

Серии научно-практических рецензируемых журналов



Медицинский АЛФАВИТ

6 (303) 2017



Modern
LABORATORY

MEDICAL ALPHABET
Russian Professional Medical Journal

Современная ЛАБОРАТОРИЯ том № 1

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

АНАЛИЗАТОР ГАЗОВ КРОВИ, ЭЛЕКТРОЛИТОВ, МЕТАБОЛИТОВ

епос

Доступный.
Надёжный.
Мобильный.



СИСТЕМА АНАЛИЗА Epocal System

Изменяемый параметр	Ед. измер.	Диапазон измерения
pH	pH units	6.5-8.0
PCO2	mmHg	5-250
PO2	mmHg	5-750
Na	mmol/L	85-180
K	mmol/L	1.5-12
iCa	mmol/L	0.25-4
Glu	mg/dL	20 - 700
Lact	mmol/L	0.30-20.00
Hct	%PCV	10-75
Cl-	mmol/l	65-140
Crea	mg/dl	0,30-15,00

Расчетный параметр	Ед. измер.	Диапазон измерения
TCO	mmol/L	1-85
HCO3	mmol/L	1-85
BE efc	mmol/L	-30...+30
BE b	mmol/L	-30...+30
sO2	mmol/L	0-100
Hb	%	3.3-25
AGap	mmol/l	-14 - +95
AGapK	mmol/l	-10 - +99
eGFR	ml/min /1,73м ²	2 - 60 или >60
eGFR-a	ml/min /1,73м ²	2 - 60 или >60

- Точные результаты у постели больного через 35 секунд
- Использование технологии SMART CARD (измерительные карты с встроенным чипом биосенсоров)
- Хранение измерительных-карт при комнатной температуре
- Долительные сроки годности измерительных карт
- Эффективное использование расходных материалов – расход только в момент измерения
- Минимизация возможности ошибки на стадии преданалитического этапа
- Всегда откалиброван и готов к работе
- Идентификация измерительных карт для гарантии качества и удобства хранения информации
- Автоматическая калибровка и контроль качества системы
- Беспроводная связь Wi-Fi и Bluetooth – широкие коммуникативные возможности
- Значительное время работы от аккумуляторов без подзаряда системы
- Возможность распечатки результатов на портативный и стационарный принтер



МедСервис

Россия, Москва
ул. Дербеневская, д.20, стр. 32
Т / П "Кожевники"

Телефон: +7 (495) 633-23-53
+7 (495) 633-23-52
+7 (495) 633-24-34
+7 (495) 633-23-26
Факс: +7 (495) 633-26-16
E-mail: office@medservice.biz
www.medservice.info

Alere, Inc.
Warehouse, Distribution
1-57 Iber Road, Ottawa, Ontario K2S 1E7
Phone: (613) 271-1144

Epocal Inc.
Manufacturing, R&D
2060 Walkley Road, Ottawa, ON K1G 3P5
Phone: (613) 738-6192
www.epocal.com





Современная лаборатория Том № 1

Медицинский алфавит

Серия журналов для специалистов

№ 6 (303) 2017

www.medalfavit.ru

Издатель: издательство медицинской литературы ООО «Альфмед»

Тел.: (495) 616-48-00

E-mail: medalfavit@mail.ru

Учредитель и главный редактор издательства Т.В. Сеница

Почтовый адрес редакции:

129344, г. Москва, ул. Верхоянская, д. 18, к. 2

Тел.: (495) 616-48-00, 221-76-48

E-mail: medalfavit@mail.ru

Главный редактор серии журналов

«Медицинский алфавит»

А. С. Ермолов

Редакционный совет журнала

«Медицинский алфавит»

В.Г. Акимкин, д.м.н., проф.

А.Ж. Гиляманов, д.м.н., проф.

Е.А. Евдокимов, д.м.н., проф.

А.С. Ермолов, д.м.н., проф.

А.А. Кулаков, д.м.н., проф.

Р.Г. Оганов, д.м.н., проф.

В.И. Покровский, д.м.н., проф.

С.А. Рабинович, д.м.н., проф.

В.Е. Сеницын, д.м.н., проф.

С.К. Терновой, д.м.н., проф.

Н.В. Шестопалов, д.м.н., проф.

С.Н. Щербо, 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 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.

Reg. номер ПИ № 77-11514 от 04.01.2002

Уст. тираж 12000. Формат А4.

Цена договорная.

Подписан в печать 15 марта 2017 года.

При перепечатке ссылка на журнал «МА» обязательна. За содержание рекламы ответственность несет рекламодатель.

За достоверность сведений, изложенных в статье, ответственность несет автор.

Содержание

- 5 Некоторые вопросы генетики ожирения и метаболизма у детей и подростков
Т.И. Туркина, С.Н. Щербо, В.В. Талицкий
- 11 Современная лабораторная диагностика инфекционного эндокардита с позиций доказательной медицины
Л.А. Беганская, А.П. Ройтман, А.В. Бугров, В.В. Долгов, А.Г. Морозов, Т.А. Федорова
- 21 Инновации в культуральных исследованиях бактериурии при диагностике инфекций мочевыводящих путей
Л.Г. Боронина
- 26 Роль провоспалительных и регуляторных цитокинов при ВИЧ-ассоциированном туберкулезе
М.Н. Носик, О.А. Лобач, И.В. Рыманова, С.Е. Севостьянихин, Н.В. Адамович, А.Л. Собкин, У.А. Куимова, В.А. Кравченко
- 32 Новый подход к стандартизации результатов определения D-димера с использованием универсальных контрольных материалов
В.В. Дорофейков, М.И. Кадинская, С.В. Мыльников, Т.И. Опарина, В.Ю. Седыхин, В.Л. Эмануэль
- 38 Показатели теста тромбодинамики и уровень D-димера у беременных с отягощенным акушерским анамнезом
Ю.М. Звездина, Н.А. Воробьева
- 42 Возрастная динамика показателей иммунного статуса и активности сукцинатдегидрогеназы в популяциях лимфоцитов у детей с печеночными формами гликогеновой болезни
О.В. Курбатова, А.Н. Сурков, И.В. Самохина, Р.Ш. Закиров, А.В. Никитин, Е.В. Фрейдлин, А.С. Потанов, С.В. Петричук
- 51 Значение предикторов кардиоваскулярных нарушений у пациентов с абдоминальным ожирением, неалкогольной жировой болезнью печени и различными компонентами метаболического синдрома
Л.А. Корноухова
- 57 Течение рака предстательной железы в зависимости от степени дифференцировки опухоли по шкале Глисона
Е.В. Дарий
- 66 Подписка

Contents

- 5 *On some aspects of obesity and metabolism genetics in children and adolescents*
T.I. Turkina, S.N. Shcherbo, V.V. Talitsky
- 11 *Modern laboratory diagnosis of infective endocarditis from standpoint of evidence-based medicine*
L.A. Beganskaya, A.P. Roytman, A.V. Bugrov, V.V. Dolgov, A.G. Morozov, T.A. Fyodorova
- 21 *Application of innovative methods for bacteriuria diagnostics of urinary tract infections*
L.G. Boronina
- 26 *Role of proinflammatory and regulatory cytokines in HIV-infection associated with tuberculosis*
M.N. Nosik, O.A. Lobach, I.V. Rymanova, S.E. Sevostyanikhin, N.V. Adamovich, A.L. Sobkin, U.A. Kuimova, V.A. Kravtchenko
- 32 *New approach to standardization of D-dimer estimation using universal control materials*
V.V. Dorofeykov, M.I. Kadinskaya, S.V. Mylnikov, T.I. Oparina, V.Y. Sedikhin, V.L. Emanuel
- 38 *Values of thrombodynamics test and D-dimer level in pregnant women with aggravated obstetric history*
Yu. M. Zvezdina, N.A. Vorobyeva
- 42 *Age dynamics of immune status indicators and activity of succinate dehydrogenase in populations of lymphocytes in children with hepatic forms of glycogen storage disease*
O.V. Kurbatova, A.N. Surkov, I.V. Samokhina, R. Sh. Zakirov, A.V. Nikitin, E.V. Freidlin, P.S. Potapov, S.V. Petrichuk
- 51 *Value of cardiovascular disorders' predictors in patients with abdominal obesity, nonalcoholic fatty liver disease and various metabolic syndrome components*
L.A. Kornoukhova
- 57 *Course of prostate cancer depending on degree of tumor differentiation on Gleason scale*
E.V. Daryi
- 66 *Subscription*



Председатель редакционного совета
журнала серии «Современная лаборатория» Щербо Сергей Николаевич

Редакционная коллегия

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

Жукоцкий Александр Васильевич, д.м.н., проф., кафедры клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», г. Москва

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)

Тарасенко Ольга Анатольевна, д.м.н., проф., зам. генерального директора ФГБУ ВНИИИМТ Росздравнадзора, врач высшей квалификационной категории, г. Москва

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

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

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

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

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

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

Zhukotsky A. V., MD, DMSci, professor, Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow

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

Tarassenko O. A., MD, DMSci Hygiene and Epidemiology Centre, Moscow

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

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

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

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ НАШЕГО ИЗДАНИЯ!

Важная информация о форме цитирования материалов, опубликованных в журналах серии «Медицинский алфавит»

В связи с требованием РИНЦ об унификации цитирования ссылки на материалы журнала следует оформлять в строгом соответствии с указанным образцом:

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

Например: Имельбаева Э. А., Гильманов А. Ж. Особенности эритроцитарных антигенов // Медицинский алфавит. — 2014. — Том 2 («Современная лаборатория»), № 12. — С. 14–18.)

Вопросы об оформлении ссылок направляйте, пожалуйста, по адресу medalfavit@mail.ru.

Некоторые вопросы генетики ожирения и метаболизма у детей и подростков

Т. И. Туркина, д.б.н., проф. кафедры
С. Н. Щербо, д.б.н., проф., зав. кафедрой
В. В. Талицкий, научный сотрудник кафедры

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

On some aspects of obesity and metabolism genetics in children and adolescents

T. I. Turkina, S. N. Shcherbo, V. V. Talitsky
Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov, Moscow, Russia

Резюме

Проведен клинико-генеалогический анализ у 468 детей в возрасте от одного года до 15 лет, больных конституционально-экзогенным ожирением (КЭО), были собраны сведения о 6788 родственниках тучного пробанда. В качестве контроля были изучены родословные 100 здоровых детей и сведения о 889 их родственниках. При всех семейных ситуациях и вариантах передачи типа телосложения выявлялась достоверная зависимость между массой тела пробанда и массой тела того из родителей, чей морфотип он наследует. КЭО у детей характеризуется этапностью появления и прогрессирования метаболических и гормональных нарушений. Патологический признак — ожирение, передаваемый по наследству из поколения в поколение, имеет определенную функциональную и морфологическую структуру. Его реализация может осуществляться лишь при условии суммарного накопления генетических и негенетических (средовых) влияний, «благополучных» для манифестации процесса.

Ключевые слова: **эндокринопатии у детей, генетика ожирения, нарушения углеводного и липидного обмена.**

Summary

A clinical-genealogical analysis of 468 children aged 1 to 15 years with constitutional exogenous obesity was held, data for about 6788 relatives of obese probands has been collected. As pain control was studied the pedigrees of 100 healthy children and information about 889 their relatives. With all family situations and options for the transfer of body type the dependence between the body weight of probands and body weight of the parent whose morphotype it inherits were revealed. Constitutional exogenous obesity in children is characterized by the gradual appearance and progression of metabolic and hormonal disorders. Obesity, a pathological symptom, passed down from generation to generation, has a certain functional and morphological structure. Its implementation can be carried out only if the total accumulation of genetic and nongenetic (environmental) influences is 'safe' for the manifestation process.

Key words: **endocrinopathy in children, genetics of obesity, disorders of carbohydrate and lipid metabolism.**



Т. И. Туркина



С. Н. Щербо



В. В. Талицкий

Ожирение в детском возрасте занимает особое место среди проблем охраны здоровья детей. Частота ожирения составляет около 15–20% среди детского населения развитых стран, и отмечается заметный рост числа детей раннего возраста с избыточной массой тела. Более 80% мальчиков и девочек остаются больными ожирением, достигнув зрелого возраста. Наиболее тяжелым течением и наибольшим избытком массы тела отличаются именно те случаи ожирения, которые начались в детстве. Ожирение часто сопровождается осложнениями обменного и эндокринного характера.

Роль наследственных факторов в патогенезе ожирения у человека подтверждена рядом данных. Некоторые

авторы считают, что частое совпадение случаев ожирения у родителей и детей — не слишком убедительное доказательство, поскольку дети уже очень рано воспринимают принятый в семье характер питания и могут придерживаться его в течение многих лет [1].

Однако исследования, проведенные на монозиготных близнецах, обнаружили у них гораздо большее совпадение массы тела, чем у дизиготных близнецов или среди sibсов. Более того, даже в том случае, когда монозиготные близнецы были с детства разлучены и обследовались уже во взрослом возрасте, между ними все еще сохранялось сходство в массе тела, расхождения были большими, чем среди близнецов, живущих в одном доме.

На долю конституционально-экзогенной формы заболевания (КЭО) приходится около 85% всех случаев ожирения у детей. Эта форма ожирения и стала предметом нашего исследования.

В настоящей работе мы решали следующие задачи:

1. доказать с помощью клинико-генеалогического анализа случаев конституционально-экзогенного ожирения ведущую роль наследственных факторов в его патогенезе и подтвердить реальность существования *adiposus*-генотипа;
2. определить биохимические характеристики *adiposus*-генотипа, выяснить тип и характер его передачи в поколениях;

3. определить ряд экзогенных и эндогенных факторов, способствующих манифестации и реализации *adiposus*-генотипа;
4. изучить механизмы становления патологического процесса, его клинической и метаболической эволюции.

Конечная цель нашего исследования состояла в определении критериев ранней диагностики предрасположенности детей по ожирению, построении модели *adiposus*-генотипа, возможности прогнозирования вероятности появления заболевания у детей при наличии конкретной семейной ситуации, выработке принципов профилактики конституционально-экзогенного ожирения у детей.

Косвенным подтверждением наследственной природы ряда форм ожирения у человека могут служить некоторые заболевания и синдромы, генетическая природа которых не вызывает сомнений и при которых тучность является одним из постоянных симптомов (синдромы Барде-Бидля, Коэна, Прадера-Вилли и др.). Клинико-генеалогические исследования, проведенные педиатрами, подтверждают, что в большинстве случаев и при так называемом «чистом» ожирении у детей наследственные факторы имеют немаловажное значение. Патогенетическая роль последних интерпретируется неоднозначно. Одни авторы наследованию патологического признака придают решающее значение в развитии ожирения [2, 3]. Другие авторы отводят конституциональным факторам лишь вторичную роль в генезе данного заболевания, рассматривая его симптомокомплекс как проявление нейро-эндокринной патологии [4]. Причину этих разногласий высказал известный исследователь проблемы ожирения у человека J. Мауге, который отметил, что относительная роль генов в этиологии ожирения недостаточно ясна. По-видимому, ожирение является вторичным или сопутствующим симптомом основного наследственного дефекта, развившегося в результате воздействия экзогенных факторов [5]. В данном аспекте неоценимую помощь может оказать популяционно-генетическое исследование, способное не толь-

ко достаточно точно выявить распространенность ожирения, но и наиболее достоверно определить характер и тип его наследования. Следует отметить, что генеалогические и статистические методы исследования являются относительно простыми и доступными. И, вероятно, лишь отсутствие тщательного сбора данных и внимательного изучения родословной каждого ребенка с ожирением может не позволить ответить на три наиболее значимых вопроса:

- насколько велика роль наследственности при ожирении у детей;
- каков тип передачи патологического признака из поколения в поколение;
- есть ли возможность прогнозировать пенетратность и экспрессивность признака в родословных тучных детей.

В этом аспекте в настоящей работе и был проведен клинико-генеалогический анализ у 468 детей в возрасте от одного года до 15 лет (207 мальчиков и 261 девочка), больных конституционально-экзогенным ожирением. Всего были собраны сведения о 6 788 родственниках тучного пробанда (от 10 до 74 членов в 3–4 поколениях каждой родословной). В качестве контроля были изучены родословные 100 здоровых детей и сведения о 889 их родственниках. В контрольной группе обследованных тучность встречалась лишь в 10% родословных; ее встречаемость была незначительной: 73 пациента или 4,9% от общего числа родственников.

Анализ полученного нами материала показал, что примерно каждый второй — третий из близких и дальних родственников имел избыток массы тела (39,8% от всех членов родословных). На этом фоне было особенно заметно преобладание женщин среди всех больных ожирением родственников тучного пробанда (по данным литературы, ожирением страдают примерно половина всех женщин и треть мужчин). Характер распределения больных ожирением в поколениях родословных и соотношение между тучными и худыми родственниками характеризовались достоверным постоянством и составляли 1,5 : 1.

Эти данные прямо свидетельствуют о значительной концентрации ожирения в семьях тучных пробандов, его широкой распространенности как по вертикальному, так и по горизонтальным ветвям генеалогического дерева (высокой пенетратности признака), а также об устойчивости (а не случайности) присутствия ожирения в семейных родословных. Следовательно, эти данные указывают на вариант полигенного (мультифакторного) наследования ожирения, в основе которого лежит суммарное (аддитивное) действие многих генов и многих экзогенных факторов [6]. Кроме того, эти данные свидетельствуют о возможности влияния женского генотипа на экспрессивность патологического признака у их потомства.

Проведенный с этих позиций дальнейший анализ полученных нами данных показал, что ожирением страдают в среднем 71% всех родителей тучного пробанда, 35% его дедушек и бабушек, 28% сибсов и 35% других родственников. Из родителей более часто болела мать (80%), чем отец (62%). Бабушка имела тучность примерно в 2,5 раза чаще, чем дедушка (соответственно 50 и 19%). Следует заметить, что этими данными не только подтверждалась правильность названных выше положений, но и вариант полигенного наследования ожирения в поколениях. Дополнительно мы смогли уточнить вариант наследования ожирения, изучив заболеваемость ожирением среди родственников пробанда в зависимости от его пола и характера семейной ситуации. Как у мальчиков, так и девочек выявленные нами закономерности сохранялись в равных соотношениях, что указывает на передачу признака ожирения от родителей к детям в некоторых семьях по менделевскому типу и соответствует модели количественной наследственности, согласно которой заболевание возникает в том случае, когда предрасположение достигает критического (порогового уровня), то есть речь идет о полигенном компоненте с пороговым эффектом [6]. В нашем исследовании при первом варианте семейной ситуации (больны мать и отец) вероятность ожирения у детей была наиболее высока (в среднем 82%).

При втором варианте семейной ситуации (больна ожирением только мать) этот показатель составил 52%. При третьем варианте (болен ожирением только отец) — 39%; четвертом (отец и мать здоровы) — 7,6%. Мы также установили, что девочки чаще болеют, чем мальчики, при обоих тучных родителях и тучной матери. Половые различия нивелируются при наличии ожирения только у отца и при четвертом варианте семейной ситуации.

Нами выявлена прямая зависимость типов телосложения тучного пробанда и одного из родителей, больных ожирением. Так, девочки чаще наследуют материнский тип телосложения, мальчики — отцовский ($P \leq 0,001$). При наличии ожирения у обоих родителей или только у матери наследование материнского типа телосложения наблюдается у 82% дочерей и у 51% сыновей. При тучности обоих родителей или только отца мальчик наследует отцовский тип телосложения в 75% случаев, а девочка в 55%. Иными словами, при КЭО выявлялась конкордантность фенотипических проявлений патологического признака, хотя у мальчиков и девочек преобладал женский тип телосложения. При всех семейных ситуациях и всех вариантах передачи типа телосложения выявлялась достоверная зависимость между массой тела пробанда и массой тела того из родителей, чей морфотип он наследует.

Таким образом, преобладающую наследственную природу КЭО можно считать твердо установленной. При этом определяется прямой путь передачи патологического признака от родителей к детям, выявляются достоверные критерии для оценки и прогнозирования экспрессивности появления ожирения у потомства тучных родителей (одного из них), четко фиксируется активирующее влияние женского генотипа на пенетрантность и экспрессивность признака и передача его по наследству.

Как известно, болезнями-спутниками ожирения являются сосудистая патология (74%), заболевания гепатобилиарной системы (75%), сахарный диабет (25%), подагра и другая обменно-эндокринная патология (22%). Болезни-спутники поражают в основном женщин (до 100%).

Приведенные в литературе данные по проблемам генетики ожирения и данные собственных наблюдений послужили основанием для выделения групп детей, «угрожаемых по ожирению», и обозначения комплекса факторов, формирующих возможность развития тучности, как *adiposus*-генотипа с прямой передачей признака по вертикали с высокой его пенетрантностью и экспрессивностью. Анализ катамнестического наблюдения за детьми с КЭО показывает, что заболевание эволюционирует и при отсутствии должного врачебного контроля проходит три обязательных этапа. Эти этапы в клиническом плане следует точно обозначать как связанные и последовательно сменяющие друг друга этапы или фазы единого патологического процесса: неосложненная, переходная и осложненная. Конечной стадией процесса является вторичный гипоталамический синдром. Причем последовательная смена фаз отражается в неоднородности клинической симптоматики заболевания, возрастно-половых различиях и подчеркивает наибольшую вероятность полигенного наследования патологического признака. По нашим данным, лишь 5,5% больных с I степенью ожирения обращаются за врачебной помощью, в то время как в популяции тучных она составляет 65%. 25% всех больных ожирением детей имеют II степень ожирения, а на врачебном приеме они составляют 68%. Приведенные цифры отражают факт несоответствия истинной заболеваемости ожирением тем показателям, которые фиксируются в эндокринологических учреждениях по обращаемости больных. Наиболее высокий процент заболеваемости ожирением у детей приходится на первый год жизни (85%), но лишь 1% из них обращаются к врачу. Основное число детей с КЭО поступают на врачебный контроль, имея длительность заболевания 5–10 лет (64%). При этом, как свидетельствуют данные клинического осмотра, родители обращаются за врачебной помощью не по поводу самого избытка веса, а жалоб ребенка на головную боль, головокружение, жажду, повышенный аппетит, боли в нижних конечностях, неприятные

ощущения в области сердца, тошноту, боли в животе и др. или отставание (обычно мальчиков) в половом развитии. Указанные факты свидетельствуют о недостаточном внимании участковых врачей к избыточной массе тела у детей, а следовательно, о плохом знании клиники КЭО и его последствий. Врачами часто упускаются из внимания показатели антропометрического развития ребенка в раннем детстве, важность точного знания которых тем более велика, что КЭО у детей в подавляющем большинстве случаев имеет волнообразное течение. Подъемы заболеваемости КЭО в основном совпадают с известными физиологическими периодами наиболее интенсивного роста и развития детей. Наиболее выделяются первый год жизни, препубертат и пубертат (по показателю частоты встречаемости неосложненной и осложненной фаз КЭО). Осложненная фаза КЭО ни у мальчиков, ни у девочек не встречается раньше девятилетнего возраста, так как именно в этот период начинают выявляться половые различия в темпах и характере прогрессирования ожирения. Наши наблюдения указывают, что время начала и характер течения КЭО, особенности физического и полового развития ребенка время присоединения осложнений и их характер достоверно конкордантны у тучного пробанда и того из больных родителей, с которым он фенотипически схож. Отсюда возникает возможность прогнозирования особенностей клинической манифестации и развертывания симптомокомплекса КЭО в каждом конкретном случае заболевания. Учитывая волнообразность течения КЭО у детей с наибольшей интенсификацией темпов нарастания избыточной массы тела в периоды «вытягиваний», подобная тщательность анализа истории болезни ребенка позволит наиболее точно зафиксировать время начала заболевания, а не последний из пиков особенно значительной прибавки массы тела, который чаще приходится на препубертатный и пубертатный возраст. Несоблюдение этого требования приводит к тому, что экзогенные воздействия, реализующие *adiposus*-генотип, нередко зачисляются

ся в разряд этиологических факторов, вызывающих ожирение посредством повреждения структур гипоталамо-гипофизарной области [5].

Согласно нашим данным, на первом месте в ряду экзогенных факторов, манифестирующих КЭО у детей, стоят алиментарные и режимные причины. Установлено, что только 33% наблюдаемых больных находились первое полугодие жизни на естественном, остальные же 67% — на раннем смешанном и искусственном вскармливании. Практически у всех детей нарушался режим дня и вскармливания со сдвигом основного приема пищи на вторую половину суток и даже с ночным кормлением ребенка. Был нарушен также и режим беременной матери. Как матери, так и их дети злоупотребляли углеводистой (липогенной) диетой, получали общее избыточное количество калорий. При этом отметим, что между процессами липолиза и липосинтеза существуют циклические взаимоотношения, характеризующиеся тем, что в первую половину суток осуществляются в основном липолитические процессы, связанные с необходимостью поставки энергии работающим клеткам, во вторую — липогенетические, обеспечивающие запас энергии [7]. В физиологических условиях эти ритмы синхронизированы с ритмом аппетита, который, по существу, является их результирующей. Практически важной является полная зависимость клиники ожирения у детей от характера исследуемого морфотипа и влияния последнего на процесс фенотипирования ожирения. Во всех вариантах заболевания (девочки и мальчики с гиперандроидальным и андроидальным, гипоидальным и смешанным морфотипом) имеются определенные индивидуальные возрастно-половые особенности и отклонения от выявленных закономерностей, но основная их суть стабильна, чтобы использовать ее в виде правила.

КЭО у детей характеризуется и определенной этапностью появления и прогрессирования метаболических и гормональных нарушений, тесная взаимосвязь которых с клинической симптоматикой подчеркивает их патогенетическую сущность.

У больных КЭО выявлены пять типов гликемических кривых, среди них гиперинсулинемический тип служит этапом динамики от нормогликемии к интолерантности и наоборот.

Интолерантность зависит от степени ожирения, фаз процесса и может служить одним из критериев терапевтического эффекта. Уже на ранних этапах клинической эволюции КЭО обнаруживается гиперфункция инсулярного аппарата, патогенетически связанная с характером углеводного обмена характеризуются увеличенным содержанием в крови неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК), холестерина, триглицеридов. Однотипность динамики НЭЖК при нагрузке глюкозой у пробанда и того из больных ожирением родителей, чей тип телосложения он наследует, может быть использована в качестве маркера предрасположенности данного ребенка к заболеванию [8]. Тесная корреляционная связь динамики показателей триглицеридемии, инсулинемии и гликемии при проведении глюкозо-толерантного теста отражает липосинтетическую направленность метаболизма у детей с КЭО. Гипертриглицеридемия, индуцированная глюкозой, является важным фактором в развитии последующих морфологических изменений печеночных клеток (накопление липидов) [8]. При КЭО у детей наблюдается усиление функции симпатoadреналовой системы и коры надпочечников, зависящее от степени этапа эволюции ожирения и наиболее выраженное в осложненную фазу заболевания и при вторичном гипоталамическом синдроме. Извращение циркадных ритмов функционирования надпочечников со сдвигом пика активности на вторую половину суток (в момент наибольшего поступления в организм питательных веществ) наиболее выражено при осложнениях заболевания. Значительные изменения водно-солевого гомеостаза (вторичный гиперальдостеронизм, хронический водный дефицит, дисминерализация и др.) также зависят от степени избытка массы тела и фазы заболевания и имеют обратное развитие по мере регрессии массы тела.

Заключение

Клинико-генеалогический и метаболический анализ статуса КЭО у детей позволил выявить существование в популяции *adiposus*-генотипа. Патологический признак — ожирение, передаваемый по наследству из поколения в поколение, имеет определенную функциональную и морфологическую структуру. Его реализация может осуществляться лишь при условии суммарного накопления генетических и негенетических (средовых) влияний, благоприятных для манифестации процесса. Общая и специфическая системы адаптации до определенного момента сдерживают эту манифестацию, но постоянное воздействие среды на генотип способно вызвать срыв адаптации и полное развертывание симптомокомплекса ожирения. Последующее прогрессирование заболевания, его клиническая эволюция, развитие осложнений подчинены вторичным, патологическим адаптивным механизмам, которые формируются в ходе реализации признака. Знание функциональных и структурных особенностей генотипа, а также механизмов, способствующих или тормозящих его реализации, делает возможной организацию наиболее целенаправленной профилактики заболевания и его осложнений.

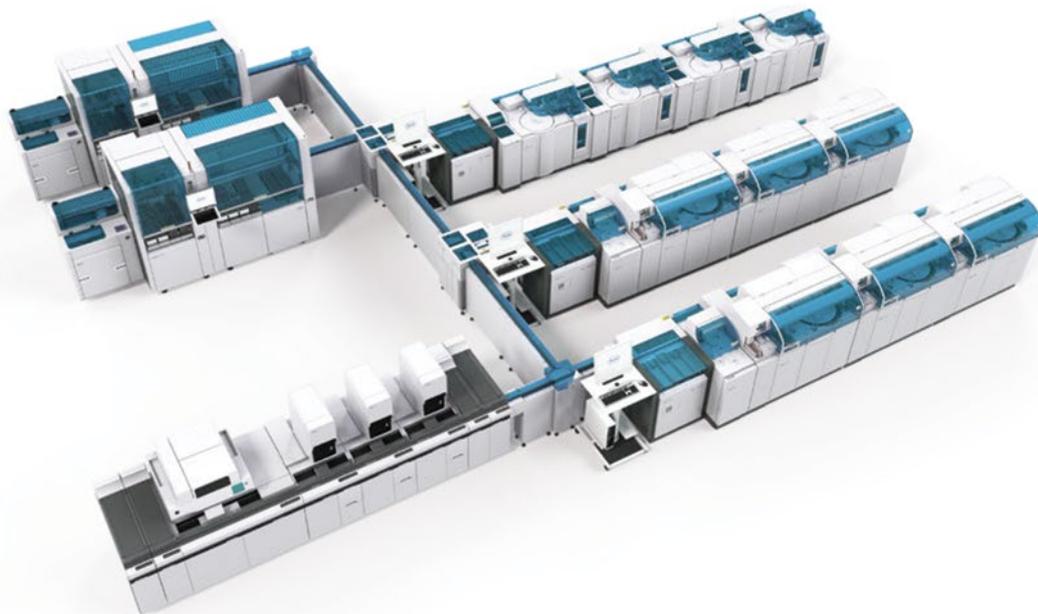
Список литературы

1. Mayer J. *Overweight: Causes, Costs and Control*. Englewood Cliffs, New Jersey. Hrentice-Hall, 1968.
2. Картелишев А. В. Конституционально-экзогенное ожирение у детей. Автореф. дисс. докт. мед. наук, Москва, 1974.
3. Кравец Е. Б. Клинико-метаболическая эволюция и иммунологический статус ожирения у детей. Автореф. дисс. докт. мед. наук, Москва, 1986.
4. Каюшева И. В. Лечение, профилактика и прогноз пубертатно-юношеского диспитуитаризма (гипоталамического пубертатного синдрома). Метод. реком., Пермь, 1986.
5. Mogenson G. J. *Changing views of the role of the hypothalamus in the control of ingestive behaviors*. In: Lederis K., Cooper K. E. *Recent Studies of Hypothalamic Function*, Basel, S. Karger A. G., 1974.
6. Тепперман Дж., Тепперман Х. физиология обмена веществ и эндокринной системы, Москва, «Мир», 1989.
7. Stunkard A. J., Stellar E. *Eating and Its Disorders*. Res. Publ. Assoc. Res. Nerv. Ment. Dis. (1984), v.62. New York, Reaven Press.
8. Туркина Т. И. Патохимические аспекты дислипидемий и ожирения у детей и в эксперименте. Автореф. дисс. канд. биол. наук, Москва, 1981.



Модульные платформы cobas®

Концепция гибких и индивидуальных решений



На правах рекламы

Сегодня перед лабораториями стоит задача надежной и высококачественной аналитики и в то же время – обеспечения эффективного рабочего процесса. Для удовлетворения этих потребностей группа компаний 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

Согласованность результатов

Высокая эффективность

Благодаря модульной концепции системы легко наращиваются

Единая концепция реагентов значительно облегчает их логистику

Уверенность в будущем

Легкость

ПРЕДНАЗНАЧЕНО ТОЛЬКО ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ СПЕЦИАЛИСТОВ

COBAS и LIFE NEEDS ANSWERS являются товарными знаками группы компаний Рош.



ООО «Рош Диагностика Рус»,
Россия, 115114, г. Москва, ул. Летниковская, д. 2, стр. 2,
Бизнес-центр «Вивальди Плаза»
Тел.: +7 495 229-69-99; факс: +7 495 229-62-64
www.rochediagnostics.ru
© 2016, ООО «Рош Диагностика Рус»

cobas®

Life needs answers

Надежность и безопасность в лабораторном секторе



- Электроника блока управления Comfort позволяет точно задать температуру хранения;
- Наличие сигнализации: в случае отклонения температуры или незакрытой двери, при пропадании питания по сети (визуальная)
- Интегрированная регистрация и хранение данных о min\max температуре, о случаях срабатывания сигнализации и пропадания питания по сети
- RS 485 интерфейс и безпотенциальные контакты для дополнительной регистрации данных о температуре и сигнализации
- 1 точка калибровки обеспечивает точный контроль температуры хранения
- Имеются также модели со взрывобезопасным внутренним объемом, согласно требованиям ATEX 95

ООО «Либхерр-Русланд»
123104 Москва, Большой Палашевский пер. д. 13/2
+7 (495) 280-03-27, +7 (495) 280-03-76,
+7 (495) 280-03-28
home.liebherr.com

LIEBHERR

Качество, дизайн и инновации

Современная лабораторная диагностика инфекционного эндокардита с позиций доказательной медицины

Л. А. Беганская, аспирант¹
А. П. Ройтман, д.м.н., проф.¹
А. В. Бугров, к.м.н., доцент¹
В. В. Долгов, д.м.н., проф., зав. кафедрой¹
А. Г. Морозов, аспирант²
Т. А. Федорова, д.м.н., проф., зав. кафедрой²

¹Кафедра клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного последипломного образования» Минздрава России, г. Москва

²Кафедра терапии Института профессионального образования ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Минздрава России, г. Москва

Modern laboratory diagnosis of infective endocarditis from standpoint of evidence-based medicine

L. A. Beganskaya, A. P. Roytman, A. V. Bugrov, V. V. Dolgov, A. G. Morozov, T. A. Fyodorova
Russian Medical Academy for Postgraduate Continuous Education, First Moscow State Medical University n.a. I. M. Sechenov; Moscow, Russia

Резюме

Методы лабораторной диагностики играют ведущую роль в этиологической диагностике инфекционного эндокардита, выборе протокола лечения и использования различных режимов дозирования лекарственных препаратов. Новые 2015 года рекомендации по ведению инфекционного эндокардита, предложенные Европейским обществом кардиологов с позиций доказательной медицины, предусматривают использование в клинической практике модифицированных критериев Duke для диагностики инфекционного эндокардита, рекомендуют новый алгоритм этиологической диагностики заболевания. В исследовании представлен анализ возможностей современных методов лабораторной диагностики в отношении клинической практики в соответствии с принципами доказательной медицины, продемонстрирована взаимосвязь их возможностей, стратегия и последовательность применения, их эффективность в каждой конкретной клинической ситуации.

Ключевые слова: **инфекционный эндокардит, методы лабораторной диагностики, доказательная медицина.**

Summary

Methods of laboratory diagnostics play a leading role in the etiological diagnosis of infective endocarditis, the choice of treatment Protocol and use of different modes of dispensing of drugs. New 'Guidelines for the management of infective endocarditis' (2015), proposed by the European society of cardiology from the standpoint of evidence-based medicine include the use in clinical practice, the modified Duke criteria for diagnosis of infective endocarditis recommend new algorithm for the etiological diagnosis of the disease. The study presents the analysis of possibilities of modern methods of laboratory diagnostics in relation to clinical practice in accordance with the principles of evidence-based medicine, demonstrated the relationship of their capabilities, the strategy and consistency of application, their effectiveness in any particular clinical situation.

Key words: **infectious endocarditis, methods of laboratory diagnostics, evidence-based medicine.**

Инфекционный эндокардит (ИЭ) — заболевание инфекционной природы с первичной локализацией возбудителя на клапанах сердца, пристеночном эндокарде, протекающее с проявлениями системной инфекции, сосудистыми осложнениями, иммунной реакцией и с высоким уровнем летальности.

Последние десятилетия характеризуются повышенным ростом заболеваемости инфекционным эндокардитом. Ежегодно в мире появляются более 200 тыс. больных инфекционным эндокардитом. Заболеваемость инфекционным

эндокардитом увеличивается при ухудшении социально-бытовых условий жизни. По данным эпидемиологических исследований, частота развития инфекционного эндокардита в США и Европе составляет 17–25 случаев на 1 млн жителей в год [1]. В России этот показатель достиг 46,3 случая на 1 млн человек [2, 3]. Ежегодно в России ИЭ заболевают более 10 тыс. человек. Несмотря на успехи в диагностике и лечении, ИЭ по-прежнему смертельно опасное заболевание со значительной смертностью (около 20%) [4].



Л. А. Беганская



А. П. Ройтман



А. В. Бугров



В. В. Долгов



А. Г. Морозов



Т. А. Федорова

Протезирование клапанов сердца открыло новую эру в лечении больных врожденными и приобретенными пороками сердца. Однако в связи с этим возникли различные осложнения, наиболее опасным из которых является инфекционный эндокардит протезов клапанов. Даже в лучших клиниках мира это осложнение возникает в 1–4% случаев [5].

1. Особенности клинического течения ИЭ

Различают острое (длительностью менее двух месяцев), подострое (длительностью более двух месяцев) и хроническое (употребляется крайне редко, в значении маломанифестного подострого течения ИЭ) течение болезни, а также первичный ИЭ, возникающий на неизменных клапанах сердца, и вторичный — развивающийся на измененных клапанах.

Клиническое течение ИЭ сильно варьирует в зависимости от причинного микроорганизма, наличия или отсутствия ранее существовавшего заболевания сердца и индивидуальных особенностей пациента. ИЭ может присутствовать в качестве острой быстро прогрессирующей инфекции, но также в подострой или хронической форме с нормальной температурой тела и неспецифическими симптомами, которые могут скрыть истинную картину или ввести в заблуждение при первичном обследовании. До 90% пациентов с лихорадкой отмечают системные симптомы, такие как озноб, отсутствие аппетита и снижение веса. Шумы в сердце обнаруживаются у 85% больных. Сосудистые и иммунологические проявления, такие как локальные кровоизлияния, пятна Рота и гломерулонефрит, обнаруживаются у большинства пациентов, а эмболии мозга, легких или селезенки у 30% больных [6]. Атипичные клинические проявления часто наблюдаются у пожилых или у иммунодефицитных пациентов, у которых лихорадка встречается реже, чем у более молодых людей [7]. У 5–6% больных отмечаются признаки воспаления суставов в виде моно- или олигоартритов верхних и нижних конечностей.

В целом клиническая картина ИЭ складывается из инфекционно-токсического синдрома, сердечной недостаточности, эмболических и иммунологических осложнений с признаками поражения различных органов и систем.

Вследствие неспецифичности клинических проявлений ИЭ пациенты обращаются к различным врачам, которые могут подозревать целый ряд альтернативных диагнозов, в том числе хронические инфекции, ревматические, аутоиммунные и злокачественные заболевания.

Отсутствие патогномичных симптомов ИЭ, крайне высокий риск фатальных осложнений, быстрое развитие полиорганной патологии и декомпенсации сердечной недостаточности определяют актуальность ранней и достоверной диагностики заболевания.

2. Лабораторные признаки ИЭ

Обязательным условием развития ИЭ является наличие бактерий в крови — бактериемия. Однако наличия микробов в крови еще не достаточно, чтобы вызвать заболевание. У практически здоровых людей тоже иногда

встречается преходящая бактериемия. Для того чтобы микробы проявили патогенное действие, и произошла активация инфекции, необходимо значительное изменение иммунитета, поэтому возникновению ИЭ способствуют различные факторы, снижающие реактивность организма: болезни, интоксикации, переутомление, операции, беременность, роды, аборт и т. д. Циркулирующие в крови бактерии могут прикрепляться к эндокарду, особенно в измененных его участках. Нарушение кровотока возле пораженных клапанов способствует образованию тромботических наложений, которые становятся очагом осадения микроорганизмов.

В основе системных проявлений при ИЭ лежит генерализованная воспалительная реакция. При генерализации воспалительного процесса утрачивается изначально защитная функция локального воспаления, и одновременно реализуются механизмы системного повреждения. Поэтому, помимо данных результатов бактериологических исследований, при ИЭ отмечается увеличение лабораторных маркеров и медиаторов воспаления и (или) иммунных комплексов.

Общее количество лейкоцитов в крови у пациентов с ИЭ чаще в пределах референтных величин, у 25% больных имеется умеренный лейкоцитоз, и лишь в некоторых случаях лейкоцитоз более выражен (от 12 до 20×10^9), у 30% больных отмечается умеренная лейкопения. При исследовании лейкоцитарной формулы сдвиги со стороны нейтрофильного ростка крови обнаруживаются нечасто, у 15–20% больных выявляется моноцитоз. По мере развития болезни количество эозинофилов уменьшается, или они исчезают полностью, а при выздоровлении их количество увеличивается до 12–15%, а иногда и выше. Количество тромбоцитов в большинстве случаев уменьшено [8].

Одним из самых ранних и устойчивых показателей активности эндокардита является увеличение СОЭ. Обычно СОЭ резко увеличивается в пределах 40–60 мм/час и выше. Под влиянием эффективного лечения СОЭ быстро снижается, что является дополнительным критерием правильного выбора терапии. Однако иногда эндокардит может протекать при незначительно повышенной или нормальной СОЭ, особенно в тех случаях, когда проводилось лечение антибиотиками. При врожденных пороках с полицитемией СОЭ может быть низкой (2–3 мм/час), несмотря на активный ИЭ. Развитие сердечной недостаточности также может снизить СОЭ до нормальных цифр. При устранении сердечной недостаточности СОЭ вновь увеличивается [9].

У большинства пациентов с ИЭ отмечается повышение уровня С-реактивного белка (СРБ) [10, 11]. СРБ является показателем активности патологического процесса у больных ИЭ.

У 30% больных отмечается диспротеидемия в виде гиперглобулинемии. У половины больных находят значительные титры ревматоидного фактора, увеличение уровня иммуноглобулинов А, М, G.

ИЭ характеризуется угнетением деятельности костного мозга, поэтому одним из наиболее характерных признаков является анемия. Обычно выявляется уме-

ренная анемия (гемоглобин в пределах 80 г/л, число эритроцитов $3,0\text{--}4,0 \times 10^{12}$), у 15% больных анемия резко выражена — гемоглобин ниже 50 г/л, эритроциты менее $2,5 \times 10^{12}$. С прогрессированием болезни анемия нарастает. При этом уровень гемоглобина снижается быстрее, чем число эритроцитов, анемия приобретает гипохромный, железодефицитный характер. При успешном лечении быстро нарастают ретикулоцитоз, гемоглобин и число эритроцитов.

В общеклиническом исследовании мочи выявляют макро- или микрогематурию, протеинурию, бактериурию и пиурию.

В силу низкой специфичности показателей общеклинического анализа крови, СОЭ, СРБ, диспротеинемии и изменений уровня иммунологических показателей они не были интегрированы в современные диагностические критерии. Тем не менее из-за сложностей диагностики ИЭ на ранних стадиях развития заболевания, неспецифичности клинических симптомов, отрицательных результатов исследования гемокультуры и неоднозначных данных эхокардиографических данных поиск ранних лабораторных маркеров ИЭ продолжается, о чем свидетельствуют многочисленные данные научных публикаций. В качестве возможных маркеров ИЭ рассматриваются прокальцитонин, липолисахарид-связывающий протеин, интерлейкины, факторы некроза опухоли и др.

Несмотря на неспецифичность изменений приведенных лабораторных показателей совместно с клиническими проявлениями ИЭ, данные лабораторных тестов играют важную роль в определении активности патологического процесса. Различают низкую, умеренную и высокую степени активности ИЭ [12].

Минимальная активность (I степень) характеризуется субфебрильной температурой (до 38 °С), очень медленной динамикой шумов сердца, медленным формированием пороков сердца. Потливость, ознобы, суставной синдром непостоянны. Могут отсутствовать эмболии, увеличение печени и селезенки, признаки поражения почек. Снижение массы тела, как правило, выражено умеренно [13].

При лабораторном исследовании крови отмечаются лейкоцитоз (менее 9×10^9 /л) или умеренная лейкопения, гипохромная анемия легкой степени тяжести (гемоглобин более 100 г/л, количество эритроцитов более $3,7 \times 10^{12}$ /л), ускорение СОЭ (менее 20 мм/час), умеренное увеличение иммуноглобулинов А, М, G [13].

В результатах биохимических тестов регистрируются незначительное увеличение активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) (менее 50 МЕ/л), аланинаминотрансферазы (АЛТ) (менее 40 МЕ/л), креатинина (менее 88,4 мкмоль/л), глобулина (менее 40%), общего белка (более 80 г/л) и альбумина (более 60%). При исследовании свертывающей системы крови возможно повышение показателя протромбинового индекса (более 90%), снижение концентрации фибриногена (менее 4 г/л). Уровень СРБ не превышает 40 мг/л [13].

Для умеренной степени активности (II степень) свойственны медленная динамика шумов сердца, медленное

формирование пороков сердца, повышение температуры тела до 38–39 °С. Потливость, озноб, суставной синдром, эмболии и поражение почек выражены нерезко. Снижение массы тела, увеличение размеров печени и селезенки выражены.

При лабораторном исследовании крови отмечаются лейкоцитоз (от 9 до 16×10^9 /л) или выраженная лейкопения, гипохромная анемия (гемоглобин 80–100 г/л, количество эритроцитов $3\text{--}3,7 \times 10^{12}$ /л), тромбоцитопения $100\text{--}180 \times 10^9$ /л, ускорение СОЭ до 20–40 мм/час, выраженное увеличение иммуноглобулинов А, М, G.

В результатах биохимических тестов регистрируются повышение активности АСТ до 50–100 МЕ/л, АЛТ до 40–100 МЕ/л, креатинина до 88,4–176,8 мкмоль/л, глобулина до 40–60%, уменьшение общего белка (до 60–80 г/л), альбумина (до 40–60%). При исследовании свертывающей системы крови характерно снижение протромбинового индекса (до 60–90%), увеличение концентрации фибриногена (до 4–7 г/л). Уровень СРБ повышается до 90 мг/л.

Высокая степень активности (III степень) характеризуется быстрой динамикой шумов сердца и быстрым формированием пороков сердца, повышением температуры тела до 39–41 °С, обильными потами, ознобами, суставным синдромом, частыми эмболиями, значительным уменьшением массы тела, гепатоспленомегалией и частым поражением почек.

При лабораторном исследовании крови отмечаются гиперлейкоцитоз (свыше 16×10^9 /л) или выраженная лейкопения, тяжелая гипохромная анемия (гемоглобин менее 80 г/л, количество эритроцитов менее 3×10^{12} /л), тромбоцитопения (менее 100×10^9 /л), ускорение СОЭ (свыше 40 мм/час), увеличение иммуноглобулинов А, М, G. В результатах биохимических тестов возможно увеличение активности АСТ (свыше 100 МЕ/л), АЛТ (свыше 100 МЕ/л), креатинина (более 176,8 мкмоль/л), глобулина (более 60%), уменьшение концентрации общего белка (менее 60 г/л) и альбумина (менее 40%). При исследовании свертывающей системы крови регистрируются снижение показателя протромбинового индекса (менее 60%), увеличение концентрации фибриногена (свыше 7 г/л). Уровень СРБ может превышать 90 мг/л [14].

3. Критерии диагностики ИЭ

С 1994 года при постановке диагноза инфекционного эндокардита используются критерии Duke [15]. В 2000 году критерии Duke были пересмотрены и модифицированы Европейским обществом кардиологов (ЕОК) и изложены в виде рекомендаций Европейского общества кардиологов по профилактике, диагностике и лечению инфекционного эндокардита 2000 года. Рекомендации обобщили и оценили все имеющиеся доказательства по проблемам ИЭ с целью оказания помощи практическим врачам при принятии клинических решений с учетом влияния на исход, а также соотношение риска и пользы диагностических или терапевтических процедур. В дальнейшем критерии Duke пересматри-

вались и модифицировались ЕОК в 2004 и 2009 годах. В октябре 2015 года ЕОК выпустило новые рекомендации по ведению инфекционного эндокардита [16]. Эти рекомендации были разработаны путем консенсуса экспертов после тщательного изучения научных публикаций по проблемам ИЭ. Модифицированные критерии Duke для диагностики инфекционного эндокардита приведены ниже.

Модифицированные критерии Duke для диагностики ИЭ

Большие критерии ИЭ

1. Положительный посев крови, характерный для ИЭ:
 - а) типичные микроорганизмы, выделенные в двух отдельных культурах крови:
 - *Viridans streptococci*, *Streptococcus gallolyticus* (*Streptococcus bovis*), НАСЕК group, *Staphylococcus aureus* или
 - внебольничные (community-acquired) *enterococci* в отсутствие первичных очагов или
 - б) микроорганизмы, ассоциирующиеся с ИЭ, в постоянно положительной гемокультуре:
 - более 2 положительных гемокультур, взятых с интервалом более 12 часов друг от друга или
 - все 3 или более 4 раздельно взятых культур крови (взятых с интервалом более 1 часа друг от друга) или
 - в) один положительный посев крови на *Coxiella burnetii* или выявление антител IgG в 1 фазе в титре выше 1: 800.
2. Данные методов визуализации, позитивные для ИЭ:
 - а) эхокардиограмма, положительная для ИЭ:
 - вегетации,
 - абсцесс, псевдоаневризма, внутрисердечная фистула,
 - клапанная перфорация или аневризма,
 - новая частичная несостоятельность протезированного клапана;
 - б) аномальная активность вокруг места имплантации протезированного клапана, обнаруженная с использованием меченой ¹⁸F деоксиглюкозой (флюородеоксиглюкозой) позитронно эмиссионной томографией / компьютерной томографией (ПЭТ/КТ) (только если протез был имплантирован в течение более трех месяцев) или с использованием меченых радиоизотопами (¹¹¹In-oxime или ^{99m}Tc-hexamethylpropyleneamine oxime) лейкоцитов однофотонной эмиссионной компьютерной томографией;
 - в) несомненные признаки параваскулярного поражения сердца при компьютерной томографии.

Малые критерии

1. Предрасположенность: предрасполагающие болезни сердца или инъекции наркотиков.
2. Лихорадка: температура тела выше 38 °С.
3. Сосудистые явления (в том числе обнаруженных изображений только): большие артериальные эмболии, септические легочные инфаркты, инфекционные

(грибковые) аневризмы, внутрисердечные кровоизлияния, конъюнктивальные кровоизлияния, поражения Janeway.

4. Иммунологические проявления: гломерулонефрит, узлы Ослера, пятна Рота и ревматоидный фактор.
5. Микробиологические признаки: положительная культура крови, но нет большого критерия или серологического признака активной инфекции с возбудителем, соответствующим ИЭ.

Согласно рекомендациям по ведению инфекционного эндокардита 2015 года ЕОК диагноз этого заболевания может быть несомненным, вероятным или отвергнут при наличии альтернативного.

Диагноз ИЭ является несомненным при наличии:

- а) патологических критериев:
 - микроорганизмы продемонстрировали культуру, или при гистологическом исследовании выявлены вегетации, вегетации эмболизированы, или выявлен типичный внутрисердечный абсцесс, или
 - патологические очаги, вегетации или внутрисердечный абсцесс (подвижные вегетации на клапанах сердца, абсцессы в области протеза клапана), выявленные при гистологическом исследовании, указывают на активный эндокардит;
- б) клинических критериев:
 - два больших критерия или
 - один большой критерий и три малых критерия или
 - пять малых критериев.

Диагноз «вероятный ИЭ» выставляется при наличии признаков, которые не соответствуют ни наличию, ни отсутствию ИЭ:

- один большой критерий и один малый критерий или
- три малых критерия.

Диагноз ИЭ исключается при:

1. наличии твердого альтернативного диагноза;
2. разрешении проявлений ИЭ на фоне кратковременной (менее четырех дней) терапии антибиотиками;
3. отсутствии морфологических доказательств ИЭ во время операции или аутопсии после кратковременной (менее четырех дней) терапии антибиотиками;
4. не отвечает критериям вероятного ИЭ, приведенным выше.

Учитывая последние опубликованные в научной литературе данные, целевая группа по изучению ИЭ предложила внести три дополнительных пункта в диагностические критерии:

1. выявление паравальвулярных поражений при компьютерной томографии сердца необходимо считать большим критерием;
2. при подозрении на эндокардит протезного клапана, аномальная активность вокруг места имплантации, обнаруженная с использованием меченой ¹⁸F деоксиглюкозой ПЭТ/КТ (только если протез был имплан-

тирован в течение более трех месяцев) или с использованием меченных радиоизотопами (^{111}In -oxine или $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -hexamethylpropyleneamine oxime) лейкоцитов однофотонной эмиссионной компьютерной томографией следует считать большим критерием;

3. выявление только путем визуализации недавних тромбозмических событий или инфекционных аневризм (молчаливые события) следует считать малым критерием.

Таким образом, эхокардиография и культура крови по-прежнему остаются краеугольным камнем в диагностике ИЭ. Критерии Duke, основанные на клинических, эхокардиографических и микробиологических признаках, обеспечивают высокую чувствительность и специфичность (примерно 80%) для диагностики ИЭ.

4. Методы лабораторной диагностики ИЭ

Инфекционный эндокардит является полиэтиологичным заболеванием. В настоящее время в качестве возбудителей болезни известны более 120 микроорганизмов. Важнейшую роль в установлении этиологического фактора ИЭ играют различные микробиологические методы исследования. Морфологическим субстратом болезни являются вегетации — образования, состоящие из микробных колоний, тканевого детрита, форменных элементов крови и фибрина. Объективным лабораторным методом, подтверждающим наличие субстрата ИЭ, служит, наряду с методами визуализации, гистологическое исследование. Практическое значение микробиологических и гистологических методов исследования в установлении этиологии заболевания и постановке самого диагноза ИЭ настолько велико, что в рекомендациях по ведению инфекционного эндокардита 2015 года Европейского общества кардиологов применяются специальные термины «микробиологический диагноз» и «гистологический диагноз» ИЭ.

4.1. Микробиологические исследования

Основное значение среди возбудителей ИЭ имеют грамположительные кокки (представители родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*), грамотрицательные бактерии (бактерии группы НАСЕК [*Haemophilus*, *Actinobacillus actinomycetecomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Kingella Kingae*] и другие грамотрицательные бактерии [*Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Klebsiella*]), грибы (*Candida*, *Aspergillus*). В последние десятилетия основными возбудителями инфекционного эндокардита стали эпидермальный и золотистый стафилококки, которые выделяют у 75–80% лиц с положительной гемокультурой. Наряду с этим увеличилось количество случаев ИЭ, вызванного анаэробной микрофлорой (8–12%). Кроме этого, вырос удельный вес грамотрицательных бактерий группы НАСЕК (4–21%) и грибов (до 4–7%) [17].

Микробиологический посев крови, выделение чистой культуры, идентификация и определение чувствительности к антибактериальным препаратам остаются

краеугольным камнем диагностики ИЭ. Согласно рекомендациям ЕОК 2015 года для исследования должны быть взяты по крайней мере три пробы крови по 10 мл каждая с интервалом 30 минут во флаконы с аэробной и анаэробной средами. Пробы крови должны быть взяты из периферической вены, а не из венозного катетера (из-за риска контаминации и вводящей впоследствии в заблуждение интерпретации результатов), с соблюдением строгих требований асептики.

Специалисты бактериологической лаборатории должны быть информированы о наличии у пациента клинических признаков ИЭ на момент взятия проб на гемокультуру.

В соответствии с результатами микробиологических исследований крови рекомендации ЕОК 2015 года выделяют две категории ИЭ.

1. Инфекционный эндокардит с положительными культурами крови

Это наиболее важная категория, составляющая около 85% всех ИЭ. Каузативными микроорганизмами чаще всего являются стафилококки, стрептококки и энтерококки.

Необходимо стремиться взять пробы для исследования до назначения антибактериальных препаратов. Однако так как при ИЭ бактериемия является практически постоянной, то для клинической практики это имеет два последствия:

1. нет никаких оснований для затягивания времени и взятия проб крови на микробиологическое исследование на пике лихорадки;
2. практически все посева крови положительны, поэтому один положительный посев крови должен рассматриваться с осторожностью для установления диагноза ИЭ.

Инкубацию проб крови следует проводить в автоматизированных бактериологических анализаторах, которые выполняют непрерывный мониторинг за бактериальным ростом и обеспечивают быстрое предоставление результатов врачам. Когда во флаконе выявляется положительная гемокультура, в бактериологической лаборатории должна быть осуществлена предварительная идентификация вида микроорганизма на основании окраски мазков по Граму. Эта информация немедленно доводится до сведения врача-клинициста в целях коррекции антибактериальной терапии. Полная идентификация вида микроорганизма обычно достигается в течение двух дней, но может потребоваться больше времени при выделении резистентных или атипичных микроорганизмов. Поскольку задержка во времени между получением положительной культуры крови и окончательной идентификацией микроорганизма, ответственного за бактериемия, и определением чувствительности к антибактериальным препаратам приводит к снижению эффективности лечения ИЭ. Клинические рекомендации ЕОК 2015 года предлагают использовать новые лабораторные технологии для ускорения процесса обнаружения и идентификации микроорганизмов.

В качестве современных лабораторных технологий для ускорения процесса обнаружения и идентификации

микроорганизмов ЕОК рекомендует использовать матрично-лазерную десорбцию / ионизацию МАЛДИ (англ. MALDI, Matrix Assisted Laser Desorption / Ionization) с время-пролетной (англ. TOF, Time Of Flight) масс-спектрометрией (англ. MS, Mass Spectrometry). В технологии MALDI-TOF/MS идентификация микроорганизмов осуществляется на основе анализа белковых и пептидных спектров из выделенной в лаборатории чистой культуры. С помощью программного обеспечения сравнивается весь спектр масс белков и пептидов выделенной культуры со спектром имеющихся в базе данных известных микроорганизмов [18]. В рекомендациях указывается на то, что технология MALDI-TOF/MS может быть использована для идентификации микроорганизмов не только из чистой культуры, но и для прямой идентификации бактерий в надосадочной жидкости флакона с гемокультурой [19].

После идентификации микроорганизма посев крови следует повторить через 48–72 часа для оценки эффективности лечения.

2. Инфекционный эндокардит с отрицательными культурами крови

К ИЭ с отрицательными культурами крови относятся те формы ИЭ, при которых этиологические микроорганизмы невозможно вырастить, используя обычные методы посева крови. На ИЭ с отрицательными культурами крови приходится до 31 % всех случаев ИЭ, что часто создает значительные диагностические и терапевтические проблемы.

Чаще всего ИЭ с отрицательными культурами крови выявляется у пациентов, которые получали антибиотики по поводу неясной лихорадки перед тем, как были взяты пробы крови, и у которых не была проведена диагностика ИЭ. Обычно диагностика ИЭ рассматривается в условиях возобновления фебрильных эпизодов следующих после прекращения курса антибиотиков. Культура крови может оставаться негативной на протяжении многих дней после отмены антибиотиков, а возбудителями чаще всего являются пероральные стрептококки или коагулазо-негативный стафилококк.

ИЭ с отрицательными культурами крови может быть вызван грибами или прихотливыми микроорганизмами, в частности, облигатными внутриклеточными бактери-

ями. К таким микроорганизмам относятся питательно дефектный вариант стрептококков, редко встречающиеся грамтрицательные палочки группы НАСЕК и *Brucella*. ИЭ может вызываться такими внутриклеточными микроорганизмами, как *Coxiella burnetii*, *Bartonella*, хламидии и *Tropheryma whipplei* (возбудитель болезни Уиппла), что в целом составляет до 5 % всех ИЭ.

Выделение этих микроорганизмов требует культивирования их на специализированных средах, а их рост происходит относительно медленно. В связи с этим ЕОК рекомендует использовать для установления этиологии ИЭ серологические методы исследования (определение специфических антител и антигенов в сыворотке крови или моче), полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Рекомендации ЕОК по использованию лабораторных методов для этиологической диагностики ИЭ с отрицательными культурами крови приведены в табл. 1.

Следует констатировать, что рекомендации ЕОК 2015 года внесли существенные изменения в категоризацию ИЭ по результатам микробиологических исследований крови, так как предыдущие рекомендации ЕОК 2009 года выделяли четыре категории ИЭ:

1. инфекционный эндокардит с положительными культурами крови;
2. инфекционный эндокардит с отрицательными культурами крови из-за предварительного лечения антибиотиками;
3. инфекционный эндокардит, часто ассоциирующийся с негативными культурами крови;
4. инфекционный эндокардит, связанный с постоянно негативными культурами крови.

Сокращение категорий ИЭ по результатам микробиологических исследований крови с четырех до двух ничего не меняет для специалистов лабораторной диагностики и связано, по-видимому, с тем, что излишняя детализация категорий ИЭ не принесла практической пользы в отношении выбора адекватной тактики лечения пациентов с ИЭ.

4.2. Серологические исследования

Серологические методы исследования позволяют выявить специфические антитела и (или) антигены в сы-

Таблица 1
Рекомендации ЕОК 2015 года по использованию лабораторных методов для этиологической диагностики ИЭ

Патоген	Метод диагностики
<i>Brucella spp.</i>	Посев крови, серология, культура, иммуногистология и ПЦР хирургического материала
<i>Coxiella burnetii</i>	Серология (антитела IgG фаза 1 в титре выше 1 : 800), культура тканей, иммуногистология и ПЦР хирургического материала
<i>Bartonella spp.</i>	Посев крови, серология, культура, иммуногистология и ПЦР хирургического материала
<i>Tropheryma whipplei</i>	Гистология и ПЦР хирургического материала
<i>Mycoplasma spp.</i>	Серология, культура, иммуногистология и ПЦР хирургического материала
<i>Legionella spp.</i>	Посев крови, серология, культура, иммуногистология и ПЦР хирургического материала
<i>Fungi</i>	Посев крови, серология, ПЦР хирургического материала

воротке крови или моче. Согласно ЕОК проведение серологических исследований рекомендуется для обнаружения таких этиологических факторов ИЭ, как *Coxiella burnetii*, *Bartonella spp.*, *Aspergillus spp.*, *Mycoplasma pneumonia*, *Brucella spp.* и *Legionella pneumophila*.

Coxiella burnetii и виды *Bartonella* могут быть легко обнаружены серологическим тестированием с помощью непрямой иммунофлюоресценции или иммуноферментного анализа (ИФА). Обнаружение антител класса IgG к *Coxiella burnetii* в титре выше 1 : 800 является подтверждением этиологии ИЭ [20].

Для выявления антигена легионелл в моче используют метод ИФА, который обладает достаточно высокой чувствительностью и специфичностью (90,0–95,0 и 95,0–99,9 % соответственно). Быстрая диагностика легионеллеза (в течение 15 минут) возможна путем обнаружения антигена легионелл в моче методом прямой иммунофлюоресценции или иммунохроматографии. Серологические методы позволяют выявлять в крови больного специфические антитела классов IgM и IgG к легионеллам. Одновременное определение антител IgM и IgG позволяет выявить до 99 % всех микоплазменных инфекций [21].

Для обнаружения антигенов грибов *Candida* и *Aspergillus* в крови применяют метод ИФА, который обладает чувствительностью в отношении выявления кандидозного антигена (маннан) 65–70% при специфичности 100 %, чувствительность метода по выявлению антигена (галактоманн) аспергилл составляет 50–60%, при повторном исследовании достигает 90%, специфичность 90–100% [20, 21].

4.3. Полимеразная цепная реакция

ПЦР-диагностика позволяет обнаружить возбудителя на самых ранних этапах инфекционного процесса в любой биологической среде организма с возможностью количественного определения микроорганизмов.

В рекомендациях ЕОК указывается на то, что в большинстве опубликованных результатов исследований с использованием ПЦР при ИЭ с отрицательными культурами крови продемонстрирована эффективность метода в установлении этиологии болезни в отношении *Streptococcus gallolyticus* и *Streptococcus mitis, enterococci*, *S. aureus*, *Escherichia coli* и прихотливых микроорганизмов, а также *Tropheryma whipplei*, *Bartonella spp.* и грибов (*Candida spp.*, *Aspergillus spp.*), обнаружение которых в крови варьирует в зависимости от состояния пациента.

Метод ПЦР обладает высокой чувствительностью, но имеет свои недостатки: ложноотрицательные результаты, невозможность получить сведения относительно бактериальной чувствительности к антибактериальным препаратам. Позитивная ПЦР может наблюдаться месяцами после успешного лечения [22].

Несмотря на то что положительную ПЦР рекомендуется использовать как основной диагностический критерий для ИЭ, данный метод не может заменить основной диагностический метод микробиологического исследования крови.

Исследование биологического материала из удаленных клапанов или эмболического материала методом ПЦР должно проводиться у пациентов с отрицательными культурами крови, которые подвергаются оперативному лечению [23].

4.4. Гистологические и иммуногистологические исследования

Гистологическое исследование резецированных клапанов или эмболических фрагментов остается «золотым стандартом в диагностике ИЭ. Все образцы тканей, которые были удалены в ходе хирургического лечения ИЭ, должны быть собраны в стерильный контейнер без фиксирующих растворов или культуральной среды и отправлены на исследование в гистологическую и бактериологическую лаборатории (проводится классическое микробиологическое исследование).

Гистологическое исследование позволяет обнаружить характерные для ИЭ изменения (вегетации) на клапанном и париетальном эндокарде, в области аномальных артерио-артериальных и артерио-венозных шунтов, в зоне коарктации аорты. Иммуногистологическое исследование с помощью специальных красителей или специфических моноклональных антител со специальной меткой позволяет провести идентификацию микроорганизмов. Выявление возбудителя в резецированной ткани клапана или эмболических фрагментах при проведении гистологического исследования имеет большое значение для подтверждения диагноза ИЭ в случаях отрицательного результата микробиологического исследования крови, а также для определения оптимальных схем антибактериальной терапии после хирургического лечения при наличии признаков активности ИЭ.

4.5. Иммунологические исследования

В клинических ситуациях, когда результаты всех лабораторных исследований по обнаружению этиологического фактора ИЭ отрицательные, должен быть рассмотрен вариант диагноза неинфекционного эндокардита. Для его подтверждения ЕОК рекомендует провести следующие лабораторные исследования:

1. определение уровня антинуклеарных антител в сыворотке крови;
2. определение уровня антикардиолипиновых антител класса IgG и (или) IgM методом стандартного ИФА для β -2-гликопротеин 1-зависимых антикардиолипиновых антител в сыворотке крови.

Определение уровня антинуклеарных антител направлено на подтверждение наличия у пациента какого-либо заболевания из группы ревматических болезней, наиболее часто системной красной волчанки с ее проявлением в виде эндокардита Либмана-Сакса и ревматоидного артрита. Для подтверждения антифосфолипидного синдрома рекомендуется определение уровня антикардиолипиновых антител класса IgG и (или) IgM методом стандартного ИФА для β -2-гликопротеин 1-зависимых антикардиолипиновых антител [24].

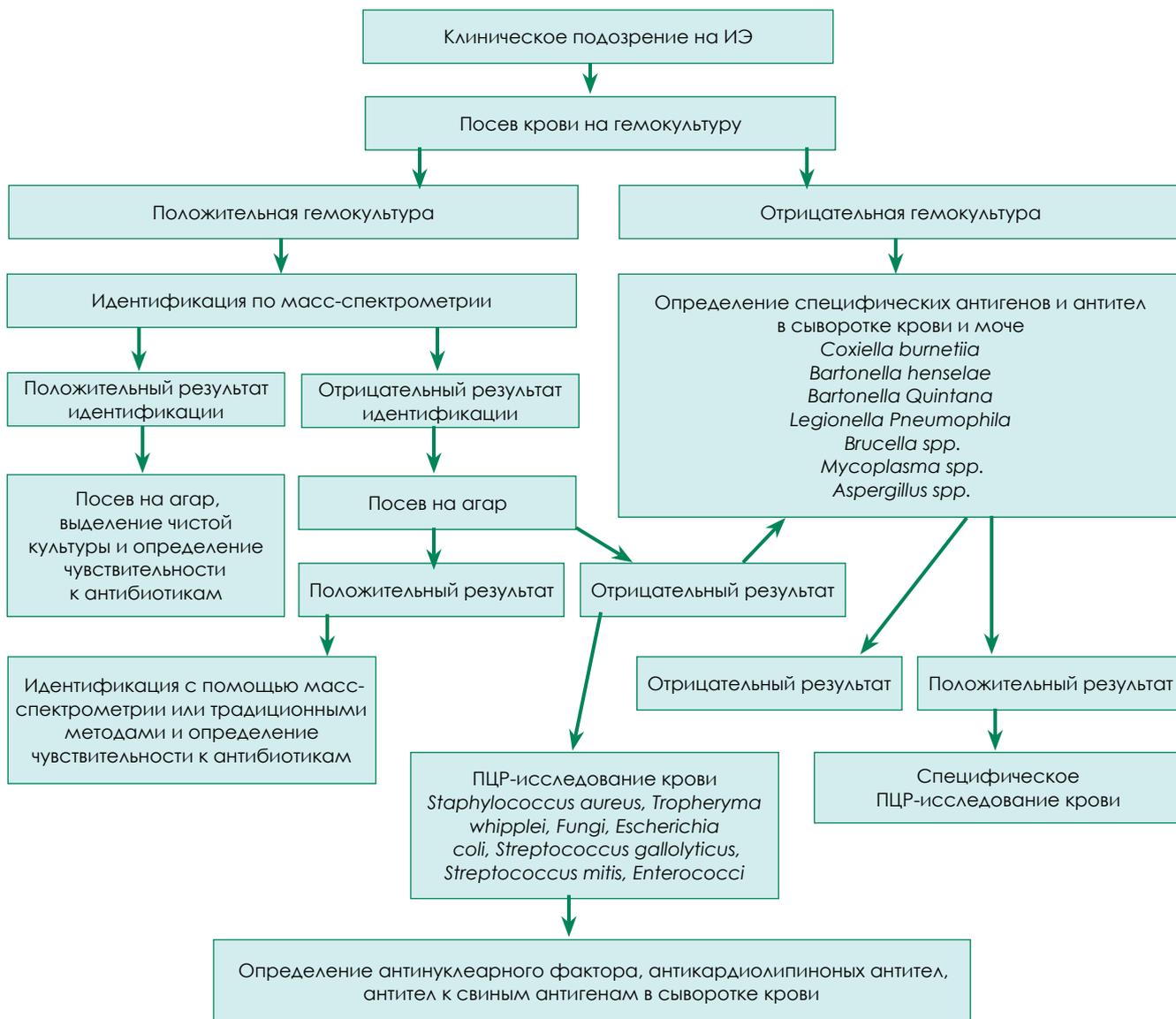


Рисунок 1. Алгоритм этиологической диагностики ИЭ.

При отрицательных результатах этих тестов и наличии у пациента свиного биопротеза сердечного клапана необходимо определить в крови уровень антител к свиным антигенам.

5. Алгоритм этиологической диагностики ИЭ

В основе успешного лечения ИЭ лежит достижение эрадикации микроорганизмов путем назначения бактерицидных доз антибактериальных препаратов. Выбор оптимальных схем и режимов лечения ИЭ в рекомендациях ЕОК 2015 года по-прежнему базируется на этиологическом возбудителе ИЭ. Появление большого количества опубликованных данных в отношении эффективности различных лабораторных методов этиологической диагностики ИЭ позволило ЕОК разработать новый диагностический алгоритм, который приведен на рис. 1.

При возникновении клинического подозрения на ИЭ необходимо немедленно провести забор проб крови

на микробиологическое исследование. При получении положительной гемокультуры в течение 48 часов проводится идентификация микроорганизма, и определяется его чувствительность к антибактериальным препаратам. В случае, если клиническое подозрение на ИЭ сохраняется, а результаты посевов крови на гемокультуру в течение 48 часов отрицательные, то рекомендуемой ЕОК стратегией является определение специфических антигенов и антител в сыворотке крови и моче в отношении возможных этиологических агентов, приведенных в алгоритме, с последующим проведением специфического ПЦР-исследования крови в отношении подозреваемого микроорганизма.

Такая стратегия позволяет в большинстве случаев установить этиологический фактор ИЭ, а главное, существенно сократить время на идентификацию и повысить эффективность лечения. Другими словами, если в течение 48 часов после взятия проб крови роста микроорганизмов

во флаконах с гемокультурой нет, ждать нельзя — необходимо использовать другие методы этиологической диагностики ИЭ.

6. Заключение

Основными целями нашего исследования была необходимость ознакомить специалистов различных медицинских лабораторий и врачей-клиницистов с возможностями современных лабораторных технологий в отношении диагностики ИЭ и дать рекомендации по их использованию с позиций доказательной медицины.

С позиций доказательной медицины врач клинической лабораторной диагностики и врач-клиницист должны иметь представления о научно обоснованных критериях постановки диагноза, определения прогноза, целей и методах лечения. Главная идея доказательной медицины очень проста: применение на практике только тех методов диагностики и лечения, эффективность которых доказана на основе строгих научных принципов в результате клинических исследований.

Представленный анализ роли лабораторных методов исследования при ведении больных ИЭ и рекомендаций по ведению инфекционного эндокардита 2015 года Европейского общества кардиологов не только характеризует возможности методов лабораторной диагностики в отношении клинической практики, но и в соответствии с принципами доказательной медицины демонстрирует взаимосвязь их возможностей, стратегию и последовательность применения, эффективность в каждой конкретной клинической ситуации.

Список литературы

1. Duval X., Delahaye F., Alla F., Tattevin P., Obadia J. F. et al. Temporal trends in infective endocarditis in the context of prophylaxis guideline modifications: three successive population-based surveys. // *J. Am. Coll. Cardiol.*— 2012.— Vol. 59.— P. 1968–1976.
2. Тюрина Т. В. Распространенность и клинические варианты инфекционного эндокардита: Автореф. дис. кандидата мед. наук.— СПб., 1997.— 21 с.
3. Николаевский Е. Н., Солдатенко М. В. Инфекционный эндокардит: современные особенности развития и течения. // *Сибирский медицинский журнал.*— 2002.— № 3.— С. 78–85.
4. Bannay A., Hoen B., Duval X., Obadia J. F., Seltou-Suty C. et al. The impact of valve surgery on short- and long-term mortality in left-sided infective endocarditis: do differences in methodological approaches explain previous conflicting results? // *Eur. Heart. J.*— 2011.— Vol. 32.— P. 2003–2015.
5. Pierce D., Calkins B. C., Thornton K. Infectious endocarditis: diagnosis and treatment. // *Am. Fam. Physician.*— 2012.— Vol. 85(10)— P. 981–6.
6. Daniel W. G., Mugge A., Martin R. P., Lindert O., Hausmann D., Nonast-Daniel B., Laas J., Lichtlen P. R. Improvement in the diagnosis of abscesses associated with endocarditis by transesophageal echocardiography. // *N. Engl. J. Med.*— 1991. Vol. 324.— P. 795–800.
7. Perez de Isla L., Zamorano J., Lennie V., Vazquez J., Ribera J. M., Macaya C. Negative blood culture infective endocarditis in the elderly: long-term follow-up. // *Gerontology.*— 2007.— Vol. 53.— P. 245–249.
8. Murdoch D. R., Corey G. R., Hoen B., et al. Clinical presentation, etiology, and outcome of infective endocarditis in the 21st century: the International Collaboration on Endocarditis-Prospective cohort Study. // *Arch. Intern. Med.*— 2009.— Vol. 169.— P. 463–73.
9. Crawford M. H., Durack D. T. Clinical presentation of infective endocarditis. // *Cardiol. Clin.*— 2003.— Vol. 21.— P. 159–66.

10. Виноградова Т. А. Инфекционный эндокардит: современное течение. // *Клиницист.*— 2011.— № 3.— С. 4–9.
11. Deviri E., Glenville B. E. Inflammatory response in infective endocarditis. // *Eur. J. Inflamm.*— 2007.— Vol. 5(2)— P. 57–63.
12. Habib G., Hoen B., Tornos P. et al. ESC Committee for Practice Guidelines. Guidelines on the prevention, diagnosis, and treatment of infective endocarditis (new version 2009): the Task Force on the Prevention, Diagnosis, and Treatment of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and the International Society of Chemotherapy (ISC) for Infection and Cancer. // *Eur. Heart. J.*— 2009.— Vol. 30.— P. 2369–413.
13. Fernandez-Hidalgo N., Almirante B., Tornos P., Pigrau C., Sambola A., Igual A., Pahisa A. Contemporary epidemiology and prognosis of health care-associated infective endocarditis. // *Clin. Infect. Dis.*— 2008.— Vol. 47.— P. 1287–1297.
14. Тюрин В. П. Инфекционные эндокардиты.— М.: ГЭОТАР Медиа, 2001, 224 с.
15. Durack D. T., Lukes A. S., Bright D. K. New criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings: Duke Endocarditis Service. // *Am. J. Med.*— 1994.— Vol. 96.— P. 200–209.
16. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis. *European Heart Journal* doi:10.1093/eurheartj/ehv319.
17. Lamas C. C., Ekyun S. J. Blood culture negative endocarditis: analysis of 63 cases presenting over 25 years. // *Heart.*— 2003.— Vol. 89.— P. 258–262.
18. Fenollar F., Goncalves A., Esterni B., Azza S., Habib G., Borg J. P., Raoult D. A serum protein signature with high diagnostic value in bacterial endocarditis: results from a study based on surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. // *J. Infect. Dis.*— 2006.— Vol. 194.— P. 1356–1366.
19. La Scola B., Raoult D. Direct identification of bacteria in positive blood culture bottles by matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry. // *PLoS One* 2009; 4: e8041.
20. Raoult D., Casalta J. P., Richet H., Khan M., Bernit E., Roverly C., Branger S., Gouriet F., Imbert G., Bothello E., Collart F., Habib G. Contribution of systematic serological testing in diagnosis of infective endocarditis. // *J. Clin. Microbiol.*— 2005.— Vol. 43.— P. 5238–5242.
21. Fournier P. E., Thuny F., Richet H., Lepidi H., Casalta J. P., Arzouni J. P., Maurin M., Celard M., Mainardi J. L., Caus T., Collart F., Habib G., Raoult D. Comprehensive diagnostic strategy for blood culture-negative endocarditis: a prospective study of 819 new cases. // *Clin. Infect. Dis.*— 2010.— Vol. 51.— P. 131–140.
22. Millar B., Moore J., Mallon P., Xu J., Crowe M., McClurg R., Raoult D., Earle J., Hone R. Murphy P. Molecular diagnosis of infective endocarditis — a new Duke's criterion. // *Scand J. Infect. Dis.*— 2001.— Vol. 33.— P. 673–680.
23. Roverly C., Greub G., Lepidi H., Casalta J. P., Habib G., Collart F., Raoult D. PCR detection of bacteria on cardiac valves of patients with treated bacterial endocarditis. // *J. Clin. Microbiol.*— 2005.— Vol. 43.— P. 163–167.
24. Loyens M., Thuny F., Grisoli D., Fournier P. E., Casalta J. P., Vitte J., Habib G., Raoult D. Link between endocarditis on porcine bio-prosthetic valves and allergy to pork. // *Int. J. Cardiol.*— 2013. Vol. 167.— P. 600–602.



ПЕРВАЯ В МИРЕ ЛИНЕЙКА АНАЛИЗАТОРОВ ДЛЯ ПОСЕВА И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ ПРОБ МОЧИ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ ЧЕЛОВЕКА



HB&L Кат. № SI 190.300

HB&L Light Кат. № SI 190.300L



Alfred 60 AST Кат. № SI 105.100/AST



Операционная система Windows™

- Возможность одновременного выполнения бактериологического посева, тестирования на остаточную антимикробную активность (ОАА) и чувствительности к антибиотикам
- Запатентованная технология лазерного светорассеяния позволяет обнаружить с высокой специфичностью и чувствительностью наличие в пробе только живых бактерий и их устойчивость к антибиотикам в течение всего нескольких часов, влияние неразмножающихся компонентов пробы устраняется за счет холостого считывания в начале анализа
- Возможность получения результатов в КОЕ/мл в режиме реального времени
- Возможности подключения анализаторов к ЛИС по двунаправленному протоколу
- Разработан протокол для автоматического определения чувствительности к антибиотикам положительных гемокультур непосредственно из флаконов других бактериологических анализаторов

Доступны следующие модели бактериологических анализаторов:

- 1) **HB&L** – полуавтоматический анализатор в 2-х модификациях: **HB&L Light** на 120 проб (для больших лабораторий) и **HB&L** на 60 проб (для маленьких лабораторий)
- 2) **Alfred 60** – автоматический анализатор на 60 проб



ТЕСТЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

	Посев мочи	3 часа, порог 30.000 КОЕ/мл
	Тест на ОАА	одновременно с посевом
	Биологические жидкости человека, культуры бактерий	6 часов, порог <50 КОЕ/мл
	Специальные пробы культур бактерий	6 часов, порог <50 КОЕ/мл
	МакФарланд-монитор	
	Тест на чувствительность	3 часа

Не является офертой.



620086, Россия, Екатеринбург,
ул. Посадская, 23
Тел.: +7 (343) 310 30 00
(343) 310 30 01

121108, Россия, Москва,
ул. Ивана Франко, 4, корп. 1
Тел.: +7 (495) 380 36 01
www.delrus.ru

Инновации в культуральных исследованиях бактериурии при диагностике инфекций мочевыводящих путей

Л. Г. Боронина, д.м.н., проф. кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки¹, зав. лабораторией клинической микробиологии²

¹ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Екатеринбург

²ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1», г. Екатеринбург

Application of innovative methods for bacteriuria diagnostics of urinary tract infections

L. G. Boronina

Urals State Medical University, Regional Children's Clinical Hospital No. 1; Ekaterinburg, Russia

Резюме

Протестированы 452 образца мочи детей в возрасте от года до 16 лет с различной патологией при применении анализатора Alifax HB&L Light (Alifax, Италия), использующего технологию лазерного светорассеивания. Через три часа после посева 399 проб показали отрицательный результат (87,2%), 51 образец — положительный (12,8%). Для диагностики инфекций мочевыводящих путей определение бактериурии в более короткие сроки (три часа) является принципиально важным, особенно при получении материала в амбулаторной практике. В течение трех часов от момента посева возможно определить наличие живых бактерий и антимикробной активности в моче, свидетельствующих о присутствии антимикробных средств.

Ключевые слова: бактериурия, инфекции мочевыводящих путей.

Summary

542 urine samples were tested with Alifax HB&L Light (Alifax, Italy) analyzer using a laser light scattering technology. Urine samples were obtained from children aged from one to 16 years with different pathologies. 399 sample showed a negative result (87.2%) 3 hours after inoculation, 51 samples were positive (12.8%). Bacteriuria definition is crucial for the diagnostics of urinary tract infections in a short period of time (3 hours) especially for material obtained during surgical procedures and from outpatients.

Key words: bacteriuria, urinary tract infections.

Введение

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) относятся к числу широко распространенных заболеваний, встречающихся как в амбулаторной практике, так и в стационаре. Распространенность ИМП у детей в РФ в среднем составляет 18–22 случая на тысячу детей. В зависимости от региона частота ИМП колеблется от 5,6 до 27,5%. Проблема ИМП становится актуальной уже с первых дней жизни ребенка: среди доношенных новорожденных частота ИМП достигает 1%, недоношенных — 4–25% [1].

ИМП имеют огромное клиническое значение из-за их частой встречаемости в повседневной медицинской практике, а также осложнений, которые они за собой влекут при неправильном лечении, что, в свою очередь, влияет на качество жизни пациентов и требует значительных финансовых затрат [4].

В 70–95% случаев неосложненные и осложненные ИМП вызы-

ваются одним микроорганизмом, преимущественно из семейства *Enterobacteriaceae*. Основным возбудителем чаще всего является *Escherichia coli* (80–90%), реже *Staphylococcus saprophyticus* (3–5%), *Proteus mirabilis*, *Klebsiella spp.*, *Enterococcus spp.* и другие [1, 2, 3, 4, 5]. Возбудители ИМП подвергаются «селективному давлению» антибиотиков и антисептиков, таким образом, ИМП, особенно нозокомиальные, составляют, по-видимому, самый большой резервуар антибиотикорезистентных микроорганизмов в лечебных учреждениях [4, 6].

Для культурального исследования мочи применяют ручной посев на чашки Петри, автоматические посевные станции, дип-слайды с последующей идентификацией и определением антибиотикограммы у этиологически значимого микроорганизма с помощью ручных классических методов или с исполь-

зованием автоматических и полуавтоматических анализаторов. Таким образом, отрицательные результаты бактериологического исследования мочи выдаются не ранее чем через сутки, а положительные минимум через 48 часов. Это не способствует своевременному назначению лечащим врачом этиотропной антибиотикотерапии.

Для оценки возможности применения ускоренных методов диагностики инфекций мочевыводящих путей использовалось сравнение методики, основанной на технологии лазерного светорассеивания и классического культурального метода посева.

Материалы и методы

С помощью анализатора Alifax HB&L Light (Alifax, Италия) с технологией лазерного светорассеивания, позволяющей обнаружить делющиеся бактерии, были протестированы

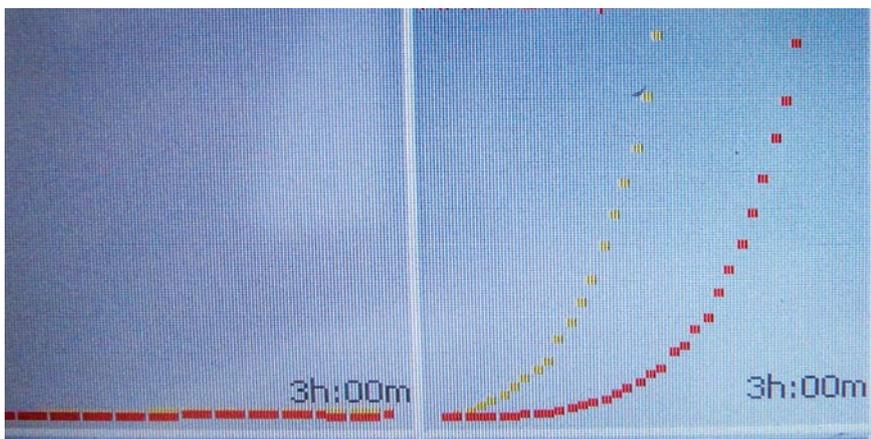


Рисунок 1. Примеры кинетических кривых роста при исследовании мочи на анализаторе Alifax HB&L Light. Слева отрицательный, справа положительный результаты.

452 образца мочи, собранных классическим способом (средняя порция мочи), катетером и во время операции, детей в возрасте от одного года до 16 лет из урологического и нефрологического отделений с диагнозами гидронефроза, уретрогидронефроза, пузырно-мочеточникового рефлюкса, хронического цистита, острого пиелонефрита, ИМП, кисты почки, нейрогенного мочевого пузыря.

Образцы, которые давали индикацию роста, засеивали на чашку Петри с кровяным агаром по методу Айзенберга. Видовую идентификацию бактерий из положительных образцов проводили классическими бактериологическими методиками и с использованием тест-систем для автоматического MicroScan WalkAway 96 (Siemens, Германия) и полуавтоматических анализаторов АТВ Expression (bioMerieux, Франция) и Sensititre (TREK Diagnostic Systems, США).

Параллельно пробы мочи исследовались на остаточную антимикробную активность (ОАА), которая позволяет зафиксировать наличие в образце ингибиторов бактериального роста, таких как антибиотики или другие вещества, обладающие антибактериальной активностью. Кроме того, исследование ОАА позволяет достоверно и быстро определить, в достаточной ли концентрации назначенный антибиотик попадает в очаг инфекции.

В основе анализатора Alifax HB&L Light лежит запатентованная технология, созданная на методике

лазерного светорассеяния, позволяющая отслеживать процесс роста бактерий от момента внесения пробы в специальную жидкую питательную среду с одновременным отображением кинетических кривых роста и исходной обсемененности пробы в КОЕ/мл. Во флакон с 2 мл жидкой питательной среды, которая обеспечивает оптимальные условия для роста микроорганизмов и содержит все необходимые питательные вещества, вносится 500 мкл анализируемой мочи путем протыкания крышки, что снижает риск контаминации. Инкубация пробы в среде происходит при 37 °С и постоянном перемешивании. Каждый пять минут инкубации через флакон проходит лазерный луч, который позволяет оценить изменения в мутности пробы. Рассеянный свет улавливается двумя датчиками, расположенными под углами в 30 и 90 град. к падающему лучу; показания датчиков обрабатываются анализатором в режиме реального времени. Первое считывание каждой пробы принимается за точку отсчета для того, чтобы исключить влияние мутности, вызванной присутствием солей, эритроцитов, лейкоцитов, мертвых бактерий и других клеток, на итоговый результат. Таким образом, бактериальный рост, обнаруживаемый прибором, обусловлен исключительно живыми делящимися бактериями. Кроме того, анализатор позволяет автоматически назначать порог чувствительности в соответствии с клиническими показаниями. Исследование занимает три часа [6].

Результаты

Проведено исследование 452 образцов мочи, протестированных на анализаторе с предварительно установленным пороговым значением (10 000 КОЕ/мл при аномалиях мочевыводящих путей без инфекции, 1 000 КОЕ/мл при инфекциях). Через три часа после посева 399 проб дали отрицательный результат (87,2%), что полностью совпало с результатами ряда контрольных посевов на чашки. 51 образец был положительным (12,8%) (рис. 1). Таким образом, более чем в 2/3 случаев нет бактериурии, лечащий врач получит отрицательный результат (отсутствие живых микроорганизмов) уже через 3–4 часа после посева, и информация будет получена в одно время с результатами общего анализа мочи.

После получения результатов роста во флаконе проводится высев с целью идентификации и определения антибиотикорезистентности у выделенных изолятов. Положительные образцы, где зафиксирован рост микроорганизмов, высевали из флакона на чашку Петри с кровяным агаром по методу Айзенберга. Результаты высевок положительных образцов представлены в табл. 1.

В 15 случаях результаты, полученные на Alifax HB&L Light и с помощью традиционного культурального метода, коррелировали: в 10 образцах (пробы № 1–10) обнаружена клинически значимая изолированная культура (чаще *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus spp.*) в титре более 10⁴ КОЕ/мл, а в пяти — полимикробная биота (два микроорганизма, пробы № 11–15). Выделение других бактерий, таких как в пробе № 13 (*Lactobacillus spp.*) и № 14 (*Staphylococcus epidermidis*), несмотря на достаточно большой титр, нельзя считать этиологически значимым, так как это представители нормобиоты слизистых оболочек и кожи и являются контаминантами проб мочи.

14 положительных образцов, высеянных из флакона на чашку Петри с кровяным агаром, показали следующий результат: либо рост отсутствовал (n = 2) или его интенсивность была ниже порогового значения при посеве на чашке (n = 2; Alifax = 10⁴

Таблица 1
Примеры сравнения метода Айзенберга и культурального исследования мочи, полученные на анализаторе Alifax HB&L Light

№ пробы	Результаты Alifax HB&L Light, КОЕ/мл	Посев на кровяной агар по методу Айзенберга	
		Обнаруженные микроорганизмы	КОЕ/мл
1	50000000	<i>Escherichia coli</i>	10 ⁷
2	15000000	<i>Escherichia coli</i>	10 ⁷
3	40000000	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10 ⁷
4	7000000	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 ⁶
5	4000000	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10 ⁶
6	40000000	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10 ⁷
7	2000000	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 ⁶
8	15000000	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10 ⁷
9	50000000	<i>Escherichia coli</i>	10 ⁷
10	700000	<i>Acinetobacter baumannii</i>	10 ⁵
11	20000000	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus spp.</i>	10 ⁷ 10 ⁷
12	15000000	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus spp.</i>	10 ⁷ 10 ⁶
13	12000000	<i>Escherichia coli</i> <i>Lactobacillus spp.</i>	10 ⁵ 10 ⁵
14	70000	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	10 ⁴ 10 ³
15	20000	<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Acinetobacter lwoffii</i>	10 ⁴ 10 ⁴
16	7000	<i>Escherichia coli</i>	< 10 ³
17	70000	<i>Enterococcus spp.</i>	< 10 ³
18	700000	Роста нет	–
19	50000	Роста нет	–
20	150000	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Staphylococcus haemolyticus</i> <i>Corynebacterium spp.</i>	10 ⁵ 10 ⁶ 10 ⁶
21	15000000	<i>Enterococcus spp.</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	10 ⁶ 10 ³ 10 ³
22	3000	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	10 ⁴ 10 ² 10 ²
23	3000	≥ 3 культур, контаминация	–
24	120000	≥ 3 культур, контаминация	–
25	4000000	≥ 3 культур, контаминация	–
26	7000	≥ 3 культур, контаминация	–
27	300000	≥ 3 культур, контаминация	–
28	70000	≥ 3 культур, контаминация	–
29	1500000	<i>Corynebacterium spp.</i>	10 ³

Таблица 2
Интерпретация параллельного исследования мочи на анализаторе Alifax с определением остаточной антимикробной активности (ОАА)

ОАА	Результаты Alifax HB&L Light	Комментарии	n*
–	–	Нет бактериурии	399
–	+	Есть бактериурия (живые бактерии)	51
+	–	Вероятно, терапия антибиотиками	102
+	+	Если пациент находится на антибиотикотерапии, то она неэффективна!	0

Примечание: n — количество проб.

КОЕ/мл, а при высеве до 10^3 КОЕ/мл), либо высевались более трех культур, то есть контаминация ($n = 9$; из них в трех случаях пробы № 20–22 совместно с уропатогенами в диагностическом титре) или монокультура контаминанта (*Corynebacterium spp.*; $n = 1$), титр которой не совпадал с титром анализатора.

Для обеспечения большей клинической достоверности и исключения ложноотрицательных результатов все пробы мочи параллельно исследовались на ОАА (табл. 2), которая позволяет зафиксировать наличие в образце ингибиторов бактериального роста, таких как антибиотики или другие вещества, обладающие антибактериальной активностью. Для определения ОАА используется отдельный флакон с жидкой питательной средой (красная крышка). Во флакон засеивается штамм *Staphylococcus epidermidis*, чувствительный к антимикробным препаратам (лиофилизированная культура поставляется производителем анализатора, запатентовано). Если есть рост *S. epidermidis*, значит, проба мочи не содержит антимикробных препаратов. Нет роста *S. epidermidis* — проба мочи содержит антимикробные препараты.

22,6% образцов дали положительный результат при определении ОАА, что указывает на прием пациентами антимикробных препаратов на догоспитальном этапе или непосредственно в стационаре и свидетельствует о наличии антимикробных препаратов в моче, возможно, об их эффективности. Ни в одном образце, где выделялись микроорганизмы, не выявлена ОАА, что свидетельствует об эффективности терапии.

Заключение

Отсутствие ложноотрицательных результатов анализа проб с низким титром бактерий и быстрое их получение за счет кинетических изменений растущей культуры методом лазерного светорассеяния имеет преимущества перед традиционными методами, прежде всего в скорости определения бактериурии. Параллельное исследование проб мочи на остаточную антимикробную активность, позволяет объективно выяснить, применялись и применяются ли антимикробные препараты, косвенно судить об эффективности применяемой антибиотикотерапии. Для диагностики инфекций мочевыводящих путей определение бактериурии в более короткие сроки

(три часа) является принципиально важным, особенно при получении материала во время оперативных вмешательств и при амбулаторных исследованиях в течение одного дня.

Список литературы

1. Инфекция мочевой системы у детей: современные подходы к диагностике и лечению / Н. А. Коровина, И. Н. Захарова, Э. Б. Мумладзе, А. Н. Горяйнова // Русский медицинский журнал. — 2007. — № 2. — С. 1533–1542.
2. Методики клинических лабораторных исследований. Клиническая микробиология / Под ред. В. В. Меньшикова. — М.: Лабора, 2009. — 880 с.
3. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / Под ред. А. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова. — Смоленск: МАКМАХ, 2007. — 464 с.
4. Рекомендации по ведению больных с инфекциями почек, мочевых путей и мужских половых органов (European Association of Urology, 2008) [Электронный ресурс] URL: <http://www.antibiotic.ru/index.php?page=17> (дата обращения 06.11.2015).
5. Руководство по медицинской микробиологии. Оппортунистические инфекции: клинико-эпидемиологические аспекты / Под ред. А. С. Лабинской, Е. Г. Воиной, Е. П. Ковалевой. — М.: Издательство БИНОМ, 2014. — 880 с.
6. Evaluation of an automated method for urinculture screening / C. Ballabio, N. Venturi, M. R. Sala, P. Mocarelli, P. Brambilla // *Microbiologia Medica*. — 2010. — Vol. 25, N3. — P. 178–180.



Форум «Современная лабораторная медицина: фундаментальные основы, инновационные и передовые технологии, импортзамещение» и выставка «Диагностика — 2017»

В соответствии с планом мероприятий Министерства здравоохранения Астраханской области Российская ассоциация медицинской лабораторной диагностики проводит в г. Астрахани 26 и 27 апреля 2017 года научно-практический образовательный форум «Современная лабораторная медицина: фундаментальные основы, инновационные и передовые технологии, импортзамещение» и специализированную выставку «Диагностика — 2017».

Основные темы форума:

- лабораторные биомаркеры в сердечно-сосудистой патологии, онкологии и при других социально значимых заболеваниях;
- новые тесты и современное приборное обеспечение в клинической биохимии, гематологическом анализе, иммунохимических и иммунологических (включая алергологию) исследованиях;
- современные методы и возможности традиционной и инновационной молекулярной медицины и геномики, персонализированная лабораторная медицина;
- актуальные вопросы гемостаза;

- технологический прогресс в клинической микробиологии и антибиотикотерапии.
- проблемы организации централизованных клинических лабораторий: поиск оптимальных решений;
- ЛИС в практике обеспечения качества лабораторного анализа;
- реализация импортзамещения в лабораторной аналитике: как это может повлиять на эффективность лабораторной службы страны?

В работе форума планируется участие специалистов по лабораторной диагностике и врачей клинических специальностей лечебных учреждений Южного федерального округа.

Конференция и специализированная выставка состоятся в Астраханском государственном медицинском университете (г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121).

По всем вопросам обращайтесь по тел. (903)763–18–60 или на e-mail: ramld@ramld.ru.



Золотой стандарт преаналитики



Комфорт и безопасность от А до Я



Первые российские вакуумные пробирки для взятия венозной крови

Все виды пробирок доступны для заказа

FUJIFILM

Анализатор Fujifilm DRI-CHEM 4000i

- технология «сухой химии»
- 29 биохимических параметров
- экспресс-анализатор в режиме «реального времени»: время выполнения единичных тестов от 1 до 4 минут
- подходит для отделений реанимации, экспресс-лабораторий, перинатальных центров – там, где требуется быстрый и точный результат



 **ДЕЛЪРУС**

121 108, Россия, Москва,
ул. Ивана Франко, 4, корп. 1
Тел.: + 7 (495) 380 36 01,
доб. 1459, 1423, 1439
www.delrus.ru

**Универсальное решение
для экспресс-диагностики**



М.Н. Носик



О.А. Лобач



И.В. Рыманова



С.Е. Севостьянихин

Роль провоспалительных и регуляторных цитокинов при ВИЧ-ассоциированном туберкулезе

М. Н. Носик, к.б.н., рук. лаборатории биологии лентивирусов¹

О. А. Лобач, к.б.н., с.н.с. лаборатории биологии лентивирусов¹

И. В. Рыманова, врач-фтизиатр, зав. четвертого туберкулезного легочного отделения (для ВИЧ-инфицированных больных)²

С. Е. Севостьянихин, врач-фтизиатр четвертого туберкулезного легочного отделения (для ВИЧ-инфицированных больных)²

Н. В. Адамович, врач-фтизиатр, зав. девятого туберкулезного легочного отделения²

А. Л. Собкин, к.м.н., гл. врач²

У. А. Куимова, к.м.н., научный сотрудник³

В. А. Кравченко, д.м.н., проф., вед. научный сотрудник³

¹ФГБУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» РАН, г. Москва

²ГБУЗ г. Москвы «Туберкулезная клиническая больница № 3 имени профессора Г. А. Захарыина» Департамента здравоохранения г. Москвы

³Специализированный отдел по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва

Role of proinflammatory and regulatory cytokines in HIV-infection associated with tuberculosis

M. N. Nosik, O. A. Lobach, I. V. Rymanova, S. E. Sevostyanikhin, N. V. Adamovich, A. L. Sobkin, U. A. Kuimova, V. A. Kravtchenko

Research Institute for Vaccines and Sera n.a. I.I. Mechnikov, Tubercular Clinical Hospital No. 3 n.a. professor G. A. Zakharyin, Central Research Institute for Epidemiology; Moscow, Russia

Резюме

В работе приводятся данные сравнительного изучения цитокинового профиля у группы больных с сочетанной инфекцией ВИЧ + ТБ (n = 75), ВИЧ (58), ТБ (n = 50) и здоровых доноров (n = 73). Была изучена экспрессия провоспалительных цитокинов ИНФ-γ, ИЛ-2, ФНО-α и регуляторных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10. Было выявлено, что у больных с двойной инфекцией ВИЧ + ТБ наблюдается подавление экспрессии цитокинов и Th1-, и Th2-класса, о чем свидетельствует низкий уровень ИНФ-γ, ИЛ-2, ФНО-α и ИЛ-4, ИЛ-10. При этом у группы больных с ВИЧ + ТБ была отмечена повышенная выработка ИЛ-6, стимулирующего репликацию ВИЧ и уменьшающего связывание ФНО-α с макрофагами, приводящая к антагонизации антимикробактериального влияния ФНО-α. Пониженная экспрессия провоспалительных и регуляторных цитокинов у больных с сочетанной инфекцией ВИЧ + ТБ может служить иммунологическим маркером прогрессирования ВИЧ-инфекции и ТБ, что необходимо учитывать при назначении терапии.

Ключевые слова: туберкулез, ВИЧ-инфекция, ВИЧ- ассоциированный с ТБ, цитокины.

Summary

Plasma levels of proinflammatory cytokines IL-2, IFN-γ, TNF-α and regulatory cytokines IL-4, IL-6, IL-10 were evaluated in 75 patients with dual infection HIV+TB, 58 patients with HIV monoinfection and 50 patients with TB monoinfection who were previously naïve for HAART. The decreased levels of Th1- and Th2-cytokines were observed in patients with dual infection HIV + TB in comparison with patients who had only HIV or TB. However the elevated expression of IL-6 (which stimulates the HIV-replication and inhibits the TNF-α fusion with macrophages) was noted in patients with HIV + TB co-infection. The decreased secretion of proinflammatory and regulatory cytokines in patients with HIV associated with TB may serve as immunological markers of progression of HIV-infection in patients with TB.

Key words: tuberculosis, HIV, HIV + TB co-infection, cytokine.

Введение

Заболевание туберкулезом (ТБ) и ВИЧ-инфекцией, ассоциированной с ТБ, является одной из серьезнейшей проблем здравоохранения. У человека со здоровой иммунной системой, если он инфицирован *Mycobacterium*

tuberculosis, риск заболеть ТБ на протяжении своей жизни составляет 10%. Однако люди с ослабленной иммунной системой, такие как лица, инфицированные ВИЧ, подвергаются гораздо более высокому риску заболевания. Вероятность того, что у людей с сочетан-

ной инфекцией ВИЧ + ТБ, разовьется активная форма ТБ, в 21–34 раза превышает аналогичный показатель среди людей, неинфицированных ВИЧ [1–4]. Риск развития ТБ значительно повышается уже в первый год после сероконверсии к ВИЧ [5]. Из 9,6 миллионов новых случаев заболевания ТБ, зарегистрированных в 2014 г., 1,2 миллиона (12%) приходятся на лиц, инфицированных ВИЧ [1]. По оценкам экспертов ВОЗ, в 2015 году один из трех смертельных случаев среди ВИЧ-инфицированных людей был вызван туберкулезом. Помимо этого, ВИЧ-инфекция в 20 раз повышает вероятность рецидива ТБ [4, 6–9]. Имеются данные, что, в свою очередь, активная форма ТБ ускоряет прогрессирование ВИЧ-инфекции [10, 11]. Россия занимает 9-е место из 15 стран с высоким бременем ВИЧ-инфекции и 11-е место из 22 стран с высоким бременем ТБ [12, 13]. На сегодняшний день туберкулез как вторичное заболевание выявляется у 32–56% больных с поздними стадиями ВИЧ-инфекции. Доля больных ТБ, у которых на фоне ВИЧ-инфекции установлен диагноз вторичного заболевания туберкулезом, увеличилась с 2,0% в 2010 году до 3,8% в 2014 году [14]. Ежедневно в России от сочетанной инфекции ВИЧ + ТБ умирают 62 больных.

Таким образом, ВИЧ и туберкулез представляют собой смертельное сочетание, компоненты которого ускоряют развитие друг друга. Одним из важнейших критериев иммунного ответа организма на различные патогены является экспрессия цитокинов, которая служит важнейшим показателем прогрессирования и исхода заболевания. Инфицирование как ВИЧ, так и ТБ, характеризуется нарушениями в экспрессии цитокинов и хемокинов, что может опосредованно приводить к активации репликации вируса и нарушениям выработки Т-клеток [9, 15–18]. Для проведения эффективной антиретровирусной и противотуберкулезной терапии необходимо изучение цитокинового профиля при двойной инфекции, что позволит понять факторы, определяющие защитный иммунный ответ организма.

Целью работы являлось сравнительное изучение иммунологических показателей при моноинфекции ВИЧ, моноинфекции ТБ и при сочетанной инфекции ВИЧ и ТБ для оценки влияния ВИЧ-инфекции на тяжесть клинических проявлений ТБ.

Материалы и методы

Группа пациентов. Для исследования были отобраны пациенты с двойной инфекцией ВИЧ + ТБ и моноинфекцией ТБ, ранее не получавшие лекарственную терапию и поступившие на лечение в Туберкулезную клиническую больницу № 3 имени Г. А. Захарьина. Пациенты с моноинфекцией ВИЧ, ранее также не получавшие антиретровирусную терапию, состояли на учете в Федеральном центре по профилактике и борьбе со СПИДом. Диагноз ТБ ставился на основании клиничко-рентгенологического, бактериоскопического и бактериологического исследований. Диагноз

ВИЧ-инфекции устанавливался на основании эпидемиологических и клинических данных, подтвержденных серологическим исследованием с помощью ИФА и в иммуноблоте.

Таблица 1
Клиничко-демографические характеристики пациентов

Характеристика, (% , n)	Группы пациентов			
	ВИЧ+ТБ (n=75)	ВИЧ (n=58)	ТБ (n=50)	Доноры (n=73)
Мужчины	67,5%	78,3%	81,1%	78,2%
Возраст:				
Мужчины	35,7 (27÷48)	33,5 (23÷52)	36,9 (28÷52)	34,9 (22÷48)
Женщины	38,6 (29÷71)	41,1 (22÷47)	44,45(32÷60)	37,2 (24÷45)
СП4 ⁺ Т-слетки (кл/мл ³)	187	408	581	978
Вирусная нагрузка (РНК копий/мл)	1 550 008	134 524	—	—

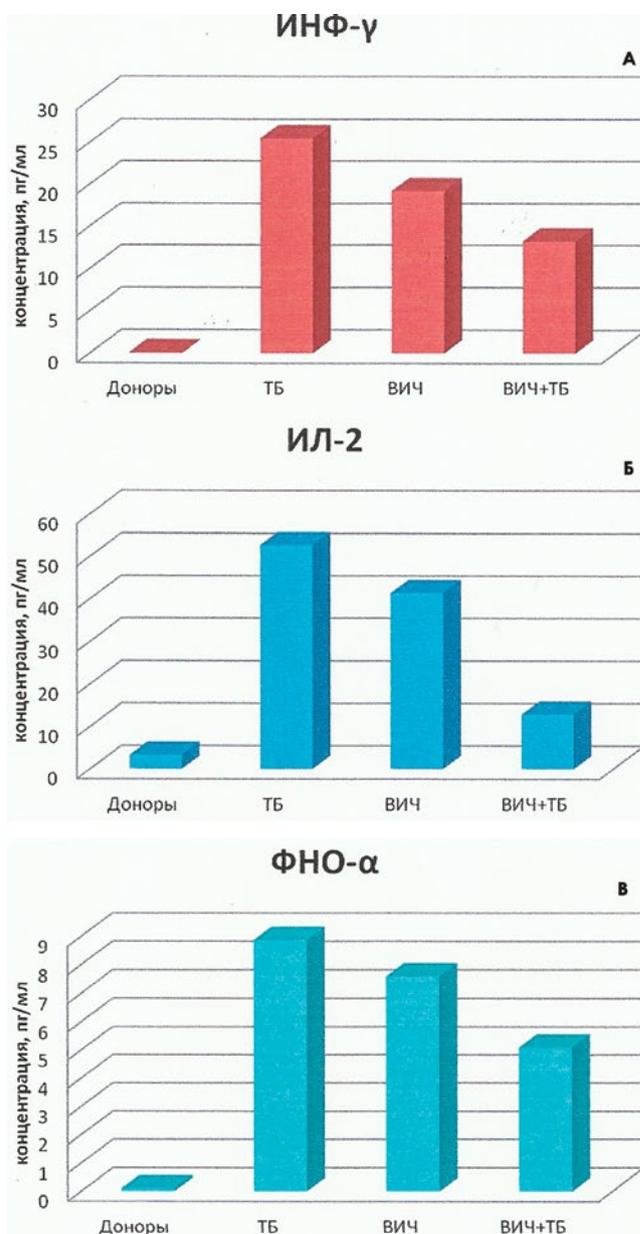


Рисунок 1. Уровень экспрессии цитокинов Th1 класса ИНФ-γ, ИЛ-2 и ФНО-α.

Диагностическая микроскопия мокроты на БК

С целью оценки пригодности для культивирования и идентификации вероятного возбудителя проводили окраску мазков мокроты по Граму. Далее проводили посев на питательные среды. Посевы просматривались ежедневно (максимально восемь недель) до появления колоний.

Подсчет количества CD4⁺ Т-клеток

Число CD4⁺ Т-клеток определялось в проточном цитофлюориметре с использованием фикоэритрина (анти-CD4-PE), FACSort (Becton Dickinson, США).

Определение уровня экспрессии цитокинов

Уровень сывороточной концентрации ИНФ- γ , ИЛ-2, ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10 проводили с помощью иммуноферментного анализа, тест-система «Вектор-Бест» (Россия), чувствительность 0–5 пг/мл. Каждый образец ставился в дубле.

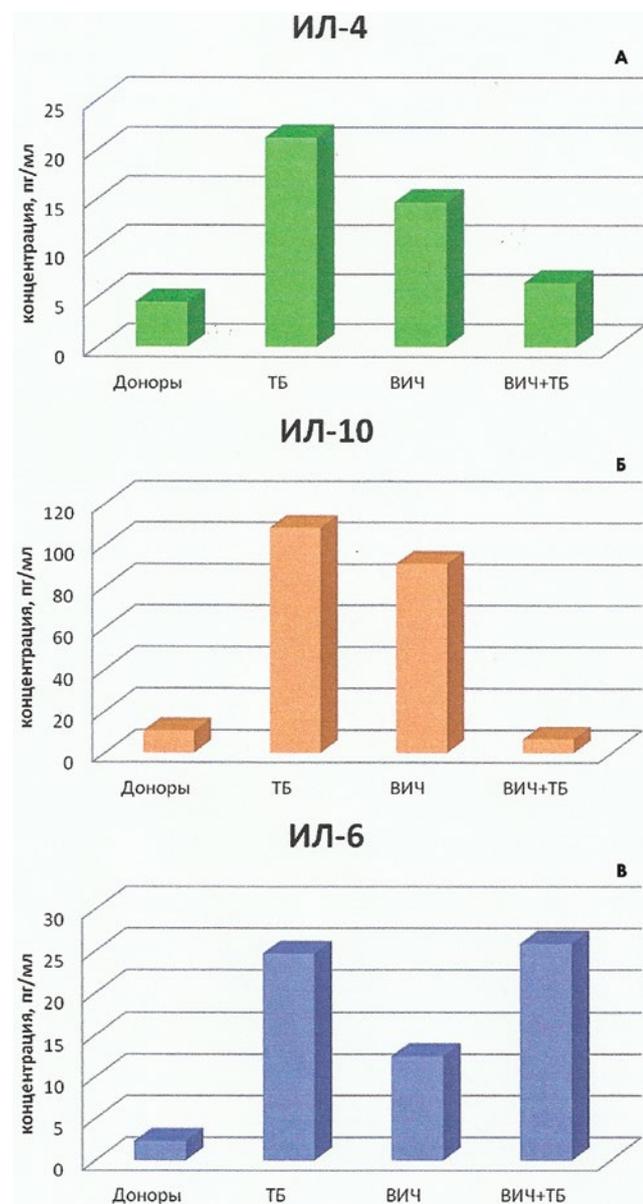


Рисунок 2. Уровень экспрессии цитокинов Th2 класса ИЛ-4, ИЛ-10 и ИЛ-6.

Статистический анализ

Для математической обработки результатов исследования использовалась компьютерная программа BioStat. Достоверность различий определялась по критерию непараметрической статистики Манна-Уитни. Для всех показателей значение $p < 0,05$ считалось достоверным.

Результаты

Были обследованы 85 пациентов с сочетанной инфекцией ВИЧ + ТБ (группа 1), 70 пациентов с моноинфекцией ВИЧ (группа 2), 55 пациентов с моноинфекцией ТБ (группа 3) и 73 здоровых донора (группа 4). Клинико-демографические данные пациентов представлены в табл. 1. Половой и возрастной состав больных во всех исследуемых группах был фактически одинаковым. Во всех группах преобладали мужчины: 67,5% ВИЧ + ТБ, 78,3% ВИЧ, 81,1% ТБ и 78,2% доноров. Медиана CD4⁺ Т-клеток в 1-й, 2-й, 3-й и 4-й группах составила 187, 408, 581 и 978 кл/мл³ соответственно. Показатели вирусной нагрузки у больных ВИЧ + ТБ были значительно выше по сравнению с группой больных с моноинфекцией ВИЧ: 1 550 008 и 134 524 РНК-копий/мл соответственно.

Уровень экспрессии всех цитокинов Th1-класса (ИНФ- γ , ФНО- α , ИЛ-2) у группы больных с сочетанной инфекцией ВИЧ + ТБ и моноинфекцией ВИЧ был снижен по сравнению с аналогичными показателями у больных с моноинфекцией ТБ. При этом у группы больных ВИЧ + ТБ отмечались более низкие концентрации ИНФ- γ по сравнению с группой больных с моноинфекциями ТБ и ВИЧ ($p < 0,02$; $p < 0,02$ соответственно), (рис. 1 А). Также у больных с сочетанной инфекцией ВИЧ + ТБ наблюдался довольно низкий уровень выработки ИЛ-2 по сравнению с группой больных ТБ и ВИЧ-позитивных больных ($p < 0,02$; $p < 0,02$ соответственно) (рис. 1 Б). Концентрация ФНО- α была ниже у пациентов с двойной инфекцией по сравнению с группами больных с моноинфекцией ($p < 0,02$; $p < 0,02$ соответственно) (рис. 1 В). По сравнению с группой здоровых доноров уровень выработки цитокинов Th1-класса у больных ВИЧ + ТБ, ТБ и ВИЧ был выше ($p < 0,01$; $p < 0,01$; $p < 0,01$ соответственно).

У группы больных с двойной инфекцией ВИЧ + ТБ и ВИЧ была отмечена и пониженная экспрессия цитокинов Th2-класса (ИЛ-4, ИЛ-10) по сравнению с группой больных ТБ. Концентрация ИЛ-4 была значительно снижена у группы больных с ВИЧ + ТБ по сравнению с группой больных с ТБ и с ВИЧ ($p < 0,02$; $p < 0,02$ соответственно) (рис. 2 А). Также у больных с двойной инфекцией наблюдался значительно низкий уровень экспрессии ИЛ-10 по сравнению с группами больных с моноинфекциями ($p < 0,02$; $p < 0,02$ соответственно) (рис. 2 Б). При этом концентрация ИЛ-6 была значительно повышена у больных с ВИЧ + ТБ по сравнению с группой больных с ВИЧ ($p < 0,02$) (рис. 2 В). Уровень экспрессии ИЛ-6 у больных ТБ и у больных с ВИЧ + ТБ был фактически на одном уровне ($p < 0,02$). По сравнению с группой здоровых доноров уровень выработки цитокинов ИЛ-4, ИЛ-6 у больных ВИЧ + ТБ, ТБ и ВИЧ был значительно

повышен ($p < 0,01$; $p < 0,01$; $p < 0,01$ соответственно). Уровень экспрессии ИЛ-10 у группы больных с ВИЧ + ТБ по сравнению с группой здоровых доноров был снижен ($p < 0,01$).

Обсуждение

Основной эффекторной функцией цитокина Th1-класса ИНФ- γ является организация иммунного воспаления в местах репликации возбудителя. Индуцируя продукцию хемокинов, он вовлекает цитотоксические лимфоциты, Th1-лимфоциты и макрофаги в очаг воспаления, стимулируя их активность [21]. ИНФ- γ является одним из главных медиаторов защитного иммунитета при ТБ [19, 20]. К примеру, у детей, имеющих мутацию в гене ИНФ- γ -рецептора, большая вероятность заболеть ТБ [22]. Также показано, что сниженная экспрессия ИНФ- γ коррелирует с прогрессированием иммунодефицита и связана с большей подверженностью оппортунистическим инфекциям [23, 24]. Низкий уровень выработки ИНФ- γ приводит к уменьшению дифференциации цитотоксических лимфоцитов и уменьшению активации макрофагов, что ведет к увеличению репликации ВИЧ и прогрессированию ВИЧ-инфекции. В нашем исследовании было показано, что в группах больных с ВИЧ + ТБ, ВИЧ и ТБ экспрессия ИНФ- γ выше по сравнению с группой доноров, что свидетельствует об иммунном ответе организма на вирусную инфекцию (рис. 1 А). В то же время было отмечено значительное снижение уровня ИНФ- γ у больных с сочетанной инфекцией ВИЧ + ТБ по сравнению с группой пациентов с моноинфекцией ВИЧ или ТБ. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей. Так, J. Bordon с соавт. (2011) выявил пониженную сывороточную концентрацию ИНФ- γ у больных с ВИЧ + ТБ [25]. В ряде работ было показано, что после стимуляции мононуклеарных клеток (МНК) митогеном отмечается пониженный уровень выработки ИНФ- γ [17, 26].

Интерлейкин-2 (ИЛ-2) так же, как и ИНФ- γ , играет ключевую роль в иммунном ответе, индуцируя активацию, пролиферацию и дифференциацию цитотоксических лимфоцитов, являющихся сдерживающими факторами в прогрессировании ВИЧ-инфекции и ТБ [27–30]. Нами было показано, что уровень выработки ИЛ-2 у больных с двойной инфекцией значительно снижен по сравнению с группой больных с ВИЧ и с группой больных с ТБ, а также с группой здоровых доноров (рис. 1 Б). Пониженная концентрация ИЛ-2 у больных с сочетанной инфекцией ВИЧ + ТБ подтверждается работами и других исследователей [26, 31]. Вероятно, низкий уровень экспрессии ИЛ-2 у больных с двойной инфекцией по сравнению с больными с моноинфекцией ВИЧ или ТБ может быть результатом истощения CD4⁺-клеток. Скорее всего, у больных с ВИЧ + ТБ нарушена индуцируемая ИЛ-2 пролиферация Т-клеток, которая наблюдается при инфицировании ВИЧ или ТБ.

Фактор некроза опухоли- α (ФНО- α) наряду с ИНФ- γ и ИЛ-2 играет важную роль в иммунопатологии как ВИЧ-инфекции, так и ТБ. Повышенная концентрация ФНО- α отмечается как при ВИЧ-инфекции, так и при активном ТБ, что свидетельствует об активации им-

мунного ответа [23, 32, 33]. Так, нами была отмечена повышенная экспрессия данного цитокина при моноинфекции ВИЧ и моноинфекции ТБ по сравнению с группой доноров (рис. 1 В). Однако при двойной инфекции ВИЧ + ТБ отмечался пониженный уровень выработки ФНО- α по сравнению с группами 2, 3 и 4. Известно, что ФНО- α участвует в образовании гранулем, ограничивающих диссеминацию микобактерий [20, 34]. Вероятно, при ВИЧ-инфекции, которая характеризуется тяжелым иммунодефицитом, организм теряет способность формировать гранулему, способствуя распространению и генерализации ТБ. Очевидно, что сниженная экспрессия ИНФ- γ , ИЛ-2 и ФНО- α у больных с двойной инфекцией ВИЧ + ТБ свидетельствует о подавлении Th1-ответа.

Интерлейкин-4, ИЛ-6 и ИЛ-10, относящиеся к цитокинам Th2-класса, стимулируют гуморальное звено иммунного ответа. ИЛ-4 ингибирует экспрессию на поверхности Т-клеток ко-рецепторов к ВИЧ, снижая возможность проникновения вируса в клетку [35]. Показано, что недостаточная выработка данного цитокина приводит к усилению репликации ВИЧ. ИЛ-10 также играет защитную роль в прогрессировании ВИЧ-инфекции, ингибируя продукцию ИЛ-6, который стимулирует репликацию ВИЧ [36]. Было показано, что *in vitro* повышенная концентрация ИЛ-10 ассоциируется с низкой репликацией ВИЧ [36, 37]. Роль ИЛ-10 при ТБ до конца не изучена, но считается, что ИЛ-10 является ключевым цитокином при инфицировании *M. tuberculosis*, регулирующим баланс между воспалительными процессами и иммунопатологией. Нами был выявлен пониженный уровень экспрессии как ИЛ-4, так и ИЛ-10 у больных с сочетанной инфекцией ВИЧ + ТБ по сравнению с группой больных только с ВИЧ или с ТБ (рис. 2 А и Б). При этом уровень ИЛ-10 у больных с ВИЧ + ТБ был даже ниже, чем у здоровых доноров, что говорит о глубоком поражении иммунной системы.

На фоне пониженной экспрессии ИЛ-4 и ИЛ-10 у больных с двойной инфекцией и моноинфекцией ВИЧ, у больных с ТБ и у больных с ВИЧ + ТБ наблюдались высокие концентрации ИЛ-6 по сравнению с группой ВИЧ-инфицированных больных и доноров (рис. 2 В). Имеются данные, что ИЛ-6 усиливает экспрессию ВИЧ путем трансляционного механизма [38]. Повышенная экспрессия данного цитокина, усиливая репликацию ВИЧ, ведет, в свою очередь, к увеличению вирусной нагрузки, инфицированию еще не зараженных Т-клеток и дальнейшему снижению экспрессии цитокинов Th1-класса. Интерлейкин-6 также уменьшает связывание ФНО- α с макрофагами, что приводит к антагонизации антимицобактериального влияния ФНО- α и, как следствие, утяжелению течения ТБ процесса.

Заключение

Проведенное нами исследование выявило, что при двойной инфекции ВИЧ + ТБ наблюдается подавление как Th1-, так и Th2-иммунного ответа. У больных ТБ, ассоциированным с ВИЧ-инфекцией, пониженная концентрация провоспалительных цитокинов ИНФ- γ ,

ИЛ-2, ФНО- α и противовоспалительного цитокина ИЛ-10, играющего защитную роль при развитии СПИДа, на фоне роста противовоспалительного цитокина ИЛ-6, стимулирующего репликацию ВИЧ, свидетельствует о прогрессировании у этой группы больных ВИЧ-инфекции. Течение ТБ, ассоциированного с ВИЧ-инфекцией, также характеризуется и утяжелением клинических форм ТБ с увеличением числа инфильтративных, фиброзно-кавернозных и диссеминированных форм. При рентгенологическом обследовании видимая деструкция выявляется только при отторжении некротических масс через бронхи, поэтому у больных с инфильтративным ТБ легких на фоне ВИЧ-инфекции могут быть элементы деструктивного распада, не выявляемые рентгенологически, но отражающиеся на иммунном ответе. Таким образом, пониженная экспрессия провоспалительных и регуляторных цитокинов у больных с сочетанной инфекцией ВИЧ + ТБ может служить иммунологическим маркером прогрессирования ВИЧ-инфекции и ТБ, что необходимо учитывать при назначении терапии.

Список литературы

- ВОЗ. Доклад о глобальной борьбе с туберкулезом, 2015.
- UNAIDS. Frequently asked questions about tuberculosis and HIV.
- Corbett E. L., Watt C. J., Walker N. et al. The growing burden of tuberculosis: global trends and interactions with the HIV epidemic. // *Arch. Intern. Med.*— 2003.— Vol. 163.— P. 1009–1021.
- ВОЗ. Туберкулез. Информационный бюллетень №104, март 2016.
- Sonnerberg P., Glynn J. R., Fielding K. et al. How soon after infection with HIV does the risk of tuberculosis start to increase? A retrospective cohort study in South African gold miners. // *J. Infect. Dis.*— 2005.— Vol. 191.— P. 150–158.
- Naidoo Kag., Naidoo Kas., Padayatchi N. et al. HIV-associated Tuberculosis. // *Clin. Dev. Immunol.*— 2011.— P. 1–8.
- Gefahun H., Gunneberg C., Granich R. et al. HIV infection-associated tuberculosis: the epidemiology and the response. // *Clin Infect Dis.*— 2010.— Vol. 50 (Suppl. 3).— P. 201–207.
- Maher D., Harries A., Gefahun H. Tuberculosis and HIV interaction in sub-Saharan Africa: impact on patients and programmes; implications for policies. // *Trop. Medicine and Intern. Health.*— 2005.— Vol. 10, № 8.— P. 734–742.
- Korenromp E. L., Scano F., Williams B. G. et al. Effects of human immunodeficiency virus infection on recurrence of tuberculosis after rifampin-based treatment: an analytical review. // *Clin. Infect. Dis.*— 2003.— Vol. 37, № 1.— P. 101–112.
- Whalen C., Horsburg C. R., Hom D. et al. Accelerated course of human immunodeficiency virus infection after tuberculosis. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1995.— Vol. 151.— P. 129–135.
- Shafer R. W., Edlin B. R. Tuberculosis in patients infected with human immunodeficiency virus: perspective on the past decade. // *Clin. Infect. Dis.*— 1996.— Vol. 22.— P. 683–704.
- Доклад ЮНЭЙДС о глобальной эпидемии СПИДа, 2013.
- ВИЧ-инфекция. Информационный бюллетень № 40. Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом, 2015.
- Шилова М. В. Туберкулез в России в 2014 году.— М.: Издательство «Перо».— 2015.— 240 С.
- Lienhardt C., Azzurri A., Fielding K. et al. Active tuberculosis in Africa is associated with reduced Th1 and increased Th2 activity in vivo. // *Eur. J. Immunol.*— 2002.— Vol. 32.— P. 1605–1613.
- Toossi Z., Johnson J. L., Kanost R. A. et al. Increased replication of HIV-1 at sites of Mycobacterium tuberculosis infection: potential mechanisms of viral activation. // *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.*— 2001.— Vol. 14.— P. 1–8.
- Hertoghe T., Wajja A., Ntambi L. et al. T cell activation, apoptosis and cytokine dysregulation in the (co) pathogenesis of HIV and pulmonary tuberculosis (TB). // *Clin. Exp. Immunol.*— 2000.— Vol. 14.— P. 350–357.
- Appay V., Sauce D. Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences. // *J. Pathol.*— 2008.— Vol. 214.— P. 231–241.
- Schluger N. W., Rom W. N. The host immune response to tuberculosis. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1998.— Vol. 157.— P. 679–691.
- Flynn J. L., Chan J., Triebold K. J. et al. An essential role for interferon gamma in resistance to Mycobacterium tuberculosis infection. // *J. Exp. Med.*— 1993.— Vol. 178.— P. 2249–2254.
- Макашева Е. В., Конанчук О. Н., Морозова Е. В., Панасенко А. В. Изучение цитокинов в крови больных туберкулезом, ассоциированным с ВИЧ-инфекцией. // *Ж. Инфектологии.*— 2009.— Том 1, № 2/3.— С. 31–35.
- Newport M. J., Huxley C. M., Huston S. et al. A mutation in the interferon-gamma receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. // *N. Engl. J. Med.*— 1996.— Vol. 335.— P. 1941–1949.
- Oh M. D., Kang U. S., Kim N. J. et al. Cytokine responses induced by Mycobacterium tuberculosis in patients with HIV-1 infection and tuberculosis. // *Int. J. Infect. Dis.*— 2005.— Vol. 9, № 2.— P. 110–116.
- Salvaggio A., Balotta C., Galli M., Clerici M. CD4 count in HIV infection is positively correlated to interferon-gamma and negatively correlated to interleukin-10 in vitro production. // *AIDS*— 1996.— Vol. 10.— P. 449–451.
- Bordon J., Plankey M. W., Young M. et al. Lower levels of interleukin-12 precede the development of tuberculosis among HIV-infected women. // *Cytokine.*— 2011.— Vol. 56, № 2.— P. 325–331.
- Zhang M., Gong J., Iyer D. V. et al. T cell cytokine responses in persons with tuberculosis and human immunodeficiency virus infection. // *J. Clin. Invest.*— 1994.— Vol. 94.— P. 2435–2442.
- Subramanyam S., Hanna L. E., Venkatesan P. et al. HIV alters plasma and M. tuberculosis-induced cytokine production in patients with tuberculosis. // *J. Interferon Cytokine Res.*— 2004.— Vol. 24.— P. 101–106.
- Green A. M., Difazio R., Flynn J. L. INF -gamma from CD4 T cells is essential for host survival and enhances CD8 T-cell function during Mycobacterium tuberculosis infection. // *J. Immunol.*— 2013.— Vol. 190.— P. 270–277.
- North R. J., Jung Y. J. Immunity to tuberculosis. // *Annu. Rev. Immunol.*— 2004.— Vol. 22.— P. 599–623.
- Van Crevel R., Ottenhoff T. H. M., van der Meer J. W. M. Innate immunity to Mycobacterium tuberculosis. // *Clin. Microbiol. Rev.*— 2002.— Vol. 15.— P. 294–309.
- Benjamin R., Banerjee A., Sunder S. R. et al. Discordance in CD4+T-cell levels and viral loads with co-occurrence of elevated peripheral TNF- α and IL-4 in newly diagnosed HIV-TB co-infected cases. // *PLoS ONE* 8 (8): e70250.
- Silva T. P., Giacoia-Gripp C. B. W., Schmaltz C. A. et al. T cell activation and cytokine profile of tuberculosis and HIV-positive individuals during antituberculosis treatment and efavirenz-based regimens. // *PLoS ONE.*— 2013.— 8 (6): e66095.
- Lawn S. D., Butera S. T., Folks T. M. Contribution of immune activation to the pathogenesis and transmission of human immunodeficiency virus type 1 infection. // *Clin. Microbiol. Rev.*— 2001.— Vol. 14.— P. 753–777.
- Kindler V., Sappino A. P., Grau G. E. et al. The inducing role of tumor necrosis factor in the development of bactericidal granulomas during BCG infection. // *Cell.*— 1989.— Vol. 56.— P. 731–740.
- Herbein G., Varin A. The macrophage in HIV-1 infection: from activation to deactivation? // *Retrovir.*— 2010.— Vol. 7, № 33.— DOI: 10.1186/1742-4690-7-33.
- Lama J., Planelles V. Host factors influencing susceptibility to HIV infection and AIDS progression. // *Retrovir.*— 2007.— Vol. 4, № 52.— P. 52–77.
- Arias J. F., Nishihara R., Bala M., Ikuta K. High systemic levels of interleukin-10, interleukin-22 and C-reactive protein in Indian patients are associated with low in vitro replication of HIV-1 subtype C viruses. // *Retrovir.*— 2010.— Vol. 7, № 15.— P. 1–15.
- Poli G., Bressler P., Kinter A. et al. Interleukin-6 induces human immunodeficiency virus expression in infected monocytic cells alone and in synergy with tumor necrosis factor alpha by transcriptional and post-transcriptional mechanisms. // *J. Exp. Med.*— 1990.— Vol. 172.— P. 151–158.



Наборы реагентов

» для количественного определения цитокинов методом ИФА

№ по каталогу	определяемый цитокин	чувствительность анализа	диапазон измерений
A-8752	Гамма-Интерферон – ИФА – БЕСТ	2 пг/мл	0-1000 пг/мл
A-8754	Интерлейкин-4 – ИФА – БЕСТ	0,4 пг/мл	0-100 пг/мл
A-8756	Альфа-ФНО – ИФА – БЕСТ	1 пг/мл	0-250 пг/мл
A-8758	Альфа -Интерферон – ИФА – БЕСТ	5 пг/мл	0-500 пг/мл
A-8760	Интерферон-аутоиммунные антитела – ИФА – БЕСТ	0,4 нг/мл	0-100 нг/мл
A-8762	Интерлейкин-8 – ИФА – БЕСТ	2 пг/мл	0-250 пг/мл
A-8766	Интерлейкин-1 бета – ИФА – БЕСТ	1 пг/мл	0-250 пг/мл
A-8768	Интерлейкин-6 – ИФА – БЕСТ	0,5 пг/мл	0-300 пг/мл
A-8770	Интерлейкин-18 – ИФА – БЕСТ	2 пг/мл	0-1000 пг/мл
A-8772	Интерлейкин-2 – ИФА – БЕСТ	2 пг/мл	0-500 пг/мл
A-8774	Интерлейкин-10 – ИФА – БЕСТ	1 пг/мл	0-500 пг/мл
A-8776	Эритропоэтин – ИФА – БЕСТ	0,5 мМЕ/мл	0-200 мМЕ/мл

Срок хранения наборов – 18 месяцев

ЗАО «Вектор-Бест»

630117, Новосибирск-117, а/я 492
тел./факс: (383) 227-73-60, 332-81-34, 332-67-49, 332-67-52
E-mail: vbmarket@vector-best.ru
www.vector-best.ru

Представительства:

Москва: (495) 710-76-96
Санкт-Петербург: (812) 495-55-99
Ростов-на-Дону: (863) 295-15-61
Екатеринбург: (343) 372-90-50

Уфа: (347) 246-23-34
Хабаровск: (4212) 335-946
Нижний Новгород: (831) 270-48-53
Киев: (10 380 44) 220-04-04



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

План мероприятий, проводимых Российской ассоциацией медицинской лабораторной диагностики в 2017 году

Конференции и выставки

15–16 марта

Научно-практический образовательный форум «Современные инновационные технологии в лабораторной медицине: клиническая эффективность и возможности внедрения в лабораторную практику» и специализированная выставка «Клиническая лаборатория — 2017». Место проведения: г. Самара. Организатор: РАМЛД.

26–27 апреля

Научно-практический образовательный форум «Современная лабораторная медицина: фундаментальные основы, инновационные и передовые технологии, импортзамещение» и специализированная выставка «Диагностика — 2017». Место проведения: г. Астрахань. Организатор: РАМЛД.

01–02 июня

Научно-практический образовательный форум «Новые инновационные, наукоемкие лабораторные технологии и тест-системы как вектор прогресса в клинической практике» и специализированная выставка «МедЛабТех — 2017». Место проведения: г. Севастополь. Организатор: РАМЛД.

06–07 сентября

Научно-практический образовательный форум «Современная лабораторная медицина: инновационные технологии лаборатор-

ного анализа и новые возможности их клинического применения» и специализированная выставка «Лабмедицина — 2017». Место проведения: г. Барнаул. Организатор: РАМЛД.

25–26 октября

Научно-практический образовательный форум «Инновационная лабораторная медицина: новые клинико-диагностические решения и современные аналитические технологии» и специализированная выставка «Лабораторная медицина — 2017». Место проведения: г. Уфа. Организатор: РАМЛД.

22–23 ноября

Научно-практический образовательный форум «Диагностическая лаборатория — клиника: значимость инновационных и традиционных лабораторных тестов» и специализированная выставка «Лаборатория — 2017». Место проведения: г. Иваново. Организатор: РАМЛД.

Российская ассоциация медицинской лабораторной диагностики:

119526, Россия, Москва, а/я 117
E-mail: ramld@ramld.ru.



В. В. Дорофейков

Новый подход к стандартизации результатов определения D-димера с использованием универсальных контрольных материалов

В. В. Дорофейков, д. м. н., проф. зав. кафедрой биохимии^{1,2}

М. И. Кадинская, к. м. н., зав. лабораторией клинической гемостазиологии, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины⁴

С. В. Мыльников, к. б. н., доцент⁵

Т. И. Опарина, к. б. н., с. н. с.³

В. Ю. Седихин, врач клинической лабораторной диагностики³

В. Л. Эмануэль, д. м. н., проф. зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, директор научно-методического центра молекулярной медицины⁴

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

²ФБГУЗ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта», г. Санкт-Петербург

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

⁵ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург

New approach to standardization of D-dimer estimation using universal control materials

V. V. Dorofeykov, M. I. Kadinskaya, S. V. Mylnikov, T. I. Oparina, V. Y. Sedikhin, V. L. Emanuel

National State University of Physical Culture, Sports and Health n.a. P. F. Lesgaft; North-West Federal Medical Research Centre n.a. V. A. Almazov; Research Institute for Obstetrics and Gynecology n.a. D. O. Ott; First Saint Petersburg State Medical University n.a. I. P. Pavlov; Saint Petersburg State University; Saint Petersburg, Russia

Резюме

Главной проблемой в определении D-димера в плазме крови является практически полное отсутствие стандартизации как на этапе производства лабораторного оборудования, так и на этапе производства реагентов, калибраторов тест-систем, а также контрольных материалов. В двух циклах межлабораторных сравнений (100 лабораторий) коэффициент межлабораторной вариации достигал 80%. Предлагаемый производителями реактивов для каждой лаборатории метод набора нормальных значений в популяции является неприемлемым вследствие трудоемкости такой работы и ее высокой стоимости. Целью работы было сравнение результатов лабораторного определения D-димера в образцах плазмы реактивов пациентов и в контрольных материалах с использованием автоматизированных методов анализа для повышения точности определения этого аналита в клинической практике без набора референсных значений для групп здоровых лиц разного возраста и пола. Материалы и методы. Провели сравнительный анализ результатов определения D-димера в плазме крови здоровых доноров и пациентов, находящихся на лечении в НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта и в клиниках СПбГМУ имени академика И. П. Павлова. Результаты. Предложен математический метод recalibration приборов (методов) для сопоставления результатов определения D-димера с исследованием двух уровней (низкого и высокого) универсального контрольного материала. Установили, что целесообразно производить recalibration (умножать на коэффициент сопоставимости) результатов определения D-димера в плазме крови пациентов, полученных оцениваемым методом исследования, при значительном отклонении коэффициента сопоставимости от значения 1,0.

Ключевые слова: D-димер, аналитическое качество, стандартизация результатов.

Summary

The main problem in the D-dimer estimation in plasma is the almost complete lack of standardization at the production stage of laboratory equipment and reagents, calibrators, test systems, and control materials. In two cycles of interlaboratory comparisons (100 laboratories were included in the study) interlaboratory coefficient of variation reached 80%. Method of determining normal values for the population, offered by manufacturers of reagents for each laboratory, is unacceptable due to the complexity of this work and its high cost. The aim of this study was to compare laboratory D-dimer determination in plasma samples of patients and control materials with the use of automated analysis techniques to improve the accuracy of the determination of this analyte in clinical practice without a set of reference values for groups of healthy individuals of different age and gender. Materials and methods: comparative analysis of results of D-dimer determination in plasma of healthy donors and patients undergoing treatment at the Institute of obstetrics, gynecology and reproductology n.a. D. O. Ott and clinics of the Medical university n.a. acad. I. P. Pavlov (St. Petersburg). Results: mathematical method of recalibration of laboratory equipment (methods) to compare the results of the D-dimer determination with two levels (low and high) of universal control material was proposed. It was determined that it is advisable to make the recalibration (multiply by a factor of comparability) of the results of D-dimer determination if there is a significant deviation of the coefficient of correlation from the value of 1.0.

Key words: D-dimer, analytical quality, standardization of results.

Главной проблемой в определении D-димера в плазме крови является практически полное отсутствие стандартизации как на этапе производства лабораторного оборудования, так и на этапе производства реагентов, калибраторов тест-систем, а также контрольных материалов. Более того, даже единицы, в которых выражают концентрацию этого анализата, существуют двух типов — DDU и FEU, что также усложняет трактовку результатов определения D-димера врачами-лаборантами и клиницистами [1]. В дальнейшем мы будем придерживаться единиц DDU, как это рекомендует Федеральная система внешней оценки качества (ФСВОК) лабораторных исследований Российской Федерации. Для того чтобы оценить масштаб проблемы несогласованности результатов определения D-димера в клинико-диагностических лабораториях (КДЛ) нашей страны, приведем результаты обоих циклов ФСВОК за 2013 год. В межлабораторном сравнении в России приняли участие 100 лабораторий (циклы 1 и 2), коэффициент межлабораторной вариации составил в первом цикле 84,27%, а во втором — 77,33%. В первом цикле за 2014 год при целевом значении D-димера 2287 нг/мл диапазон допустимых значений (целевое значение $\pm 1,64 s$) составил от 734 до 7126 нг/мл, а коэффициент межлабораторной вариации — 69,3%! Для сравнения: при определении глюкозы в том же цикле ФСВОК коэффициент межлабораторной вариации составил 7,8%, то есть был почти в десять раз меньше. Важно отметить, что при отсутствии стандартизованных контрольных материалов для D-димера производители реактивов для лабораторий предлагают каждой КДЛ набирать свой уровень нормальных значений в популяции, что является абсолютно неприемлемым для подавляющего большинства, если не всех клинико-диагностических лабораторий России вследствие трудоемкости такой работы и ее высокой стоимости. Важно подчеркнуть и высокую вариабельность показателя у разных возрастных групп

населения и у беременных женщин, концентрация D-димера в плазме крови которых может возрастать по мере приближения к родам [2–3, 6]. Как и для других нестандартизированных тестов, фирмы-производители оборудования и реактивов также рекомендуют использовать референсные значения (границы нормы), исходя из значений, приведенных в инструкциях к наборам реактивов (то есть по результатам исследования показателя в здоровой популяции самой фирмой). Таким образом, участие каждой лаборатории в системе внешней оценки качества определения D-димера крайне важно. Проблема нестандартизованности усугубляется и тем, что в последние годы и по настоящее время федеральный контроль качества лабораторных исследований проводится только два раза в год, что не позволяет КДЛ оперативно реагировать при переходе на использование коммерческих реактивов для определения D-димера другого производителя. Кроме того, результаты ФСВОК только свидетельствуют о том или ином уровне отклонения от целевого значения, но не дают решения, как уменьшить систематическую ошибку в определении анализата для нестандартизованных показателей, к которым относятся и D-димер. Проблема эта не решена в Европейском союзе и США [2].

Группа исследователей из Санкт-Петербурга и Швеции в 2007 году предложила решить проблему стандартизации лабораторных исследований с помощью оригинального подхода, сущность которого заключалась в том, что проводили межлабораторное сравнение результатов анализа пациентов с низкими и высокими значениями анализата с последующим внесением изменений в калибровку приборов (процедура рекалибровки) [4].

Особенностью данного подхода к стандартизации тестов является использование не контрольного материала, а замороженной сыворотки пациентов, требующей специальных условий для транспортировки из одной лаборатории в другие. Авторы использовали межлабора-

торное сравнение в одном регионе, а в качестве референсной использовали одну из лабораторий-участниц такого сравнения (наиболее хорошо оснащенную КДЛ). Затем по результатам тестирования проводили рекалибровку других приборов, приводя их в соответствие с результатами референсной лаборатории. Таким образом, разработанный авторами оригинальный способ не вполне подходит для определения такого нестандартизованного показателя, как D-димер, возможно, даже может ухудшить качество анализа в одной конкретно взятой лаборатории. Кроме того, использование данного подхода технически сложно и малоприменимо в рутинной практике при проверке качества каждого нового набора реагентов для определения D-димера, так как требует затраты более 14 тестов из исследуемого набора, который содержит обычно 96 лунок для анализа в случае использования техники иммуноферментного анализа (ИФА) или 100 тестов в составе автоматизированных методов. С учетом обычной калибровки (два раза по 4–6 тестов) и постановки двух-трех-уровневого контроля это приводит к удорожанию одного анализа на 17–20%, что при средней стоимости анализа на D-димер в России 900–1 200 рублей (цены 2016 года) составляет не менее 200–300 рублей в расчете на один анализ.

Целью нашей работы было сравнение лабораторного определения D-димера в образцах плазмы крови пациентов и в контрольных материалах с использованием автоматизированных лабораторных методов для повышения точности и улучшения стандартизованности определения этого анализата в клинической практике рутинных исследований без набора референсных значений для групп здоровых лиц разного возраста и пола.

Материалы и методы

Был проведен сравнительный анализ результатов определения D-димера в плазме крови здоровых доноров и пациентов, находящихся

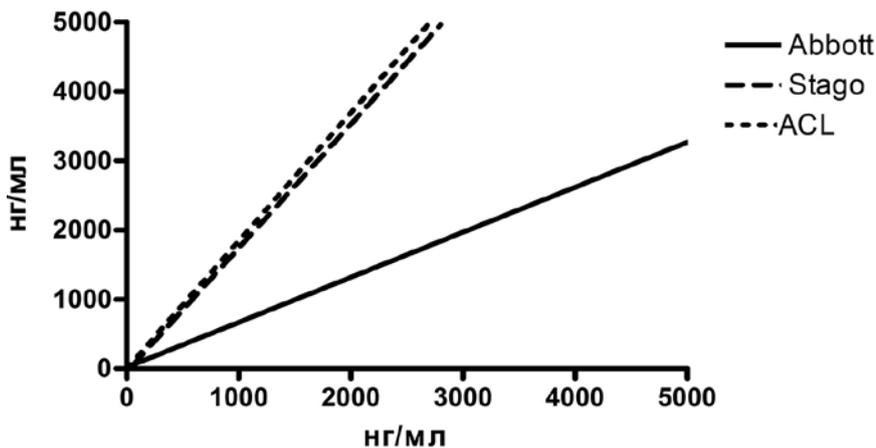


Рисунок 1. Зависимость (регрессия) концентрации D-димера в контрольных материалах фирмы Bio-Rad, определенной на Sysmex CS-2000i (ось Y) от концентрации, определенной на автоматических анализаторах Abbott, Stago, ACL Elite Pro.

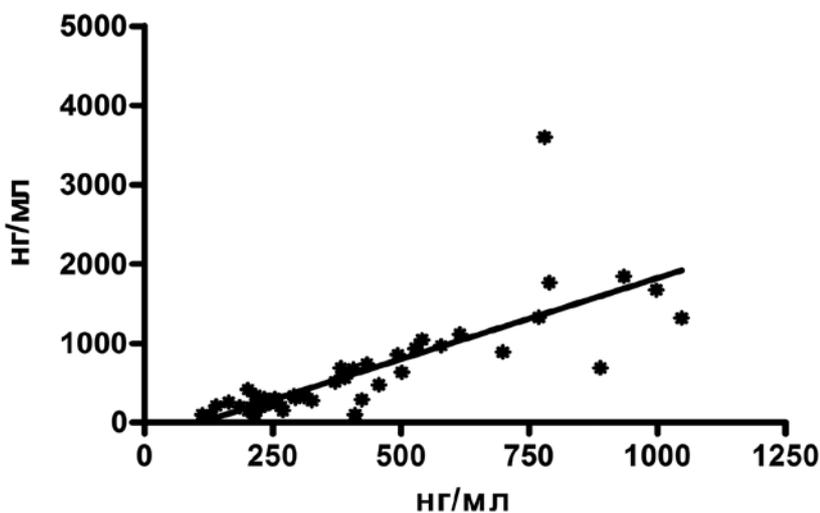


Рисунок 2. Регрессия концентрации D-димера в плазме крови пациентов, определенной на Sysmex CS-2000i по концентрации анализа, определенной на автоматическом анализаторе ACL Elite Pro.

на лечении в НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта и в клиниках СПбГМУ имени академика И. П. Павлова, произведена оценка контрольных материалов, аттестованных на D-димер, производства фирм Instrumentation Laboratory (США), Siemens (Германия), Abbott (США), Radiometer (Дания), Bio-Rad (США) с использованием автоматических анализаторов ACL Elite Pro (в дальнейшем в тексте ACL), Sysmex CS-2000i (Япония) и AQT90 Flex (Дания) соответственно. Определение D-димера проводили в день забора крови, центрифугированные образцы плазмы транспортировали при +4 °C не более 120 минут до на-

чала выполнения аналитического этапа лабораторного исследования. Результаты измерений содержания D-димера у пациентов обрабатывали методами вариационной статистики, включавшими расчеты ковариаций и дисперсий измеряемых признаков [5]. Поскольку иммунонефелометрические методы определения анализа имеют нижний предел определения D-димера 120–180 нг/мл, образцы пациентов со значениями ниже указанной величины в статистический анализ не включали. Включение таких результатов в статистический анализ, по нашему мнению, может приводить к неправильной трактовке результатов авторами исследований,

которые проводили сравнения результатов с использованием количественных методов определения D-димера на разных приборах [6].

Результаты

В результате предварительных исследований нами был сделан вывод о необходимости использования контрольного материала, подходящего для всех используемых в настоящее время методов определения D-димера, то есть полученного с использованием материала из плазмы крови человека. Как показали результаты определения D-димера в контрольных материалах производства Siemens, IL, Radiometer, такие материалы производителей реактивов для определения D-димера представляют собой фрагменты антигена (молекулы) D-димера, а не нативную молекулу. Такой подход повышает стабильность контрольного материала и специфичность определения анализа, но не позволяет использовать контрольный материал в тест-системах других производителей. В результате сравнений контрольных материалов разных производителей нами было обнаружено, что аттестованные контрольные материалы фирмы Bio-Rad имеют несколько уровней концентрации анализа от низкого до высокого (четвертого уровня), определяются на всех автоматических анализаторах известных производителей из США, Японии, Германии и Дании (данные представлены на рис. 1). Результаты такого сопоставления определения D-димера показали высокую корреляцию между использованными методами, но значительную разницу в абсолютных значениях анализа (см. ниже). В качестве референсного метода нами был выбран метод определения D-димера на анализаторах фирмы Sysmex, хотя возможно использование и другого метода исследования в этом качестве. Наш выбор был обусловлен широкой известностью и распространенностью оборудования Sysmex в клиничко-диагностических лабораториях всего мира и России, высокими аналитическими характеристиками ре-

Таблица 1

Коэффициенты сопоставимости (рекалибровки) для анализаторов разных фирм-производителей по сравнению с выбранным референсным методом Sysmex (Япония)

	Abbot (США)	Stago (Франция)	ACL (США)	AQT90 flex (Дания)
По сравнению с Sysmex CS-2000i (Япония)	0,65	1,80	1,85	1,12

активов и оборудования указанной фирмы, огромным массивом данных по определению D-димера у здоровых и больных, а также беременных женщин в научной зарубежной и российской периодике [7, 8, 9].

В результате анализа полученных результатов сопоставления определения D-димера в контрольных материалах Bio-Rad нами был предложен математический метод рекалибровки приборов (методов) для сопоставления результатов определения D-димера с исследованием двух уровней (низкого и высокого) контрольного материала [10]. Для повышения надежности определение концентрации D-димера в каждом уровне контрольного материала Bio-Rad проводили не менее двух раз с вычислением среднего арифметического. По предложенной формуле определяли коэффициент сопоставимости оцениваемого и выбранного референсного методов:

$$CC = (\bar{Y}_{\text{high}} - Y_{\text{low}}) / (X_{\text{high}} - X_{\text{low}}), \text{ где:}$$

- CC — коэффициент сопоставимости;
 X_{high} — среднее арифметическое значение D-димера в контрольном материале высокого уровня, полученное оцениваемым методом;
 X_{low} — среднее арифметическое значение D-димера в контрольном материале низкого уровня, полученное оцениваемым методом;
 Y_{high} — среднее значение D-димера в контрольном материале высокого уровня, полученное выбранным референсным методом;
 Y_{low} — среднее значение D-димера в контрольном материале низкого уровня, полученное выбранным референсным методом.

Если коэффициент сопоставимости находится в пределах 0,9–1,1 (то есть в пределах погрешности лабораторного теста), то это свидетельствует о близости результатов исследуемого и референсного методов определения аналита. Целесообразно производить рекалибровку

(умножать на коэффициент сопоставимости) результатов определения D-димера в плазме крови пациентов, полученных оцениваемым методом исследования, при значительном отклонении коэффициента сопоставимости от значения 1,0.

Приведем результаты сопоставления и рекалибровки определения D-димера в контрольных материалах конкретных лотов D-dimer Control, Level 1, 2, 3. Измеряли концентрацию D-димера в контрольной сыворотке производства фирмы Bio-Rad D-dimer Control, Level 1, 2, 3 Lot 13780 второго уровня (Level 2, 13782, exp. 31.03.2016) на автоматическом коагулометре ACL фирмы IL, реактивы HemosIL D-dimer. Получили значения 750 и 764 нг/мл. Среднее составляет 757 нг/мл. Процедуру повторили для контрольной сыворотки третьего уровня (Level 3, Level 13783 exp. 31.03.2016). Получили значения 1 445 и 1 423 нг/мл. Среднее арифметическое значение определения аналита составляет 1 434 нг/мл. Измеряли концентрацию D-димера в тех же образцах контрольных сывороток на автоматическом анализаторе фирмы Sysmex CS-2000i (Япония) с использованием рекомендованных реактивов Siemens / Sismex Series D-dimer (выбранный референсный метод). Получили значения 1 380 и 1 410 нг/мл. Среднее арифметическое составляет 1 395 нг/мл. Процедуру повторили для контрольной сыворотки третьего уровня. Получили значения 2 630 и 2 660 нг/мл. Среднее значение определения составляет 2 645 нг/мл.

Провели расчет по представленной формуле:

$$CC = (2645 - 1395) / (1434 - 757) = 1250 / 677 = 1,85$$

Таким образом, значения определения D-димера существенно отличаются при определении на этих двух

приборах. Полученный коэффициент сопоставимости (рекалибровки) составил 1,85.

Этот коэффициент использовали для определения концентрации D-димера в крови у пациентов. В плазме крови пациента А (от 14.02.2014) концентрация D-димера при измерении на анализаторе ACL составила 494 нг/мл. При умножении на поправочный коэффициент получено значение 914 нг/мл. Реальное измерение на анализаторе Sysmex CS-2000i дало значение 855 нг/мл (отклонение значений аналита составляет 9,4% по сравнению с 58% до процедуры рекалибровки).

Результаты нашей работы с контрольными материалами проверили в параллельном исследовании определения D-димера в плазме крови у пациентов (n = 70) на анализаторах ACL и Sysmex CS-2000i». Корреляционный анализ результатов определения D-димера по базе пациентов дает сходные результаты с моделированием по контрольным материалам с использованием коэффициента сопоставимости, если показания анализатора ACL Elite Pro находятся в рекомендованном диапазоне определения на том или ином приборе (200–1 500 нг/мл для анализатора ACL без разведения образцов пациентов). Средние значения D-димера для 70 пациентов оказались наиболее высокими на анализаторах Sysmex (при коэффициенте вариации $14,8 \pm 1,6\%$) и ACL (при коэффициенте вариации $11,2 \pm 1,1\%$). Отметим, что, по данным трех циклов ФСВОК за 2013–14 годы, метод ИФА, используемый в КДЛ НИИ имени Д. О. Отта, показал самый высокий коэффициент вариации теста ($18,7 \pm 2,0\%$). Сопоставление определения D-димера у пациентов представлено на рис. 2: на анализаторах ACL (по оси аб-

диссе) и Sysmex (по оси ординат показания анализатора Sysmex CS-2000i). В табл. 1 представлены коэффициенты сопоставимости (рекалибровки) для анализаторов разных фирм-производителей по сравнению с выбранным референсным методом Sysmex.

Дискуссия

Рассуждая о преимуществах и недостатках автоматизированного иммунофелометрического и иммуноферментного методов определения D-димера, мы считаем важным отметить следующее. Долгое время преимущественное использование иммуноферментного метода анализа (ИФА) для определения D-димера объяснялось низкой себестоимостью теста и отсутствием необходимости в дорогостоящем оборудовании. Кроме того, нужно отметить высокую чувствительность метода, возможность получать количественный результат при низких концентрациях аналита. Главными недостатками ИФА является зависимость качества результатов выполнения анализов от человеческого фактора (квалификация, тщательность, опыт работы, настроение оператора), зависимость от температуры и других физических факторов в лабораторном помещении, длительность выполнения теста, то есть неоперативность (обычно не менее трех часов), необходимость замораживания проб для экономической целесообразности тестирования при небольшом потоке анализов. Кроме того, необходимо отметить, что при высоких значениях D-димера, выходящих за пределы линейности, выдача ответа КДЛ откладывается как минимум еще на три часа, а часто в случае окончания рабочего дня сотрудников лаборатории происходит на следующий день. Лаборатории, использующие автоматизированный иммунофелометрический метод при наличии включенного и откалиброванного прибора обычно выдают ответ на D-димер в течение 20–30 минут, а при необходимости разведения в случае высоких значений — в течение 60 минут

от момента постановки образца на борт анализатора. Большинство современных автоматических анализаторов способны автоматически разводить образцы крови пациентов по заданной программе, не отвлекая оператора от выполнения других задач, а экспресс-анализатор AQT90 flex способен определять D-димер как в плазме, так и в цельной крови, не требуя центрифугирования. Необходимо отметить, что иммунофелометрический метод постоянно совершенствуется производителями оборудования и реактивов, появляются «высокочувствительные» методики, снижающие нижнюю границу количественного определения менее 120 нг/мл (DDU). Указанные соображения привели к тому, что, по результатам международных внешних систем контроля качества, количество лабораторий, использующих ИФА для определения D-димера, по всему миру резко сокращается от года к году. Например, в системе внешней оценки качества EQAS — Bio-Rad КДЛ, использующие ИФА для определения указанного аналита, попадают в группу методов «другие», а их количество не превышает пяти в течение года по сравнению со многими десятками лабораторий, использующих автоматизированные иммунофелометрические методы.

В заключение нужно отметить, что предложенный авторами математический метод рекалибровки приборов не претендует на полное решение нестандартизованности тестов по определению D-димера. Авторы хорошо понимают всю сложность задачи определения такого белкового комплекса, который является нестабильным как в цельной крови *in vivo*, так и в цитратной плазме. Однако предложенный подход позволит всем КДЛ, используя доступные контрольные материалы, уменьшить масштаб систематической ошибки, а при переходе на новые лоты реагентов или другой метод определения D-димера оперативно оценить получаемые результаты, не дожидаясь результатов очередного цикла ФСВОК.

Список литературы

1. Adam S. S., Key N. S., Greenberg C. S. D-dimer antigen: current concepts and future prospects. // *Blood*.— 2009.— Т. 113.— № 13: 2878–2887.
2. Frauke Bergmann, Nadine Pingel, Andreas Czwalinna and Matthias Koch. D-Dimer in normal pregnancy: determination of reference values for three commercially available assays. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2014. [www.degruyter.com/dg/viewarticle/jj\\$002fcclm.ahead-of-print\\$002fcclm-2014-0054\\$002fcclm-2014-0054.xml;jsessionid=4B436D6A2ED57A968121ECAA0E-CEFA5E7](http://www.degruyter.com/dg/viewarticle/jj$002fcclm.ahead-of-print$002fcclm-2014-0054$002fcclm-2014-0054.xml;jsessionid=4B436D6A2ED57A968121ECAA0E-CEFA5E7).
3. Зайнулина М. С., Корнюшина Е. А., Глотов А. С., Степанян М. Л., Бикмулина Д. Р., Шабанова Н. А. Тромбофилии в акушерской практике. Методические рекомендации. СПб.: Н-Л, 2009: 56 с.
4. Хоровская Л. А. Внутренний контроль качества и процедуры рекалибровки с использованием биоматериала пациента. Пособие для врачей. Под ред. А. Каллнера и В. Л. Эмануэля. — СПб. Изд-во СПбГМУ, 2007: 67с.
5. Мильников С. В. Азы Биометрии. СПб 2007 Изд-во НЛ 2007: 56 с.
6. Силина Н. Н., О. Г. Головина, О. А. Смирнова, А. Е. Николаева, Л. П. Папаян. Сопоставление результатов определения уровня D-димера различными методами у женщин с нормально протекающей беременностью. // *Журнал акушерства и женских болезней*. 2011. Т. LX (вып. 6): 74–79.
7. Воробьева Н. М., Добровольский А. Б., Титаева Е. В., Панченко Е. П. Тромбоэмболические осложнения и диагностическая значимость D-димера при сердечно-сосудистых заболеваниях: ретроспективное исследование 1000 пациентов. *Кардиологический вестник*. 2011. № 2: 10–16.
8. W. S. Chan, A. Lee, A. Spenser, S. Chunilal, M. Crowther, W. Wu, M. Johnston, M. Rodger and J. S. Ginsberg. D-dimer testing in pregnant patients: towards determining the next 'level' in the diagnosis of deep vein thrombosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*.— 2010, 8: 1004–1011.
9. A. A. Khalafallah, M. Morse, A. Al-Barzan, M. Adams, A. Dennis, G. Bates, I. Robertson, D. Seaton, T. Brain. D-Dimer levels at different stages of pregnancy in Australian women: A single centre study using two different immunoturbidimetric assays. *Thrombosis Research* 2012.— V. 130, 3: 171–177.
10. Дорофейков В. В., Опарина Т. И., Мильников С. В. Способ оценки качества определения D-димера в плазме крови в условиях клинико-диагностической лаборатории. Патент РФ № 2572226 по заявке на изобретение № 2014137237/15 от 15.09.2014. Положительное решение о выдаче патента от 09.10.2015.





ACL TOP 300 CTS

Производительность:

- 110 ПВ/АЧТВ в час

Проб на борту:

- 40 (все доступны для анализа одновременно)
- 4 штатива по 10 проб в каждом

Реагентов на борту:

- 26 (все охлаждаемые)

Работа с закрытой пробиркой

ACL TOP 500 CTS

Производительность:

- 240 ПВ в час
- 180 АЧТВ в час

Проб на борту:

- 80 (все доступны для анализа одновременно)
- 8 штативов по 10 проб в каждом

Реагентов на борту:

- 40 (все охлаждаемые)

Работа с закрытой пробиркой

ACL TOP 700 BASE

Производительность:

- 360 ПВ в час
- 320 АЧТВ в час

Проб на борту:

- 120 (все доступны для анализа одновременно)
- 12 штативов по 10 проб в каждом

Реагентов на борту:

- 60 (все охлаждаемые)

ACL ELITE PRO

Тип анализатора:

- Роторный

Производительность:

- 150 ПВ в час

Проб на борту:

- 40 (все доступны для анализа одновременно)

Реагентов на борту:

- 22 (8 охлаждаемых)





Ю.М. Звездина

Показатели теста тромбодинамики и уровень Д-димера у беременных с отягощенным акушерским анамнезом

Ю.М. Звездина, заочный аспирант кафедры клинической фармакологии и фармакотерапии¹, врач клинко-диагностической лаборатории²
Н.А. Воробьева, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической фармакологии и фармакотерапии¹, зав. лабораторией гемостаза и атеротромбоза², директор³



Н.А. Воробьева

¹ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Архангельск

²ГБУЗ Архангельской области «Первая городская клиническая больница имени Е.Е. Волосевич», г. Архангельск

³Северный филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Архангельск

Values of thrombodynamics test and D-dimer level in pregnant women with aggravated obstetric history

Yu. M. Zvezdina, N. A. Vorobyeva

Northern State Medical University, First City Clinical Hospital n.a. E. E. Volosevich, Northern Branch of Hematological Research Centre; Arkhangelsk, Russia

Резюме

В процессе физиологически протекающей беременности формируется баланс между разными звеньями гемостаза, который предотвращает развитие тромбгеморрагических событий. Нарушение данного баланса может привести к осложнению течения беременности (невынашивание беременности, угроза прерывания беременности, замершая беременность, гестозы и др.) Для оценки состояния системы гемостаза у беременных женщин с отягощенным акушерским анамнезом на разных сроках гестации в исследовании использовались тесты на Д-димер и тромбодинамику. Тромбодинамика — глобальный тест, визуализирующий процесс свертывания, высокочувствительный как к прокоагулянтным, так и к гипокоагулянтным изменениям в свертывающей системе крови. Было выявлено нарастание уровня Д-димера со сроком гестации. Показатели теста тромбодинамики находились в пределах референтных значений для беременных женщин. Такой показатель, как плотность сгустка (D), статистически значимо нарастал со сроком гестации. Корреляционный анализ не выявил взаимосвязи между показателями теста тромбодинамики и уровнем Д-димера.

Ключевые слова: беременность, отягощенный акушерский анамнез, система гемостаза, Д-димер, тест тромбодинамика.

Summary

The balance between the various links of hemostasis is formed during physiological pregnancy that prevents the development of thrombohemorrhagic events. The balance upset can lead to complications of pregnancy (miscarriage, threatened miscarriage, missed abortion, gestosis and others). The tests of D-dimer and thrombodinamics were used in order to assess the hemostatis system in pregnant women with aggravated obstetric history at different stages of gestation. Trombodinamics is global test that visualizes the clotting process. It is as highly-sensitive both to procoagulant and to hypocoagulant changes in blood coagulation system. The growth of D-dimer levels depending on gestational age was revealed. Thrombodinamics test indicators were within the reference values for pregnant women. Such indicator as blood clot density (D) significantly increased with gestational age. Correlation analysis showed no relationship between values of trombodinamics test and D-dimer levels.

Key words: pregnancy, aggravated obstetric history, hemostasis system, D-dimer, thrombodinamics test.

Введение

Физиологически протекающая беременность ассоциируется с прогрессирующей по срокам гестации активацией системы гемостаза, что направлено на снижение кровопотери в родах [1, 2, 3]. Проявляется данный процесс динамичным увеличением уровня свидетелей активации в кровотоке тромбина и фибринолиза. В процессе беременности формируется баланс между разными звеньями гемостаза, который предотвращает развитие тромбгеморрагических событий [2].

Во время беременности из плаценты в кровь матери поступает целый ряд прокоагулянтов, главным из которых является тканевый фактор (ТФ) [4, 5]. Согласно клеточной модели свертывания крови *in vivo* ТФ является единственным инициатором образования тромбина. ТФ — интегральный мембраносвязанный гликопротеин, экспрессирующийся на клетках крови и эндотелии. Он попадает в кровоток при повреждении эндотелия кровеносных сосудов под воздействием различ-

ных факторов. ТФ, взаимодействуя с фактором VII, образует комплекс ТФ-VIIa (инициация свертывания), который способствует образованию фактора IIa (тромбина). Далее тромбин приводит к высвобождению фактора Виллебранда из эндотелия кровеносных сосудов и создает условия для образования активированных факторов V, VIII и XI (фаза усиления). На следующей стадии в фазе «распространения» различные факторы и ферменты, объединяясь на поверхности ак-

тивированных тромбоцитов, образуют комплекс — теназу и фактор Ха, вслед за этим происходит массивная продукция тромбина, достаточная для превращения фибриногена в фибрин [2].

Диагностически ценным маркером патологических состояний гемостаза, сопровождаемых внутрисосудистым отложением фибрина, является Д-димер. В процессе физиологически протекающей беременности его уровень постепенно увеличивается [6]. Д-димер является продуктом работы трех систем: прокоагулянтной, антикоагулянтной (при создании фибринового сгустка) и фибринолитической (при разрушении этого сгустка) [7]. Д-димер служит диагностическим критерием осложненного течения беременности, при котором отмечается повышение его уровня в крови по сравнению с референтными значениями для разных сроков гестации [6]. Повышенный уровень Д-димера свидетельствует о том, что отложение фибриновых нитей уже произошло, и идет их фибринолиз, но данный тест не показывает повышенную предрасположенность к тромбообразованию [7]. В нашем исследовании апробирован тест тромбодинамики у беременных женщин с отягощенным акушерским анамнезом, который позволяет оценить прокоагулянтный потенциал крови у беременных женщин.

Тест тромбодинамики — глобальный тест, визуализирующий процесс свертывания, высокочувствительный как к прокоагулянтным, так и к гипокоагулянтным изменениям в свертывающей системе крови [8]. Данная методика основана на модели распространения сгустка, начиная от поврежденной сосудистой стенки вглубь сосуда. Имитирует поврежденную сосудистую стенку тонкий слой ТФ (30–50 нм), нанесенный на поверхность вставки-активатора, за счет которой и запускается процесс образования сгустка в плазме. В ходе теста оцениваются параметры, которые дают возможность характеризовать процессы «внутреннего» и «внешнего» путей свертывания [7].

Цель настоящего исследования — выявление зависимости между показателями теста тромбодинамики и уровнем Д-димера у беременных женщин с отягощенным акушерским анамнезом (ОАА) на разных сроках гестации.

Материалы и методы

Проспективное клинико-лабораторное исследование выполнено на базах лаборатории гемостаза и атеротромбоза Первой городской клинической больницы имени Е. Е. Волоевич (г. Архангельск) и Северного филиала Гематологического научного центра Минздрава России (г. Архангельск). Сбор анамнестических и биологических данных выполнен по правилам международного стандарта этических норм и качества научных исследований (GCP) с получением информированного согласия от участников исследования. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Северного государственного медицинского университета (г. Архангельск) (протокол № 08/11–13 от 13.11.2013). Критериями включения в исследование явились: настоящая беременность, анамнестические указания на нарушения беременности, использование лекарственных средств, влияющих на систему гемостаза и наличие добровольного информированного согласия. Обследованы беременные женщины с ОАА в возрасте от 25 до 38 лет в первом, втором и третьем триместрах (первая, вторая и третья группы соответственно).

Техника лабораторного обследования

Венозную кровь забирали из локтевой вены в пробирки VACUETTE объемом 5 мл с буферным раствором цитрата натрия в соотношении 9 : 1 (9NC coagulation sodium citrate 3,2%). Для определения уровня Д-димера кровь центрифугировали при 2 000 г в течение 15 минут. Для проведения теста тромбодинамики пробирку с образцом крови центрифугировали при 1 600 г в течение 15 минут,

далее переносили 2 мл полученной плазмы в микропробирку и центрифугировали ее при 10 000 g пять минут. Затем 90% объема верхнего слоя свободной от тромбоцитов плазмы переносили в новую микропробирку. Пробы плазмы исследовались в течение 45 минут.

Определение уровня Д-димера проводили на полностью автоматизированном анализаторе гемостаза со свободным доступом STA Compact (Roche Diagnostics, Швейцария) с использованием реагентов STA-Liatest D-Di для количественного определения Д-димера методом иммунотурбидиметрии (Stago, Франция).

Тест тромбодинамики проводили на аппарате «Регистратор тромбодинамики Т-2» («ГемаКор», Россия), на котором определялись такие параметры, как задержка роста сгустка Tlag (мин.), стационарная скорость роста сгустка Vst (мкм/мин.), плотность сгустка D, (y. e.) и наличие спонтанных сгустков Tsp (в норме отсутствуют).

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программ Microsoft Office Excel 2007 и STATA/SE 11.0. Тип распределения количественных данных определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для описания количественных данных использовали медиану (Me) и референтные интервалы (2,5–97,5%). Сравнение средних значений проводили с помощью критерия Краскела-Уоллиса, при обнаружении статистически значимых различий между группами в целом проводили попарные сравнения при помощи критерия Манна-Уитни ($p = 0,017$). Корреляционный анализ выполняли с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r_s, p), так как распределение данных отличалось от нормального [8].

Результаты и обсуждение

В исследуемых группах уровень Д-димера закономерно нарастал с увеличением срока гестации (табл. 1). Несмотря на то что медианные значения данного показателя во второй и третьей группах

Таблица 1
Уровень Д-димера в исследуемых группах

Показатель	Триместры		
	I (n = 19)	II (n = 26)	III (n = 18)
Д-димер, мкг/мл	0,63 (0,25–2,2)	0,71 (0,27–2,99)	1,18 (0,44–3,61)
Референтные значения уровня Д-димера, мкг/мл	< 0,55	0,2–1,7	0,3–3,1

Таблица 2
Показатели теста тромбодинамики в исследуемых группах

Показатель	Триместры		
	I (n = 19)	II (n = 26)	III (n = 18)
Время задержки роста сгустка Tlag, мин.	1,0 (0,8–1,3)	0,9 (0,7–1,6)	1 (0,7–1,1)
Стационарная скорость роста сгустка Vst, мкм/мин.	26,2 (22,8–39,1)	26,3 (21,2–37,9)	27,8 (22,7–34,8)
Плотность сгустка D, у.е.	25074 (20414–28629)	27454 (21422–31794)	29478 (26597–35723)
Спонтанные сгустки Tsp, абс.	1	–	2

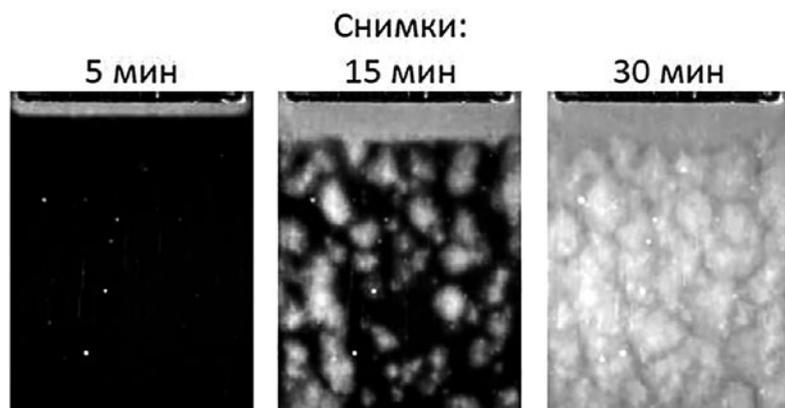


Рисунок 1. Феномен образования спонтанных сгустков (пациентка Р., 30-я неделя беременности).

Таблица 3
Результаты корреляционного анализа между показателями теста тромбодинамики и уровнем Д-димера в исследуемых группах

Сравниваемые показатели	I триместр (n = 19)		II триместр (n = 26)		III триместр (n = 18)	
	rs	p	rs	p	rs	p
Tlag и Д-димер	0,338	0,156	–0,005	0,981	0,114	0,651
V и Д-димер	–0,13	0,607	–0,109	0,597	0,095	0,726
D и Д-димер	0,031	0,901	–0,104	0,614	0,048	0,852

находились в пределах референтных значений [9], у 7,7% (n = 2) женщин во второй группе и у 11,1% (n = 2) в третьей уровень Д-димера

был выше верхней границы нормы. Между данными группами были обнаружены статистически значимые различия (p = 0,008). У беременных

в первой группе уровень Д-димера был выше референтных значений у 57,9% (n = 11) женщин.

Медианные значения показателей теста тромбодинамики (табл. 2) находились в референтных пределах для беременных женщин с физиологически протекающей беременностью [10]. Такой показатель, как стационарная скорость роста сгустка (Vst), был повышен у одной пациентки из первой группы и у одной из второй, что может свидетельствовать об активации внутреннего пути свертывания крови, так как Vst чувствителен к концентрации факторов VIII, IX, XI, V, X, тромбина и характеризует фазу распространения свертывания [11]. Во втором триместре происходило статистически значимое удлинение времени задержки роста сгустка по сравнению с первым (p = 0,007). Данный параметр характеризует фазу инициации свертывания и чувствителен к состоянию факторов внешнего пути свертывания. Медианные значения плотности сгустка (D) находились в референтных пределах и статистически значимо нарастали со сроком гестации (различия между первой и второй, первой и третьей, второй и третьей группами [p = 0,0006; p < 0,0001 и p = 0,004 соответственно]). У 11,1% (n = 2) женщин наблюдалось превышение данного показателя в третьем триместре. Данный показатель D зависит от концентрации фибриногена в совокупности с активностью фактора XIII [11, 12].

Наличие феномена образования спонтанных сгустков у пациенток в первой и третьей группах свидетельствовало о наличии прокоагулянтных факторов в плазме (рис. 1).

Также нами был произведен корреляционный анализ для выявления взаимосвязи между показателями теста тромбодинамики и уровнем Д-димера в исследуемых группах (табл. 3), статистически значимых взаимосвязей выявлено не было.

Выводы

Превышение референтных значений уровня Д-димера у беременных женщин с ОАА без клиники

тромбоза может говорить о компенсаторной активации системы фибринолиза и о возможной низкой специфичности данного теста во время беременности. Показатели тромбодинамики находились в пределах референтных значений и не зависели от уровня Д-димера. Также в процессе беременности происходило статистически значимое увеличение плотности сгустка, скорее всего связанное с нарастанием свертывающего потенциала крови и подготовкой женского организма к родам. Все вышесказанное, возможно, свидетельствует о диагностической ценности теста тромбодинамики для исследования системы гемостаза во время беременности.

Данная работа выполнена при поддержке грантов «У.М.Н.И.К. — 2014» (№ 2061ГУ1/201 от 07.05.2014) и «Молодые ученые Поморья» (№ 01-16/466 от 30.06.2015 г.).

Список литературы

1. Момот А. П., Молчанова И. В., Батрак Т. А. и др. Референтные значения показателей системы гемостаза при физиологически протекающей беременности и после родоразрешения // Проблемы репродукции. — 2015. — Т. 21, № 1. — С. 1–9.
2. Момот А. П., И. А. Тараненко, Д. Е. Белозеров и др. Инициация свертывания крови в разные сроки физиологически протекающей беременности // Бюллетень СО РАМН. — 2014. — Т. 34, № 5. — С. 58–66.
3. Павловская Ю. М., Воробьева Н. А. Фибриноген и фактор XIII при беременности // Вестник Северного (Арктического) Федерального университета серия Медико-биологические науки. — 2015. — № 1. — С. 68–75.
4. Бут-Гусаим Л. С., Киселевский Ю. В., Оганесян Н. А. и др. Величины сравнения уровня Д-димеров и фибриногена у беременных и родильниц // Рецепт. — 2006. — Т. 60, № 6. — С. 71–76.
5. Милованов А. П., Кирыщенко П. А., Шмаков Р. Г., Оразмурадов А. А., Хубецева М. Т. Плацента — регулятор гемостаза матери // Акушерство и гинекология. — 2001. — № 3. — С. 3–5.
6. Клепикова А. А., Золотых О. С., Евсеева З. П. и др. Тромбофилия и исходы беременности // Казанский медицинский журнал. — 2011. — Т. 92, № 6. — С. 846–850.
7. Серебрянский И. И. «Глобальные» и «локальные» тесты системы гемостаза в диагностике гиперкоагуляционного синдрома // Справочник заведующего КДЛ. — 2012 декабрь. — № 12. — С. 27–34.
8. Гржибовский А. Н. Анализ трех и более независимых групп количественных данных // Экология человека. — 2008. — № 3. — С. 50–58.
9. P. B. Szecsi, M. Jørgensen, A. Klajnbard et al. Haemostatic reference intervals in pregnancy // Thromb. Haemost. — 2010 Apr. — Vol. 103, № 4. — P. 718–727.
10. Ворошилина Е. С., Овсепян Р. А., Плотко Е. Э. и др. Диапазоны нормальных значений для параметров стандартных коагулологических тестов и теста тромбодинамики при физиологической беременности на разных сроках гестации // Вестник РГМУ. — 2015. — № 4. — С. 40–45.
11. Атауллаханов Ф. И., Баландина А. Н., Варданян Д. М. и др. Применение теста тромбодинамики для оценки состояния системы гемостаза: Учебно-методические рекомендации / Под ред. д-ра мед. наук, проф. А. М. Шулуто. — М., 2015. — 72 с.
12. Vorobyeva N., Pavlovskaja Y. Evaluation of the laboratory method in pregnant women with complicated obstetric history for haemostasis monitoring // Journal of Thrombosis and Haemostasis. June 2015 Volume 13, Issue Supplement S2 Pages 1–1090. Abstracts of the XXV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 20–25, 2015, PO 044, p. 524.



ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница №1 ДЗМ

Научно-практическая конференция

Инфекционные заболевания. Современные подходы к диагностике и лечению

20 апреля 2017, Москва

Председатель

Девяткин Андрей Викторович - профессор, доктор медицинских наук, главный врач ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница №1 ДЗМ», главный внештатный специалист по инфекционным болезням Департамента здравоохранения города Москвы, профессор кафедры семейной медицины с курсом клинической лабораторной диагностики ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» УД Президента РФ.

В программе конференции:

- общие проблемы инфектологии;
- антивирусная терапия при ОРВИ;
- различные вопросы оказания медицинской помощи больным с вирусными гепатитами
- хронический гепатит В - пути повышения эффективности лечения;
- хронический гепатит С - анализ новых терапевтических схем;
- эпидемиология кишечных инфекций вирусной и бактериальной природы;
- современные методы диагностики острых кишечных инфекций;
- энтеросорбенты в лечении острых кишечных инфекций;
- применение пробиотиков при лечении кишечных инфекций;
- инфекционные заболевания в педиатрии, герпес-вирусная инфекция, сальмонеллезная инфекция;
- актуальные вопросы ВИЧ-инфекции;
- паразитарные заболевания, нозокомиальные инфекции;
- системный подход к внедрению современных методов лечения инфекционных заболеваний;
- новые средства в профилактике и лечении инфекционных заболеваний;
- применение антибиотиков в инфекционной патологии;
- интерфероны в практике лечения инфекционных заболеваний;
- инновационные технологии диагностики инфекционных заболеваний;
- иммунодиагностика, сыворотки диагностические, иммуноглобулины диагностические и лечебные в профилактике и лечении инфекционных заболеваний;
- диагностические препараты, тест-системы и микробиологические питательные среды в диагностике инфекционных заболеваний.

Регистрация и подробная информация на сайте www.eecmedical.ru, по эл. почте: info@eecmedical.ru, или по телефонам: +7 (495) 592-06-59, +7 (916) 567-35-29

EEC Medical
Educational Event Coordinator



О. В. Курбатова



А. Н. Сурков

Возрастная динамика показателей иммунного статуса и активности сукцинатдегидрогеназы в популяциях лимфоцитов у детей с печеночными формами гликогеновой болезни



И. В. Самохина



Р. Ш. Закиров

О. В. Курбатова, врач клинической лабораторной диагностики научно-диагностической лаборатории¹
А. Н. Сурков, к.м.н., с.н.с., врач-гастроэнтеролог²
И. В. Самохина, к.м.н., научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии²
Р. Ш. Закиров, врач клинической лабораторной диагностики централизованной клинко-диагностической лаборатории²
А. В. Никитин, аспирант гастроэнтерологического отделения с гепатологической группой²
Е. В. Фрейдлин, лаборант-исследователь лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии²
А. С. Потапов, д.м.н., проф., зав. гастроэнтерологическим отделением с гепатологической группой²
С. В. Петричук, д.б.н., проф., гл. научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии²



А. В. Никитин



Е. В. Фрейдлин

¹ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова» Минздрава России, г. Москва
²ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава России, г. Москва



А. С. Потапов



С. В. Петричук

Age dynamics of immune status indicators and activity of succinate dehydrogenase in populations of lymphocytes in children with hepatic forms of glycogen storage disease

O. V. Kurbatova, A. N. Surkov, I. V. Samokhina, R. Sh. Zakirov, A. V. Nikitin, E. V. Freidlin, P. S. Potapov, S. V. Petrichuk
 Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology n.a. V. I. Kulakov, Scientific Center for Children's Health; Moscow, Russia

Резюме

В статье представлены данные о возрастных особенностях иммунного статуса и активности сукцинатдегидрогеназы в популяциях лимфоцитов детей с гликогеновой болезнью I, III и VI типов. Показано, что у пациентов ГБ I и III типов с возрастом увеличиваются отклонения в иммунном статусе от показателей группы сравнения. У пациентов с ГБ с возрастом увеличивается относительное содержание Th17-лимфоцитов и соотношение Th17 и Tregs. Нарушено соотношение B1- и B2-лимфоцитов при всех типах ГБ. У детей старше 12 лет отмечено существенное преобладание популяции B1-лимфоцитов. Активность СГД в основных популяциях лимфоцитов снижена по сравнению с контрольной группой, наиболее выраженные изменения отмечаются при I типе ГБ. Активность СГД в Th17-лимфоцитах достоверно снижается с возрастом при сохранении уровня активности фермента в регуляторных T-лимфоцитах.

Ключевые слова: **иммунный статус, гликогеновая болезнь, сукцинатдегидрогеназа, дети.**

Summary

The article presents data concerning the age peculiarities of the immune status and activity of succinate dehydrogenase (SDG) in populations of lymphocytes in children with glycogen storage disease (GSD) I, III and VI types. It is shown that in patients with GSD type I and III abnormalities in the immune status increases with age in comparison with the control group. In patients with GSD with age increases the relative content of Th17-lymphocytes and the ratio of Th17 to T-regulatory lymphocytes. Disturbed the ratio of B1- and B2-lymphocytes in all types GSD. In children older than 12 years it was noted a significant predominance of populations of B1-lymphocytes. The activity of SDG in the major populations of lymphocytes is reduced in comparison with the control group, the most pronounced changes are observed with type I GSD. The activity of SDG in Th17-lymphocytes decreased significantly with age, while maintaining the level of enzyme activity in regulatory T-lymphocytes.

Key words: **immune status, glycogen storage disease, succinate dehydrogenase, children.**

Введение

Гликогеновая болезнь (ГБ) — группа наследственных болезней, которые обусловлены недостаточностью ферментов, участвующих в обмене гликогена, и характеризуются избыточным накоплением его в различных органах и тканях, в первую очередь в печени и мышцах [1]. К печеночным формам ГБ относятся: I тип, связанный с дефектом глюкоза-6-фосфатазы, III тип, обусловленный дефектом гликоген-деветвящего фермента и VI тип, возникающий при дефекте фосфоорилазной или фосфокиназной системы [2, 3]. Эти дефекты приводят к повышению содержания гликогена нормальной структуры при I и VI типах и измененной структуры при III типе ГБ. Наиболее часто наблюдаемые клинические симптомы ГБ — это увеличение печени, мышечная слабость, носовые кровотечения. Со стороны лабораторных показателей отмечается снижение рН крови (до 7,34 и ниже), гипогликемия (0,6–3,0 ммоль/л), повышение уровня лактата (3,0–10,0 ммоль/л), нарушение липидного профиля, повышение сывороточных концентраций АЛТ и АСТ [1, 3, 4]. Гипертриглицеридемия ведет к развитию жировой дистрофии печени [5, 6]. Биохимические изменения приводят к снижению количества пирувата, нарушению синтеза ацетил-СоА с дальнейшим развитием митохондриальной недостаточности [6, 7]. Дисфункция митохондриальных ферментов приводит к развитию оксидативного стресса (увеличивается продукция активных форм кислорода), что в свою очередь провоцирует выработку провоспалительных цитокинов [5].

У детей с ГБ I и III типов с возрастом заболевание прогрессирует, развиваются множественные осложнения: формируется фиброз печени, в некоторых случаях цирроз, нередко развиваются хронический панкреатит, гиперурикемия с ее клиническими осложнениями в виде подагрического артрита, а также гломерулосклероз, остеопороз, кроно-подобный синдром [1, 8, 9].

Для пациентов с ГБ характерны клинические признаки гуморально-эффекторного иммунодефицита: частые бактериальные инфекции верхних дыхательных путей и ЛОР-органов (хронические тонзиллиты, гнойные отиты, синуситы, хронические бронхиты); бактериальные инфекции кожи и подкожной клетчатки (пидермии, фурункулез, абсцессы, флегмоны); заболевания пищеварительного тракта, вызванные бактериями (стоматит, гингивит, пародонтит, эзофагит, гастродуоденит, энтероколит, инфекционный гастроэнтерит) [8–11]. Тем не менее данные о состоянии клеточного и гуморального звеньев иммунитета у пациентов с ГБ представлены единичными публикациями [8, 9, 12].

При ГБ состояние митохондриальной дисфункции развивается не только в ткани печени, но и затрагивает клетки иммунной системы, изменяя их функциональную активность. Определение активности ферментов дыхательной цепи в лимфоцитах, в частности, сукцинатдегидрогеназы (СДГ) — фермента, тесно связанного с мембраной митохондрии и отражающего работу цикла трикарбоновых кислот и II этапа дыхательной цепи митохондрий, позволяет судить об энергетическом потенциале клетки при различных состояниях организма [13–17]. Оценка функциональной активности митохондрий в общей популяции

лимфоцитов у детей с ГБ выявила существенное снижение активности СДГ, достоверно отличающееся у пациентов с разными типами гликогеновой болезни [7].

Цель работы: выявить возрастные особенности иммунного статуса и активности сукцинатдегидрогеназы в основных и малых популяциях лимфоцитов у детей с печеночными формами ГБ.

Материалы и методы

На базе Научного центра здоровья детей Минздрава России в динамике были обследованы 67 детей с ГБ в возрасте от одного года до 17 лет, количество обследований — 138. Из них с 21 пациентом ГБ I типа (число наблюдений $n = 60$), 22 пациента с ГБ III типа ($n = 36$), 24 пациента с ГБ VI типа ($n = 42$). В связи с возрастными особенностями иммунного статуса детей были выделены пять возрастных групп: 1–2 года, 2–5, 6–8, 9–11, 12–17 лет [18]. Группу сравнения составили 84 практически здоровых ребенка в возрасте от одного года до 17 лет.

Оценка иммунного статуса лимфоцитов периферической крови выполнялась методом проточной цитофлуориметрии на приборе Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, США). Пробоподготовка образцов периферической крови для многоцветного анализа с использованием поверхностных моноклональных антител проводилась в соответствии со стандартизированной технологией [19]. Оценивали следующие популяции лимфоцитов: Т-лимфоциты (CD3+CD45+); Т-хелперы (CD3+CD4+CD45+); цитотоксические Т-лимфоциты (CD3+CD8+CD45+); Th17-лимфоциты (CD3+CD4+CD161+CD45+); регуляторные Т-клетки (CD3+CD4+CD127low+CD45+); активированные хелперы (CD3+CD4+CD127high+CD45+); В-лимфоциты, включая В1-популяцию (CD45+CD3-CD19+CD5+) и В2-популяцию (CD45+CD3-CD19+CD5-) лимфоцитов и NK-клетки (CD3-CD16+CD56+CD45+). Активность СДГ в популяциях лимфоцитов оценивали иммуноцитохимическим методом с использованием проточной цитометрии [20]. Активность фермента оценивали отношением (для основных популяций лимфоцитов) или разницей (для малых популяций лимфоцитов) коэффициента бокового светорассеяния до и после проведения цитохимической реакции.

Статистическая обработка результатов была выполнена с помощью пакета Statistica 6.0 (критерий Манна-Уитни; $p < 0,05$). Данные представлены в виде медианы, нижней и верхней квартилей. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Первым этапом лабораторной диагностики является количественная оценка клеток периферической крови и их морфологических элементов — подсчет лейкоцитарной формулы, учитывается относительное и абсолютное число клеток крови [21]. Динамика количества лимфоцитов у пациентов с ГБ была схожа с таковой у условно здоровых пациентов, то есть количество лимфоцитов достоверно уменьшалось с возрастом, однако их количество во всех возрастных группах было достоверно выше, чем в кон-

Таблица 1
Возрастная динамика относительного и абсолютного содержания основных популяций лимфоцитов у детей с гликогеновой болезнью и в группе сравнения

Исследование		Возрастной диапазон				
		1–2 года	2–5 лет	6–8 лет	9–11 лет	12–17 лет
Лимфоциты, абс.	Пациенты с ГБ	6342* [4907; 7342]	3939* [3144; 5629]	3636* [3143; 5629]	2714 * [2042; 3195]	2482* [2161; 3149]
	Группа сравнения	4385 [4045; 6210]	3341 [2453; 4411]	2300 [2157; 2399]	2432 [2037; 2660]	1959 [1670; 2291]
Т-лимфоциты, %	Пациенты с ГБ	65,6 [63,7; 70,66]	70,1 [66,9; 75,3]	72,7 [69; 75,6]	73,59 [72; 77,35]	76,84 * [71,69; 79,99]
	Группа сравнения	60,4 [54,5; 74,5]	68,7 [64,5; 72,8]	72,1 [66,6; 78,5]	71,8 [67,8; 78,1]	71,7 [66,8; 75,1]
Т-лимфоциты, кл/мкл	Пациенты с ГБ	4043* [3243; 5144]	2784 [2218; 3791]	2690* [2308; 2935]	2012 [1546; 2295]	1939* [1563; 2310]
	Группа сравнения	3150 [2819; 3371]	2353 [1762; 2864]	1678 [1526; 1805]	1738 [1577; 2035]	1333 [1183; 1637]
Т-хелперы, %	Пациенты с ГБ	34,67 [30,1; 43,9]	36,7 [33,3; 40,3]	39,25 [34,1; 42,2]	43,2* [39,7; 48,4]	44,1* [38,8; 47,6]
	Группа сравнения	46,6 [37,4; 50,7]	37,8 [33,8; 42,8]	39,7 [33,6; 45,4]	37,5 [34,7; 38,9]	41,2 [35,8; 45,6]
Т-хелперы, кл/мкл	Пациенты с ГБ	2183 [1951; 2675]	1504 [1167; 2069]	1510* [1263; 1580]	1059* [876; 1308]	1137* [840; 1371]
	Группа сравнения	2142 [1910; 2328]	1305 [964; 1475]	866 [805; 1040]	919 [729; 1041]	839 [690; 922]
Цитотоксические Т-лимфоциты, %	Пациенты с ГБ	25,7* [20,1; 27,4]	26,15 [23,4; 29,0]	24,92 [22,8; 28,1]	24,74 [21,4; 29,2]	29,26* [21,2; 33,6]
	Группа сравнения	20,0 [18,4; 23,2]	23,8 [21,6; 27,7]	25,8 [22,5; 32,6]	30,7 [25,5; 34,1]	25,8 [21,7; 30,6]
Цитотоксические Т-лимфоциты, кл/мкл	Пациенты с ГБ	1360* [1274; 1482]	974 [804; 1372]	952* [843; 1064]	693 [441; 919]	697* [578; 875]
	Группа сравнения	845 [736; 1144]	832 [589; 1012]	557 [513; 699]	712 [591; 896]	468 [387; 704]
CD4/CD8	Пациенты с ГБ	1,575 [1,176; 1,756]	1,435 [1,16; 1,637]	1,517 [1,19; 1,698]	1,843* [1,23; 1,21]	1,532 [1,213; 2,061]
	Группа сравнения	2,128 [1,811; 2,263]	1,476 [1,34; 1,817]	1,487 [1,157; 2,21]	1,294 [1,05; 1,5]	1,532 [1,32; 1,92]
В-лимфоциты, %	Пациенты с ГБ	24,7 [18,1; 25,8]	18,25 [14,78; 21,6]	17,08 [12,7; 21,3]	13,5 [11,32; 19,64]	13,7 [11,4; 16,8]
	Группа сравнения	24,5 [21,0; 29,7]	17,2 [13,7; 23,7]	19,7 [13,6; 22,1]	12,5 [11,3; 15,8]	14,1 [12,3; 18,2]
В-лимфоциты кл/мкл	Пациенты с ГБ	1513 [867; 1815]	689 [516; 940]	545* [466; 883]	364 [248; 533]	356 [255; 470]
	Группа сравнения	1156 [947; 1236]	566 [409; 823]	472 [276; 582]	328 [252; 370]	300 [212; 388]
NK-клетки, %	Пациенты с ГБ	11,5 [9,44; 15,3]	9,5 [7,5; 15,1]	11,2 [8,3; 14,7]	7,83* [5,62; 13,36]	9,3* [6,5; 12,3]
	Группа сравнения	6,2 [5,0; 14,5]	11,9 [8,1; 16,2]	9,5 [7,1; 13,6]	11,8 [10,5; 17,9]	15,2 [9,3; 17,2]
NK-клетки, кл/мкл	Пациенты с ГБ	730 [435; 857]	384 [300; 559]	425* [316; 537]	257 [128; 402]	225 [152; 329]
	Группа сравнения	355 [203; 564]	383 [227; 584]	213 [161; 354]	306 [225; 419]	258 [149; 344]

Примечание: * — $p < 0,05$ достоверные отличия между показателями пациентов с ГБ и группой сравнения соответствующего возраста, критерий Манна-Уитни.

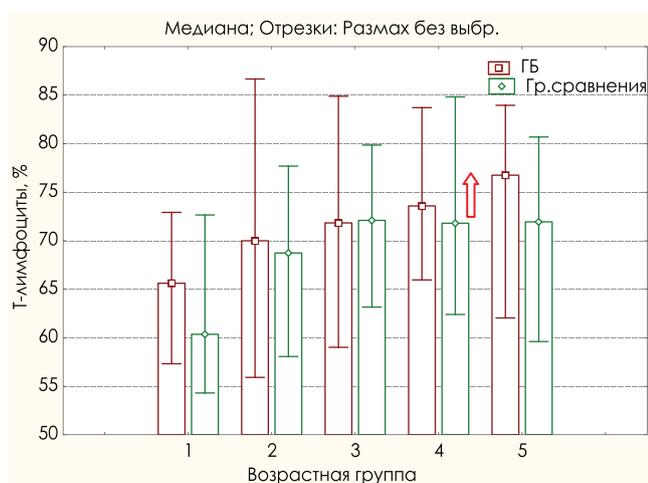


Рисунок 1. Возрастная динамика относительного количества Т-лимфоцитов у пациентов с ГБ и в группе сравнения.

трольной группе ($p < 0,001$). В связи с этим фактом в данной статье проанализировано относительное содержание популяций лимфоцитов (табл. 1).

У пациентов с ГБ, так же как и у детей группы сравнения, с возрастом отмечается увеличение относительного количества Т-клеток на фоне снижения их абсолютного

числа (табл. 1, рис. 1), при этом в V возрастной группе (с 12 до 17 лет) выявлено достоверное увеличение этого показателя относительно группы сравнения.

Увеличение относительного количества Т-клеток у пациентов с ГБ происходит в основном за счет увеличения количества Т-хелперов, при этом содержание цитотоксических Т-лимфоцитов с возрастом достоверно не изменяется (рис. 2). В группе сравнения, в отличие от пациентов с ГБ, увеличение количества Т-клеток происходит за счет увеличения относительного количества цитотоксических Т-лимфоцитов на фоне снижения количества Т-хелперов, что согласуется с нормативными показателями [18].

Возрастные изменения показателей иммунного статуса у пациентов с ГБ сохранялись при всех типах заболевания, но имели разную выраженность. При этом функциональная активность популяции Т-лимфоцитов достоверно отличалась у пациентов разного типа ГБ. У пациентов I и III типов ГБ наблюдалось достоверное снижение активности СДГ с возрастом (рис. 3 а, б). У пациентов с VI типом ГБ активность СДГ в популяции Т-лимфоцитов постепенно увеличивалась с возрастом так же, как и в группе сравнения (в).

Возрастная динамика процентного количества В-клеток у пациентов с ГБ совпадает с динамикой у условно здоровых пациентов: с возрастом происходит снижение

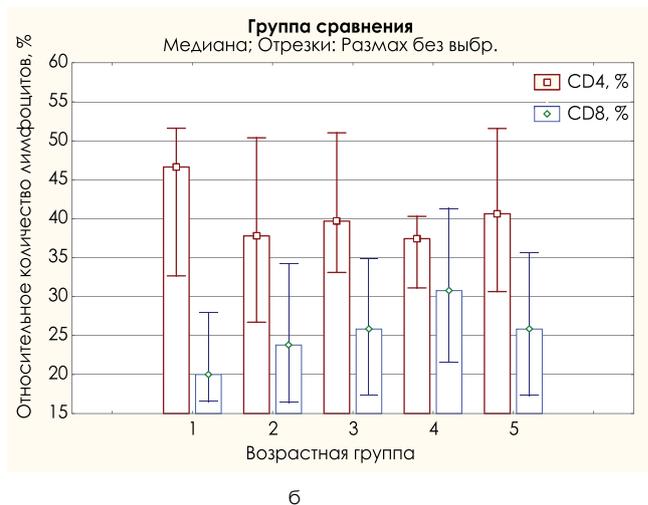
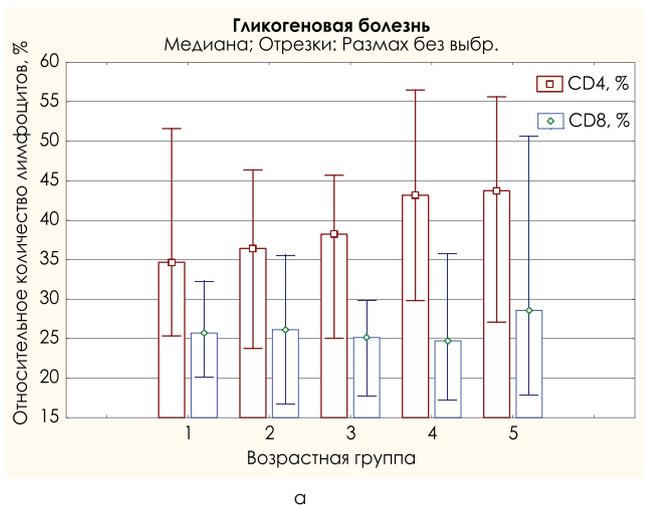
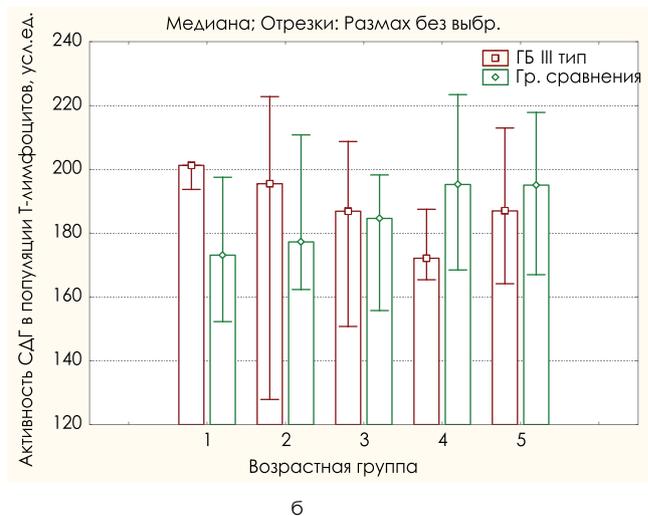
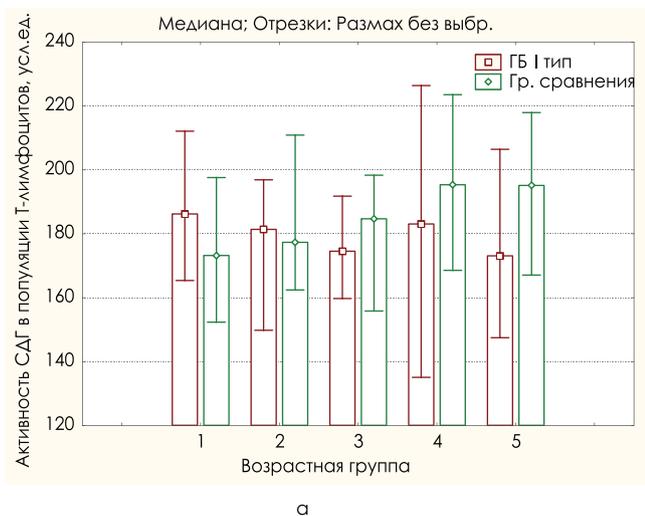


Рисунок 2. Возрастная динамика относительного количества Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов у пациентов с ГБ (а) и в группе сравнения (б).



процентного количества В-клеток, достоверных различий во всех возрастных диапазонах между группами не выявлено. Однако в популяциях В-клеток наблюдается изменение соотношения В1- и В2-субпопуляций (рис. 4, табл. 2). В младшем возрасте количество клеток в В1-популяции меньше возрастных нормативных значений, а в старшем возрасте превышает их, особенно у пациентов VI типа ГБ.

У пациентов с ГБ с возрастом происходит снижение активности СДГ как в популяции В1-лимфоцитов, так и в популяции В2-лимфоцитов (рис. 5 а). В группе сравнения наблюдается увеличение активности СДГ в популяции В1-лимфоцитов с возрастом, при этом активность СДГ в популяции В2-лимфоцитов практически не изменяется (рис. 5 б). Таким образом, у пациентов с ГБ с возрастом увеличивается относительное содержание В1-лимфоцитов на фоне снижения активности СДГ в них, а в группе сравнения, наоборот, с возрастом количество В1-клеток снижается, а активность СДГ в них увеличивается.

Процентное количество НК-клеток у пациентов с ГБ имеет тенденцию к снижению с возрастом, причем их количество у детей старше девяти лет (в четвертой и пятой

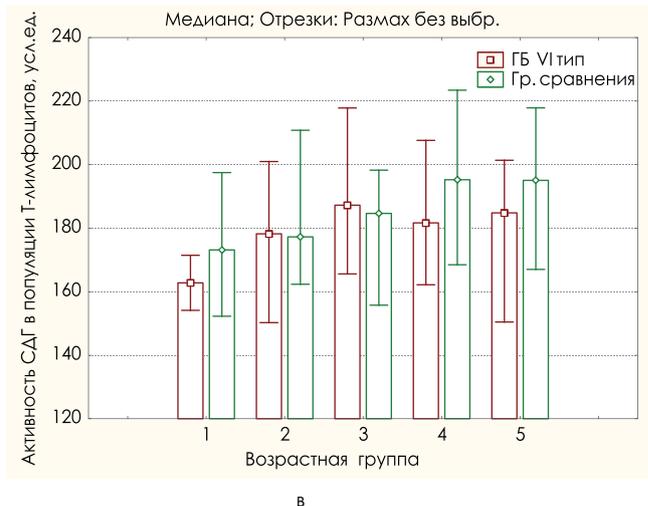


Рисунок 3. Активность СДГ в популяции Т-лимфоцитов у пациентов с разными типами ГБ (а — I тип, б — III тип, в — VI тип) и в группе сравнения.

возрастных группах) достоверно ниже количества НК-клеток в группе сравнения (табл. 1, рис. 6). Активность СДГ в НК-клетках вне зависимости от типа ГБ не отличалась от активности СДГ в группе сравнения (рис. 6).

Таблица 2
Возрастная динамика относительного и абсолютного содержания популяций В-лимфоцитов у детей с гликогеновой болезнью и в группе сравнения

Исследование		Возрастной диапазон				
		1–2 года	2–5 лет	6–8 лет	9–11 лет	12–17 лет
В-1 лимфоциты, %	Пациенты с ГБ	7,87* [5,6; 12,37]	6,35 [4,41; 10,2]	6,03 [4,36; 7,99]	5,425 [2,81; 6,98]	4,82 [3,75; 8,2]
	Группа сравнения	15,1 [8,2; 15,3]	6,69 [4,75; 9,04]	6,77 [6,08; 8,88]	5,02 [3,54; 7,78]	4,62 [2,7; 7,3]
В-1 лимфоциты, кл/мкл	Пациенты с ГБ	471* [316; 900]	263* [172; 442]	226* [146; 308]	149* [59; 206]	136* [91; 248]
	Группа сравнения	630 [430; 809]	201 [115; 394]	162 [133; 259]	126 [83; 153]	92 [58; 139]
В-2 лимфоциты, %	Пациенты с ГБ	13,0* [10,5; 16,9]	11,434 [8,11; 13,3]	9,53* [7,5; 13,2]	8,68* [6,7; 10,7]	7,58* [6,2; 10,8]
	Группа сравнения	11,1 [9,7; 12,8]	11,2 [8,8; 13,5]	8,9 [6,8; 12,9]	7,63 [7,08; 9,73]	9,94 [8,3; 10,6]
В-2 лимфоциты, кл/мкл	Пациенты с ГБ	868* [580; 1069]	447* [324; 660]	394* [240; 484]	222* [171; 287]	178 [160; 257]
	Группа сравнения	534 [372; 806]	363 [229; 462]	210 [137; 358]	179 [146; 238]	198 [138; 242]

Примечание: * — $p < 0,05$ достоверные отличия между показателями пациентов с ГБ и группой сравнения соответствующего возраста, критерий Манна-Уитни.

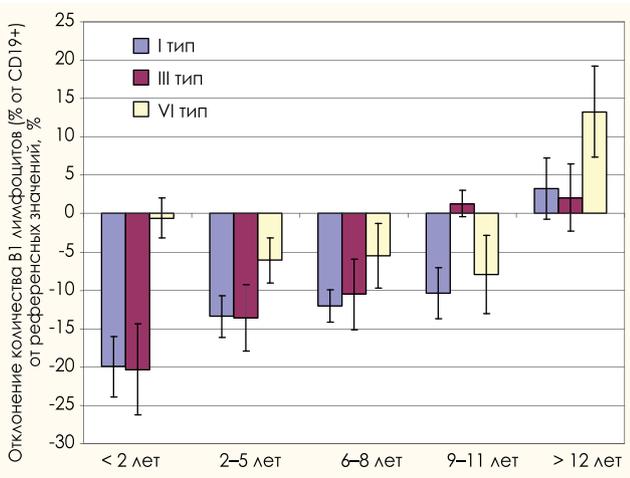


Рисунок 4. Отклонение количества популяции В1-лимфоцитов (процент от CD 19+) от референсных значений в зависимости от типа ГБ и возраста пациентов.

Кроме анализа возрастной динамики основных популяций лимфоцитов, были оценены возрастные изменения относительного и абсолютного количества регуляторных Т-клеток (Tregs), Th17-лимфоцитов и активированных Т-хелперов (табл. 3).

Процентное количество Th17-лимфоцитов достоверно увеличивается с возрастом, в отличие от содержания Т-регуляторных, клеток как у пациентов с ГБ, так и в группе сравнения (рис. 7). У детей с ГБ старше 12 лет (пятая возрастная группа) количество Th17-лимфоцитов в два раза выше их количества у условно здоровых пациентов, у некоторых пациентов относительное количество Th-17 лимфоцитов достигает 50% от всех Т-хелперов. Количество активированных Т-хелперов повторяет динамику Th17-лимфоцитов (табл. 3).

Анализ отношения Th17-лимфоцитов к регуляторным Т-клеткам (индекс) показал его достоверное увеличение с возрастом, однако у пациентов с ГБ этот индекс во всех возрастах значимо выше, чем в группе сравнения (рис. 8).

Возрастная динамика активности СДГ в малых популяциях лимфоцитов повторяет возрастную динамику СДГ в Т-лимфоцитах у пациентов с ГБ: достоверно снижается с возрастом. В популяциях Th17-лимфоцитов и активированных Т-хелперов отмечается более высокая активность СДГ, чем в регуляторных Т-клетках (рис. 9). Активность СДГ в малых популяциях лимфоцитов у пациентов с ГБ в младшем возрасте (дети младше шести лет) не отличается от активности фермента в группе сравнения (рис. 9 а). У детей старше 12 лет активность СДГ достоверно ниже

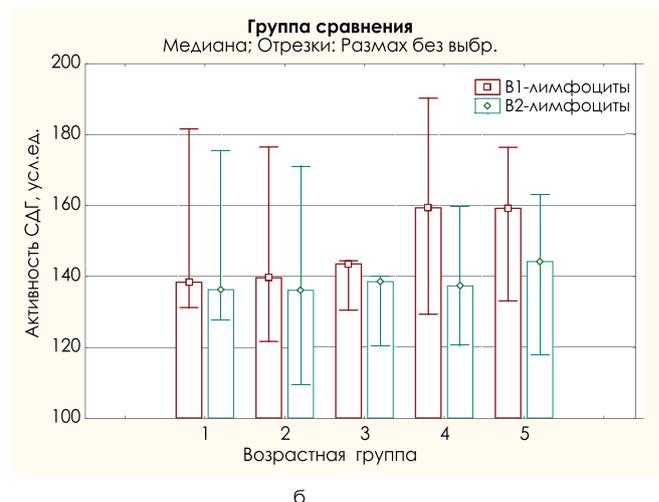
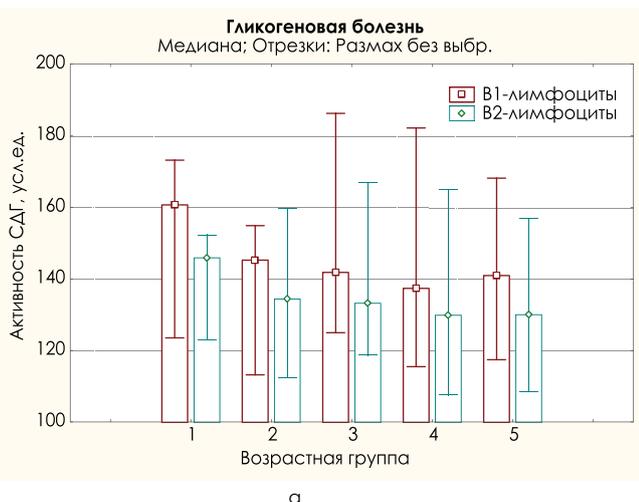


Рисунок 5. Активность СДГ в популяциях В-лимфоцитов у пациентов с гликогеновой болезнью (а) и в группе сравнения (б).

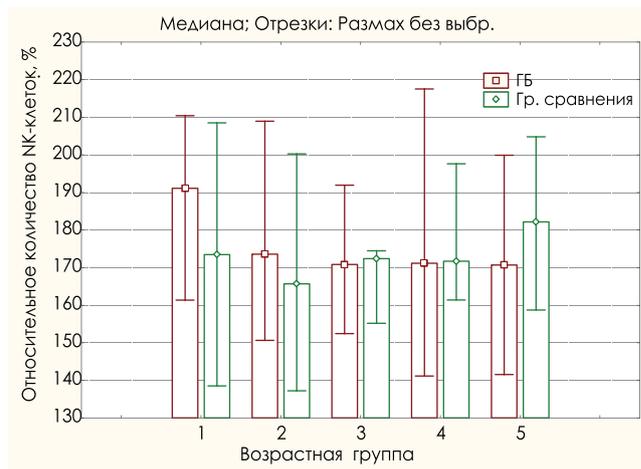
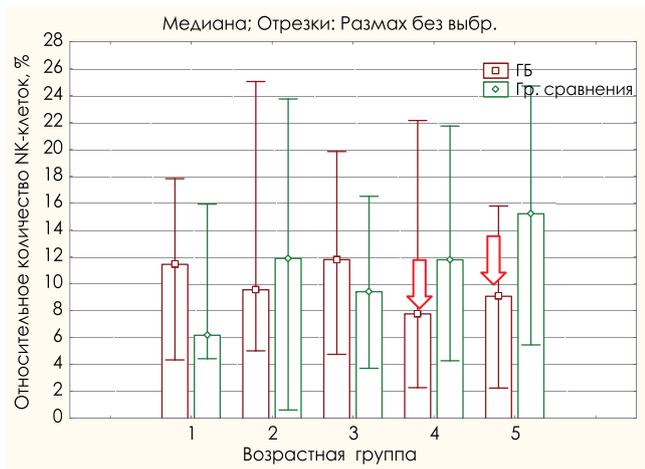


Рисунок 6. Относительное количество NK-клеток (а) и активность CD8+ в популяции NK-клеток (б) у пациентов с гликогеновой болезнью и в группе сравнения.

Таблица 3
Возрастная динамика относительного и абсолютного содержания малых популяций лимфоцитов у детей с гликогеновой болезнью и в группе сравнения

Исследование		Возрастной диапазон				
		1–2 года	2–5 лет	6–8 лет	9–11 лет	12–17 лет
Активированные Т-хелперы, %	Пациенты с ГБ	2,51* [1,36; 3,41]	3,052 [2,13; 4,595]	4,25 [3,35; 5,5]	6,031 [4,63; 7,81]	6,17* [4,75; 9,1]
	Группа сравнения	1,63 [1,08; 2,64]	2,69 [1,54; 3,13]	3,46 [2,35; 4,75]	3,45 [3,05; 4,44]	4,95 [4,04; 7,01]
Активированные Т-хелперы, кл/мкл	Пациенты с ГБ	155 [64; 199]	127 [91; 195]	165 [92; 214]	141 [107; 201]	189* [122; 226]
	Группа сравнения	68 [49; 170]	74 [66; 103]	83 [60; 114]	74 [63; 110]	92 [73; 130]
Регуляторные Т-лимфоциты, %	Пациенты с ГБ	2,734 [2,457; 2,829]	3,012 [2,16; 3,537]	3,02 [2,15; 3,66]	3,2 [2,49; 3,62]	2,83 [2,23; 3,89]
	Группа сравнения	3,69 [2,9; 4,1]	3,35 [2,9; 4,14]	3,39 [3,09; 4,68]	3,08 [2,9; 3,5]	3,27 [2,65; 3,9]
Регуляторные Т-лимфоциты, кл/мкл	Пациенты с ГБ	177 [119; 206]	125 [90; 157]	108 [82; 133]	70* [56; 100]	80* [63; 105]
	Группа сравнения	170 [130; 191]	129 [77; 158]	76 [68; 112]	65 [60; 91]	62 [46; 78]
Th-17- лимфоциты, %	Пациенты с ГБ	2,86 [2,42; 4,13]	4,99* [3,38; 7,189]	6,84* [6,1; 7,68]	11,28* [7,99; 13,0]	11,33* [9,1; 14,8]
	Группа сравнения	3,35 [2,18; 3,55]	4,28 [3,5; 5,3]	5,99 [3,96; 6,3]	5,75 [5,33; 7,55]	8,4 [6,2; 9,2]
Th-17- лимфоциты, кл/мкл	Пациенты с ГБ	189 [164; 231]	240* [184; 271]	287* [223; 319]	235* [183; 288]	312* [269; 393]
	Группа сравнения	145 [138; 167]	173 [168; 183]	140 [110; 146]	145 [123; 172]	188 [172; 200]

Примечание: * — $p < 0,05$ достоверные отличия между показателями пациентов с ГБ и группой сравнения соответствующего возраста, критерий Манна-Уитни.

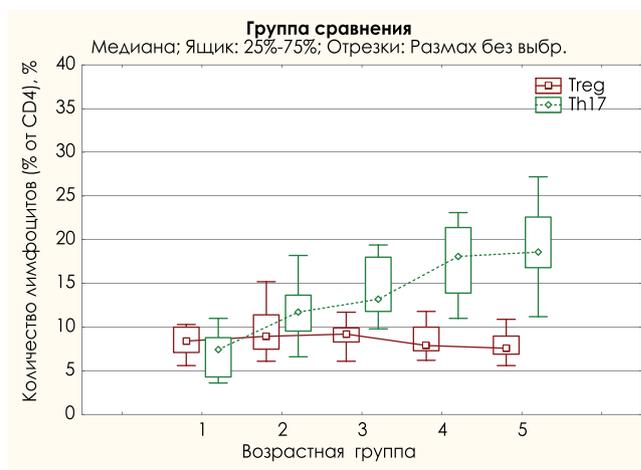
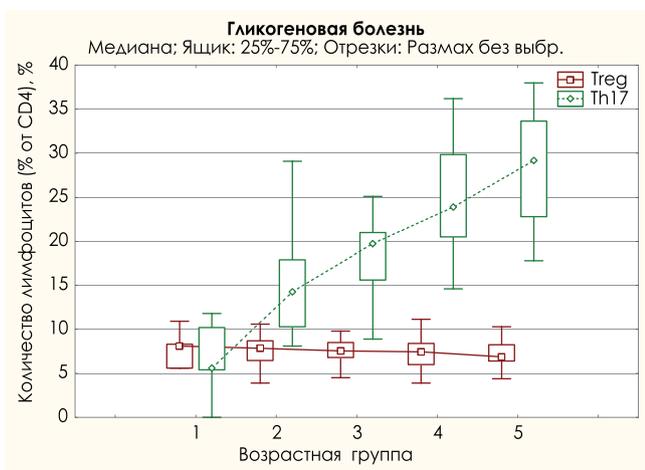


Рисунок 7. Относительное количество Th17-лимфоцитов и регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) у пациентов с гликогеновой болезнью (а) и в группе сравнения (б).

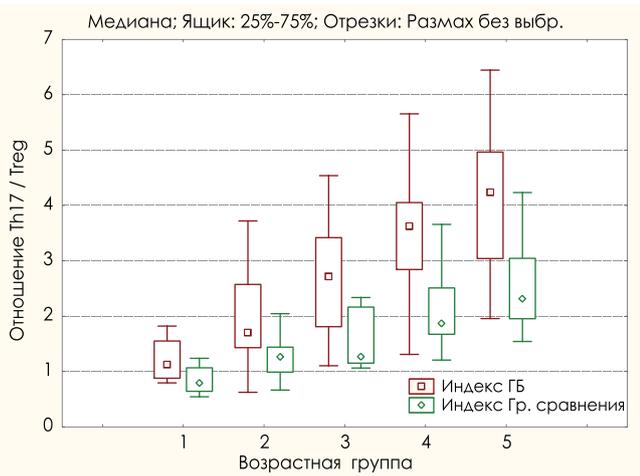


Рисунок 8. Возрастная динамика отношения Th17-лимфоцитов и регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) у пациентов с гликогеновой болезнью и в группе сравнения.

в популяциях Th17-лимфоцитов и активированных Т-хелперов, но не отличается от группы сравнения в популяции регуляторных Т-лимфоцитов (рис. 9 б).

Обсуждение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у пациентов с ГБ сохраняется направленность возрастных изменений количественных показателей иммунного статуса: наблюдается увеличение содержания Т-лимфоцитов и снижение В-клеток с возрастом [18]. Полученные нами данные об изменениях количественных характеристик Т-клеточного звена иммунитета согласуются с клинической картиной заболевания ГБ. Наблюдаемое увеличение количества Т-хелперов с возрастом у пациентов с ГБ может свидетельствовать о стимуляции иммунной системы в ответ на антиген [21]. У пациентов с ГБ антигеном могут служить как накапливающийся гликоген, так и разрушенные в результате механического повреждения или жировой дистрофии гепатоциты. Однако повышенное количество клеток не всегда является предиктором гиперфункции. Возможно, что увеличение количества Т-хелперов на-

прямую связано с их недостаточной функциональной активностью, то есть этот факт можно рассматривать как некий компенсаторный механизм, позволяющий клеткам иммунной системе полностью выполнять свою функцию.

Косвенным подтверждением развития аутоиммунного компонента при ГБ является существенное увеличение количества Th17-лимфоцитов с возрастом. Именно эти клетки играют важную роль в формировании аутоиммунных реакций в организме человека: увеличение содержания Th17-лимфоцитов и их цитокинов ассоциировано с различными аутоиммунными и воспалительными заболеваниями, такими как ревматоидный артрит, системная красная волчанка, рассеянный склероз, псориаз, воспалительные заболевания кишечника и др. [22, 23] При I и III типах ГБ отмечается существенное увеличение содержания Th17-лимфоцитов с возрастом, что согласуется с увеличением частоты сопутствующих заболеваний, таких как развитие аденом печени, кроно-подобного синдрома, проявление кардиомиопатии, гиперуриемии с возрастом [1–3, 9, 24, 25].

Анализ функциональной активности митохондрий по оценке активности СДГ в различных популяциях лимфоцитов подтверждает наличие митохондриальной дисфункции у детей с гликогеновой болезнью, особенно у пациентов старше 12 лет. Степень выраженности митохондриальной дисфункции зависит от типа заболевания и наиболее характерна для пациентов с I и III типами ГБ. Активность СДГ у пациентов с VI типом заболевания наименее отклоняется от показателей возрастной нормы. Митохондриальная дисфункция затрагивает основные и малые популяции лимфоцитов. Обращает внимание, что у детей младше шести лет с I и III типами ГБ наблюдается тенденция к увеличению активности СДГ во всех популяциях лимфоцитов. Данная активация является типичным отражением начальной стадии воспалительной реакции, а длительное хроническое воспаление в конечном итоге приводит к существенному снижению активности этого фермента [26], что и было выявлено у пациентов с ГБ.

Наличие митохондриальной дисфункции может приводить к утяжелению состояния пациента с любой соматической патологией, являясь пусковым механизмом для ее

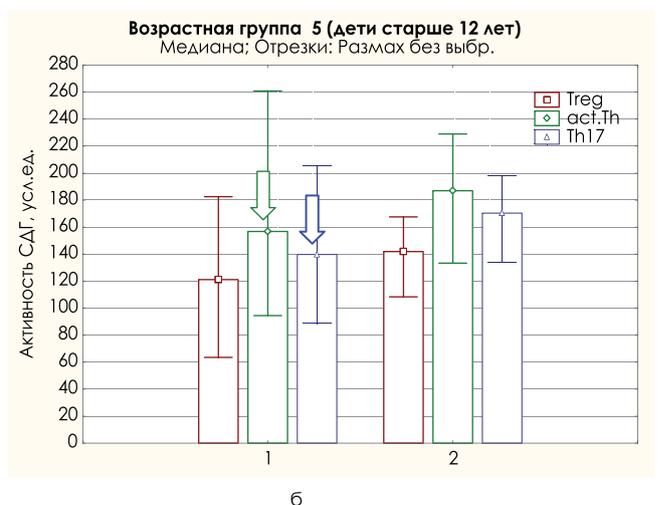
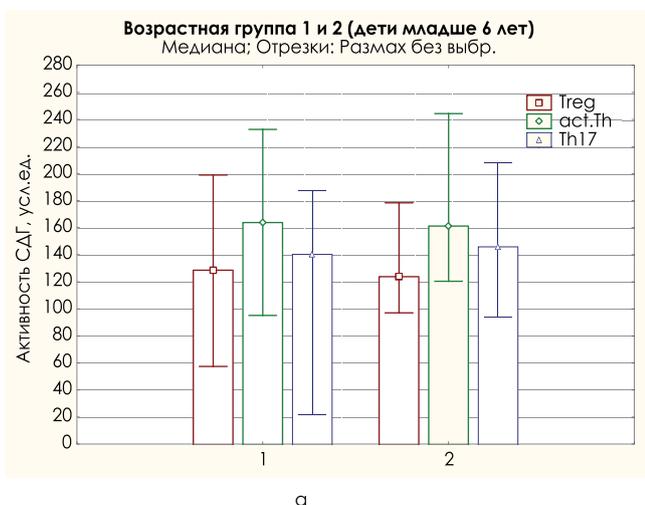


Рисунок 9. Активность СДГ в популяциях регуляторных Т-клеток (Treg), Th17-лимфоцитов (Th17) и активированных Т-хелперов (act. Th) у пациентов с ГБ (1) и в группе сравнения (2) у детей младше шести (а) и старше 12 лет (б).

развития. Рядом авторов показано, что митохондриальная дисфункция лежит в основе широкого диапазона патологических процессов, являющихся отправной точкой для развития различных патологий: нарушений врожденного иммунного ответа, аутовоспалительных заболеваний, хронических дегенеративных и опухолевых заболеваний [27–29].

С увеличением возраста пациентов с ГБ наблюдается снижение количества В-лимфоцитов и активности СДГ в них, что свидетельствует о снижении их функциональной активности и согласуется с данными о снижении уровня иммуноглобулина G (IgG) у 70% пациентов с ГБ [9, 30]. Показано также, что угнетение клеточного энергообмена отражается на функциональной активности В-лимфоцитов у больных с разными формами митохондриальной патологии [31]. На фоне снижения общего количества В-клеток у пациентов с ГБ отмечается увеличение доли В1-лимфоцитов с возрастом, что может свидетельствовать о присоединении аутоиммунного компонента или о повышении количества поврежденных и разрушенных гепатоцитов, нуждающихся в элиминации из организма [19, 32].

Таким образом, у детей с гликогеновой болезнью выявлены изменения в возрастной динамике популяционного состава лимфоцитов, сопровождающиеся нарушениями энергообмена разной степени выраженности в зависимости от возраста и типа заболевания.

Список литературы

- Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Сурков А.Н., Потапов А.С., Баканов М.И., Полякова С.И., Гундобина О.С., Лозоватор А.А. // Гликогеновая болезнь у детей учебное пособие.— М. Педиатр.— 2012.— С.— 128.
- Сурков А.Н., Гликогеновая болезнь у детей: современные представления // Вопросы современной педиатрии.— 2012.— Т. 11, № 2.— С. 30–42.
- Zaichik A. Sh., Churilov L.P. Osnovy obshchei patologii. Osnovy patokhimi. Posobie dlya studentov meditsinskikh VUZov // Basis of General Pathology. Basis of Pathological Chemistry, Guideline for students of medical institutions.— 2000, 688 p.
- Krasnopol'skaya K.D. Nasledstvennye bolezni obmena veshchestv. Spravochnoe posobie dlya vrachei // Genetically Determined Disease of Metabolism. Manual for doctors.— 2005.— p. 364.
- Комшилова К.А., Трошина Е.А., Бутрова С.А./ Неалкогольная жировая болезнь печени при ожирении // Ожирение и метаболизм.— 2011.— № 3.— С. 3–11.
- Оковитый С.В. Митохондриальная дисфункция при метаболическом синдроме // Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология № 2 (16).— 2015.— С. 46–48.
- Курбатова О.В., Измайлова Т.Д., Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Полякова С.И., Мирошкина Л.В., Семёнова Г.Ф., Самохина И.В., Капустина Е.Ю., Духова З.Н., Потапов А.С., Петричук С.В. Митохондриальная дисфункция у детей с печеночными формами гликогеновой болезни // Вестник РАМН.— 2014.— № 7–8.— С. 78–84.
- Сурков А.Н., Потапов А.С., Туманова Е.А., Четкина Т.С. Частота развития цирроза у детей в исходе хронических болезней печени различной этиологии. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.— 2010; 20 (1, прил. 35).— С. 16.
- Уварова Е.В. // Течение гликогеновой болезни печени у детей в условиях комплексной терапии. Автореф. дис. канд. мед. наук. Москва. 2005. 28 с.
- Lin L.J., Wang Y.C., Liu X.M. Clinical and immunological features of common variable immunodeficiency in China. // Chin. Med. J.— 2015. 128 (3).— p. 310–315.
- D'Eufemia P., Finocchiaro R., Celli M., Zambrano A., Teti M., Ferrucci V., Lenti L. // J. Inherit. Metab. Dis.— 2007–30 (1).— p. 105.
- Курбатова О.В., Мирошкина Л.В., Сурков А.Н., Полякова С.И., Измайлова Т.Д., Семенова Г.Ф., Самохина И.В., Капустина Е.Ю., Духова З.Н., Потапов А.С., Петричук С.В. // Особенности Т-клеточного звена иммунитета у детей с гликогеновой болезнью. // Российский иммунологический журнал.— 2014. Т. 8. № 3 (17).— С. 331–334.
- Закиров Р.Ш., Сорокина Е.Г., Карасева О.В., Семенова Ж.Б., Петричук С.В., Рошаль Л.М., Пинелис В.Г. Функциональное состояние митохондриальной лимфоцитов периферической крови при черепно-мозговой травме у детей // Вестник Российской академии медицинских наук.— 2015. № 6.— С. 710–717.
- Измайлова Т.Д., Петричук С.В., Корнеева И.Т., Поляков С.Д. Показатели клеточного иммунитета и митохондриальной активности различных популяций лимфоцитов у юных спортсменов на базовом этапе тренировочного процесса // Лечебная физкультура и спортивная медицина.— 2012. № 12 (108).— С. 15–22.
- Самохина И.В., Басаргина Е.Н., Семенова Г.Ф., Курбатова О.В., Максимова Л., Федорова Н.В., Мирошкина Л.В., Измайлова Т.Д., Петричук С.В. // Возможности коррекции метаболических нарушений у детей с хронической сердечной недостаточностью // Врач.— 2016. № 1.— С. 38–43.
- Сухоруков В.С., Николаева Е.А. Нарушение клеточного энергообмена у детей. // Сборник материалов. М.— 2004.— С. 4–18.
- Царегородцев А.Д., Сухоруков В.С. Митохондриальная медицина — проблемы и задачи. // Российский вестник перинатологии и педиатрии.— 2012.— том 4.— С. 4–13.
- Практическое руководство по детским болезням. Том 8. Иммунология детского возраста под ред. Щербины А.Ю., Пашанова Е.Д. 2006 г.
- Хайдуков С.В., Байдун Л.А. Современные подходы к оценке клеточной составляющей иммунного статуса // Медицина алфавит.— 2015, № 8 (249), том № 2.— С. 44–51.
- Петричук С.В., Измайлова Т.Д., Радыгина Т.В. Способ измерения митохондриальной активности лимфоцитов // Патент на изобретение RU23202635 28.12.2005.
- Савченко А.А. Основы клинической иммунометабономики. Наука. 2012.— 263С.
- Waite J., Skokos D. Th17 response and inflammatory autoimmune diseases // International journal of inflammation.— 2012.— Vol. 2012.— P. 232–242.
- Eleftheriou D., Isenberg D.A., Wedderburn L.R., Ioannou Y. The coming of age of adolescent rheumatology // Nature Review of Rheumatology.— 2014.— Vol. 10.— P. 187–193.
- А.Н. Сурков, Л.С. Намазова-Баранова, А.С. Потапов, К.В. Савостьянов, А.А. Пушков, А.Г. Никитин, С.И. Полякова, М.В. Рязанов, О.В. Кустова, В.И. Барский, М.Ю. Степанян. Случай множественных аденом у подростка с тяжелым течением гликогеновой болезни 1b-типа // Вестник Российской академии медицинских наук.— 2014.— № 11–12.— С. 54–59.
- Dieckgraefe B.K., Korzenik J.R., Husain A., Dieruf L. Association of glycogen storage disease 1b and Crohn disease: results of a North American survey. // Eur. J. Pediatr.— 2002.— 161 Suppl 1.— S. 88–92.
- Петричук С.В., Шищенко В.М., Духова З.Н., Измайлова Т.Д., Писарева И.В., Поляков С.Д., Корнеева И.Т. Диагностические и прогностические возможности клинической цитохимии. М.— 2005.— 75 с.
- Nunnari J., Suomalainen A. Mitochondria: in sickness and health // Cell.— 2012.— 148 (6).— P. 1145–1159.
- Scott I. The role of mitochondria in the mammalian antiviral defense system. // Mitochondrion.— 2010.— 10 (4).— P. 316–320.
- Cloonan S.M., Choi A.M. Mitochondria: commanders of innate immunity and disease? // Curr. Opin. Immunol.— 2012.— 24 (1).— P. 32–40.
- Курбатова О.В., Сурков А.Н., Закиров Р.Ш., Полякова С.И., Мирошкина Л.В., Самохина И.В., Измайлова Т.Д., Семенова Г.Ф., Никитин А.В., Фрейдлин Е.В., Мельничук О.С., Семикина Е.А., Петричук С.В. Гуморальный иммунитет у детей с печеночными формами гликогеновой болезни // Российский иммунологический журнал.— 2015.— том 9 (18), № 2 (1).— С. 273–275.
- Виноградова Т.В., Сухоруков В.С., Клейменова Н.В., Пампура А.Н., Белов В.А., Дорофеева М.Ю. Влияние биоэнергетических нарушений на функцию иммунокомпетентных клеток при различных заболеваниях в детском возрасте. // Российский вестник перинатологии и педиатрии.— 2012.— Том 4 (2).— С. 119–125.
- Merino M.C., Gruppi A. Origin and development of B1-lymphocytes. A cell population involved in defence and autoimmunity // Medicina (B. Aires).— 2006–66 (2).— P. 165–72.



БИОХИМИЧЕСКИЕ АНАЛИЗАТОРЫ

AMS Sat 450



Анализатор итальянской компании AMS с непрерывной загрузкой исследуемых образцов для проведения биохимических, иммунотурбидиметрических и прочих клинических анализов. Типы измерений: конечная точка, фиксированное время, кинетика, дифференциальная фотометрия, турбидиметрия, моно- и бихроматические измерения; до 999 открытых каналов с возможностью использования до 3 реагентов на метод.

- Производительность: До 440 тестов/час (с ионоселективным модулем – в смешанном режиме).
Фотометрия – 280 тестов/час
Измерения K/Na/Cl – 207 тестов/час
- Реагентный модуль: 72 охлаждаемых реагента на борту, емкость контейнеров – 50, 20 и 5 мл
- Диапазон измерений 340 – 700 нм; минимальный реакционный объем 200 мкл
- Реакционный модуль: 80 автоматически моющихся пластиковых кювет с непрерывным мониторингом качества
- Модуль проб: 68 первичных или вторичных пробирок в непрерывной смешанной загрузке, включая срочные пробы
- Ионоселективный модуль: прямое определение ионов K⁺, Na⁺, Cl⁻
- Размеры (ВхШхД): 50x68x105 см

AMS ELLIPSE



Биохимический анализатор Ellipse компании AMS – это биохимический и иммунотурбидиметрический автоматический анализатор произвольного доступа, в базу которого заложено более сотни биохимических методик. Благодаря качеству, надежности, функциональности и точности анализаторы AMS нашли широчайшее применение в государственных гражданских, военных и коммерческих клиниках и лабораториях.

- Производительность – 130 тест/ час
- Реакционный модуль: 120 автоматически моющихся реакционных кювет
- Модуль проб: 32 пробы с возможностью непрерывной загрузки; 99 виртуальных штатива в рабочем списке
- Диапазон измерений 340 – 620 нм; минимальный реакционный объем 200 мкл
- Компактные размеры и малый расход воды
- Размеры (ВхШхД): 53x57x75 см

МедСервис

ТРоссия, Москва
ул. Дербеневская, д.20, стр. 32
Т / П "Кожевники"

Телефон: +7 (495) 633-23-53
+7 (495) 633-23-52
+7 (495) 633-24-34
+7 (495) 633-23-26
Факс: +7 (495) 633-26-16
E-mail: office@medservice.biz
www.medservice.info

AMS Spa, Instruments Factory,
Sales & Customer Service
Via E. Barsanti 17 A
00012 Guidonia - Rome (Italy)

Tel.: +39 0774 35 441
Fax +39 0774 578035
www.amsalliance.com
info@ams-analyzers.com



**Analyzer
Medical
System™**

Значение предикторов кардиоваскулярных нарушений у пациентов с абдоминальным ожирением, неалкогольной жировой болезнью печени и различными компонентами метаболического синдрома

Л. А. Корноухова, зам. генерального директора по лабораторной диагностике¹

¹ЗАО «Северо-Западный центр доказательной медицины», г. Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

Value of cardiovascular disorders' predictors in patients with abdominal obesity, nonalcoholic fatty liver disease and various metabolic syndrome components

L. A. Kornoukhova

North-Western Centre of Evidence-based Medicine Co., First Saint Petersburg State Medical University n.a. I.P. Pavlov; Saint Petersburg, Russia

Резюме

Изучение метаболического статуса 102 больных с абдоминальным ожирением (АО) на разных стадиях неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) проведено с целью определения наиболее значимых предикторов кардио-васкулярных нарушений.

Артериальная гипертензия или прием антигипотензивных средств — основной критерий исключения. Диагноз НАЖБП устанавливался на основании ультразвукового исследования печени, а также по индексам FibroMax и SteatoScreen (BioPredictive, Франция). Идентифицированы две группы: метаболически здоровый фенотип абдоминального ожирения (МЗФАО), составивший 20%, и метаболически нездоровый фенотип абдоминального ожирения (МНЗФАО) — 80%.

Статистически значимые отличия разной степени выраженности ($p < 0,01$) между пациентами групп выявлены для показателей: общий холестерин, триглицериды, ЛПВП, ЛПНП, коэффициент накопления продуктов липидов LAP, индекс висцерального ожирения VAI, гомоцистеин. Выявление висцеральной жировой дисфункции по индексу VAI демонстрирует 12-кратное увеличение вероятности наличия МС у пациентов с абдоминальным ожирением (OR: 12,38; 95% ДИ: 4,55–33,74; $p < 0,0001$). Уровень VAI при АО для пациентов категории МЗФАО составляет 1,57 [$\pm 0,8$; Me \pm 99% ДИ] отн. ед., что достоверно ниже по сравнению с пациентами МНЗФАО 4,02 [$\pm 2,1$; Me \pm 99% ДИ] отн. ед. ($p < 0,001$). Не выявлено связи индекса VAI с разными формами НАЖБП. Частота МС, не сопровождающегося увеличением артериального давления, выше у пациентов с фиброзом по сравнению со стеатозом (OR: 4,01; 95% ДИ: 1,14–14,69; $p < 0,05$). При сочетании АО и двух и более дополнительных факторов риска МС шансы выявления увеличения толщины комплекса интима-медиа общей сонной артерии (КИМ) в 11,5 раза выше, чем среди группы МЗФАО (OR: 11,5; 95% ДИ: 3,16–41,89; $p < 0,05$). Индекс VAI также демонстрирует высокую степень статистической значимости прогноза увеличения толщины КИМ (OR: 8,16; 95% ДИ: 2,85–23,35; $p < 0,00001$).

Среди прочих факторов кардиоваскулярных осложнений (общий холестерин, hsCRP, гомоцистеин, коэффициент аполипопротеин В / аполипопротеин А) связи с повышением толщины КИМ не выявлено; вероятно, на этапе отсутствия артериальной гипертензии данные факторы имеют меньшее значение. Результаты позволяют сделать вывод о наличии взаимосвязи абдоминального ожирения, маркеров системного воспаления с прогрессированием стадий НАЖБП и кардиоваскулярных нарушений.

Ключевые слова: абдоминальное ожирение, неалкогольная жировая болезнь печени, индекс висцерального ожирения, комплекс интима-медиа общей сонной артерии.

Summary

The study of the metabolic status of 102 patients with abdominal obesity (AO) in different stages of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) was performed to determine the most significant predictors of cardio-vascular disorders. Arterial hypertension or receiving antihypertensive funds is the main exclusion criterion. The diagnosis of NAFLD was established based on ultrasound examination of the liver, as well as on FibroMax and SteatoScreen indices (BioPredictive, France). Two groups were identified: amounting to 20% metabolically healthy phenotype of abdominal obesity (MHPAO) and amounting to 80% an unhealthy metabolic phenotype of abdominal obesity (UMPAO). Statistically significant differences of severity ($p < 0.01$) between the patients' groups were identified for indicators: total cholesterol, triglycerides, HDL, LDL, ratio of accumulation of lipids LAP, an index of visceral obesity VAI, homocysteine. Identifying a visceral adipose dysfunction index VAI demonstrates a 12-fold increase in the likelihood of having MS in patients with abdominal obesity (OR: 12.38; 95% CI: 4.55–33.74; $p < 0.0001$). The level of VAI at AO for MHPAO patients is 1.57 [± 0.8 ; $m \pm 99\%$ CI] relative units, significantly lower compared to patients with UMPAO of 4.02 [± 2.1 ; $m \pm 99\%$ CI] relative units ($p < 0.001$). The connection between VAI index with different forms of NAFLD have not been identified. The frequency of MS not accompanied by an increase in blood pressure is higher in patients with fibrosis compared with steatosis ones (OR: 4.01; 95% CI: 1.14–14.69; $p < 0.05$). The combination of AO and two or more additional risk factors of MS the chances of detection of increase of the thickness of the intima-media complex of the common carotid artery (IMC) 11.5 times higher than among MHPAO group (OR: 11.5; 95% CI: 3.16–41.89; $p < 0.05$). The VAI index demonstrates a high degree of statistical significance of the forecast of increase in the thickness of IMC (OR: 8.16; 95% CI: 2.85–23.35; $p < 0.00001$). Among other factors of cardiovascular complications (total cholesterol, hs-CRP, homocysteine, apolipoprotein B to apolipoprotein A ratio), the correlation with the thickness of the IMC increasing have not been identified; probably at the stage of absence of hypertension, these factors are less important. The results allow us to conclude that there is a relationship of abdominal obesity, markers of systemic inflammation with the progression of the NAFLD stages and cardiovascular disorders.

Key words: obesity, non-alcoholic fatty liver disease, visceral adiposity index, intima-media complex of common carotid artery.

Ожирение является мультидисциплинарной, широко распространенной проблемой. В Российской Федерации, по данным Крысановой В. С. и соавт. (2015) при оценке затрат государства на лечение и ведение пациентов с ожирением на примере трех основных социально значимых нозологий — острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), острый инфаркт миокарда (ОИМ) и сахарный диабет второго типа (СД 2 типа) — экономическое бремя ожирения составило около 10,2 млрд рублей для ОНМК, 7,6 млрд для ОИМ, 346,3 млрд для СД второго типа, при этом использовался клиничко-экономический анализ стоимости болезни (cost of illness, COI) с учетом популяционного риска развития ОНМК (15%), ОИМ (35%) и СД второго типа (85%) [16]. Все шире используется понятие метаболически здорового ожирения. Так, по данным исследования Sarah L. Appleton и соавт. (2015), только 4% метаболически здоровых лиц с ожирением имеют повышенный риск развития СД второго типа и сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), при этом при ожирении с метаболическим синдромом (МС) риски возрастают до 14 и 11% соответственно [3]. Широко дискутируется выбор критериев ожирения: применение индекса массы тела или оценка абдоминального ожирения с использованием измерения окружности талии. А также не прекращается поиск более точных коэффициентов оценки висцерального ожирения, отражающих наличие факторов риска. Обсуждается информативность индекса висцерального ожирения (VAI) как эмпирической математической модели, связанной с полом пациента и основанной на простых антропометрических данных — индексе массы тела (ИМТ), окружность талии (ОТ), а также функциональных показателях (триглицериды [ТГ], холестерин липопротеиды высокой плотности [ЛПВП]), и показателей распределения жира и функции [1]. Эта модель, отражающая метаболическую дисфункцию жировой ткани, рассматривается как независимый фактор риска развития сердечно-сосудистых осложнений МС. Коэффициент накопления продуктов липидов (LAP) — относительно новый маркер для измерения риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) — является независимым предиктором сердечно-сосудистых событий при нормальном ИМТ [5].

Прямая визуализация субклинических атеросклеротических изменений, в том числе с помощью ультразвукового исследования (УЗИ) сонных артерий является одним из подходов к оценке сердечно-сосудистого риска (ССР).

Целью исследования явилось изучение метаболического статуса на разных клиничко-морфологических стадиях неалкогольной жировой болезни печени у больных абдоминальным ожирением (АО) без артериальной гипертензии для верификации наиболее значимых предикторов кардиоваскулярных нарушений.

Материалы и методы

Обследованы 102 пациента с абдоминальным ожирением в возрасте от 18 до 68 лет с массой тела $88,5 \pm 5,7$; $Me \pm 99\%$ ДИ] кг, ИМТ — $30,8 \pm 1,8$; $Me \pm 99\%$ ДИ] kg/m^2 , окружность талии (ОТ) — $98,0 \pm 3,4$; $Me \pm 99\%$

ДИ] см. У всех включенных в исследование подтверждено отсутствие злоупотребления алкоголем (менее 40 г этанола в день для мужчин и 20 г для женщин). С целью оценки изменений сосудистой стенки проводилось дуплексное сканирование каротидных артерий. Протокол исследования одобрен этическими комитетами всех участвующих клинических центров. Диагноз НАЖБП устанавливался на основании ультразвукового исследования печени, а также по индексам FibroMax и SteatoScreen коммерческого алгоритма, оценивающего степень поражения печени с учетом степени фиброза и стеатоза (BioPredictive, Франция). Критерии исключения: сахарный диабет первого и второго типов; артериальная гипертензия или прием гипотензивных препаратов, ишемическая болезнь сердца; врожденные нарушения липидного обмена; прием лекарственных препаратов, влияющих на метаболизм глюкозы; заболевания почек, печени и желудочно-кишечного тракта, требующие лекарственной терапии; морбидное и вторичное ожирение; тяжелые соматические и психические заболевания; злоупотребление алкоголем; использование гепатотоксичных препаратов; вирусные гепатиты; хронические заболевания желудочно-кишечного тракта, сопровождающиеся нарушением всасывания.

Лабораторные исследования включали следующие показатели: АЛТ, АСТ, гамма-глутамилтрансферазу (ГГТ), инсулин, глюкозу, триглицериды (ТГ), общий холестерин (ОХ), липопротеины высокой плотности (ЛПВП) и липопротеины низкой плотности (ЛПНП), аполипопротеин А и В, гомоцистеин, высокочувствительный С-реактивный белок (hsCRP). Косвенный показатель инсулинорезистентности — индекс НОМА-IR рассчитывался по формуле Matthews (1985): глюкоза натощак (ммоль/л) \times инсулин натощак (Ед/л) / 22,5. Инсулинорезистентность диагностировалась при индексе НОМА $\geq 2,7$. Индекс Саго — отношение глюкозы (ммоль/л) к уровню инсулина натощак (мкМЕ/мл), при инсулинорезистентности индекс $< 0,33$ [14]. Индекс QUICKI (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index) рассчитывали по формуле A. Katz (2000): $QUICKI = 1 / [\log(GPH) + \log(IPI)]$, где ИПН — инсулин плазмы натощак (мкЕл/мл), ГПН — глюкоза плазмы натощак (мг/дл). Индекс QUICKI $< 0,33$ — маркер инсулинорезистентности [18]. Индекс Висцерального ожирения (VAI) получен по формулам, предложенным Amato et al. (2010) [3]: $VAI_{\text{мужчин}} = (ОТ / (36,58 + [1,89 \times ИМТ])) \times (ТГ / 0,81) \times (1,52 / ЛПВП)$ и $VAI_{\text{женщин}} = (ОТ / (39,68 + [1,88 \times ИМТ])) \times (ТГ / 1,03) \times (1,31 / ЛПВП)$. Коэффициент накопления продуктов липидов (LAP) получен по формулам, предложенным Kahn et al. (2005) [7]: $LAP_{\text{мужчин}} = (ОТ [см] - 65) \times (\text{концентрация триглицеридов [ммоль/л]})$ и $LAP_{\text{женщин}} = (ОТ [см] - 58) \times (\text{концентрация триглицеридов [ммоль/л]})$.

Статистический анализ результатов проводился с использованием статистического пакета Portable Statistica 8 (StatSoft, США) и программы Microsoft Excel. Уровень статистической значимости исследования составлял 5% (или 0,05). Выбор оценочного критерия зависел от вида распределения данных и выполнения условия равенства дисперсий. Анализ нормально распределенных величин

Таблица 1
Характеристика пациентов с абдоминальным ожирением и неалкогольной жировой болезнью по метаболическому здоровью (Me ± 99% ДИ)

Базовые характеристики	1. МЗФАО		2. МНФАО	
	Мужчины	женщины	Мужчины	женщины
Возраст, лет	38 (±15)	45 (±11)	48 (±8)	48 (±4)
ИМТ, кг/м ²	27,3 (±3,5)	30,3 (±4,4)	32,2 (±4)	31,1 (±2,3)
Вес, кг	89 (±11)	80 (±14)	102 (±13)	87 (±7)
Окружность талии, см	97,0 (±2,2)	96,5 (±5,7)	104,0 (±7,9)	96,0 (±5,2)
Средняя толщина комплекса интима-медиа (КИМ), мм	0,7 (±0,1)	0,8 (±0,1)	1,0 (±0,1) p1-2м = 0,02 < 0,05	0,9 (±0,2)
Лабораторные исследования				
Глюкоза, ммоль/л	5,3 (±0,5)	5,1 (±0,5)	6,2 (±0,6)	5,7 (±0,7)
Холестерин общий, ммоль/л	4,6 (±1,2)	5,5 (±0,7)	7,1 (±0,7) p1-2м = 0,0001 < 0,001	6,6 (±0,5) p1-2ж = 0,001 < 0,005
Триглицериды, ммоль/л	1,5 (±0,8)	1,4 (±0,6)	3,4 (±1,6) p1-2м = 0,001 < 0,005	2,7 (±0,3) p1-2ж < 0,001
ЛПВП, ммоль/л	1,4 (±0,3)	1,4 (±0,3)	0,6 (±0,2) p1-2м = 0,0006 < 0,001	0,9 (±0,1) p1-2ж = 0,002 < 0,01
ЛПНП, ммоль/л	2,3 (±0,7)	2,2 (±0,6)	4,0 (±0,6) p1-2м = 0,0004 < 0,001	4,0 (±0,4) p1-2ж < 0,001
АЛТ, Е/л	45,5 (±29,9)	29,5 (±29,9)	101,0 (±41,4) p1-2м = 0,02 < 0,05	45,0 (±17,4)
АСТ, Е/л	27,5 (±36,4)	32 (±25,7)	84,4 (±22,4)	38,0 (±16,1)
ГГТ, Е/л	51,6 (±28,8)	37,1 (±14,8)	71,4 (±50,5) p1-2м = 0,05	54,0 (±27,4)
Лабораторная оценка в ходе изучения				
Инсулин, мкМЕ/мл	6,5 (±2,1)	8,6 (±3,7)	19,1 (±11,8) p1-2м = 0,0002 < 0,001	10,8 (±2,8)
Гомоцистеин, мкмоль/л	9,4 (±4)	7,8 (±3,1)	16,9 (±2,7) p1-2м = 0,009 < 0,01	14,1 (±3,0) p1-2ж = 0,009 < 0,01
hsCRP, мг/л	2,7 (±1,4)	1,9 (±1,2)	3,8 (±1,4) p1-2м = 0,006 < 0,01	3,0 (±0,9)
Аполипопротеин А, г/л	1,1 (±0,3)	1,2 (±0,2)	1,1 (±0,2)	1,0 (±0,1)
Аполипопротеин В, г/л	1,0 (±0,3)	1,1 (±0,2)	1,1 (±0,2)	1,0 (±0,1)
Коэффициент аполипопротеин В / аполипопротеин А	0,9 (±0,6)	0,8 (±0,3)	1,0 (±0,3)	0,9 (±0,6)
Расчетные индексы				
Индекс НОМА-IR	1,6 (±0,6)	2,3 (±7,4)	4,8 (±3,2) p1-2м = 0,0007 < 0,001	2,6 (±1,0)
Индекс Саго	0,8 (±0,2)	0,6 (±0,5)	0,3 (±0,1) p1-2м = 0,0006 < 0,001	0,5 (±0,2)
Коэффициент накопления продуктов липидов (LAP)	49,5 (±26,8)	50,3 (±25,4)	127,1 (±66,8) p1-2м < 0,0001	99,9 (±21,2) p1-2ж = 0,001 < 0,005
Индекс висцерального ожирения (VAI)	2,4 (±1,4)	1,5 (±0,8)	12,3 (±6,3) p1-2м = 0,0001 < 0,001	3,6 (±0,8) p1-2ж < 0,001
Оценка фиброза по SteatoScreen, отн. ед.	1,5 (±0,8)	2,0 (±0,8)	2,0 (±0,7)	2,0 (±0,4)
Оценка стеатоза по SteatoTest, отн. ед.	2,5 (±0,8)	2,0 (±0,9)	3,0 (±0,8)	3,0 (±0,4)
Количество МФР, ед.	0,5 (±0,6)	1,0 (±0,5)	3,0 (±0,5) p1-2м < 0,00001	3,0 (±0,3) p1-2ж < 0,001

проводили с помощью параметрических методов (дисперсионный анализ, t-критерий Стьюдента), в остальных случаях использовали непараметрические методы (критерии Вилкоксона, Манна-Уитни). Сравнительный анализ качественных переменных выполняли с помощью критерия χ^2 и точного двустороннего критерия Фишера. Для описания количественных признаков представлены

абсолютные числа и проценты в виде значений среднего и стандартного отклонений, медианы и 99-процентного доверительного интервала (99% ДИ), значений p. Оценка взаимосвязи изучаемых признаков проводилась с использованием метода корреляции Пирсона (в случае принадлежности распределения признака в группах параметрическому семейству) с последующим анализом

частных корреляций. В случае отличного от нормального распределения анализируемых признаков использовали методику ранговых корреляций Спирмена.

Результаты

При оценке метаболических факторов среди пациентов с абдоминальным ожирением идентифицированы две группы: метаболически здоровый фенотип абдоминального ожирения (МЗФАО), составивший 20%, и метаболически нездоровый фенотип абдоминального ожирения (МНЗФАО) — 80%. Дополнительные факторы метаболического риска (МФР) учитывались согласно критериям, изложенным в Национальных клинических рекомендациях по ведению больных с метаболическим синдромом (2013) [17]. Пациенты с менее чем с двумя МФР считались метаболически здоровыми, с двумя МФР или более определялись как метаболически нездоровые [6]. Результаты клинико-лабораторного обследования представлены в табл. 1.

Используя критерии Amato et al. [2], выявление висцеральной жировой дисфункции по индексу VAI демонстрирует 12-кратное увеличение вероятности наличия метаболического синдрома у пациентов с абдоминальным ожирением (OR: 12,38; 95% ДИ: 4,55–33,74; $p < 0,0001$). Необходимо обратить внимание, что уровень VAI при АО для пациентов категории МЗФАО достоверно ниже и составляет 1,57 [$\pm 0,8$; Me $\pm 99\%$ ДИ] отн. ед. по сравнению с пациентами МНЗФАО 4,02 [$\pm 2,1$; Me $\pm 99\%$ ДИ] отн. ед. ($p < 0,001$). В зависимости от количества выявленных дополнительных факторов риска метаболического синдрома у пациентов с абдоминальным ожирением выявлено закономерное нарастание уровня VAI:

- при отсутствии дополнительных факторов риска уровень составил 1,12 [$\pm 0,31$; Me $\pm 99\%$ ДИ] отн. ед.,
- при наличии одного МФР — 2,83 [$\pm 0,93$; Me $\pm 99\%$ ДИ] отн. ед. ($p_{0-1\text{МФР}} < 0,001$);
- двух — 2,41 [$\pm 0,84$; Me $\pm 99\%$ ДИ] отн. ед. ($p_{0-2\text{МФР}} < 0,0001$);
- трех — 4,56 [$\pm 3,69$; Me $\pm 99\%$ ДИ] отн. ед. ($p_{1-3\text{МФР}} < 0,001$; $p_{2-3\text{МФР}} < 0,001$). Отмечено, что увеличение на один дополнительный МФР, то есть с двух до трех МФР, статистически достоверно в 22 раза увеличивает вероятность наличия тяжелой степени висцеральной жировой дисфункции по критериям Amato et al. (Amato M. C., 2011): OR_{2-3МФР}: 21,86; 95% ДИ: 5,06–94,43; $p_{2-3\text{МФР}} < 0,0001$, при этом увеличение с одного до двух МФР не демонстрирует такой зависимости (OR_{1-2МФР}: 0,78; 95% ДИ: 0,16–3,79; $p_{1-2\text{МФР}} > 0,5$);
- четырёх факторов — 4,43 [$\pm 3,32$; Me $\pm 99\%$ ДИ] отн. ед. ($p_{1-4\text{МФР}} < 0,01$; $p_{2-4\text{МФР}} < 0,01$).

Эти данные подтверждают целесообразность применения точки отсечения на уровне одной отн. ед. для метаболически здорового фенотипа, рекомендованные в Концепции новых национальных клинических рекомендаций по ожирению [19].

Учитывая, что в ряде исследований VAI изучался с точки зрения применения как клинического маркера развития некровоспалительного повреждения и фиброза

печени у пациентов с НАЖБП [9–13], мы также оценивали его с этой точки зрения. В нашем исследовании мы не выявили статистически достоверного увеличения значений индекса VAI у пациентов с разными формами НАЖБП: при стеатозе уровень VAI составил 3,44 [$\pm 2,12$; Me $\pm 99\%$ ДИ] отн. ед., у пациентов со стеатогепатитом — 3,78 [$\pm 5,43$; Me $\pm 99\%$ ДИ] отн. ед., с фиброзом — 3,98 [$\pm 2,44$; Me $\pm 99\%$ ДИ] отн. ед., что опровергает мнение некоторых авторов, считающих VAI более точным предиктором прогрессирования поражения печени, чем другие методы неинвазивной оценки у пациентов с НАЖБП с повышенным риском ССЗ [9, 13].

Среди пациентов с метаболически здоровым ожирением стеатоз печени выявлен у 14 (70%) человек, в равной пропорции выявлены стеатогепатит и фиброз у трех (15%) пациентов соответственно. Столь низкий уровень распространенности метаболически здорового ожирения (9%), сочетающийся с высокой долей стеатоза, свидетельствует об имеющихся популяционных отличиях пациентов с абдоминальным ожирением. Из 82 пациентов, относимых к МНЗФАО, у 22 (27%) выявлены два дополнительных критерия МС, 40 (49%) — три МФР, и у 20 (24%) человек наблюдалось сочетание четырех дополнительных критериев. Из 82 пациентов, относимых к МНЗФАО, у 33 (32%) обнаружен стеатоз, у 20 (24%) стеатогепатит, и у 29 (44%) человек наблюдалось фиброзное поражение печени. Выявлено достоверное четырехкратное увеличение частоты метаболического синдрома, не сопровождающегося увеличением артериального давления; у пациентов с фиброзом по сравнению со стадией стеатоза (OR: 4,01; 95% ДИ: 1,14–14,69; $p < 0,05$), вероятно, наличие метаболического синдрома является одним из факторов риска фиброза печени.

Клинический предиктор, отражающий условия развития внутрисосудистого воспаления в сосудах — средняя толщина комплекса интима-медиа (КИМ) сонной артерии, увеличивающаяся при этом более 0,9 мм, характерен для 47% пациентов с абдоминальным ожирением. Выявлена статистически значимая зависимость достоверного влияния метаболического синдрома на увеличение толщины КИМ ≥ 1 мм: при наличии абдоминального ожирения, а также двух и более дополнительных факторов риска МС шансы выявления увеличения толщины КИМ в 11,5 раза выше, чем среди пациентов с метаболически здоровым ожирением (OR: 11,5; 95% ДИ: 3,16–41,89; $p < 0,05$) (табл. 2). Необходимо обратить внимание, что расчетный индекс, отражающий висцеральную жировую дисфункцию, определенный с помощью индекса VAI по критериям Amato et al. [2], также демонстрирует высокую степень статистической значимости прогноза увеличения толщины КИМ (OR: 8,16; 95% ДИ: 2,85–23,35; $p < 0,00001$). При этом среди дополнительных МФР наибольшее значение имеют липопротеины низкой плотности, повышенный уровень которых имеет наибольшую степень значимости (OR: 4,31; 95% ДИ: 1,76–10,57; $p = 0,0014 < 0,01$). Среди прочих факторов (общий холестерин, hsСРБ, гомоцистеин, коэффициент АпоВ/АпоА) статистически значимых зависимостей по-

Таблица 2
Многофакторный анализ параметров метаболического синдрома

Критерий	Отношение шансов	p
Наличие более двух метаболических факторов риска	OR: 11,5 95% ДИ: 3,16–41,89	0,0002
Уровень глюкозы натощак $\geq 6,1$ ммоль/л	OR: 2,1 95% ДИ: 0,89–4,96	0,0910
Триглицериды (ТГ) $\geq 1,7$ ммоль/л	OR: 3,22 95% ДИ: 1,18–8,74	0,0220
Липопротеины высокой плотности (ЛПВП) < 1 ммоль/л у мужчин и ЛПВП $< 1,2$ ммоль/л у женщин	OR: 3,8 95% ДИ: 1,62–8,94	0,0022
Липопротеины низкой плотности (ЛПНП) $> 3,0$ ммоль/л	OR: 4,31 95% ДИ: 1,76–10,57	0,0014
Уровень артериального давления $\geq 140/90$ мм рт. ст. или прием антигипертензивных средств	Критерий исключения из исследования	
Холестерин общий $> 5,2$ ммоль/л	OR: 1,4 95% ДИ: 0,46–4,26	0,553
hsCRP > 3 мг/л	OR: 2,22 95% ДИ: 0,97–5,08	0,058
Гомоцистеин: отклонение от нормы	OR: 2,00 95% ДИ: 0,71–5,59	0,188
Коэффициент АпоВ/АпоА: отклонение от нормы	OR: 0,61 95% ДИ: 0,24–1,55	0,302
Выявленная висцеральная жировая дисфункция по индексу VAI	OR: 8,16 95% ДИ: 2,85–23,35	0,00001

вышения толщины КИМ не выявлено; вероятно, на этапе отсутствия артериальной гипертензии данные факторы имеют меньшее значение.

Результаты многофакторного анализа предикторов увеличения средней толщины комплекса интима-медиа у пациентов с абдоминальным ожирением и различными компонентами метаболического синдрома представлены в табл. 2.

Нами было выявлено недостоверное увеличение значений толщины КИМ с усилением патологических процессов в печени: при стеатозе печени пограничные значения толщины КИМ $0,8 (\pm 0,2; M \pm SD)$ мм, стеатогепатите — $0,9 (\pm 0,2; M \pm SD)$ мм, фиброзе — $1,0 (\pm 0,2; M \pm SD)$ мм, что не имеет связи со степенью ожирения: при ИМТ ≥ 30 кг/м² значения КИМ составили $0,9 (\pm 0,2; M \pm SD)$ мм. Увеличение КИМ среди пациентов с абдоминальным ожирением достоверно реже связано со стеатозом ($p = 0,02; < 0,05$), для остальных стадий НАЖБП различия недостоверны. Так, при стеатозе печени вероятность обнаружения КИМ ≥ 1 мм значительно ниже (в три раза), чем при фиброзе (OR: 0,34; 95% ДИ: 0,13–0,85; $p < 0,05$), различий со стеатогепатитом не выявлено.

При оценке концентрации гомоцистеина в сыворотке крови и средней толщины комплекса интима-медиа (КИМ) только для больных со стеатогепатитом выявлена достоверная разница между повышением показателей гомоцистеина и КИМ: при КИМ_I $\leq 0,9$ мм уровень гомоцистеина соответствует $10,17 (\pm 4,47; M \pm SD)$ мкмоль/л, при КИМ_{II} ≥ 1 мм — $17,07 (\pm 1,79; M \pm SD)$ мкмоль/л ($p_{II-I} = 0,00056$). Это подтверждает данные, что неалкогольный стеатогепатит является сердечно-сосудистым фактором риска, связанным с повышенными уровнями

гомоцистеина, а толщина КИМ может быть использована как индикатор ранних атеросклеротических изменений, инициированных дислипидемией и окислительным стрессом, при этом высокий уровень гомоцистеина может быть следствием поражения печени [8]. Линейный регрессионный анализ данных гомоцистеина, индекса НОМА-IR, средней толщины комплекса интима-медиа (КИМ) демонстрирует достоверную ($p < 0,001$) корреляцию между переменными.

В качестве маркера хронического сосудистого воспаления, характерного для абдоминального ожирения, в исследовании московских ученых [15] оценивался уровень hsCRP, который у пациентов с НАЖБП составил $2,6 [0,3; 12,8; Me [25; 75]]$ против $3,1 [\pm 0,68; Me \pm 99\% ДИ]$ мг/л по нашим результатам. При этом у пациентов с НАСГ уровни hsCRP были значительно выше, чем у обследованных со стеатозом печени: $3,0 [0,6; 12,8; Me [25; 75]]$ против $1,58 [0,4; 4,8; Me [25; 75]]$ мг/л; $p = 0,003$ [15]. В нашем исследовании: $3,7 [\pm 1,9; Me \pm 99\% ДИ]$ против $2,6 [\pm 0,8; Me \pm 99\% ДИ]$; $p = 0,003; < 0,005$. Это соответствует литературным данным, по которым уровень hsCRP достоверно выше в группе со стеатогепатитом ($p < 0,001$), нежели при стеатозе [4]. Результаты нашего исследования подтверждают уже имеющиеся данные о взаимосвязи абдоминального ожирения, воспаления и инсулинорезистентности. Корреляционный анализ выявил достоверную взаимосвязь hsCRP и индекса НОМА-IR ($r = 0,35; p = 0,012$), величина которой в нашем исследовании выше и отличается более высоким уровнем достоверности ($r = 0,43; p < 0,001$) [4].

Математический анализ для оценки взаимосвязей между маркерами кардиоваскулярных осложнений среди пациентов с абдоминальным ожирением без артери-

Показатель	Значение	Ассоциация факторов риска с уровнем hsCRP	
		Коэффициент регрессии	95% ДИ
Индекс НОМА-IR, у.е.	2,90 ± 1,39	0,56; p = 0,0073; p < 0,01	0,16–0,96
Гомоцистеин, мкмоль/л	13,36 ± 6,44	–0,003; p = 0,95	–0,12–0,12
Средняя толщина КИМ, мм	0,89 ± 0,19	1,77; p = 0,24	–1,21–4,68
Аполипопротеин А1, г/л	1,03 ± 0,24	0,23; p = 0,81	–1,70–2,17
Холестерин общий, ммоль/л	6,48 ± 1,29	0,24; p = 0,24	–0,17–0,65

Примечание: данные представлены как среднее и стандартное отклонение.

альной гипертензии позволил установить превышение нормативного уровня для hsCRP до уровня 3,14 [±2,14; Me ± 99% ДИ] мг/л, индекса НОМА-IR — 2,90 [± 1,39; Me ± 99% ДИ] отн. ед. и общего холестерина — 6,48 [± 1,29; Me ± 99% ДИ] ммоль/л. При этом корреляционный анализ выявил достоверную взаимосвязь концентрации hsCRP и индекса НОМА-IR ($r = 0,43$; $p < 0,001$), средней толщины КИМ с общим холестерином ($r = 0,3$; $p < 0,01$ соответственно).

При проведении множественного линейного регрессионного анализа концентрации hsCRP с факторами риска сердечно-сосудистых осложнений первой линии контроля достоверные изменения уровня hsCRP ассоциировались только с индексом НОМА-IR ($p < 0,01$) (табл. 3).

Заключение

Полученные данные позволяют сделать вывод о наличии взаимосвязи абдоминального ожирения, маркеров системного воспаления с прогрессированием стадий неалкогольной жировой болезни печени и сердечно-сосудистых нарушений. Открытым для изучения вопросом является оценка состояния печени у пациентов с выраженным атеросклерозом и гипертонической болезнью, что поможет определить патогенетическое значение и приоритетность поражения органов-мишеней у пациентов с абдоминальным ожирением. Результатом станут совершенствование лабораторных, инструментальных методов обследования терапевтических больных, оптимизация применения лабораторных критериев для ранней диагностики поражений органов мишеней, определение диагностической информативности лабораторных тестов.

Список литературы

- Amato M. C., Giordano C., Galia M., Criscimanna A., Vitabile S. et al. Visceral Adiposity Index: a reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. 2010 г., 33, стр. 920–922.
- Amato M. C., Giordano C., Pitrone M., Galluzzo A. Cut-off points of the visceral adiposity index (VAI) identifying a visceral adipose dysfunction associated with cardiometabolic risk in a Caucasian Sicilian. *Lipids in Health and Disease*. 2011 г., Т. 10, 183, стр. 1–8.
- Appleton S. L., Seaborn C. J., Visvanathan R. et al. Diabetes and cardiovascular disease outcomes in the metabolically healthy obese phenotype a cohort study. 2013 г., Т. 36, стр. 2388–2394.
- Cao Y., Li L. Relationship of non-alcoholic steatohepatitis with arterial endothelial function and atherosclerosis. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*. 2014 г., Т. 22, 3, стр. 205–208.
- Hosseinpour F., Barzin M., Mirbolouk M., Abtahi H., Cheraghi L. Lipid accumulation product and incident cardiovascular events in a normal weight population: Tehran Lipid and Glucose Study. 2016 г., 23, стр. 2187–2193.
- Huang, P. L. A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Disease Models & Mechanisms*. 2009 г., Т. 2, 5–6, стр. 231–237.
- Kahn, H. The "lipid accumulation product" performs better than the body mass index for recognizing cardiovascular risk: a population-based comparison. 2005 г., 5, стр. 26.
- Leach N. V., Dronca E., Vesa S. C., Sampelean D. P., Craciun E. C., Lupșor M. et al. Serum homocysteine levels, oxidative stress and cardiovascular risk in non-alcoholic steatohepatitis. *Eur J Intern Med*. 2014 г., Т. 25, стр. 762–767.
- Li Y., Liu L., Wang B., Chen D. Letter: is visceral adiposity index a predictor of liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease? 2013 г., Т. 37, 5, стр. 583.
- Li Y., Liu L., Wang B., Chen D. Simple steatosis is a more relevant source of serum inflammatory markers than omental adipose tissue. 2014 г., Т. 38, 1, стр. 46–54.
- Musso G., Cassader M., F. de Michieli, Rosina F., Orlandi F., Gambino R. Nonalcoholic steatohepatitis versus steatosis: adipose tissue insulin resistance and dysfunctional response to fat ingestion predict liver injury and altered glucose and lipoprotein metabolism. 2012 г., Т. 56, 3, стр. 933–942.
- Petta S., Amato M. C., Di Marco V. et al. Visceral adiposity index is associated with significant fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. 2012 г., Т. 35, 2, стр. 238–247.
- Vongsuvan H. G., George J., McLeod D., D. van der Poorten. Visceral adiposity index is not a predictor of liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. 2012 г., Т. 57, 2, стр. 392–398.
- Ивашкин В. Т., Маевская М. В., Павлов Ч. С. и др. Диагностика и лечение неалкогольной жировой болезни печени. Методические рекомендации для врачей. Москва: б.н., 2015.
- Комшилова К. А., Трошина Е. А., Бутрова С. А., Богомолов П. О., Князева А. П. Кардиометаболические факторы риска на разных клинико-морфологических стадиях неалкогольной жировой болезни печени у больных абдоминальным ожирением. *Ожирение и метаболизм*. 2012 г., Т. 3, стр. 20–25.
- Крысанова В. С., Журавлева М. В., Дралова О. В., Рогачева О. А., Каменева Т. Р. Проблема ожирения и избыточной массы тела в Российской Федерации и ее фармакоэкономическая оценка. *Альманах клинической медицины*. 2015 г., Спецвыпуск 1 «Проблемы ожирения», стр. 36–41.
- Рекомендации по ведению больных с метаболическим синдромом (Национальные клинические рекомендации). Разработаны по поручению Минздрава России, утверждены Российским медицинским обществом по артериальной гипертензии и профильной комиссией по кардиологии. 28.11.2013 г., стр. 1–43.
- Синдром поликистозных яичников в репродуктивном возрасте (Национальные клинические рекомендации): Министерство здравоохранения РФ Письмо от 10 июня 2015 г. N 15–4/10/2–2814, 2015.
- Шляхто Е. В., Недогада С. В., Конради А. О., Баранова Е. И., Фомин В. В., Верткин А. А., Чумакова Г. А. Концепция новых национальных клинических рекомендаций по ожирению. *Российский кардиологический журнал*. 2016 г., 4, стр. 7–13.



Течение рака предстательной железы в зависимости от степени дифференцировки опухоли по шкале Глисона

Е. В. Дарий, к.м.н., врач-уролог

Европейский медицинский центр, г. Москва

Course of prostate cancer depending on degree of tumor differentiation on Gleason scale

E. V. Daryi

European Medical Centre Co., Moscow, Russia

Резюме

Одной из основных характеристик, определяющей течение РПЖ, является степень дифференцировки опухоли по Глисон. Шкала Глисона — синоним рака предстательной железы, который используется во всем мире в качестве критерия прогноза жизни и информирования пациента о необходимости лечения. Цель исследования. Изучение роли исходного значения дифференцировки опухоли по шкале Глисона в прогнозировании течения РПЖ у мужчин разных возрастных групп. Материалы и методы исследования. Настоящее открытое нерандомизированное исследование основано на ретроспективном анализе медицинских данных 291 пациента в возрасте от 55 до 92 лет (средний возраст 73,3 года) с верифицированным раком предстательной железы. Результаты. В соответствии с характеристикой опухоли по шкале Глисона все пациенты были распределены следующим образом: менее 6 баллов было у 162 (55,7%), 6–7 баллов у 96 (33,0%), 8 и более у 33 (11,3%) пациентов. В нашем наблюдении пятилетняя общая выживаемость составила $79,7 \pm 3,8\%$, 10-летняя — $54,4 \pm 4,2\%$, 15-летняя — $28,3 \pm 4,0\%$. Сходная тенденция наблюдалась и в отношении снижения ракоспецифичной выживаемости, которая через 5, 10 и 15 лет составила $91,8 \pm 1,7\%$, $86,1 \pm 2,6\%$ и $65,8 \pm 6,7\%$ соответственно. По ракоспецифической выживаемости в целом по группе были выявлены статистически значимые различия между пациентами с 7 и менее баллами по шкале Глисона и 8 и более баллами ($p = 0,001$). Мы не наблюдали различий между группами до 6 и 6–7 баллов. У пациентов в возрасте старше 80 лет выживаемость в группе с 8 и более баллами по шкале Глисон оказалась выше, чем с 6–7 баллами. Заключение. Процентное соотношение РПЖ разной степени дифференцировки не изменяется с возрастом, однако прогностическая значимость степени дифференцировки по шкале Глисона снижается у пациентов в возрасте старше 80 лет, что, вероятно, обусловлено неблагоприятным прогнозом на фоне сопутствующей патологии.

Ключевые слова: рак предстательной железы, пожилые мужчины, шкала Глисона.

Summary

One of the main characteristics that defines a course of prostate cancer is the degree of tumor differentiation on the Gleason scale. Gleason score is a synonym of prostate cancer, which is used worldwide as a life prediction criterion and inform the patient about the need for treatment. Objective. To study the role of the original value of tumor differentiation on the Gleason score in predicting the course of prostate cancer in men of different age groups. Materials and methods. This open non-randomized study was based on retrospective analysis of medical data in 291 patients aged 55 to 92 years (an average age was 73.3 years) with confirmed prostate cancer. Results. According to the characteristic on the Gleason score tumor patients were distributed as follows: with less than 6 points were 162 (55.7%), with 6–7 ones were 96 (33.0%) and more than 8 points were 33 (11.3%) patients. In our observation the 5-year overall survival rate was $79.7 \pm 3.8\%$, the 10-year old was $54.4 \pm 4.2\%$, 15-year-old was $28.3 \pm 4.0\%$. A similar trend was observed in decreasing cancer-specific survival that at 5, 10 and 15 years was $91.8 \pm 1.7\%$, $86.1 \pm 2.6\%$ and $65.8 \pm 6.7\%$ respectively. According to cancer-specific survival of the whole group statistically significant differences between patients with less than 7 and Gleason score, and 8 or more points ($p = 0.001$) were found. We observed no differences between the groups up to 6 and 6–7 points. Patients over the age of 80 years, the survival rate in the group with 8 or more Gleason score was higher than 6–7 points. Conclusion. The percentage of different degrees of differentiation of prostate cancer does not change with age, but the prognostic significance of the degree of Gleason score differentiation reduced in patients over the age of 80 years, which is probably due to the unfavorable outlook on the background of comorbidity.

Key words: prostate cancer, older men, Gleason score.

На протяжении последних 15 лет наблюдается неуклонный рост заболеваемости раком предстательной железы (РПЖ). Это заболевание поражает мужчин разного возраста, являясь причиной временной нетрудоспособности и инвалидизации значительной части населения, причиняя экономический ущерб системе здравоохранения.

Согласно данным ВОЗ, к 2030 году глобальная смертность от рака вырастет на 45% по сравнению с уровнем 2007 года (с 7,9 до 11,5 млн случаев) отчасти из-за роста численности и старения населения мира. При этом за этот же период времени число новых случаев заболевания РПЖ возрастет

с 11,3 млн в 2007 году до 15,5 млн случаев в 2030 году. В связи с вышесказанным немаловажное значение приобретают вопросы профилактики, возможности вакцинации, своевременной диагностики и лечения РПЖ [1, 2, 3].

Широкое внедрение в клиническую практику теста на определение уровня простат-специфического антигена (ПСА) в сыворотке крови способствовало повышению выявления случаев заболеваемости РПЖ, в том числе и клинически незначимых, на протяжении последних лет.

Скрининг рака простаты на основании оценки уровня ПСА крови имеет свои преимущества и недостатки: параллельно с увеличением

количества выявленных клинически незначимых случаев РПЖ существенно возросли затраты здравоохранения на их лечение. Положительное влияние скрининга ПСА на ракоспецифическую смертность было доказано в работе F. Schröder, но не подтвердилось в исследовании G. Andriole [4, 5]. Ряд авторов рекомендуют принимать решение о проведении скрининга РПЖ по ПСА, используя индивидуальный подход к каждому пациенту в зависимости от клинической ситуации [6, 7]. Важно отметить, что в эти исследования были включены пациенты старше 70 лет, но дизайном не предусматривалось включение пациентов в воз-

расте 75 лет и старше. В связи с этим данные о роли скрининга РПЖ в этой возрастной группе пациентов ограничены.

В некоторых работах указывается на прямую зависимость возраста и вероятности наличия РПЖ высокого риска [8, 9]. С другой стороны, существуют данные, свидетельствующие о том, что пациенты более старшего возраста с меньшей вероятностью умирают непосредственно от РПЖ и его осложнений, чем от сопутствующих заболеваний. Помимо этого, лечение РПЖ в старшей возрастной группе ассоциировано с высоким риском побочных эффектов терапии и ухудшением качества жизни.

Одной из основных характеристик, определяющей течение РПЖ, является степень дифференцировки опухоли по Глисон. Шкала Глисона — синоним рака предстательной железы, который используется во всем мире в качестве критерия прогноза жизни и информирования пациента о необходимости лечения. Эта система была создана D. Gleason на основании данных гистологического исследования материала предстательной железы 2911 пациентов [10]. Применение ПСА в качестве скрининга РПЖ привело к выявлению более ранних стадий заболевания, в связи с чем и возникла необходимость более дифференцированного подхода к пациентам с целью определения тактики их ведения. Это явилось стимулом для очередного пересмотра критериев шкалы Глисона на конференции Международного общества патологоанатомов в урологии ISUP (International Society of Urological Pathology) в 2005 году [11].

В валидизированных исследованиях было доказано, что шкала Глисона 1992 года и модифицированная ISUP в 2005 году коррелирует с исходами лечения РПЖ, и основным ее достоинством оказалось повышение стадии заболевания в трети случаев [12, 13, 14].

В последнее время роль гистолога в лечении пациентов с РПЖ сильно возросла благодаря появлению такого вида лечения, как активное наблюдение: считается, что у пациентов со значением Глисона 6 (3 + 3), этот метод лечения является оптимальным [15, 16, 17].

В 2011 году T. Tolonen [18] оценил частоту биохимического рецидива у пациентов со следующими показателями по шкале Глисона: ≤ 6 , 7, 8+ и $\leq 3 + 4$, $(4 + 3) + 8$, 9–10. Он показал, что именно такое разделение по группам в зависимости от степени дифференцировки опухоли улучшает прогнозирование безрецидивной выживаемости больных. В 2014 году на конференции были приняты поправки к классификации опухолей по шкале Глисон [19], согласно которой опухоль степени 1 состоит только из измененных участков степени дифференцировки 3; степени 2 — из участков 3 + 4; степени 3 — из участков 4 + 3; степени 4 — из участков в сумме 8 (3 + 5, 5 + 3 и 4 + 4) и степени 5 — из участков 4 + 5, 5 + 4 и 5 + 5. В 2015 году на основании ряда исследований была подтверждена клиническая значимость этих рекомендаций [20, 21, 22].

Учитывая высокую информативность и доказанную прогностическую значимость характеристики РПЖ по шкале Глисона, мы решили оценить роль степени дифференцировки РПЖ в разных возрастных группах мужчин для более точного прогнозирования течения заболевания в старшей возрастной группе.

Цель исследования: изучение роли исходного значения дифференцировки опухоли по шкале Глисона в прогнозировании течения РПЖ у мужчин разных возрастных групп.

Материалы и методы исследования

Настоящее открытое нерандомизированное исследование основано на ретроспективном анализе медицинских данных 291 пациента в возрасте от 55 до 92 лет (средний возраст 73,3 года).

Все пациенты обследовались и лечились в ФГУ «Поликлиника № 1» УДП РФ в период с 1989 по 2015 год). Пациентам было выполнено общеклиническое обследование, включавшее оценку жалоб, сбор анамнеза, длительность заболевания; лабораторное исследование с определением уровня ПСА, пальцевое ректальное исследование, ультразвуковое обследование простаты и гистологическое исследование биопсийного материала ткани простаты.

Всем пациентам после выявления РПЖ проводилось лечение.

Критерии включения: мужчины в возрасте от 50 лет и старше; верифицированный рак предстательной железы; подтверждение диагноза РПЖ данными гистологического исследования.

Критерии исключения: неполный набор лабораторных и инструментальных исследований пациента; системные заболевания; пациенты с метастазами; наличие химио- или лучевой терапии в прошлом; период наблюдения менее шести месяцев.

Максимальный период наблюдения за больными составил 22 года, минимальный — шесть месяцев (в среднем 15,4 года).

Статистическая обработка

Статистическая обработка данных производилась в программе Statistica 10.0. Нормальность распределения определяли с помощью критериев Шапиро-Уилка. Количественные показатели представлены в виде среднего (M) \pm стандартное отклонение (S). Проводили многофакторный анализ с помощью модели пропорциональных рисков Кокса. Для анализа выживаемости пациентов использовали метод Каплана-Майера. Статистически значимыми считали значения при $p < 0,05$.

Результаты

У 20 (6,9%) пациентов из 291, находившихся под нашим наблюдением, был диагностирован РПЖ стадии T1, у 195 (67%) стадии T2, у 69 (23,7%) стадии T3 и у 7 (2,4%) стадии T4.

Средний уровень ПСА сыворотки крови обследованных пациентов составил 37,7 нг/мл (от 3,5 до 269,0 нг/мл).

В соответствии с возрастом установления диагноза РПЖ пациенты были распределены следующим образом: в возрасте до 60 лет были 38 (13,1%), 60–69 лет — 81 (27,8%), 70–79 лет — 104 (35,7%) и 80 лет и старше — 68 (23,4%) пациентов. Распределение пациентов с РПЖ в зависимости от исходного значения по шкале Глисона в каждой возрастной группе представлено в табл. 1.

Для оценки роли данных по шкале Глисона в прогнозировании течения

РПЖ мы проанализировали значение этого показателя и смертность пациентов каждой возрастной группы в зависимости от исходного уровня дифференцировки опухоли (рис. 2–6). Распределение пациентов с РПЖ в зависимости от возраста и степени дифференцировки опухоли по шкале Глисона представлено в табл. 2.

За период наблюдения (в среднем 15,4 года) из наблюдаемой группы умерли 87 (29,9%) мужчин, из них 29 (33,3%) умерли от РПЖ, 58 (66,7%) от других заболеваний: 12 (20,7%) пациентов умерли от онкологических заболеваний иной локализации, 46 (79,3%) от сердечно-сосудистых и бронхолегочных заболеваний. Возраст умерших пациентов составил $78,0 \pm 8,6$ года, выживших — $77,5 \pm 5,6$ года.

В нашем наблюдении пятилетняя общая выживаемость составила $79,7 \pm 3,8\%$, 10-летняя — $54,4 \pm 4,2\%$, 15-летняя — $28,3 \pm 4,0\%$ (рис. 1). Сходная тенденция наблюдалась и в отношении снижения ракоспецифичной выживаемости, которая через 5, 10 и 15 лет составила $91,8 \pm 1,7$, $86,1 \pm 2,6$ и $65,8 \pm 6,7\%$ соответственно (рис. 2).

Данные летальности и выживаемости мужчин с РПЖ в зависимости от возраста и степени дифференцировки РПЖ по Глисону представлены в табл. 4–5 и рис. 3–7.

Обсуждение

Мы оценивали значение степени дифференцировки РПЖ по шкале Глисона в прогнозировании течения данного заболевания у 291 мужчины разных возрастных групп, основываясь на анализе общеклинического, пальцевого ректального исследования, ультразвукового обследования простаты, гистологического исследования биопсийного материала ткани простаты. Целью нашей работы явилось получение дополнительной информации, которая помогла бы практикующим врачам оценивать риск и пользу проведения скрининга и лечения РПЖ у пациентов старшей возрастной группы. Мы не обнаружили различий по частоте

Рисунок 2. Ракоспецифическая выживаемость пациентов данной группы.

Таблица 1

Распределение пациентов в зависимости от исходного значения по шкале Глисона (n = 291)

Баллы по шкале Глисона	Менее 6 баллов	6–7 баллов	8 и более баллов
Общее количество	162	96	33
Процент	55,7	33,0	11,3

Таблица 2

Распределение пациентов в зависимости от возраста и степени дифференцировки опухоли по шкале Глисона

Возраст / баллы по шкале Глисона	До 60 лет		60–69 лет		70–79 лет		Старше 80 лет	
	Абс.	Процент	Абс.	Процент	Абс.	Процент	Абс.	Процент
До 6 баллов	20	6,8	41	14,1	62	21,3	39	13,4
6–7 баллов	14	4,8	29	9,9	31	10,7	22	7,6
8 и более баллов	4	1,4	11	3,8	11	3,8	7	2,4

Общая выживаемость

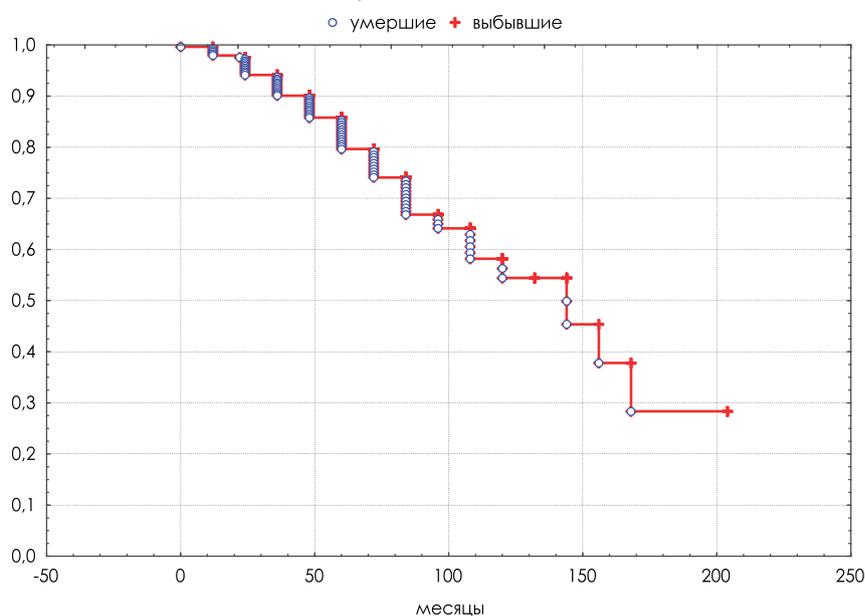


Рисунок 1. Общая выживаемость пациентов данной группы.

Ракоспецифическая выживаемость, %

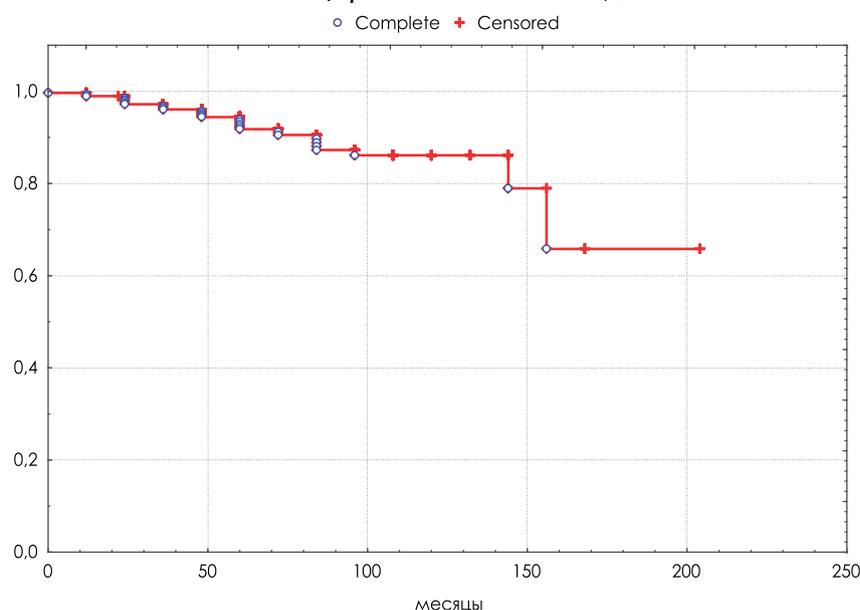


Таблица 4
Летальность мужчин с РПЖ в зависимости от возраста (n = 87)

Умершие	50–59 лет		60–69 лет		70–79 лет		Старше 80 лет	
	Абс.	Процент	Абс.	Процент	Абс.	Процент	Абс.	Процент
От РПЖ	3	3,5	7	8,0	8	9,2	11	12,6
От других заболеваний	1	1,2	4	4,6	28	32,2	25	28,7

Таблица 5
Количество умерших пациентов с РПЖ в зависимости от количества баллов по шкале Глиссон

Количество баллов по шкале Глиссона / количество умерших	До 6		6–7		8 и более	
	Абс.	Процент от числа пациентов с данным количеством баллов	Абс.	Процент от числа пациентов с данным количеством баллов	Абс.	Процент от числа пациентов с данным количеством баллов
Причина смерти РПЖ	11	12,6	8	9,2	10	11,5
Причина смерти другое заболевание	34	39,1	16	18,4	8	9,2

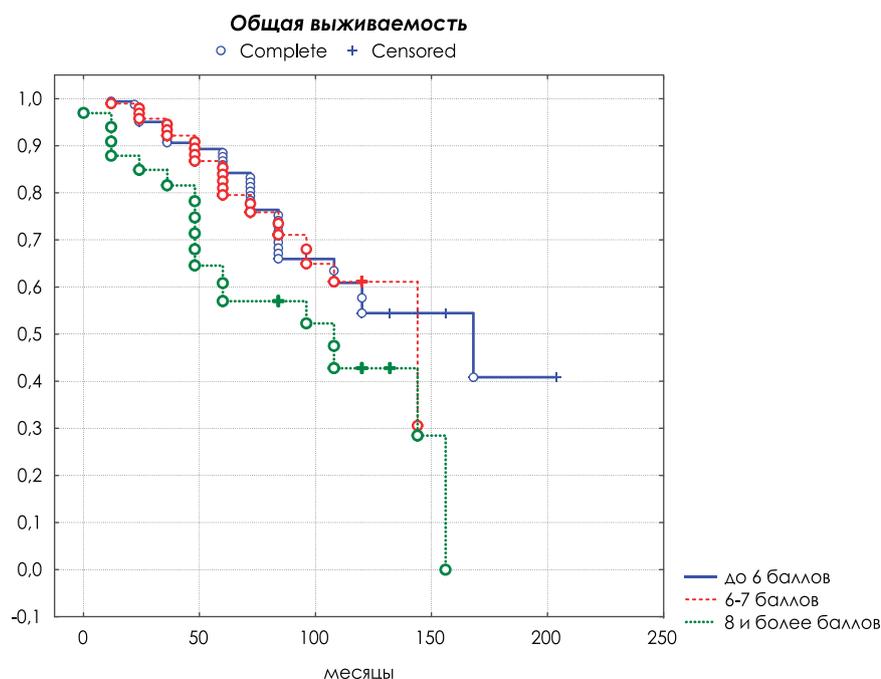


Рисунок 3. Общая выживаемость пациентов с РПЖ в зависимости от значения по шкале Глиссона.

встречаемости опухолей с различной степенью дифференцировки по шкале Глиссона среди всех возрастных групп: в среднем у половины пациентов было менее 6 баллов по шкале Глиссон, у трети — 6–7 баллов, у 10–12% — 8 и более баллов.

Следующим нашим шагом была оценка выживаемости в различных возрастных группах в зависимости от степени дифференцировки опухоли по Глиссону. При оценке ракоспецифической выживаемости в целом по группе были выявлены статистически значимые различия выживаемости пациентов с семью

и менее баллами по шкале Глиссона, а также восемь и более баллами ($p = 0,001$). Мы не наблюдали различий между группами до 6 и 6–7 баллов. Сходная закономерность прослеживалась и в группе пациентов в возрасте от 60 до 79 лет. Однако эти различия не наблюдались у пациентов в возрасте старше 80 лет: выживаемость в группе с восемью и более баллами по шкале Глиссона оказалась выше, чем с 6–7 баллами. Возможно, данные изменения обусловлены высокой общей смертностью пациентов старшего возраста: более трети мужчин умерли от сопутствующих заболеваний, тог-

да как РПЖ стал причиной смерти лишь 12,6% пациентов. Аналогичные данные представлены в ставшей уже классической работе С. Parker [23], а также в исследованиях R. Godtman [24] и S. Loeb [25]. Согласно результатам данной работы наблюдалось значительное увеличение общей смертности через 10 лет от момента постановки диагноза РПЖ в группе мужчин старше 80 лет. Было показано, что более высокие показатели смертности обусловлены именно тяжелым соматическим статусом пациентов в результате сопутствующей патологии, а не непосредственно РПЖ.

Интересные результаты были получены нами при анализе частоты и причин смерти пациентов с РПЖ в зависимости от показателей по шкале Глиссон. Отмечена закономерность изменения соотношения причин смерти от РПЖ и других заболеваний при увеличении количества баллов. Данное соотношение в группе пациентов с баллами менее 6; 6–7; 8 и более составило 0,3; 0,5 и 1,25 соответственно. Таким образом, подтверждается высокая прогностическая значимость показателей шкалы Глиссон в прогнозировании выживаемости пациентов с РПЖ. Однако с увеличением возраста пациентов эта прогностическая значимость снижается на фоне увеличения смертности в результате сопутствующих заболеваний. Данные обстоятельства подтверждают предложенные нами ранее рекомендации по выбору метода лечения РПЖ не только в зависимости от стадии, степени дифференцировки, но и от общего состояния пациента [26].

На сегодняшний день многими авторами показано, что выбор метода лечения РПЖ у мужчин старшего возраста должен основываться на сопоставлении ожидаемой продолжительности жизни и агрессивности онкологического заболевания. Польза от лечения может перевешивать возможный риск у пациентов старшего возраста с агрессивной или системной формой заболевания, даже если у пациента имеются сопутствующие заболевания, которые влияют на его продолжительность жизни. Кроме того, лечение будет более эффективным у пожилых пациентов с относи-

тельно длительной ожидаемой продолжительностью жизни. С другой стороны, у пациентов с неагрессивным течением заболевания и короткой ожидаемой продолжительностью жизни назначение специфического лечения РПЖ может ухудшить состояние здоровья, качество жизни и ускорить наступление летального исхода. Такие факторы как возраст, полиморбидность, функциональные нарушения и гериатрические синдромы (включая старческую астению и когнитивные расстройства) имеют клиническую значимость при оценке ожидаемой продолжительности жизни [27, 28, 29].

Учитывая полученные данные, хотелось бы еще раз вернуться к вопросу о скрининге РПЖ у пациентов старшего возраста. В двух самых крупных исследованиях, изучавших проблему скрининга РПЖ по ПСА, доля пациентов старше 70 лет была незначительна. При этом согласно требованиям протокола в исследовании не включали пациентов в возрасте старше 75 лет [4, 5].

В настоящее время в рекомендациях говорится о том, что пациентам старшего возраста нецелесообразно проводить скрининг РПЖ, однако в них не учитывается соматический статус, который определяет ожидаемую продолжительность жизни. В нашем исследовании не было получено данных о более агрессивном течении заболевания в старшем возрасте, хотя в литературе представлены и отличающиеся от наших результаты обследования пациентов с РПЖ. Так, в работе V. Muralidhar [30] были представлены данные об увеличении с возрастом вероятности выявления РПЖ с восемью и более баллами по шкале Глисона, однако в данной работе не были представлены данные по выживаемости и причинам летального исхода наблюдаемых пациентов.

Таким образом, процентное соотношение РПЖ разной степени дифференцировки не изменяется с возрастом, однако прогностическая значимость степени дифференцировки по шкале Глисона снижается у пациентов в возрасте старше 80 лет, что, вероятно, обусловлено неблагоприятным прогнозом на фоне сопутствующей патологии.

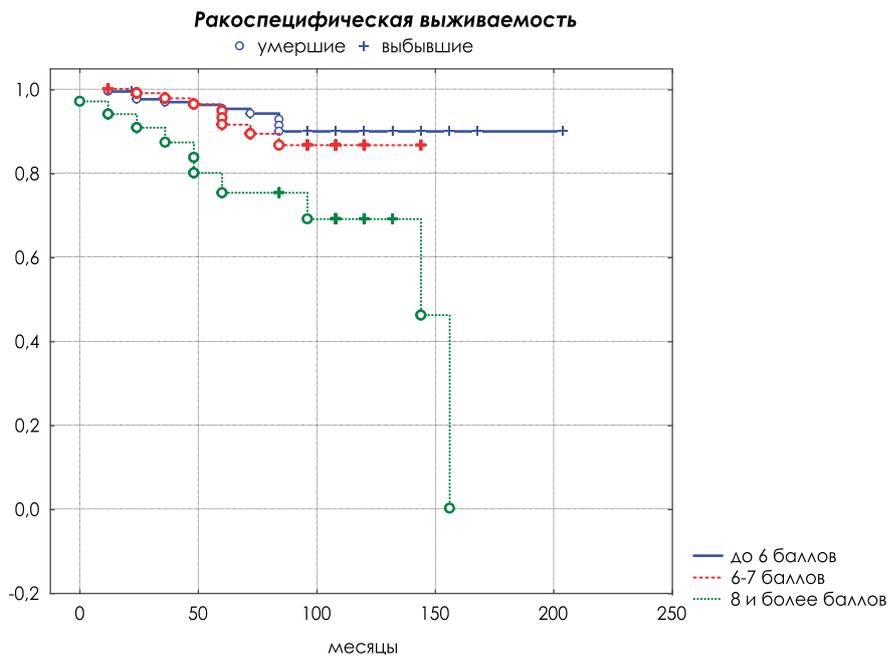


Рисунок 4. Ракоспецифическая выживаемость в зависимости от значения по шкале Глисона.

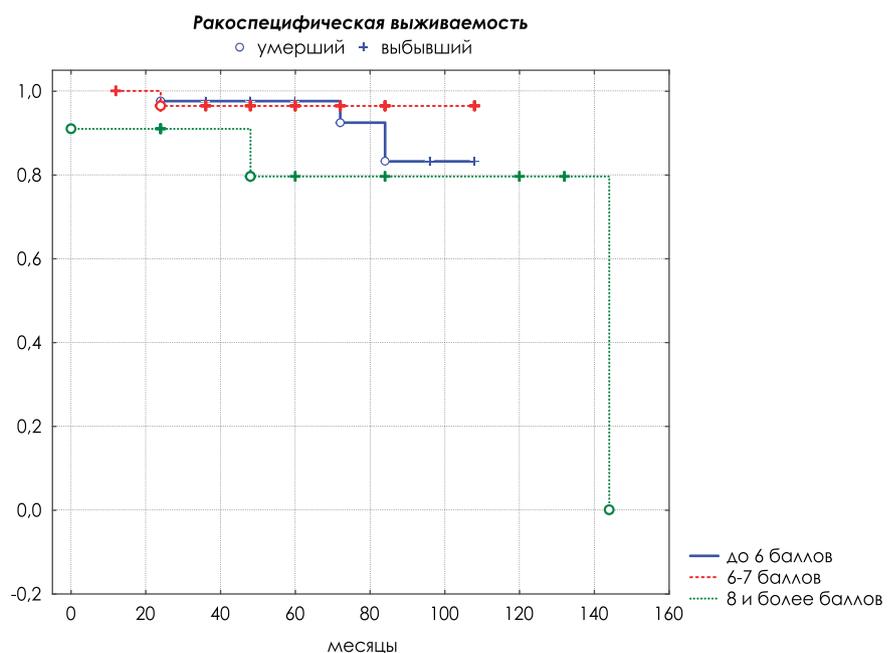


Рисунок 5. Ракоспецифическая выживаемость пациентов в возрасте 60–69 лет в зависимости от количества баллов по шкале Глисона ($p = 0,2$).

Список литературы

1. Alekseev B. Ya., the Combined cancer therapy of a prostate gland // *Onkourologiya*.—2012.— No. 4.— Page 77–82. Russian (Алексеев Б.Я., Комбинированное лечение рака предстательной железы // *Онкоурология*.—2012.— № 4.— С. 77–82).
2. Chissov V. I., Rusakov I. G., Cancer cases of a prostate gland in the Russian Federation // *Experimental and klinichesky urology*.—2011.— No. 2–3.— Page 6–7. Russian (Чиссов В. И., Русаков И. Г., Заболеваемость раком предстательной железы в Российской Федерации // *Экспериментальная и клиническая урология*.—2011.— № 2–3.— С. 6–7).
3. Jemal A., Siegel R., Ward E. et al. Cancer statistics, 2009 // *CA Cancer J Clin*.—2009.— Vol. 59, № 4.— P. 225–249.
4. Schröder F., Hugosson J., Roobol M. et al. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study // *N Engl J Med*.—2009.— Vol. 360, № 13.— P. 1320–1328.
5. Andriole G., Crawford E., Grubb R. et al. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial // *N Engl J Med*.—2009.— Vol. 360, № 13.— P. 1310–1319.
6. Wolf A., Wender R., Etzioni R. et al. American Cancer Society guideline for the early detection of prostate cancer: update 2010 // *CA Cancer J Clin*.—2010.— Vol. 60, № 2.— P. 70–98.
7. Carter H., Albertsen P., Barry M. et al. Early detection of prostate cancer: AUA guideline // *J Urol*.—2013.— Vol. 190, № 2.— P. 419–426.

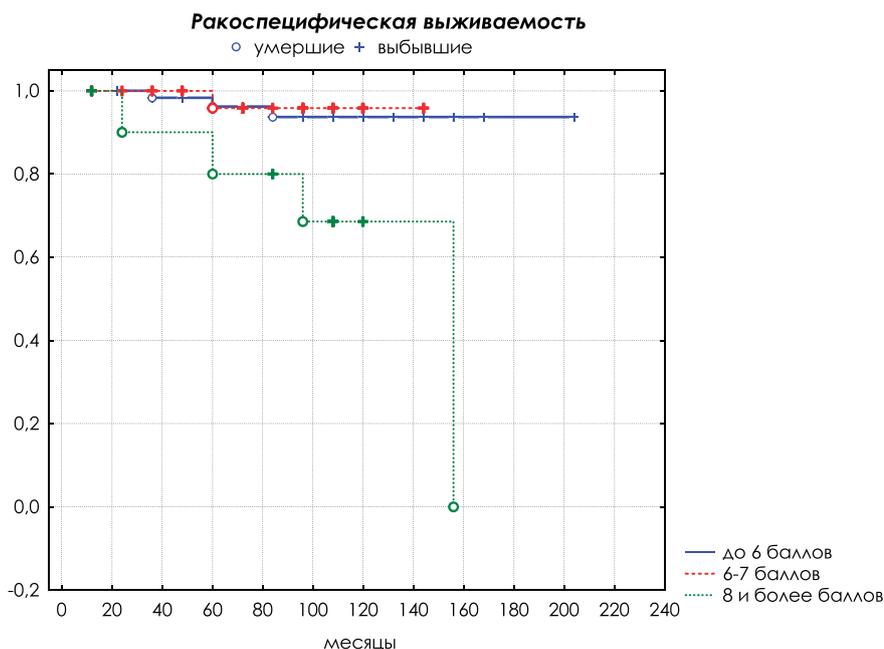


Рисунок 6. Ракоспецифическая выживаемость пациентов в возрасте 70–79 лет в зависимости от количества баллов по шкале Глисона ($p = 0,03$).

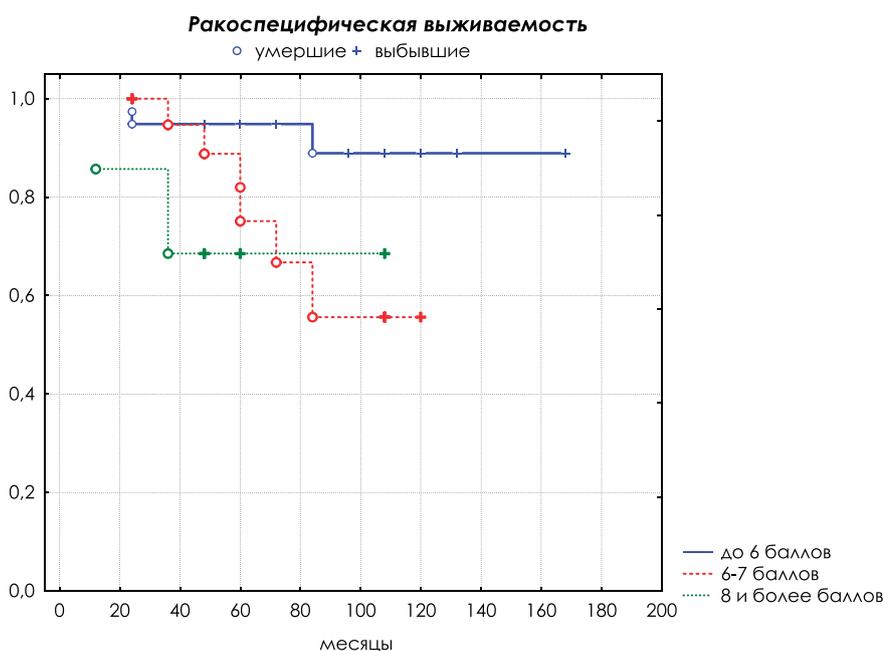


Рисунок 7. Ракоспецифическая выживаемость пациентов в возрасте старше 80 лет в зависимости от количества баллов по шкале Глисона ($p = 0,061$).

8. Thompson I., Ankerst D., Chi C. et al. Assessing prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial // *J Natl Cancer Inst.*— 2006.— Vol. 98, № 8.— P. 529–34.
9. Draisma G., Postma R., Schröder F. et al. Gleason score, age and screening: modeling de-differentiation in prostate cancer // *Int J Cancer.*— 2006.— Vol. 119, № 10.— P. 2366–2371.
10. Gleason D. Histologic grading of prostate cancer: a perspective. *Hum Pathol.*— 1992.— Vol. 23, № 3.— P. 273–279.
11. Epstein J., Allsbrook W., Amin M. et al. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) consensus conference on Gleason grading of prostatic carcinoma // *Am. J. Surg. Pathol.*— 2005.— Vol. 29, № 9.— P. 1228–1242.
12. Helpap B., Egevad L. The significance of modified Gleason grading prostatic carcinoma

- in biopsy and radical nephrectomy specimens // *Virchows Arch.*— 2006.— Vol. 449, № 6.— P. 622–627.
13. Billis A., Guimaraes M., Freitas L. et al. The impact of the 2005 International Society of Urological Pathology consensus conference on standard Gleason grading of prostatic carcinoma in needle biopsies // *J. Urol.*— 2008.— Vol. 180, № 2.— P. 548–553.
 14. Kuroiwa K., Uchino H., Yokomizo A., Naito S. Impact of reporting rules of biopsy Gleason score for prostate cancer // *J. Clin. Pathol.*— 2009.— Vol. 62, № 3.— P. 260–263.
 15. Amin M., Lin D., Gore J. et al. The critical role of the pathologist in determining eligibility for active surveillance as a management option in patients with prostate cancer. Consensus statement with recommendations supported

by the College of American Pathologists, International Society of Urological Pathology, Association of Directors of Anatomic and Surgical Pathology, the New Zealand Society of Pathologists and the Prostate Cancer Foundation // *Arch. Pathol. Lab. Med.*— 2014.— Vol. 138, № 10.— P. 1387–1405.

16. Ross H., Kryvenko O., Cowan J. et al. Do adenocarcinomas of the prostate with Gleason score (GS) ≤ 6 have the potential to metastasize to lymph nodes? // *Am. J. Surg. Pathol.*— 2012.— Vol. 36, № 9.— P. 1346–1352.
17. Liu J., Lichtensztajn D., Gomez S. et al. Nationwide prevalence of lymph node metastases in Gleason score 3 + 3 = 6 prostate cancer // *Pathology.*— 2014.— Vol. 46, № 4.— P. 306–310.
18. Tolonen T., Kujala P., Tammela L. et al. Overall and worst Gleason scores are equally good predictors of prostate cancer progression // *BMC Urology.*— 2011.— Vol. 11.— P. 21.
19. Epstein J., Egevad L., Amin M. et al. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason grading of prostatic carcinoma. Definition of grading pattern and proposal for a new grading system // *Am. J. Surg. Pathol.*— 2016.— Vol. 40, № 2.— P. 244–252.
20. Epstein J., Zelefsky M., Sjoberg D. et al. A contemporary prostate cancer grading system: a validated alternative to Gleason score // *Eur. Urol.*— 2016.— Vol. 69, № 3.— P. 428–435.
21. Samarasinghe H., Delahunt B., Gianduzzo T. et al. The prognostic significance of the 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) grading system for prostate cancer // *Pathology.*— 2015.— Vol. 47, № 6.— P. 515–519.
22. Delahunt B., Egevad L., Sringley J. et al. Validation of International Society of Urological Pathology (ISUP) grading for prostatic adenocarcinoma in thin core biopsies // *Pathology.*— 2015.— Vol. 47, № 6.— P. 520–525.
23. Parker C., Muston D., Melia J. et al. A model of the natural history of screen-detected prostate cancer, and the effect of radical treatment on overall survival // *Br J Cancer.*— 2006.— Vol. 94, № 10.— P. 1361–1368.
24. Godtman R., Holmberg E., Khatami A. et al. Outcome following active surveillance of men with screen-detected prostate cancer. Results from the Göteborg randomised population-based prostate cancer screening trial // *Eur Urol.*— 2013.— Vol. 63, № 1.— P. 101–107.
25. Loeb S., Folkvaljon Y., Makarov D. V. et al. Five-year nationwide follow-up study of active surveillance for prostate cancer // *Eur Urol.*— 2015.— Vol. 67, № 2.— P. 233–238.
26. Dariy E. V., Bedretdinova D. A., Garmanova T. N. Comparative assessment of survival of patients with cancer of a prostate gland. A modern view on a problem // *the Kremlin medicine.*— 2010.— No. 3.— Page 24–27. Russian (Дарий Е. В., Бедретдинова Д. А., Гарманова Т. Н. Сравнительная оценка выживаемости больных раком предстательной железы. Современный взгляд на проблему // *Кремлевская медицина.*— 2010.— № 3.— С. 24–27).
27. Koroukian S., Murray P., Madigan E. Comorbidity, disability, and geriatric syndromes in elderly cancer patients receiving home health care // *J Clin Oncol.*— 2006.— Vol. 24, № 15.— P. 2304–2310.
28. Mohile S., Dale W., Hurria A. Geriatric oncology research to improve clinical care // *Nat Rev Clin Oncol.*— 2012.— Vol. 9, № 10.— P. 571–578.
29. Hurria A., Cohen H., Extermann M. Geriatric Oncology Research in the Cooperative Groups: A Report of a SIOG Special Meeting // *J Geriatr Oncol.*— 2010.— Vol. 1, № 1.— P. 40–44.
30. Muralidhar V., Ziehr D., Mahal B. et al. Association Between Older Age and Increasing Gleason Score // *Clin Genitourin Cancer.*— 2015.— Vol. 13, № 6.— P. 525–530.





Наборы реагентов для иммуноферментного анализа ИМАКСИЗ (IMAXYZ)

Кат. №	Наименование набора	Чувствительность	Диапазон определения концентрации
BT12-09	Общий ПСА	0,1 нг/мл	0,1 – 40 нг/мл
BT12-10	Свободный ПСА	0,06 нг/мл	0,06 – 10 нг/мл
BT12-11	СА 125	1,6 Ед/мл	1,6 – 1000 Ед/мл
BT12-12	СА 19-9	0,5 Ед/мл	0,5 – 400 Ед/мл
BT12-13	СА 15-3	0,5 Ед/мл	0,5 – 270 Ед/мл
BT12-14	РЭА	0,25 нг/мл	0,25 – 100 нг/мл
BT13-15	ЛГ	0,2 мМЕ/мл	0,2 – 120 мМЕ/мл
BT13-16	ФСГ	0,2 мМЕ/мл	0,2 – 120 мМЕ/мл
BT13-17	Пролактин	20 мМЕ/мл	20 – 4600 мМЕ/мл
BT11-01	ТТГ	0,02 мкМЕ/мл	0,02 – 50 мкМЕ/мл
BT11-02	СТ4	1 пмоль/л	1 – 90 пмоль/л
BT12-24	IgE	1 МЕ/мл	1 – 1200 МЕ/мл



- Высокая аналитическая чувствительность при широком диапазоне определения аналитов
- Удобство использования
- Расширенная комплектация наборов
- Готовность к использованию всех реагентов
- Срок годности наборов — 18 месяцев
- Возможность использования на автоматическом ИФА-анализаторе IMAXYZ - 4

Тест-система Витал	Коэффициент корреляции
Общий ПСА	0,99
Свободный ПСА	0,97
СА 125	0,98
ЛГ	0,99
ФСГ	0,98
Пролактин	0,99
ТТГ	0,99
СТ4	0,98
Общий IgE	0,98



Высокая корреляция результатов измерения с ведущими производителями наборов реагентов для ИФА :

- Abbott Architect
- Roche Cobas
- Roche Modular.



IX Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ
ДИАГНОСТИКА
2017**

IX ВСЕРОССИЙСКАЯ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ
ДИАГНОСТИКА | 2017**

ТЕМЫ КОНФЕРЕНЦИИ:

- Молекулярная диагностика вирусных гепатитов
 - Современные подходы к молекулярной диагностике инфекций органов репродуктивной системы
 - Новые направления молекулярной диагностики ВИЧ-инфекции
 - Методы молекулярного анализа в онкологии
 - Молекулярная диагностика инфекций беременных и новорожденных
 - Современные методы в диагностике туберкулеза
 - Технологии молекулярного анализа в криминалистике и судебной медицине
 - Молекулярная эпидемиология
 - Технология выявления инфекционных и наследственных болезней животных
- ... и другие темы



18-20 апреля, ГК "КОСМОС"
г. Москва, пр. Мира, 150

Организаторы:

Некоммерческое партнерство «Национальное научное общество инфекционистов»,
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

www.md2017.ru

IX Ежегодный Всероссийский Конгресс по инфекционным болезням

27–29 марта 2017 года

Гостиница "Рэдиссон Славянская" (Москва, Площадь Европы, 2)

Организаторы

- Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора
- Национальное научное общество инфекционистов
- Национальная ассоциация диетологов и нутрициологов
- Федерация педиатров стран СНГ

Научная программа

- Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы
- Эпидемиологический надзор за инфекционными и паразитарными болезнями
- Фундаментальные исследования в области эпидемиологии и инфекционной патологии: новое в изучении возбудителей и патогенеза инфекционных заболеваний
- Актуальные вопросы инфекционных болезней детей и взрослых:
 - инфекционные заболевания респираторного и желудочно-кишечного тракта
 - вирусные гепатиты
 - ВИЧ-инфекция и ассоциированные заболевания
 - новые и возвращающиеся инфекции
 - инфекционные болезни центральной нервной системы
 - природно-очаговые инфекции
 - герпесвирусные инфекции
 - туберкулез
- Инфекционные болезни как междисциплинарная проблема
- Лабораторная диагностика инфекционных болезней
- Противовирусная и антибактериальная терапия инфекционных болезней. Современное состояние проблемы антибиотикорезистентности
- Интенсивная терапия и реанимация инфекционных больных
- Реабилитация и диспансеризация инфекционных больных
- Иммунопрофилактика инфекционных болезней
- Инновации в системе преподавания инфекционных болезней и эпидемиологии в высшей школе

Для участия в научной программе Конгресса необходимо до **1 февраля 2017 г.** направить в Оргкомитет заявку, заверенную руководителем учреждения и содержащую данные о форме участия, докладчике и названии доклада. Члены Национального научного общества инфекционистов имеют преимущественное право участия в научной программе Конгресса.

Регистрационный взнос

Регистрационный взнос в размере 2360 руб. (включая НДС) должен быть оплачен **до 21 марта 2017 г.** Участники Конгресса, оплатившие регистрационный взнос, имеют

право на публикацию тезисов, получение бэйджа участника и комплекта официальных материалов Конгресса (программа, сборник тезисов, каталог выставки, медицинская литература и др.).

Для членов Национального научного общества инфекционистов регистрационный взнос составляет 1180 руб. (включая НДС).

Реквизиты для оплаты регистрационного взноса, регистрационная форма, а также условия участия представителей организаций представлены на сайте www.congress-infection.ru

Тезисы

Для публикации тезисов необходимо оплатить 350 рублей (НДС не облагается) на расчетный счет ООО «Медицинское Маркетинговое Агентство». Оплаченные тезисы должны быть высланы через сайт www.congress-infection.ru **не позднее 10 февраля 2017 г.** (правила оформления тезисов размещены на сайте).

Работы, отправленные не через указанный сайт, не принимаются. Присланные материалы допускаются к публикации после рецензирования. Тезисы не редактируются.

Реквизиты для оплаты публикации тезисов представлены на сайте www.congress-infection.ru

Возможна оплата с помощью банковских карт на сайте Конгресса.

Конкурс молодых ученых

В конкурсе могут принять участие аспиранты, врачи и научные сотрудники в возрасте до 35 лет. Для участия в конкурсе необходимо **до 1 марта 2017 г.** прислать по почте или e-mail в конкурсную комиссию заявку на участие и резюме работы (оформление см. на сайте www.congress-infection.ru).

Постерная сессия принятых работ пройдет в фойе гостиницы Рэдиссон Славянская 27–29 марта 2017 г. Постеры размером 120 x 80 см должны быть выставлены авторами на стендах 27 марта с 10.00 до 14.00. Подведение итогов конкурса состоится 29 марта 2017 года.

Выставка

В рамках работы Конгресса пройдет выставка производителей фармацевтических препаратов, вакцин, иммуноглобулинов, средств диагностики и лабораторного оборудования, продуктов лечебного питания, биологически активных и пищевых добавок и др.

Гостиница

По желанию участников для них могут быть забронированы места в гостинице «Рэдиссон Славянская». Стоимость проживания в гостинице не входит в регистрационный взнос.

www.congress-infection.ru

Дополнительная информация

Усенко Денис Валериевич (научная программа, регистрационный взнос)

Тел./факс: (495) 518-4791; 672-1136; e-mail: congress-infection@pcr.ru

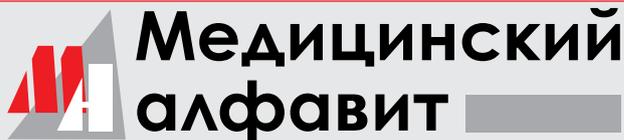
Макарова Татьяна Владимировна (участие компаний в выставке и научной программе)

Тел.: (495) 517-7055; тел./факс: 660-6004; e-mail: mtv@mm-agency.ru

Карпинская Елена Александровна (тезисы) Тел./факс: (495) 660-6004; e-mail: infection@mm-agency.ru

Соловьева Татьяна Викторовна (бронирование гостиницы) Тел./факс: (495) 660-6004; e-mail: infection@mm-agency.ru

БЛАНК-ЗАКАЗ на подписку на журнал 2017 год



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

Адрес (с почтовым индексом) _____

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

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

Наш индекс в каталоге
«РОСПЕЧАТЬ» 36228

Извещение	<p>ООО «Альфмед»</p> <p>(наименование получателя платежа) 7716213348 (ИНН получателя платежа) Рс № 40702810738090108773 (номер счета получателя платежа) ПАО «СБЕРБАНК РОССИИ» г. МОСКВА (наименование банка и банковские реквизиты) К/с 30101810400000000225 БИК 044525225</p> <p>Годовая подписка на журнал «Медицинский алфавит. _____» на 2017 год (наименование платежа)</p>
Кассир	<p>Дата _____ Сумма платежа _____</p> <p>Плательщик (подпись) _____ Адрес доставки: _____</p>
Квитанция	<p>ООО «Альфмед»</p> <p>(наименование получателя платежа) 7716213348 (ИНН получателя платежа) Рс № 40702810738090108773 (номер счета получателя платежа) ПАО «СБЕРБАНК РОССИИ» г. МОСКВА (наименование банка и банковские реквизиты) К/с 30101810400000000225 БИК 044525225</p> <p>Годовая подписка на журнал «Медицинский алфавит. _____» на 2017 год (наименование платежа)</p>
Кассир	<p>Дата _____ Сумма платежа _____</p> <p>Плательщик (подпись) _____ Адрес доставки: _____</p>

Как подписаться

1. Заполнить прилагаемый бланк-заказ и квитанцию об оплате. 2. Оплатить квитанцию.
3. Отправить бланк-заказ и квитанцию (или их копии) по почте по адресу: 129344, Москва, ул. Верхоянская, д.18 к. 2; или по факсу: (495) 616-48-00, 221-76-48, или по e-mail: medalfavit@mail.ru

ТЕХНОЛОГИЯ СТАНДАРТ

С новыми технологиями — к высоким стандартам!

Постоянно в ассортименте более 70 наименований продукции собственного производства для работы на коагулометрах и агрегометрах, а также для мануального выполнения анализов.



Качество
Удобство
Надежность
Стабильность
Универсальность



656037, г. Барнаул,
пр-кт Калинина, 116/95,
тел./факс:
(3852) 22-99-39, 27-13-00.
109548, г. Москва,
ул. Шоссейная, д.1, корп. 1.
тел. : (495) 730-18-09, 730-41-69.
E-mail: mail@tehnologia-standart.ru,
www.tehnologia-standart.ru.

ЛИМС INNOVASYSTEM

(Лабораторная
Информационная
Медицинская
Система)

Используйте бумагу для творчества,
когда **Вы** с
ЛИМС INNOVASYSTEM



+7 (495) 984-96-74

info@innovsystem.pro

www.innovsystem.pro

Москва, Кутузовский пр-т, д.36, стр.3 офис 102

РУ МЗ РФ № РЗН 2016/4565 Лицензия ФСТЭК КИ 0133 №006645