовали водный раствор арахидоновой кислоты.

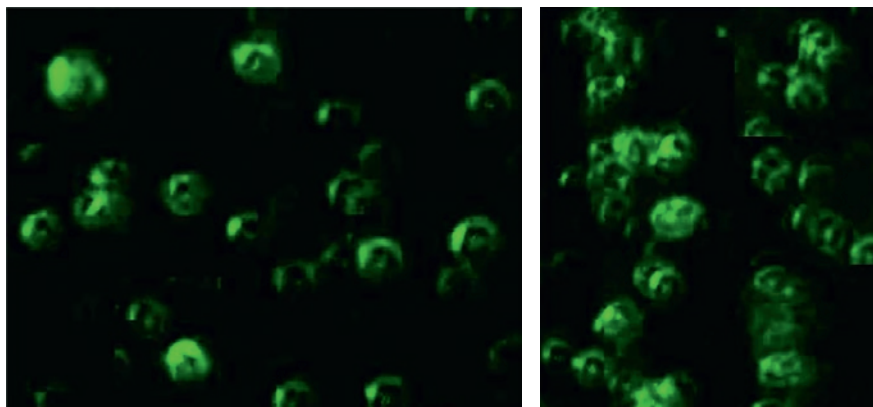
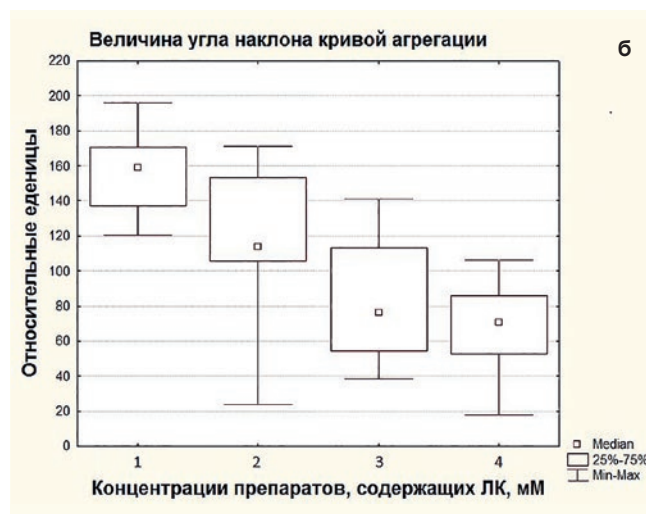
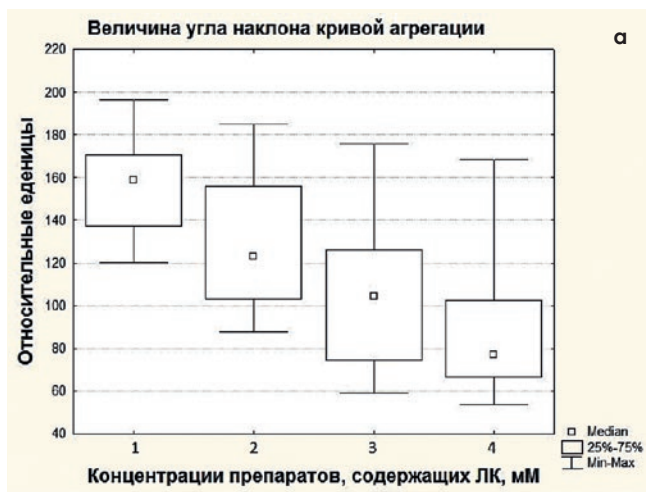


Рисунок 2. Свечение флуоресцентно-меченых липосом при взаимодействии с: а) тромбоцитами человека ($3,5 \times 10^5$ кл/мл); б) тромбоцитарными агрегатами.

В ходе работы оценивались степень агрегации и скорость агрегации тромбоцитов. Кинетику агрегации регистрировали в течение 20 минут.

Коагулограмма. Определение влияния пустых липосом и содержащих альфа-липоевую кислоту на плазменное звено гемостаза производилось на четырехканальном полуавтоматическом коагулометре TS 4000 (НТИ, США). Кровь собиралась в вакуумные пробирки с цитратом натрия.



Далее использовалась БТП, которая получалась путем центрифугирования крови при 2000 g 15 минут. При определении тромбинового времени каждая проба содержала 50 мкл БТП и 25 мкл дистиллированной воды (контроль) или 25 мкл липосом пустых и содержащих α -ЛК разных концентраций, инкубация при 37°C две минуты при постоянном перемешивании. После добавлялся ренампластин с МИЧ 1,2 (для определения протромбинового времени) или тромбин 1,9 UNH/мл (для определения тромбинового времени). Соотношение БТП: ренампластин и тромбин : (H_2O + липосомы) = 2 : 2 : 1.

АЧТВ: каждая проба содержала БТП, АЧТВ-реагент и дистиллированную воду (контроль) или липосомы, инкубация при 37°C три минуты при постоянном перемешивании. После добавлялось 0,025 M Ca^{2+} . Соотношение БТП : АЧТВ-реагент: (H_2O + липосомы) = 2 : 2 : 1.

Статистическая обработка. Полученные результаты обрабатывались с помощью программ Excel (Microsoft office) и STATISTICA версии 6, StatSoft (США). Для анализа различий количественных признаков в трех и более несвязанных группах использовался статистический критерий Краскелла-Уоллиса ANOVA, в двух несвязанных группах применялся критерий Манна-Уитни. Достоверными считались различия при $p < 0,05$. Результаты представили в виде боксов.

Результаты и обсуждение

Исследование влияния липосомальной формы липоевой кислоты на систему гемостаза человека. Известно, что в процессе ишемического повреждения развивается воспалительная реакция как ответ организма на поврежде-

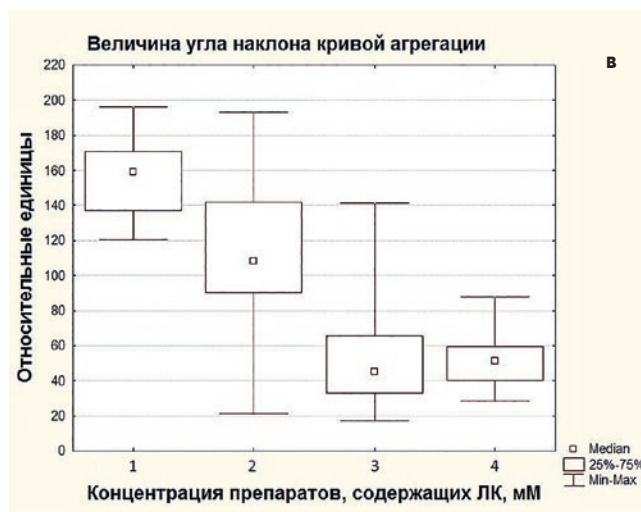


Рисунок 3. Угол наклона кривой агрегации: а — сравнение с контролем (1 — контроль; 2 — контроль + ФХ липосомы Сфх = 2 мМ, 3 — контроль + липосомы ЛК Слк = 1 мМ, 4 — контроль + водораств. ЛК Слк = 1 мМ); б и в — сравнение с контролем липосом, загруженных ЛК в различных концентрациях (1–2 мМ). Величина кривой агрегации при различных концентрациях ФХ и ФХ с ЛК.

ние сосудистого эндотелия, а в случае инфаркта мозга происходит проникновение токсических веществ из сосудистого русла в мозговую ткань. Это вызывает запуск каскада оксидативных и прокоагулянтных реакций, в результате которых происходит активация клеток микроглии, что приводит к главной утрате — гибели жизненно важных нейронов с формированием инфарктного очага. Поэтому для предотвращения данного патологического процесса и снижения последствий от его наличия необходимо воздействовать на систему гемостаза, чтобы нарушить замкнутый сигнальный круг. К важнейшим проблемам современной медицины причисляют различные тромбоэмболические явления, которые возникают при избыточной активности тромбоцитов (Тц). Для лечения и профилактики ишемических нарушений кровообращения у больных применяют антитромбоцитарные антиагреганты препараты [11].

В предыдущих исследованиях было показано, что α ЛК-липосомы никак не влияют на агрегацию тромбоцитов, вызванную добавлением АДФ и адреналина и слабо влияют на индукторы агрегации тромбоцитов, такие как коллаген, ристомин. Максимальное влияние липосомальные конструкции, содержащие α ЛК, оказывали на агрегацию, вызванную арахидоновой кислотой [12].

При добавлении липосом из ФХ-ФЛ меченых в обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП) было обнаружено, что флуоресцентномеченые липосомы располагаются на поверхности тромбоцитов (рис. 2 а). Было зарегистрировано образование клеточных агрегатов с флуоресцентномечеными липосомами, которые, судя по всему, встраиваются клеточную мембрану тромбоцитов (рис. 3 б).

В ходе проведенных исследований агрегации тромбоцитов было обнаружено, что фосфатидилхолиновые липосомы с концентрациями 2, 3, 4 мМ уменьшают агрегацию Тц на 12, 20 и 25 % в зависимости от концентрации ФХ-липосом, в то время как добавление только индуктора вызывало агрегацию 95 % (рис. 3). Липосомы, содержащие α -ЛК с концентрациями 1, 1,5, 2 мМ, снижали агрегацию на 13, 22, 30 % в зависимости от концентрации α -ЛК. При этом водорастворимые формы α ЛК с концентрацией 1 мМ практически не снижали агрегацию, а с концентрацией 1,5 и 2 мМ снижали ее на 10–12 % (рис. 3). Вероятнее всего, это связано с плохой способностью проникать в клетку водора-

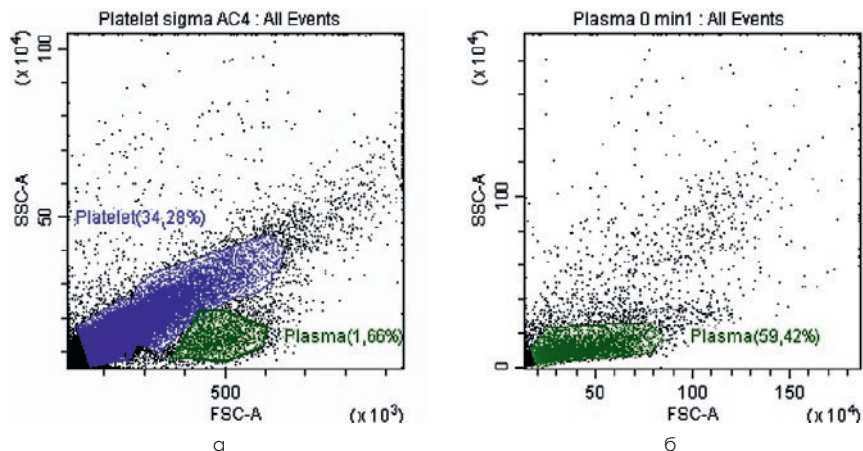


Рисунок 4. Двухмерная гистограмма отношения бокового и фронтального светорассеяния: а — тромбоцитов и компонентов плазмы; б — плазмы, выделенной из периферической крови человека.

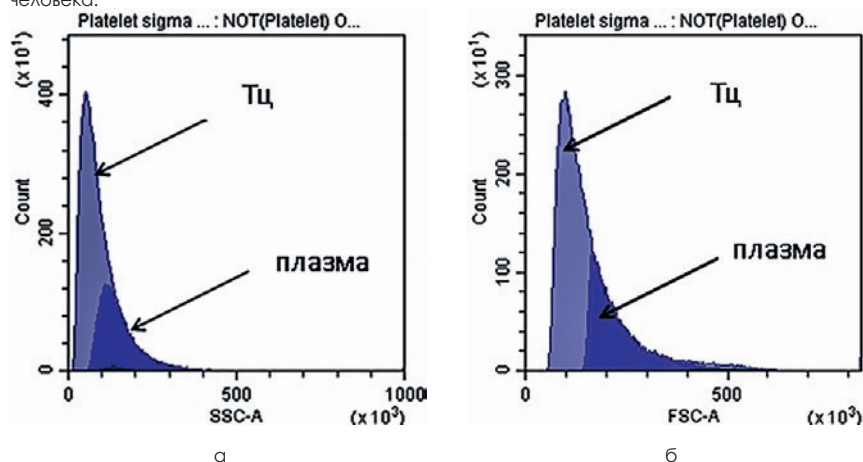


Рисунок 5. Гистограмма зависимости: а — количества клеточных элементов от бокового светорассеяния; б — количества клеточных элементов от прямого светорассеяния.

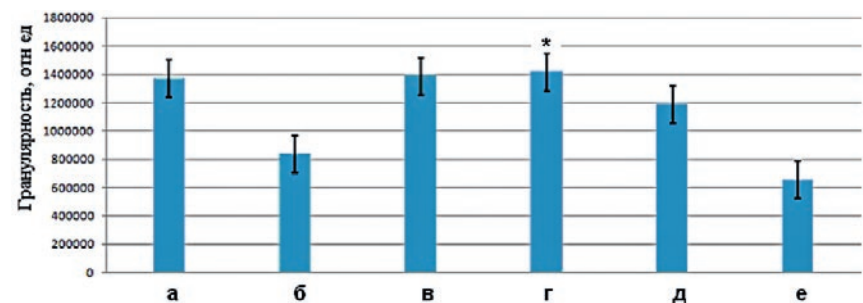


Рисунок 6. Влияние липосом, содержащих α -липовую кислоту, на гранулярность клеточных элементов: а) тромбоциты; б) тромбоциты + арахидоновая кислота; в) фосфатидилхолиновые липосомы (2 мМ) + тромбоциты + арахидоновая кислота; г) липосомы с липовой кислотой (1 мМ) + тромбоциты + арахидоновая кислота; д) тромбоциты + раствор липовой кислоты в физрастворе (1 мМ) + арахидоновая кислота; е) тромбоциты + этилендиаминовая соль липовой кислоты (1 мМ) + арахидоновая кислота. Длина волны возбуждения 488 нм.

створимых препаратов, содержащих α -ЛК. Кроме того, по-видимому, липосомы, содержащие α -ЛК, способны легко проникать через клеточную мембрану за счет их слияния с клеточной мембраны и высвобождать препарат во внутриклеточное пространство.

В ходе проведенных исследований при расчете критической агрегации в исследуемых образцах крови доноров обнаружено, что как и α -липовая кислота в составе липосомальных конструкций, так и водорастворимая форма ЛК в виде этилендиаминовой соли достоверно влияли

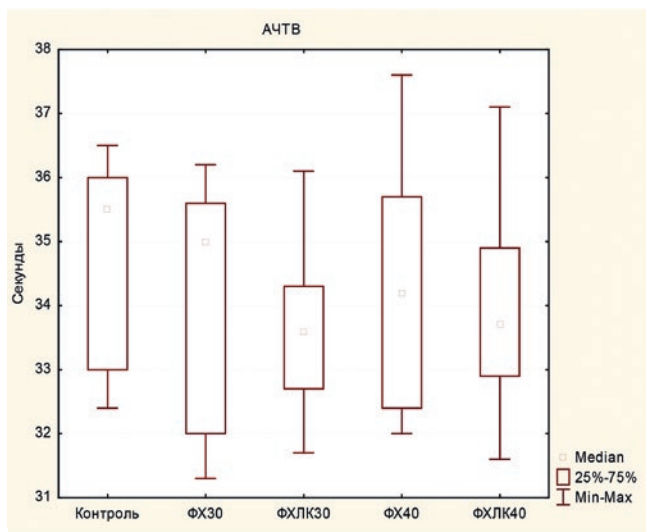


Рисунок 7. Влияние липосом без ЛК и содержащих α -липовую кислоту на АЧТВ (ФХ30 = 4,8 мг/мл = 6 мМ; ФХ40 = 6,4 мг/мл = 8 мМ; ФХЛК30 = 0,6 мг/мл = 3 мМ; ФХЛК40 = 0,8 мг/мл = 4 мМ).

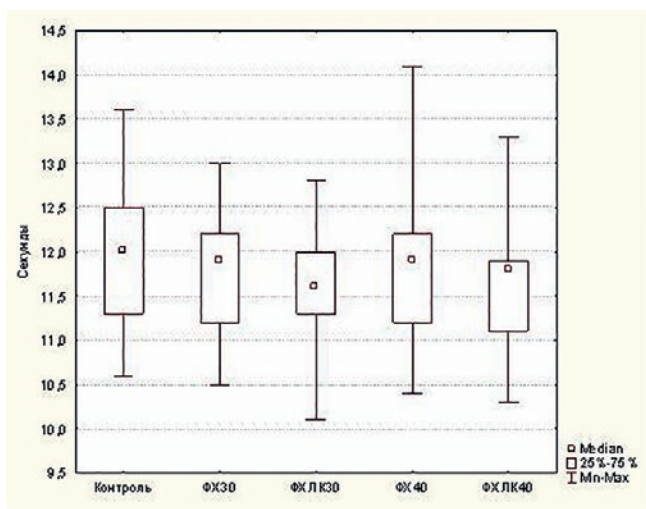


Рисунок 8. Влияние липосом без ЛК и содержащих α -липовую кислоту на тромбиновое время (ФХ30 = 4,8 мг/мл = 6 мМ; ФХ40 = 6,4 мг/мл = 8 мМ; ФХЛК30 = 0,6 мг/мл = 3 мМ; ФХЛК40 = 0,8 мг/мл = 4 мМ).

на величину угла наклона агрегации при концентрации α -ЛК 2 мМ (рис. 3), тогда как в концентрациях 1 и 1,5 мМ отличия не значимы (рис. 3). Полученные результаты позволяют сказать, что ЛК С = 2 мМ в составе липосом эффективней уменьшала скорость агрегации Тц (рис. 3).

При исследовании влияния липосомальной формы ЛК на функциональную активность тромбоцитов методом проточной цитофлуорометрии была получена двумерная гистограмма отношения бокового и прямого светорассеяния плазмы крови, обогащенной тромбоцитами (рис. 4 а), и плазмы, обедненной тромбоцитами (рис. 4 б). Как мы видим на этом рисунке, регистрируются две фракции: тромбоциты и компоненты плазмы (рис. 4 а). Для сравнения и дальнейшей обработки результатов исследований приведена двумерная гистограмма отношения бокового и прямого светорассеяния, в которой отсутствует тромбоцитарная фракция (компоненты обедненной тромбоцитами плазмы) (рис. 4 б).

Обработка данных по прямому и боковому светорассеянию тромбоцитов и плазменных компонентов дала

следующие результаты (рис. 5). Как можно наблюдать, интенсивность светорассеяния тромбоцитарной фракции значительно превосходит интенсивность светорассеяния плазменных компонентов, поэтому в дальнейшем при обработке полученных результатов экспериментов мы не учитывали вклад интенсивности (фона) от обедненной плазмы тромбоцитов (рис. 5).

При исследовании изменения гранулярности тромбоцитов в образцы с обогащенной тромбоцитами плазмы добавляли ФХ липосомы не содержащие ЛК, или липосомы с ЛК, или водорастворимые препараты с α -липовой кислотой, в дальнейшем инкубировали в течение пяти минут ($T = 37^\circ\text{C}$) и добавляли индуктор агрегации Тц арахидоновую кислоту (рис. 6).

Добавление арахидоновой кислоты приводило к снижению гранулярности тромбоцитов в отличие от препаратов, содержащих как пустые липосомы так и липосомы с включенными в них α -ЛК. При этом при добавлении водорастворимой формы α -ЛК происходило незначительное уменьшение гранулярности клеток, а в случае с α -ЛК-этилендиаминовой солью происходило значительное снижение гранулярности. Полученные данные свидетельствуют, что липосомальные формы препятствовали дегрануляции тромбоцитов (рис. 6).

В результате данных исследований было показано, что добавление арахидоновой кислоты уменьшало гранулярность тромбоцитов по сравнению с нативными тромбоцитами (рис. 6). Добавление липосомальных препаратов, содержащих α -липовую кислоту, приводило к увеличению гранулярности тромбоцитов. При этом при добавлении α -липовой кислоты, растворенной в физиологическом растворе, происходило незначительное уменьшение гранулярности клеток. Применение этилендиаминовой соли ЛК приводило к значительному снижению гранулярности (рис. 6). По-видимому, полученные результаты можно объяснить следующим образом. Добавление арахидоновой кислоты к нативным тромбоцитам приводило к увеличению проницаемости мембран тромбоцитов, а следовательно, к быстрому высвобождению всех микроструктурных компонентов (гранул) клеток. Добавление водорастворимых препаратов никак не повлияло на стабилизацию липидного бислоя мембраны и ее проницаемость. Сами как пустые фосфатидилхолиновые липосомы, так и липосомы с α -липовой кислоты приводили к уменьшению высвобождению тромбоцитарных гранул вследствие стабилизации липидного бислоя мембраны клеток и уменьшения их текучести. Поэтому из полученных данных исследований можно сделать вывод о том, что липосомальные формы препятствуют дегрануляции тромбоцитов по сравнению с водорастворимыми препаратами липовой кислоты (рис. 6).

Изучение влияния липосом с α -ЛК на параметры коагуляционного гемостаза. При исследовании влияния пустых липосом и липосом содержащих, α -ЛК на параметры, отражающие состояние гемостаза получены следующие результаты.

На рис. 7 и 8 представлено влияние ФХ-липосом и липосом, содержащих α -липовую кислоту на АЧТВ

и тромбиновое время. Как мы видим, липосомальные формы практически не влияют на АЧТВ с высокой достоверностью.

Аналогичные результаты были получены по влиянию ФХ-липосом и липосом содержащих α -липовую кислоту, на МНО. Как видно на рис. 9, липосомальные формы достоверно не влияют на МНО.

Заключение

Таким образом, методами флуоресценции и проточной цитометрии получены экспериментальные данные о влиянии липосомальной формы α -ЛК на систему свертывания крови человека. Липосомы ФХ и липосомы, содержащие α -ЛК, не влияли на тромбиновое время МНО, АЧТВ. Показано, что липосомальная форма α -липовой кислоты при концентрациях 0,2–0,4 мг/мл дозозависимо подавляет агрегацию тромбоцитов в составе обогащенной тромбоцитами плазмы крови человека, индуцированную арахидоновой кислотой, препятствует снижению гранулярности тромбоцитов и не оказывает достоверного влияния на плазменное звено гемостаза.

Список литературы

1. Moskowitz M. A., Lo E. H., Iadecola, C. // *Neuron*. 2010. Vol. 67. P. 181–198. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2010.08.019> showArticle Info.
2. Wang J. Y., Zhou D. H., Li J., et al. // *Cerebrovasc Dis*. 2006. Vol. 21(1–2). P. 67–73.
3. Yanying Miao, James K. Liao. // *Expert Rev Neurother*. 2014. Vol. 14(2). P. 173–185. doi: 10.1586/14737175.2014.875471.
4. Rallidis L. S., Zolindaki M. G., Vikelis M., Kaliva K., Papadopoulos C., Kremastinos D. Th. // *Int J Cardiol*. 2009. Vol. 132(2). P. 216–220. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2007.11.031>.
5. Attila Mocsai, Barbara Walzog, Clifford A. Lowell. // *Cardiovascular Research*. Vol. 107. P. 373–385. doi: 10.1093/cvr/cvv159.
6. Castillo J., Alvarez-Sabín J., Martínez-Vila E., et al. // *Neurol J*. 2009. Vol. 256(2). P. 217–224.
7. Sahota P., Savitz S. I. // *Neurotherapeutics*. Vol. 8. № 3. P. 434–51. doi: 10.1007/s13311-011-0040-6.
8. Saver J. L. // *Rev Neurol Dis*. 2010. Vol. 7. № 1. P. 14–21.
9. Соловьева Э. Ю., Миронова О. П., Федин А. И. // *Consilium Medicum*. Т. 5. № 6. С. 30–35.
10. Macey M. G. // *Flow cytometry: principles and applications*. NJ.: Humana Press, Totowa.— 2007. P. 289.
11. Котова О. В., Акарачкова Е. С. // *Фарматека*. 2010. № 8 С. 57–61.
12. Щелконогов В. А., Сорокоумова Г. М., Баранова О. А., Чеканов А. В., Ключкова А. В., Казаринов К. Д., Соловьева Э. Ю., Федин А. И., Швец В. И. // *Биомедицинская химия*. 2016. Т. 62. № 5. С. 577–583. doi: 10.18097/PBMC.20166205577.

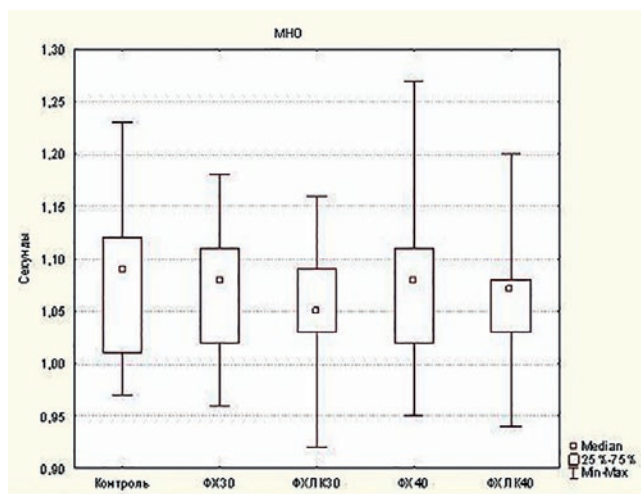


Рисунок 9. Влияние липосом без ЛК и содержащих α -липовую кислоту на МНО (ФХ30 = 4,8 мг/мл = 6 мМ; ФХ40 = 6,4 мг/мл = 8 мМ; ФХЛК30 = 0,6 мг/мл = 3 мМ; ФХЛК40 = 0,8 мг/мл = 4 мМ).

ЛабМетод

ТНRMAC

Cellspin

Цитоцентрифуги

Получение тонкослойных и многослойных
клеточных препаратов



ООО «ЛабМетод Лтд», 117209, г. Москва, ул. Зюзинская, д. 6, корп. 2, оф. 132
Тел. (495) 721-05-58, 332-35-15, 332-36-45, факс (495) 332-35-51
e-mail: tnb@labmetod.ru, pmv@labmetod.ru, <http://www.labmetod.ru>

Современное течение криптоспориоза, диагностика и лечение

Н. И. Леонтьева, д.м.н., гл. научный сотрудник, руководитель клинического отдела

В. С. Филиппов, научный сотрудник клинического отдела

Н. М. Грачева, д.м.н., проф.

Е. И. Лиханская, к.м.н., зав. лабораторией

А. И. Соловьева, врач-бактериолог, научный сотрудник клинического отдела

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

Current course of cryptosporidiosis, it's diagnosis and treatment

N.I. Leontieva, V.S. Filippov, N.M. Gracheva, E.I. Likhanskaya, A.I. Solovyova

Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology n.a. G.N. Gabrichevsky, Moscow, Russia

Резюме

Цель: выявить особенности современного течения криптоспориоза, улучшить диагностику и лечение. **Пациенты и методы.** Наблюдались 266 взрослых пациентов инфекционного стационара. Выявление ооцист криптоспоридий проводили методами: классическим микроскопическим методом с использованием окраски мазков фекалий по Цилю-Нильсену с последующим исследованием в иммерсионной микроскопии; качественным определением антигенов иммунохроматографическим тестом RIDA®Quick *Cryptosporidium parvum*; иммунологическим анализом (*Cryptosporidium* Antigen [Stool] ELISA). Изучалась микрофлора кишечника на дисбактериоз (стандарт ведения больных с дисбактериозом кишечника; Грачева Н. М. и соавт., 2004). У 33 пациентов в комплексном лечении применялся споробактерин по 2 мл два раза в день 10 дней. **Результаты.** Криптоспоридии были выявлены у 26,3% наблюдавшихся больных. В 94,3% случаев отмечалось латентное течение и только в 5,7% была диагностирована кишечная форма течения заболевания. В остром периоде заболевания у всех пациентов был диагностирован дисбактериоз кишечника (ДК) II–III степеней. После лечения наблюдалась положительная динамика в микробиотеннозе кишечника, что проявлялось увеличением числа пациентов с незначительными нарушениями в микрофлоре (ДК I 25,7%). **Заключение.** При обследовании фекалий у 266 взрослых пациентов ооцисты криптоспоридий выявлены в 26,3% случаев. В клинической картине преобладало латентное течение криптоспориоза на фоне выраженных нарушений микробиотенноза кишечника. Включение споробактерина в комплексную терапию больных оказывало положительный клинико-микробиологический эффект.

Ключевые слова: криптоспоридии, методы диагностики, споробактерин.

Summary

Aim of research. To identify the features of the course of cryptosporidiosis, to improve methods of laboratory diagnosis and treatment. **Patients and methods:** 266 patients of the infectious hospital were observed. To find out oocysts of cryptosporidia were used: classical microscopic method of modified coloration of fecal swabs according to Tsiol-Nielsen with the following study in immersion microscopy; the qualitative determination of antigens by the RINA QUICK *Cryptosporidium parvum* immunochromatographic test; Immunological analysis (*Cryptosporidium* Antigen (Stool) ELISA). The intestinal microflora was studied for dysbacteriosis (Standard for managing patients with intestinal dysbacteriosis (N. M. Gracheva et al., 2004). In complex treatment of 33 patients was used sporobacterin 2 ml twice a day for 10 days. **Results.** In 26.3% of patients with infectious diseases, cryptosporidia was found. In 94.3% of cases, the latent flow was diagnosed, and in 5.7% the intestinal form. In acute period all patients had dysbacteriosis of the intestine of 2–3 degrees. After treatment, there was a positive dynamics in the microbiocenosis of the intestine, which manifested as an increase in the number of patients with minor disturbances in the microflora (DI 1 25.7%). **Conclusion.** When 266 patients were examined, in 26.3% of cases, oocysts cryptosporidia were found. In the clinical picture, intestinal forms with a latent course dominated against the background of pronounced dysbiotic disorders (DI2–DI3). The inclusion of sporobacterin in the complex therapy of patients had a positive clinical and microbiological effect.

Key words: cryptosporidia, methods of diagnostics, sporobacterin.

Актуальность

По данным ВОЗ, в число заболеваний группы «острые диареи», помимо острых кишечных инфекций бактериальной и вирусной природы, входят паразитарные заболевания, в том числе криптоспориоз.

В литературе встречается большое количество публикаций, посвященных изучению эпидемиологических вопросов криптоспориоза у животных и человека на материале вспышек, тогда как спорадические случаи криптоспориоза в публикациях практически не освещены [1–4]. Клиническая картина криптоспориоза описана преимущественно у детей и у взрослых пациентов с ВИЧ-инфекцией [5–8]. Недостаточно разработаны методы лабораторной диагностики, и не изучены вопросы терапии, особенно при латентных формах те-

чения криптоспориоза [9–10]. В связи с этим вопросы диагностики и терапии различных форм диарейных заболеваний, ассоциированных с криптоспориозом, до настоящего времени сохраняют актуальность [11].

Цель работы

На основании проведения комплекса клинико-лабораторных исследований выявить особенности современного течения криптоспориоза, улучшить методы лабораторной диагностики и лечения.

Материалы и методы

В соответствии с задачами были обследованы 266 больных, поступивших в инфекционный стационар с различными инфекционными заболеваниями (табл. 1).

Таблица 1
Клиническая характеристика наблюдавшихся больных

Нозология	N	Пол		Возраст, лет		Тяжесть			Обнаружение криптоспоридий		Фазы течения	
		♂	♀	15–40	41–76	Л	С	Т	Абс.	Процент	Л	К
ОКИ	9	9	–	9	–	–	9	–	2	22	–	2
ОРВИ, бронхит, пневмония	66	66	–	54	12	–	40	26	20	30,3	20	–
Лакунарная ангина + ПТА	86	86	–	75	11	–	51	35	17	19,8	17	–
Грипп	34	34	–	21	13	–	14	20	13	38,2	13	–
Парагрипп + РС-инфекция	7	7	–	5	2	–	7	–	–	–	–	–
Аденовирусная инфекция	17	17	–	17	–	–	17	–	1	5,9	1	–
Прочее	47	45	2	37	10	5	34	8	17	36,2	15	2
Итого	266	264	2	218	48	5	172	89	70	26,3	66	4
Процент				82	16,0	1,9	64,7	33,45	26,32		94,3	5,7

Примечание: ОКИ — острые кишечные инфекции; ПТА — паратонзиллярный абсцесс; РС — инфекция — риносинтициальная инфекция; Л — латентная (бессимптомная); К — с клиническими проявлениями.

В работе применялся комплекс клинико-лабораторных исследований: клинический, микробиологический, иммунохроматографический, иммуноферментный, статистический.

Выявление ооцист криптоспоридий проводили следующими методами: классический микроскопический метод модифицированной окраски мазков фекалий по Циллю-Нильсену с последующим исследованием в иммерсионной микроскопии; качественное определение антигенов иммунохроматографическим тестом RIDA® Quick Cryptosporidium parvum; иммунологический анализ (Cryptosporidium Antigen [Stool] ELISA). Изучение микрофлоры кишечника проводили по методу Р. В. Эпштейн-Литвак и Ф. Л. Вильшанской, (1968). Стандарт ведения больных с дисбактериозом кишечника (Н. М. Грачева и соавт., 2004).

Полученные результаты

Клинико-лабораторные наблюдения за 266 взрослыми пациентами, поступившими в стационар, позволили у 70 из них диагностировать криптоспориديоз (26,3%) (табл. 1).

Преобладали мужчины молодого и среднего возраста (15–40 лет) со среднетяжелым течением основного заболевания.

Из данных литературы известно, что криптоспоридии способны поражать слизистые оболочки разных отделов организма (желудок, гепатобилиарную систему, легкие). Для выявления патологии внутренних органов (печень,

легкие) проводились обследования, которые не выявили органической патологии.

Изучение клинических особенностей течения криптоспоридиоза позволило выделить следующие формы (желудочно-кишечную, бронхолегочную и печеночную с поражением печени, желчного пузыря и желчевыводящих путей), а также фазы течения криптоспоридиоза (латентную и с клиническими проявлениями).

В нашем наблюдении в 94,3% случаев был диагностирован криптоспоридиоз кишечной формы латентного течения, а в 5,7% отмечалась кишечная форма с клиническими проявлениями (табл. 1).

При изучении микробиоценоза кишечника у 70 больных, выделяющих ооцисты криптоспоридий, выявили дисбиотические нарушения ДК III в 72,85% случаев (51 больной) и ДК II в 27,14% (19 пациентов), тогда как ДК I, а также нормальных значений микробиоценоза кишечника не было выявлено (табл. 2).

Учитывая выявленные дисбиотические нарушения в микрофлоре кишечника при первичном обследовании, а также то обстоятельство, что антибактериальная терапия часто не вызывает эрадикации криптоспоридий, нами была разработана схема лечения с включением в комплексную терапию пробиотических препаратов.

У 33 пациентов с целью оценки эффективности пробиотика на частоту выявления криптоспоридий и коррекцию нарушений в микрофлоре кишечника был применен споробактерин по 2 мл два раза в день 10 дней перед

Таблица 2
Степень дисбиотических изменений кишечника у наблюдавшихся больных, выделявших ооцисты криптоспоридий

Число больных	Степень дисбактериоза до лечения							
	Норма		ДК I		ДК II		ДК III	
	Абс.	Процент	Абс.	Процент	Абс.	Процент	Абс.	Процент
70	–	–	–	–	19	27,14	51	72,85

Таблица 3
Степень дисбиотических изменений кишечника у наблюдавшихся больных, выделявших ооцисты криптоспоридий (после лечения)

Число больных	Степень дисбактериоза после лечения							
	ДК 0		ДК I		ДК II		ДК III	
	Абс.	Процент	Абс.	Процент	Абс.	Процент	Абс.	Процент
33	—	—	8	24,2	17	51,5	8	24,2

едой. Результаты обследования после проведенного курса лечения выявили положительную динамику в микробиоценозе кишечника, что характеризовалось уменьшением числа пациентов с выраженными дисбиотическими нарушениями и увеличением лиц с незначительными изменениями в микрофлоре кишечника (ДК III у 24,2 % пациентов, ДК II в 51,5 %, а ДК I — у 24,2 % (табл. 3).

Выводы

1. При комплексном обследовании 266 пациентов с различными инфекционными заболеваниями у 26,3 % пациентов диагностирован криптоспориоз.
2. В клинической картине пациентов с криптоспориозом в 94,5 % случаев преобладали лица с кишечной формой заболевания латентного течения и только в 5,7 % случаев отмечалась кишечная форма с клиническими проявлениями.
3. Изучение состояния микробиоценоза кишечника у 70 больных, выделяющих ооцисты криптоспоридий, выявило дисбиотические нарушения ДК III в 72,85 % случаев и ДК II — в 27,14 %, тогда как ДК I, а также нормальных значений микробиоценоза кишечника не было выявлено.
4. Включение споробактерина в комплексную терапию больных криптоспориозом оказывало выраженный клинко-микробиологический эффект, что подтверждено снижением числа больных с выраженными нарушениями в микрофлоре кишечника и увеличением количества пациентов с нормальным составом микрофлоры и незначительными нарушениями микробиоценоза на фоне проводимой терапии.
5. Выявленные значительные изменения в микробиоценозе кишечника у больных, выделяющих криптоспо-

ридий, позволяют предположить, что дисбиотические нарушения создают предпосылки для длительной персистенции криптоспориций в организме хозяина.

Список литературы

1. Волжанин В. М. Криптоспориоз // Паразитарные болезни человека (протозоозы и гельминтозы): Руководство для врачей. / Под ред. В. П. Сергеева, Ю. В. Лобзина, С. С. Козлова. — СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2008. С. 136–141.
2. Криптоспориоз домашних животных (возбудители, клиническая картина, эпизоотология, диагностика, профилактика и лечение) / В. Ф. Никитин. М., 2007. — С. 36.
3. Лавдовская М. В., Лысенко А. Я., Горбунова Ю. П. и др. Особенности эпидемиологии криптоспориоза в Европейской части России. // Медицинская паразитология. — 1996. — № 3. — С. 8–11.
4. Емельянова Л. П., Лисина, С. В., Дубровский Ю. А., Дубровский В. Ю. Распространенность криптоспориций в естественных экосистемах. // Медицинская паразитология. — 1999. — № 3. — С. 14–18.
5. Бейер Т. В., Сидоренко Н. В., Анацкая О. В. Кишечный криптоспориоз в раннем возрасте и его последствия. // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. — 2006. — № 1. — С. 3–7.
6. Романова Т. В., Шкарин В. В., Хазенсон Л. Б. Групповая вспышка криптоспориоза у детей. // Медицинская паразитология. 1992. — № 3. — С. 50–52.
7. Кравченко А. В., Юрин О. Г., Ермак Т. Н. и др. Случай туберкулезного сепсиса и криптоспориоза у больного с ВИЧ-инфекцией. // Терапевтический архив. — 1993. — Т. 65, № 11. — С. 30–31.
8. Покровский В. И. Годованный Б. А. Оппортунистическая инфекция при СПИДе. Эпидемиология и клиника криптоспориоза // Журнал микробиологии. — 1995. — № 2. — С. 106–109.
9. Дехнич А. В. Клинические и микробиологические аспекты криптоспориоза. // Клиническая микробиология и антимикробная терапия. — 2001. — № 2. — С. 11–13.
10. Бейер Т. В., Сафонова Н. В., Хазенсон Л. В., Чайка Н. А. Лабораторная диагностика криптоспориоза у детей. — Л., 1987. 22 с.
11. Партин О. С., Пожалостина Л. В. Щербаков И. Т., Грачева Н. М. Криптоспориоз: эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика и лечение. // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2001. — № 5. — С. 55–58.



О цитировании и правилах оформления списка литературы

Список литературы — органичная часть научной статьи. Он включает указание на конкретные прямо цитируемые или косвенно использованные в публикации материалы с указанием всех их авторов.

В связи с требованиями, предъявляемыми к публикациям Российским индексом научного цитирования (РИНЦ) в целях унификации, ссылки на источники следует оформлять согласно ГОСТ 7.1–2003 (Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления) и ГОСТ 7.0.5–2008 (Библиографическая ссылка. Общие правила и требования составления).

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

Например: Алешанов И. С., Фомина М. Б. Критическое состояния. // Медицинский алфавит. — 2014. — Том 3 (Неотложная медицина), № 19. — С. 24–27.

Ссылки с порядковыми номерами приведенных в списке литературы источников размещаются в тексте публикации в квадратных скобках через запятые с пробелами, например: [8–11, 14, 27].

По вопросам оформления ссылок обращайтесь, пожалуйста, по адресу электронной почты **medalfavit@mail.ru**.



«СТРАТЕГИЯ СНИЖЕНИЯ СМЕРТНОСТИ НАСЕЛЕНИЯ ОТ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ»

ГТРК «КОРСТОН»

КАЗАНЬ, УЛ. Н. ЕРШОВА, 1А

Уважаемые коллеги!

Приглашаем Вас принять участие в работе IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Организационные технологии в онкологии: «Стратегия снижения смертности населения от онкологических заболеваний», которая пройдет 10-12 октября 2018 года в г. Казани. В работе конференции примут участие ведущие специалисты из России, стран СНГ и дальнего зарубежья.

Ключевые направления научной программы конференции:

- Стратегия развития онкологической службы Российской Федерации
- Управление качеством оказания медицинской помощи
- Скрининг и ранняя диагностика
- Особенности лекарственного обеспечения пациентов с ЗНО
- Состояние системы радиологической помощи
- Скрининг рака молочной железы
- Скрининг рака предстательной железы
- Скрининг колоректального рака
- Скрининг рака шейки матки

В рамках конференции планируется Заседание профильных комиссий Минздрава России по онкологии и терапии «Региональные программы борьбы с ЗНО. Фокус на раннюю диагностику».

Конференция «Организационные технологии в онкологии: «Стратегия снижения смертности населения от онкологических заболеваний» является единственной запланированной в 2018 году специализированной дискуссионной площадкой для массового обсуждения стратегии развития онкологической службы в РФ, в том числе для выполнения поставленных перед медицинским сообществом целей и задач.

К участию в конференции приглашаются организаторы здравоохранения, онкологи, радиологи, терапевты, цитологи, акушеры-гинекологи.

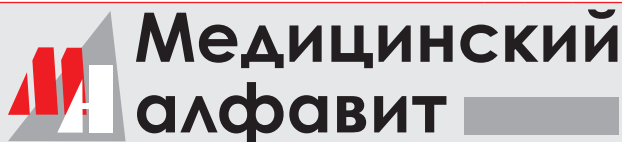
Участие в мероприятии бесплатное.



По вопросам участия в конференции обращайтесь к представителям
технического организатора конференции –
ООО «Агентство поддержки медицинских инициатив»
Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, стр. 15
Тел.: +7 (495) 988-89-92 | E-mail: info@oncoforum.tatar | www.medbymed.ru

Подробная информация на сайте
www.oncoforum.tatar

БЛАНК-ЗАКАЗ на подписку на журнал 2018 год



Название организации (или Ф.И.О.) _____

Адрес (с почтовым индексом) _____

Телефон: _____ E-mail: _____ Контактное лицо: _____

- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Стоматология» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Современная лаборатория» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Эпидемиология и гигиена» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Больница» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Неотложная медицина» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Диагностика и онкотерапия» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Современная поликлиника» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Кардиология» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Практическая гастроэнтерология» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Неврология и психиатрия» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Современная гинекология» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Современная функциональная диагностика» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит». Серия «Артериальная гипертензия» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)

Наш индекс в каталоге
«РОСПЕЧАТЬ» 36228

Извещение	ООО «Альфмед»
	(наименование получателя платежа) 7716213348
	(ИНН получателя платежа) Рс № 40702810738090108773
	(номер счета получателя платежа) ПАО «СБЕРБАНК РОССИИ» г. МОСКВА
Кассир	(наименование банка и банковские реквизиты) К/с 30101810400000000225 БИК 044525225
	Годовая подписка на журнал «Медицинский алфавит. _____» на 2018 год
	(наименование платежа) Дата _____ Сумма платежа _____
	Плательщик (подпись) _____ Адрес доставки: _____
Квитанция	ООО «Альфмед»
	(наименование получателя платежа) 7716213348
	(ИНН получателя платежа) Рс № 40702810738090108773
	(номер счета получателя платежа) ПАО «СБЕРБАНК РОССИИ» г. МОСКВА
Кассир	(наименование банка и банковские реквизиты) К/с 30101810400000000225 БИК 044525225
	Годовая подписка на журнал «Медицинский алфавит. _____» на 2018 год
	(наименование платежа) Дата _____ Сумма платежа _____
	Плательщик (подпись) _____ Адрес доставки: _____

Как подписаться

1. Заполнить прилагаемый бланк-заказ и квитанцию об оплате. 2. Оплатить квитанцию в любом отделении Сбербанка у кассира с получением кассового чека. Журналы высылаются по указанному в квитанции или бланке адресу. 3. Отправить бланк-заказ и скан квитанции с кассовым чеком, выданным кассиром банка на e-mail: medalfavit_pr@bk.ru, или podpiska.ma@mail.ru. Оплата через банки-онлайн издательством временно не принимается и будет возвращена на Ваш счет.

MD-7600

Автоматический гематологический анализатор

Автоматический гематологический анализатор, определяющий методом анализа in-vitro 20 параметров крови и отличающийся выгодным соотношением «цена-качество». Возможность работы со всеми типами образца: цельной, капиллярной, венозной кровью.

Характеристики

Дифференциация лейкоцитов на 3 субпопуляции;
20 параметров + 3 гистограммы;
2 режима счета: цельная кровь и с предварительным разведением



Определяемые параметры	WBC, LYM#, MON#, GRA#, LYM%, MON%, GRA%, RBC, HGB, MCHC, MCH, MCV, RDW-CV, RDW-SD, HCT, PLT, MPV, PDW, PCT, P-LCR и гистограммы для WBC, RBC и PLT
Память	до 35000 результатов с гистограммами
Производительность	60 тестов в час
Принтер	встроенный термический
Принцип измерения	импедансный метод измерения WBC, RBC и PLT, фотометрическое измерение
Объем пробы	разведенная кровь 20 мкл, цельная кровь 9.8 мкл
Габариты (В*Ш*Г)	436×363×367 мм
Вес	18 кг

Технические характеристики прибора могут быть изменены производителем без предварительного уведомления

МедСервис

115114 Россия, Москва, ул. Дербеневская, д. 20, стр. 32,
Т/П «Кожевники»

Телефон: +7 (495) 633-23-53

+7 (495) 633-24-34

Факс: +7 (495) 633-23-52

e-mail: office@medservice.biz



Meredith
D I A G N O S T I C S

Kinetic Business Center,
Theobald Street, Elstree,
Hertfordshire, WD6 4PJ, England
Tel: +44 2083 871586
Fax: +44 2083 874004
info@meredithdiag.co.uk



*Точная диагностика -
эффективное лечение!*

ВЕКТОР-БЕСТ для Вашей лаборатории

Комплексные решения для эффективной
организации лабораторных исследований
методами **ИФА, Real-time ПЦР,**
клинической биохимии



**Наборы
реагентов
Контрольные
материалы**



**Оборудование
Расходные
материалы
Сервисное
сопровождение**



**Консультации
Обучение
Методическая
литература**

АО «Вектор-Бест»

630117, Новосибирск, а/я 492
т/ф: (383) 227-73-60, 332-81-34
vbmarket@vector-best.ru
www.vector-best.ru

