

Серии научно-практических рецензируемых журналов



Медицинский алфавит

4 (379) 2019



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

Наш индекс в каталоге «РОСПЕЧАТЬ» 36228

www.medalfavit.ru



Витал Девелопмент Корпорэйшн

Контрольные материалы для оценки качества анализа мочи

Новинка!

«КОНТРОЛЬ
МОЧИ-ВИТАЛ-НОРМА»

«КОНТРОЛЬ
МОЧИ-ВИТАЛ-ПАТОЛОГИЯ»



Аналиты

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

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

Характеристики и достоинства представленных контрольных материалов:

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

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

Современная лаборатория Том №1
Медицинский алфавит № 4 (379) 2019
www.medalfavit.ru

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

Учредитель и главный редактор издательства
Т. В. Синица

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

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

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

Объединенный редакционный совет журнала
«Медицинский алфавит»

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

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

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

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

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

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

Формат А4. Цена договорная.

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

Подписан в печать 12 марта 2019 года.

Наш индекс в каталоге «РОСПЕЧАТЬ»
36228 (комплект)

Содержание

- 7 Медицина 5П: прецизионный сахарный диабет
С. Н. Шербо, Д. С. Шербо, В. А. Беспалова, Т. И. Туркина, М. И. Савина,
М. Ю. Краллин, А. Л. Тищенко
- 16 Апоптоз и пролиферация Т-лимфоцитов периферической крови как
альтернативные процессы в патогенезе сахарного диабета первого типа
А. В. Луговая, Н. М. Калинина, В. Ф. Митрейкин, Ю. П. Ковальчук,
А. В. Артемова, Ю. Р. Белолитецкая, Е. А. Гаврилова, О. С. Рузанова,
В. С. Эмануэль, Ю. В. Эмануэль, В. Л. Эмануэль
- 21 Маркеры десинхронизации в оценке риска развития метаболического
синдрома
О. В. Бобко, О. В. Тихомирова, Н. Н. Зыбина, О. А. Клищенко
- 27 Сепсис и острое повреждение почек — дорога с двухсторонним
движением: значения биомаркеров. Часть I
В. В. Вельков
- 37 Современные лабораторные биомаркеры диагностики дисфункций
органов-мишеней при синдроме полиорганной недостаточности
И. И. Деметьева, Е. В. Кукаева
- 43 Оценка стратегии управления результатами лабораторных
исследований в образцах сыворотки крови с гемолизом
О. А. Клименкова, В. П. Пашкова, Т. В. Вавилова, В. С. Берестовская
- 46 Решение задачи повышения специфичности современных тест-систем
для диагностики ToRCH-инфекций на примере IgM CMV
С. С. Васькова
- 49 Современная тактика лабораторной диагностики нарушений обмена
железа во время беременности
С. В. Хабаров, О. В. Денисова
- 54 Возможности гематологических анализаторов XN-серии
в диагностике волосатоклеточного лейкоза
А. В. Мироненко, А. А. Москаленко
- 58 Показатели системы фибринолиза при аортокоронарном
шунтировании в условиях искусственного кровообращения
минимизированным контуром
В. И. Корнев, Н. М. Калинина, Д. А. Шелухин, О. Н. Старцева
- 66 Подписка

Contents

- 7 5P-medicine: precision diabetes
S. N. Scherbo, D. S. Scherbo, V. A. Bepalova, T. I. Turkina, M. I. Savina, M. Yu. Kralin,
A. L. Tishchenko
- 16 Apoptosis and proliferation of peripheral blood T-cells as alternative processes in
pathogenesis of diabetes mellitus type I
A. V. Lugovaya, N. M. Kalinina, V. Ph. Mireikin, Yu. P. Kovalchuk, A. V. Artyomova,
Y. R. Belolipetskaya, E. A. Gavrilova, O. S. Ruzanova, V. S. Emanuel, Y. V. Emanuel,
V. L. Emanuel
- 21 Desynchronization markers in risk assessment of metabolic syndrome development
O. V. Bobko, O. V. Tikhomirova, N. N. Zybina, O. A. Klitsenko
- 27 Sepsis and acute kidney injury as two-way street: values of biomarkers
V. V. Velkov
- 37 Modern laboratory biomarkers for diagnosis of dysfunctions of target organs in
syndrome of multiple organ failure
I. I. Dementieva, E. V. Kukaeva
- 43 Evaluation of management strategy results of laboratory studies in serum samples
with hemolysis
O. A. Klimentkova, V. P. Pashkova, T. V. Vavilova, V. S. Berestovskaya
- 46 Increasing specificity of modern test-systems for diagnosis of ToRCH infections on
example of IgM CMV
S. S. Vashukova
- 49 Modern tactics laboratory diagnosis of disorders of iron metabolism during pregnancy
S. V. Khabarov, O. V. Denisova
- 54 Possibilities of XN-series hematology analyzers in diagnosis of hairy cell leukemia
A. V. Mironenko, A. A. Moskalenko
- 58 Fibrinolysis system indicators during aorto-coronary bypass surgery in terms of
cardiopulmonary bypass with minimized circuit
V. I. Kornev, N. M. Kalinina, D. A. Shelukhin, O. N. Startseva
- 66 Subscription

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

Редакционная коллегия



Главный редактор серии «Современная лаборатория»

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Editorial Board

The Editor in Chief

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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 образом:

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

Например: Имельбаева Э. А., Гильманов А. Ж. Особенности эритроцитарных антигенов // Медицинский алфавит. Сер. «Современная лаборатория» — 2019. — Т. 2, № 12 (365). — С. 14–18.

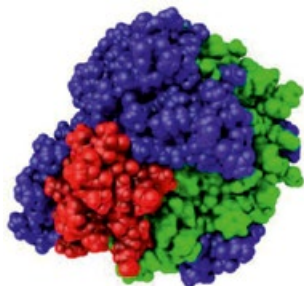
Вопросы об оформлении ссылок направляйте, пожалуйста, по адресу medalfavit@mail.ru.

ДИАГНОСТИКА ПАТОЛОГИИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Больные с острым панкреатитом составляют 5-10% (в некоторых учреждениях 12-16%) от общего числа пациентов с острой хирургической патологией органов брюшной полости

Одновременное определение активности α -амилазы и липазы – основа диагностики острого панкреатита. Повышение активности обоих или одного фермента выявляется у 98% больных острым панкреатитом

» Липаза



- Катализирует расщепление глицеридов на глицерин и высшие жирные кислоты
- В организме человека вырабатывается рядом органов и тканей, что позволяет различать липазу желудочного происхождения, поджелудочной железы, легких, кишечного сока, лейкоцитов и др.
- Основным источником липазы в организме является поджелудочная железа, поэтому при ее заболеваниях происходит значительный выброс фермента в циркулирующую кровь

» Диагностическая значимость

Диагностическая чувствительность липазы в сыворотке крови для острого панкреатита составляет 86 %, специфичность – 99 %

При остром панкреатите активность липазы в крови увеличивается в течение нескольких часов после острого приступа, достигая максимума через 12–24 ч (увеличивается до 200 раз), и остается повышенной в течение 10–12 дней

Прогноз заболевания является неблагоприятным, если уровень липазы в крови повышается в 10 раз и более и не снижается до 3-кратного превышения нормы в течение нескольких дней

НОВИНКА

» Липаза-Ново (вариант 1) В-8343

РУ № РЗН 2017/6018

Набор реагентов для определения активности липазы
в сыворотке и плазме крови человека
ферментативным методом

Фасовка: 2x45 мл, 1x18 мл, калибратор 1x2 мл



Общество с ограниченной ответственностью
«ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Лицензия на осуществление медицинской
деятельности № ЛО-77-01-012246 от 04.05.2016 г.
Член Ассоциации Специалистов и организаций
лабораторной службы «Федерация лабораторной
медицины», свидетельство № 20-16 от 30.06.2016г.
Сертификат соответствия ГОСТ ISO 9001-2011
(ISO9001:2008)

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ

Мы выполняем самый широкий спектр исследований, необходимых для современной диагностики:

- Биохимия крови и мочи
- Полное исследование гормонального статуса (также при беременности)
- Мониторинг сахарного диабета
- Показатели состояния костной ткани
- Диагностика инфекционных заболеваний (гепатит, хламидиоз, герпес, цитомегаловирус, ВИЧ, вирусные заболевания)
- Иммунологический статус, скрининг на пищевые и другие аллергены
- ДНК-диагностика инфекций
- Онкомаркеры
- Бактериологические исследования
- Исследование крови на иммунофенотипирование

ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР

Технические испытания медицинских изделий для in-vitro диагностики

Аттестат Аккредитации № RA.RU.21AD23

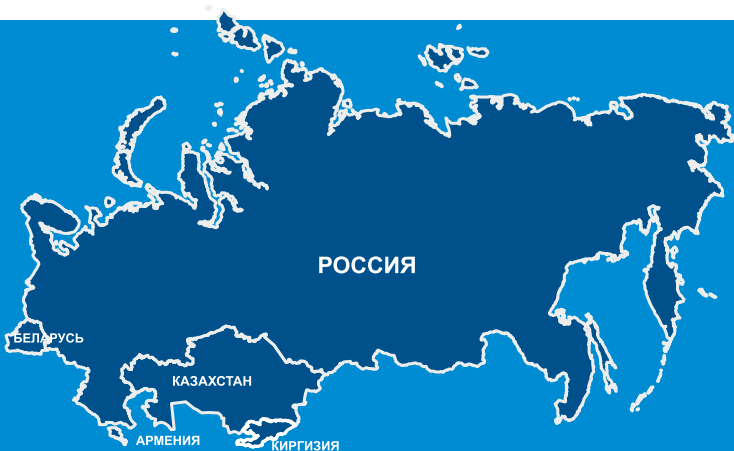
- Наборы реагентов для клинической лабораторной диагностики.
- Агары питательные и бульоны для культивирования и биотехнологии.
- Медицинские материалы, реактивы изделия и вспомогательные вещества для комплектации медицинских наборов.
- Наборы реагентов для радиоиммунологического и иммунохимического анализов.
- Основы для питательных сред и стимуляторы роста, закваски

Клинические испытания аппаратов и наборов реагентов для in-vitro диагностики

Письмо Росздравнадзора от 01.08.2014г. № 01-15962/14 о включении в перечень медицинских организаций, проводящих клинические испытания медицинских изделий, приказ от 01.08.2014 г. № 5435.

ИСПЫТАНИЯ В РАМКАХ ЕВРАЗИЙСКОГО ЭКОНОМИЧЕСКОГО СОЮЗА

Приказ Росздравнадзора от 26.10.2017г. № 9049 о включении ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» в Перечень медицинских организаций проводящих клинические испытания медицинских изделий. Сведения размещены на официальном сайте Росздравнадзора и представлены в Евразийскую экономическую комиссию с использованием средств интегрированной информационной системы Евразийского экономического союза.



НАШИ ПАРТНЕРЫ

КОМПЛЕКСНОЕ ОСНАЩЕНИЕ
ЛАБОРАТОРИЙ



+7 (495) 411-90-23
www.detstom1.ru
detstom1@mail.ru, zakaz@detstom1.ru

РОССИЙСКОЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВО



КАФЕДРА КЛИНИЧЕСКОЙ
ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ
РМАНПО МЗ РФ
Тел.: +7 (495) 945-82-22
www.rmapo.ru

АДРЕС:

МОСКВА, ПОЛЕСКИЙ ПРОЕЗД, Д.2, КОРП.1

ТЕЛЕФОН: +7 495 942-53-39

САЙТ: WWW.VYMPPEL-MEDCENTER.RU

EMAIL: P101L@YANDEX.RU
UN19@MAIL.RU
PROFICLINIC@MAIL.RU

Медицина 5П: прецизионный сахарный диабет

С. Н. Щербо, д.б.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики¹

Д. С. Щербо, к.б.н., научный сотрудник¹

В. А. Беспалова, к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики¹

Т. И. Туркина, д.б.н., проф. кафедры клинической лабораторной диагностики¹

М. И. Савина, д.б.н., проф. кафедры клинической лабораторной диагностики¹

М. Ю. Кралин, доцент кафедры косметологии и эстетической медицины
Медицинского института²

А. Л. Тищенко, д.м.н., проф. зав. кафедрой кожных и венерических болезней
и косметологии ФНМО медицинского института²

¹ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» г. Москва

5P-medicine: precision diabetes

S. N. Scherbo, D. S. Scherbo, V. A. Bepalova, T. I. Turkina, M. I. Savina, M. Yu. Kralin, A. L. Tishchenko
Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov, People's Friendship University of Russia;
Moscow, Russia

Резюме

Благодаря подходам прецизионной медицины достигнуты большие успехи в диагностике и лечении сахарного диабета с учетом индивидуальных особенностей каждого пациента или подгрупп для моногенных подтипов диабета, диабета новорожденных. Для моногенного диабета молекулярная генетика может определить дискретные этиологические подтипы, выявление которых имеет глубокие последствия для лечения, и прогнозировать дальнейшее развитие сопутствующих клинических признаков, что позволяет проводить раннюю профилактику или поддерживающую терапию. В противоположность этому сахарный диабет второго типа имеет полигенную природу, что делает затруднительным определение дискретных клинических подтипов. Реализация подходов прецизионной медицины в диагностике и лечении сахарного диабета позволит проводить целенаправленный подбор лекарственной терапии. В настоящем обзоре показаны успешное применение прецизионной медицины в моногенном диабете и возможности указанного подхода к решению проблем при сахарном диабете второго типа.

Ключевые слова: медицина 5П, прецизионная медицина, сахарный диабет, генетические полиморфизмы, фармакогенетика.

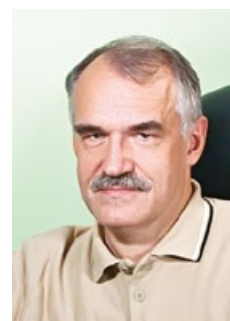
Summary

Thanks to the approaches of precision medicine, great strides have been made in the diagnosis and treatment of diabetes mellitus, taking into account the individual characteristics of each patient or subgroups for monogenic subtypes of diabetes and newborn diabetes. For monogenic diabetes, molecular genetics can identify discrete etiological subtypes, the manifestation of which has profound implications for treatment, and predict the further development of concomitant clinical signs that allow early prophylaxis or supportive therapy. In contrast, second-type diabetes mellitus has a polygenic nature, which makes it difficult to define discrete clinical subtypes. The implementation of the approaches of precision medicine in the diagnosis and treatment of diabetes mellitus will allow a targeted selection of drug therapy. This review shows the successful use of precision medicine in monogenic diabetes and the possibilities of this approach to solving problems in diabetes of the second type.

Key words: 5P-medicine, precision medicine, diabetes mellitus, genetic polymorphisms, pharmacogenetics.

Одной из важнейших задач персонализированной и прецизионной (точной) медицины является выяснение патогенетических механизмов различных заболеваний, нахождение лабораторных биомаркеров и разделения на этой основе мультифакториальных заболеваний на подтипы [1, 2]. Одним из перспективных направлений применения указанных подходов является диабетология, которая, несомненно, со временем будет прецизионной. Сахарный диабет (СД) — это заболевание, при котором нарушается соотношение между потребностями организма в инсулине, количеством фактической выработки и резистентностью при сохраненной секреции, обусловленной многими факторами, в том числе лишним весом или ожирением. Клас-

сификация СД 1-го и 2-го типов основана на выявлении антител против β -клеточных антигенов поджелудочной железы, и при этом больше 80 % случаев определяют как СД2, который уже в настоящее время разделяют на различные типы и подтипы: к 2018 г. выявили такие формы, как латентный аутоиммунный диабет у лиц старше 18 лет (LADA), СД у пациентов младше 18 лет (MODY) и др. В 2017 г. шведские ученые показали, что ежегодно случаи диабета типа 3c (вторичного СД с нарушением экзокринной секреции поджелудочной железы) диагностируют как СД2. Последние изучения антител к декарбоксилазе глутаматной кислоты (GADA) и оценке генетических полиморфизмов определили, что СД очень гетероген,



С. Н. Щербо



Д. С. Щербо



Т. И. Туркина

а ранняя диагностика и терапия важны для минимизации последствий, предупреждения хронических осложнений и снижения числа летальных исходов.

В последнее время с применением ОМИКСных технологий открыто большое количество перспективных биомаркеров СД: подтверждена роль микроРНК в секреции инсулина, развитии и дифференциации β -клеток поджелудочной железы, возникновении ожирения, контроле метаболизма глюкозы и липидов и формировании вторичных осложнений, связанных с СД [2, 3]. К микроРНК, влияющим на продукцию и секрецию инсулина в β -клетках поджелудочной железы, относятся микроРНК-375, -9, -96 и -124a. МикроРНК-375 в β -клетках поджелудочной железы регулирует секрецию инсулина в ответ на стимуляцию глюкозой, причем ее чрезмерная экспрессия подавляет секрецию инсулина. Это происходит посредством ингибирования экспрессии белка миотрофина, который вовлечен в слияние секреторных гранул проинсулина в процессе синтеза инсулина. Еще одной микроРНК, оказывающей подавляющее действие на секрецию инсулина, является микроРНК-9, которая снижает индуцированную глюкозой секрецию инсулина за счет усиления экспрессии грануфилина (granuphilin) — важного компонента экзоцитоза гранул инсулина [4]. МикроРНК-96 также увеличивает экспрессию грануфилина и снижает кальций-зависимый экзоцитоз инсулина, подавляя экспрессию ядерного комплекса белков Nos2 [5]. МикроРНК-124a широко распространена в клетках нервной системы и β -клетках поджелудочной железы, причем при увеличении ее экспрессии происходит увеличение синтеза инсулина относительно базального уровня с одновременным снижением его секреции в ответ на увеличение уровня глюкозы [6]. Основными микроРНК, регулирующими ответ на инсулин и гомеостаз глюкозы в инсулиночувствительных тканях, являются микроРНК-29, -143, -126 и -155.

Прецизионный сахарный диабет у взрослых

Ученые из Лундского университета (Швеция) и предложили новую классификацию СД у взрослых пациентов, в которой избегают обычного обозначения СД1 и СД2 в пользу пяти подгрупп (кластеров), отличающихся уникальным прогрессированием заболевания и рисками соответствующих осложнений [7]. Группы были выделены на основании анализа данных (всего более 14 тысяч пациентов) из пяти источников: шведской программы ANDIS с учетом больше 8 тысячи пациентов за восемь лет (до 2016 г. включительно), реестра Scania, ANDIU, Baaca (DIREVA) и информации из Malmö Diet and Cancer Cardiovascular Arm. Учитывали лабораторные анализы, GADA, возраст при первичном выявлении заболевания и манифестации, индекс массы тела (ИМТ), уровни гликированного гемоглобина HbA1c, индекс HOMA, резистентность к инсулину (РИ) с учетом С-пептида. Уточненная классификация может стать мощным инструментом для индивидуализации схем лечения и выявления лиц с повышенным риском осложнений при постановке диагноза. Оказалось, что больных можно разделить на пять групп (кластеров, профессор Лейф Групп) [7].

1. Тяжелый аутоиммунный диабет (SAID, 6–15 %), для которого характерно раннее начало заболевания, что соответствует СД1 и LADA, умеренно низкому ИМТ, неадекватному гликемическому контролю, дефициту инсулина (нарушенным производством и выработке), склонности к кетоацидозу, положительному тесту на GADA, развивающийся примерно так же, как классический СД1. Заболевание, как правило, начинается в молодом возрасте у практически здоровых людей из-за нарушения выработки инсулина.

2. Тяжелый инсулинодефицитный диабет (SIDD, 9–20 %) с повышенным гликированным гемоглобином HbA1c, быстрым развитием ретинопатии, но отрицательным GADA. Пациенты этой подгруппы мало отличаются от больных из предыдущей: молодые здоровые люди с нормальным весом, но нарушенным синтезом инсулина.

3. Тяжелый инсулинорезистентный диабет (SIRD, 11–17 %) на фоне лишнего веса (ИМТ больше 25) и наибольшей частотой нефропатии и ретинопатии с риском развития осложнений хронических заболеваний в течение трех-четырех лет, диабетической стопой. Организм больных продолжает вырабатывать инсулин, но клетки перестают на него реагировать должным образом.

4. Умеренный диабет, связанный с ожирением (MOD, 18–27 %) — ИМТ свыше 30–34, молодой возраст, без клинических признаков ИР. Вес пациентов из этой группы, как правило, намного выше аналогичных показателей в предыдущей, но обмен веществ при этом намного ближе к нормальному.

5. Умеренный возрастной диабет (MARD, 33–47 %) с умеренными метаболическими изменениями. Это заболевание развивается гораздо позже остальных форм диабета, а сама болезнь протекает легче.

Причем пациенты, страдающие одной из трех тяжелых форм заболевания, должны получать более агрессивную терапию, нежели те, у кого болезнь протекает в относительно легкой форме. Пациенты, отнесенные ко второй группе, получают диагноз СД2, поскольку у них нет аутоиммунного процесса, однако предполагается, что их заболевание, возможно, вызывается дефектом в самих островковых клетках, а вовсе не ожирением. Терапия в этом случае должна быть приближена к тем схемам, которые назначаются при СД1, причем пациенты с большей вероятностью слепнут, в то время как у больных из третьей группы чаще развивается болезнь почек, что необходимо учитывать при назначении соответствующих скрининговых обследований. Возможно, в мире существуют сотни подтипов заболевания СД, различающихся в зависимости от наследственных, этнических факторов и особенностей воздействия окружающей среды, так как риск развития СД у представителей разных национальностей не одинаков: у выходцев из Южной Азии он выше, диабет находят у каждого шестого индейца или аляскинского эскимоса в США. Существующие схемы лечения не идеальны, они не способны своевременно контролировать метаболические нарушения, обеспечивать адекватный гликемический уровень, нет возможности прогнозирования того, какие группы пациентов нуждаются в коррекции терапии. Новая классификация помогает понять всю природу эндокринной

патологии, адаптировать схемы лечения для пациентов каждой группы и предупредить раннее развитие фатальных осложнений, указанные кластеры, можно применять в клинических испытаниях препаратов и составлении новых клинических рекомендаций.

Сахарный диабет типа 1

СД1 не относится к наследственным моногенным заболеваниям, однако риск его развития значительно возрастает у детей, рожденных в семьях, в которых больны один или несколько близких родственников. Для СД1 выявлена совокупность генов высокого риска (предрасполагающих HLA-гаплотипов, наличие одного или сочетания двух видов специфических антител — GAD, ICA, IAA, IA-2A) [8]). В оценке возможности развития СД определенную роль имеет место изучение полиморфизмов в системе HLA (human leucocyte antigens). К генам *HLA* второго класса относятся несколько десятков генов, обнаруженных у человека. Гены *HLA* II класса расположены на В-лимфоцитах, активированных Т-лимфоцитах, моноцитах, которые продуцируют белки с определенными свойствами необходимые в регуляции распознавания чужеродных молекул. При исследовании аллелей ряда генов HLA II обнаружилась взаимосвязь их наличия и повышенного риска возникновения СД и аутоиммунных заболеваний. Часть аллельных вариантов генов HLA II класса ассоциированы с повышенным риском развития СД1. К генам *HLA* II класса, имеющим наибольшее клиническое значение, относятся три гена: *DQA1*, *DQB1* и *DRB1*. Многие больные СД являются носителями некоторых аллелей HLA-DR3 и HLA-DR4.

Использование всех маркеров риска развития СД1 (генетических и иммунологических) повышает прогностическую значимость медико-генетического анализа до 80–90%. Зная индивидуальные и семейные риски, можно организовать мониторинг детей в семьях, применить программы первичной и вторичной профилактики СД1 и в результате нивелировать риск развития заболевания. Разработки таких программ ведутся по всему миру (ограничения в диете, введение вакцин, иммуномодуляторов, доклиническое назначение малых доз инсулина).

Сахарный диабет типа 2

СД2 характеризуется нарушением углеводного обмена, вызванным преимущественно ИР и относительной инсулиновой недостаточностью. В отличие от СД1 при СД2 прослеживается четкая генетическая детерминированность наследования, причем риск развития СД2 составляет до 40%, если болен один из родителей, до 70%, если больны оба [9]. СД2 является мультифакториальным заболеванием, в котором окружающей среде и генетической предрасположенности отводится большая роль. СД2 и сопровождающая его, а также предшествующая ИР оказались в фокусе внимания ПМ, во-первых, в связи с их широкой распространенностью и медико-социальной значимостью и, во-вторых, из-за очевидной вариабельности течения заболевания, ответа на лечение и формирования осложнений. Предполагается, что СД2 является след-

ствием полигенных нарушений: выявлены наследуемые дефекты генов, ответственных за кодирование структуры молекулы инсулина, характера инсулиновых рецепторов, глюкокиназы, гликогенсинтазы, компонентов митохондрий. В норме инсулин, соединяясь со своим рецептором на поверхности клеток мышечной, жировой или печеночной ткани, регулирует процессы, и после присоединения происходит аутофосфорилизация рецептора при участии тирозинкиназы и последующее его соединение с субстратом инсулинового рецептора 1 или 2 (IRS 1 и 2). Далее молекулы IRS активируют фосфатидилинозитол-3-киназу (PI3K), стимулирующую переход ГЛЮТ-4 (транспортёра глюкозы) через мембрану клетки, что обеспечивает активацию транспорта глюкозы и синтез ДНК. Работы в области молекулярной биологии и генетики показали, что у больных СД2 имеются генетические полиморфизмы, ответственные за передачу сигнала после соединения инсулина со своим рецептором (пострецепторные дефекты). Прежде всего нарушается транслокация переносчика глюкозы ГЛЮТ-4 из-за генетических полиморфизмов на уровне IRS 1 и (или) PI3K. При СД2 обнаружена нарушенная экспрессия генов, обеспечивающих метаболизм глюкозы и липидов: гена глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глюкокиназы, липопротеинлипазы, синтазы жирных кислот. Генетическая предрасположенность к ИР может не реализоваться и не проявиться клинически (в виде метаболического синдрома и [или] СД2) при отсутствии соответствующих факторов внешней среды: неправильного питания, низкой физической активности.

Обнаружены около 20 генов, полиморфизмы в которых являются установленными факторами риска возникновения СД2, а кандидатами риска являются сотни генов: если в 2003 г. были изучены 73 однонуклеотидных полиморфизмов, то в продолжающемся 10–15 лет исследовании в Кембриджском университете их будет изучено 10 млн. Генетическая предрасположенность к СД2 носит семейный характер, и часто с сопутствующим ожирением. Ряд обнаруженных полиморфизмов в генах являются предрасполагающими факторами риска развития СД2, а продукты этих генов — регуляторами в обмене глюкозы. В генах закодирована структура белков, опосредовано ответственных за гомеостаз глюкозы. Гены кодируют основные патогенетические звенья развития СД2: ИР (*PPARG*, *THADA*, *ADAMTS9* и др.), дисфункцию β-клеток (*KCNJ11*, *HNF1B*, *HNF4A*, *JAZF1* и др.), склонность к ожирению (*FTO*), дефект секреции гормонов инкретинового ряда (*TCF7L2*). Часть полиморфизмов в этих генах может приводить к нарушению нормального обмена глюкозы. Например, полиморфизм в гене *ADAMTS9* приводит к снижению чувствительности периферических тканей к инсулину, а повышенная экспрессия продукта гена *TCF7L2* ведет к нарушению толерантности к глюкозе и опосредованно к снижению секреции инсулина. В генах *KCNJ11* и *KCNQ1* заключена информация о структуре белков, опосредованно участвующих в регуляции секреции инсулина. Нарушение структуры этих белков (вариант 23K гена *KCNJ11*) приводит к снижению выброса инсулина при повышении концентрации глюкозы. Вклад каждого

отдельного гена в риск развития СД2 невелик, однако их различные комбинации повышают прогностическую значимость в 1,5–2,0 раза [10].

Молекулярные механизмы развития ИР (ключевого звена при СД2) многообразны и сцеплены с многоуровневыми поломками при передаче сигнала от рецептора инсулина на внутриклеточные структуры, что определяют гетерогенность самой ИР и, соответственно, необходимость поиска прецизионных методов воздействия. Именно гетерогенностью ИР объясняется частая неэффективность лечения больных СД2 традиционными препаратами (метформин, тиазолидиндионы). Поэтому необходимо детальное изучение внутриклеточных механизмов развития ИР для поиска новых целевых (таргетных) лекарственных препаратов для повышения эффективности лечения пациентов.

Традиционно эффективность лечения больных СД1 и СД2 оценивается по интегральному показателю гликемического контроля — уровню гликированного гемоглобина (HbA1c) (у здоровых лиц не превышает 5,7%). Согласно международным рекомендациям по лечению больных СД, принятым до 2011 г., оптимальным уровнем контроля гликемии считалось достижение HbA1c менее 7% (а в некоторых документах менее 6,5%) для всех без исключения больных. Однако совокупный анализ крупных исследований по контролю СД2 (ACCORD, VADT, ADVANCE) показал, что стремление к достижению столь строгого удержания на достигнутом уровне гликемии у ряда больных чревато развитием тяжелых гипогликемических состояний и увеличению смертности, особенно у пациентов старшего возраста с исходно плохо контролируемой гликемией, большой длительностью СД и наличием сочетанных (прежде всего сердечно-сосудистых) заболеваний [11]. У таких больных большая продолжительность жизни наблюдалась при уровне HbA1c 7–8%. В связи с этим эксперты-эндокринологи во всем мире пришли к заключению, что единого стандартного для всех больных целевого уровня HbA1c быть не может. Необходима персонализация целей удержания на достигнутом уровне гликемии в зависимости от возраста пациента или ожидаемой продолжительности его жизни, длительности заболевания, наличия сосудистых осложнений, риска развития гипогликемических состояний. Поэтому в последних международных и российских рекомендациях по лечению СД2 указан диапазон целевых уровней HbA1c от 6,5% (для молодых, недавно заболевших пациентов без сосудистых осложнений) до 8,0–8,5% (для пациентов с тяжелыми осложнениями и сопутствующими заболеваниями, низкой ожидаемой продолжительностью жизни) [12, 13].

В настоящее время в арсенале диабетологов имеется восемь классов сахароснижающих препаратов, воздействующих на разные патогенетические звенья развития СД2, и пять новых классов находятся на этапе доклинической разработки. По международным рекомендациям используется следующая схема лечения: в начале назначается препарат метформин, если выявляется недостаточность монотерапии, дополнительно к метформину назначаются препараты сульфонилмочевины. Иногда, к сожалению, приходится прибегать к назначению инсулина, когда возникает абсолютная инсулиновая недостаточность, а адекватный

контроль гликемии удерживают не более 35–40% больных. Международные и национальные рекомендации по начальной терапии и поэтапной ее интенсификации при СД2 предлагают стандартизированный подход к лечению всех больных СД2: в дебюте — монотерапия метформин, при неэффективности через 3–6 месяцев добавление второго, затем третьего препарата (сульфонилмочевины или инкретинов, или инсулина), затем — инсулинотерапия. Однако в последние годы появилось много убедительных данных о том, что каждый пациент с СД2 имеет свой набор полиморфных генов, которые определяют его индивидуальную чувствительность к той или иной сахароснижающей терапии. Эти гены кодируют рецепторы и определяют транспортеры лекарственных веществ, а также активность ферментов, участвующих в их метаболизме. Были выявлены гены, ответственные за чувствительность ко всем группам сахароснижающих препаратов, а также гены, ответственные за развитие побочных эффектов при их приеме [14]. Фармакогенетический анализ выявил, что чувствительность пациентов к метформину определяется полиморфизмом как минимум пяти генов (*SLC 22A1*, *SLC 22A2*, *SLC 47A1*, *SLC 47A2*, *ATM*), к ПСМ — пяти генов (*KCNJ11*, *KCNQ1*, *ABCC8*, *TCF7L2*, *CYP2C9*), к тиазолидиндионам — не менее семи генов (*PPARG*, гены резистина, адипонектина, лептина и др.). Определены гены, сцепленные с развитием побочных эффектов терапии: желудочно-кишечных проявлений на метформине (*OCT1*, *OCT2*, *MATE 1*), отеков на фоне приема тиазолидиндионов (гены *AQP2* и *SLC 12A1*), сниженного клиренса и соответственно высокой частоты развития гипогликемии на фоне ПСМ (*CYP2C9*) [14].

Определение этиологических подгруппы с использованием молекулярно-генетического тестирования при СД2 сложно, поскольку генетическая предрасположенность полигенна и клинический фенотип отражает влияния окружающей среды [15]. Подгруппы в прецизионной медицине СД2 можно определить и на основе физиологических функций, таких как ИР и недостаточность β-клеток, которые однако меняются с течением времени, а также существует несогласованность в оптимальных методах их оценки [16] и биохимических анализов, которые не стандартизированы между лабораториями [17]. Аналогичные проблемы наблюдаются в латентном аутоиммунном диабете у взрослых (LADA): изменения показателей в анализах, используемых для измерения специфических антител и различных пороговых значений для положительного теста [18]. Трудность в определении подгрупп при СД2 типа оказывает существенное влияние на способности оптимизировать лечение.

Ввиду отсутствия выраженных различий в реакции на лечение у больных СД2 представляется маловероятным, что ситуация будет похожа на моногенные формы диабета. В среднем в большинстве случаев терапия позволила снизить уровень глюкозы и HbA1c примерно на 1% (11 ммоль/моль) при СД2 [19]. На сегодняшний день не было никакого описания подгрупп пациентов, которые реагируют драматическим 5% (31 ммоль/моль) изменением HbA1c, как это наблюдается у лиц с *HNFIα-MODY*. Фар-

макогенетические компоненты ответов на лечения в СД2 существуют, но все они были малы (менее 0,5 % [5 ммоль/моль] HbA1c) [20]. Альтернативный подход может включать в себя определение подгрупп больных СД2, которые вряд ли будут реагировать на специфическую терапию (лучший пример — пациенты с инсулинозависимым СД2 с аутоантителами к островковым клеткам или низким уровнем С-пептида, которые не отвечают на агонисты GLP-1 рецептора [21]).

Вместо того чтобы разделять подгруппы на основе молекулярной этиологии, возможно их определение на основе дифференциальной реакции на лечение ЛС. Первоначальный анализ для идентификации подгрупп следует проводить с использованием простых клинических данных (например, время постановки диагноза, пола и ИМТ) или легко доступных биомаркеров (например, EGFR). Такой подход имеет то преимущество, что его можно реализовать относительно быстро использованием уже имеющихся крупномасштабных рутинных клинических данных, а затем проверить с помощью информации о клинических испытаниях для лекарственных средств (ЛС). Цель — в создании простого калькулятора, который будет использовать обычную клиническую информацию, чтобы предоставить данные о вероятной реакции HbA1c и (или) риске неблагоприятных последствий для имеющих ЛС. В случае успеха этот подход можно будет легко реализовать в клинической практике, а также появится платформа, к которой затем можно добавить информацию по фармакогенетике или ОМИКСных биомаркерах [22]. Недавним примером успешной реализации этого подхода является использование данных о поле и ИМТ для идентификации пациентов с преимущественным ответом на тиазолидиндионы (ожирение женщин) или препаратам сульфонилмочевины (ПСМ, худые мужчины) [23].

СД типа LADA

Огромный интерес, с точки зрения диагностики, представляет СД типа LADA (Late Autoimmune Diabetes in Adults или поздний аутоиммунный СД у взрослых). Этот тип диабета имеет клинические признаки, характерные как для СД первого типа (наличие специфических аутоиммунных маркеров, отсутствие ожирения), так и для СД второго типа (нормальной базальной концентрации С-пептида сыворотки крови, возникновение после 35 лет и т.д.). Для данного типа заболевания характерна ассоциация с генами, которые могут провоцировать возникновение СД 1-го и 2-го типа. Только грамотный анализ полученных данных поможет эндокринологу с постановкой диагноза СД типа LADA, что повлечет за собой назначение правильного лечения.

СД типа LADA составляет до 5–10 % от всех случаев СД. Ему присущи клинико-лабораторные показатели, характерные как для СД1, так и СД2, в связи с чем его иногда называют диабетом типа «полтора». Его сходство с СД1 заключается в наличии специфических аутоиммунных маркеров (антител к островкам поджелудочной железы, антител к глутаматдекарбоксилазе — GAD), отсутствии ожирения и семейного анамнеза СД; сходство с СД2 про-

является в нормальной базальной концентрации С-пептида сыворотки крови, отсутствии кетоза и потребности в лечении инсулином в первые 2–6 месяцев от начала развития, а также в начале СД в возрасте старше 35 лет [24, 25]. Поиск генетических детерминант в развитии СД типа LADA выявил его ассоциацию с генами как характерными для СД1 (*HLA-DQB1*, *PTPN22*), так и сцепленными с развитием СД2 (*TCF7L2*, *FTO*, *SLC30A8*). Несмотря на промежуточное положение СД типа LADA между СД1 и СД2 и относительно нормальной секреции инсулина в первые месяцы от начала заболевания, промедление с назначением инсулинотерапии, как правило, приводит к риску раннего развития сосудистых осложнений. Поэтому правильная диагностика этого варианта СД крайне важна для своевременного назначения инъекций инсулина.

Прецизионная диабетология у детей

При обнаружении признаков СД у ребенка обычно ставится диагноз СД1 типа, и назначается лечение инсулином. Однако в США было проведено исследование более тысячи детей с СД и выявлено, что СД1 присутствует только у 50 % исследуемых, в 16 % случаев имел место СД2, у 20 % — признаки СД как первого, так и второго типа, и у 10 % — СД типа MODY [26].

Неонатальный СД (НСД) — редкое заболевание, дебютирующее в первые шесть месяцев жизни ребенка, при этом выделяют транзиторный и перманентный НСД. Транзиторный НСД нуждается в инсулинотерапии в первые 15–18 месяцев жизни ребенка, после чего, как правило, симптомы СД исчезают, и инсулин отменяют, однако СД может возвратиться во взрослом возрасте. В случае перманентного НСД сахароснижающая терапия назначается пожизненно, однако в 80 % случаев дети имеют высокую чувствительность не к инсулину, а к ПСМ. Это связано с тем, что основным дефектом при перманентном НСД являются мутации в гене *KCNJ11*, приводящие к снижению секреции инсулина. Восстановить секрецию инсулина в этом случае помогает не инсулинотерапия, а ПСМ. Поэтому назначенный при таком СД инсулин не приводит к удовлетворительному удержанию на достигнутом уровне гликемии, и только перевод ребенка на ПСМ позволяет достичь компенсации заболевания [27]. Поэтому необходимо генетическое тестирование всех детей с манифестацией СД до шестимесячного возраста с индивидуальным подбором сахароснижающей терапии.

Доказательство генетических причин НСД основано на том, что, во-первых, пациенты не имеют генетической предрасположенности к СД1, что контрастирует с диабетом у детей после шести месяцев жизни [28], а 96 % пациентов с установленным диабетом неонатальной моногенетической этиологии диагностированы в срок менее шести месяцев [29]. До возможности генетического тестирования НСД классифицировался исключительно по клиническому течению заболевания: транзиторный неонатальный диабет (TNDM), постоянный неонатальный сахарный диабет (PNDM) или по специфическим синдромам. В настоящее время известны 23 различных генетических полиморфизма неонатального диабета [30].

Ключевым моментом для появления прецизионного подхода было выявление влияния генетической этиологии на выбор лечения и клиническое течение заболевания [30]. Приблизительно половина пациентов с НСД имеют мутации в генах, кодирующих калиевый канал (*KCNJ11*, *ABCC8*), демонстрируют превосходный контроль глюкозы при высокой дозе сульфонилмочевины без гипогликемии [31] и улучшение неврологической функции [32]. У пациентов с неонатальным СД, связанным с метилированием в хромосоме 6q24, можно проводить лечение с помощью низких доз сульфонилмочевины. В противоположность этому пациентам с другими подтипами неонатального диабета необходимо лечение инсулином

Другим важнейшим преимуществом подходов персонализированной диабетологии является способность объяснить дополнительные клинические нарушения, которые связаны с основной генетической причиной. Они могут уже присутствовать (например, пороки сердца у больных с *GATA6*-мутациями, микроэнцефалопатия у больных с *IER3IP1*-мутациями, атрезии желчевыводящих путей и кишечника у больных с *RFX6*-мутациями), ожидаться (например, экзокринной поджелудочной недостаточности у больных с мутациями в *GATA4*, *GATA6* или *Pdx1* и ремиссии переходного диабета у больных с аномалией метилирования хромосомы 6q24) или развиться позже (например, печеночной недостаточности и костных нарушений при синдроме Уолкотт-Раллисон или других аутоиммунных состояний с синдромом IPREX) [30].

Развитие технологий секвенирования позволило производить быстрое и полное тестирование всей известной генетической этиологии в моногенном диабете [33] в короткие сроки [30], что привело к смене парадигмы в способе лечения неонатального СД: можно сделать быструю и точную генетическую диагностику перед развитием всех клинических признаков. Такой подход может привести к раннему соответствующему лечению диабета и будущему планированию других возможных клинических событий [30], например, ранняя диагностика позволяет предсказать и запланировать ремиссию, учитывать, что задержка развития является особенностью генетической этиологии. Кроме того, лечение сульфонилмочевиной при *KCNJ11*- и *ABCC8*-неонатальном диабете, вероятно, приводит к менее тяжелой задержке развития [32], лечение тиаминем при тиамин-чувствительной мегалобластной анемии неонатального диабета может улучшить гликемический контроль [34]. Наконец, для тяжелых аутоиммунных моногенных синдромов ранняя диагностика позволяет рассматривать вопрос о быстрой лечебной трансплантации костного мозга [35].

Лечение высокими дозами ПСМ при связанном с калиевым каналом неонатальном диабете (*ABCC8*- и *KCNJ11*-неонатальный диабет) имеет огромное влияние на секрецию эндогенного инсулина (измеренного с помощью С-пептида), который увеличивается с неопределяемого уровня до уровня, необходимого для поддержания концентрации глюкозы при близких нормальным значениям. Это привело к улучшению на приблизительно 2 процентных пункта (22 ммоль/моль) в HbA1c в краткосрочной перспективе, которая сохраняется в течение более пяти лет [36], так как калиевый канал

является мишенью ПСМ. Быстрое клиническое признание НСД в сочетании с резким ответом на лечение и точной генетической диагностикой привело к созданию междunarодных руководств [37]. В клиническом руководстве констатируется, что генетическое тестирование является обязательным для всех пациентов, у которых развился диабет до шестимесячного возраста, а его простота помогла быстрому распространению по всему миру.

Диабет MODY

К настоящему времени известно более 10 генов, мутации которых приводят к развитию MODY [38]. При этом каждый генотип производит уникальный фенотип, а соответственно предполагает уникальное лечение. Представлены данные об основных вариантах СД типа MODY и индивидуальных возможностях их лечения [39, 40]. Как следует из представленных данных, детский СД типа MODY при правильной диагностике можно эффективно лечить либо с помощью диеты, либо ПСМ, либо инсулином.

Диабет MODY был первоначально определен в качестве клинической подгруппы наследственного диабета с ранним возрастом постановки диагноза (обычно до 25 лет), но, несмотря на это, неинсулинозависимый с аутосомно-доминантным наследованием [41]. Первоначальный анализ сцепления в больших семьях привел к открытию первого гена MODY, кодирующего глюкокиназу (*GCK*) [42], последующему открытию генов, кодирующих печеночный ядерный фактор 1-альфа (*HNF1α*) [43], печеночный ядерный фактор 4-альфа (*HNF4α*) [44] и печеночный ядерный фактор 1-бета (*HNF1β*) [45], впоследствии были описаны другие менее частые генетические причины [46]. MODY составляет от 1,2 до 3,0% от диабета, диагностированного у детей в основном в европейских популяциях [47]. Открытия генов MODY привели к описанию дискретных клинических курсов лечения для различных генетических подтипов. *GCK*-MODY характерен стабильностью, подъемом уровня глюкозы натощак и связан с фактором транскрипции (*HNF1α*-, *HNF4α*- и *HNF1β*-MODY [48]. Пациенты с последним типом MODY имеют различную связанную с ними функцию, основанную на их основной этиологии: глюкозурии в *HNF1α*-MODY, макросомию плода и неонатальную гипогликемию в *HNF4α*-MODY, а также нарушения развития почек и многих других органов в *HNF1β*-MODY. В большинстве случаев необходимость ГТ требует первоначального клинического выбора и последующее молекулярно-генетическое тестирование либо наиболее вероятного гена или группы MODY всех генов.

Генетическое тестирование для определения подгрупп MODY может быть использовано для идентификации пациентов и предсказания клинических признаков и ответов на лечение. Пациенты с *GCK*-MODY не требуют лечения [48] и не реагируют на пероральные агенты или низкие дозы инсулина. В противоположность этому пациентам с *HNF1α*- и *HNF4α*-MODY можно лечить с помощью низких доз сульфонилмочевины [49]. Пациенты, которые требуют дополнительных ЛС, могут получать ингибиторы дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4), глюкагонподобный пептид-1 (GLP-1) и агонист рецептора инсулина в допол-

нение к сульфонилмочевине. Пациенты с HNF1 β -MODY требуют лечения инсулином, так как реакция на сульфонилмочевину и другие пероральные препараты ограничена [50]. В настоящее время в мире растет число генетических анализов MODY: так, в Великобритании в 1996 г. таких исследований было около 50, а в 2016 г. — уже 5 тысяч.

Для многих моногенных подтипов диабета специфическая мутация определяет клинический исход отношений генотип — фенотип, например, в KCNJ11-неонатальном диабете тяжесть мутации определяет фенотип [51]. Функциональное воздействие мутаций возрастает по мере изменения фенотипа от транзиторного неонатального диабета (TNDM) к постоянному неонатальному сахарному диабету (PNDM) до PNDM с неврологическим фенотипом (задержками развития, эпилепсией и диабетом у новорожденного [DEND]) [51, 52]. В качестве другого примера: пациенты HNF4 α -MODY с мутацией *p.R114W* (обнаруживаются у около 15% HNF4 α -MODY пациентов) имеют различные фенотипы, по сравнению с другими пациентами HNF4 α -MODY демонстрируют снижение чувствительности к лечению низкой дозой сульфонилмочевины [53]. В отличие от этого, GCK-MODY интересен несмотря на наличие значительных функциональных различий при различных мутациях, что связано с компенсацией благодаря избыточной экспрессии нормального аллеля [54].

Различия в реакции на лечение могут иметь большое влияние в моногенном диабете. Лучшим примером является повышенная чувствительность к сульфонилмочевине в HNF1 α -MODY, означающая, что пациенты могут получить гипогликемию, если используются стандартные

дозы [55]. В рандомизированном исследовании с применением сульфонилмочевины показано четырехкратное снижение уровня глюкозы в крови натощак у пациентов HNF1 α -MODY по сравнению с пациентами с СД2 [49]. Эта чувствительность к сульфонилмочевине первоначально была идентифицирована из клинических наблюдений, а не была предсказана из функции гена [55]. В противоположность этому существует недостаток гликемической реакции у оральных гипогликемических агентов или низкой дозы инсулина у пациентов с GCK-MODY. Инсулин рекомендуется для людей с GCK-MODY в некоторых случаях во время беременности, но даже при очень высоких дозах его способность снижать уровень глюкозы в крови матери ограничена [48]. Отсутствие ответа на терапию может быть предсказано, поскольку пациенты GCK-MODY имеют регулируемый уровень глюкозы в крови, который устанавливается на более высоком уровне [48, 56].

Признание MODY было медленным, несмотря на довольно высокое распространение, технология генетической диагностики будет вскоре доступна в большинстве стран, и даны четкие рекомендации по лечению [48]. Генетика не является частью рутинной клинической подготовки диабетолога и традиционно акценты ставятся на лечении. Кроме того, основным препятствием для распространения точного диабета MODY является отсутствие отдельных клинических критериев, которые могут точно идентифицировать пациентов MODY (перекрываются с СД1 и СД2 с учетом возраста начала, ИМТ, истории диабета у родителей, уровня HbA1c и лечения [57]). Традиционные критерии MODY (диагноз диабета менее 25 лет, инсулиннезависимое лечение и наследственная

Таблица
Варианты моногенных форм СД типа MODY

Вариант СД	Доля среди моногенных форм СД, %	Мутация гена	Действие	Основной дефект	Лечение
MODY-1	3–5	Ядерный (нуклеарный) фактор гепатоцитов HNF-4 α 20q	Является транскрипционным фактором; Принадлежит к семейству рецепторов стероидных/ тиреоидных гормонов; регулирует экспрессию гена инсулина и генов, контролирующих транспорт и метаболизм глюкозы; регулирует секрецию инсулина β -клетками	Дефицит инсулина	ПСМ-препараты сульфонилмочевины, проинсулин
MODY-2	15–20	Глюкокиназы 7q	Ключевой фермент метаболизма глюкозы катализирует образование глюкозо-6-фосфата из глюкозы; мутация в гене приводит к снижению активности фермента и снижению чувствительности β -клеток к глюкозе	Легкий дефицит инсулина, отсутствие симптоматики	Диета, редко ПСМ
MODY-3	70	Ядерный (нуклеарный) фактор гепатоцитов HNF-1 α 12q		Дефицит стимулированной секреции инсулина	Диета, ПСМ, при длительном течении диабета инсулин (30%)
MODY-4	< 1	Инсулин-промоторный фактор IPF-1 13q	Является транскрипционным фактором; регулирует развитие поджелудочной железы; контролирует экспрессию островковых генов (ген инсулина, глюкокиназы, глюкозных транспортеров)	Агенезия поджелудочной железы, дефицит инсулина	Инсулин
MODY-5	3	Ядерный (нуклеарный) фактор гепатоцитов HNF-1 β 17q	Регулирует развитие поджелудочной железы в эмбриогенезе; контролирует секрецию инсулина; регулирует развитие почек	ИР в печени, дефицит инсулина	Инсулин
MODY-6	Очень редко	Ген нейрогенной дифференциации 1 Neuro-D-1 2q	Является транскрипционным фактором; регулирует развитие поджелудочной железы; регулирует развитие нервной системы; регулирует экспрессию гена инсулина	Дефицит инсулина	Инсулин

предрасположенность) позволяют идентифицировать лишь 48 % случаев MODY и, следовательно, не являются достаточно чувствительными, чтобы быть отдельно использованы в клинической практике, и большинство пациентов MODY не распознается [58]. Кроме того, стоимость генодиагностики является важным барьером, хотя полученные данные подтверждают экономическую ее эффективность как для диабета новорожденных, так и MODY [59].

Диагностирование MODY не требует сложной многомерной оценки вероятности, основываясь на более чем одном клиническом критерии, и осуществляется с помощью статистического калькулятора, использующего легко доступную клиническую информацию для оценки вероятности MODY у пациента. Калькулятор вероятности MODY был разработан Б. Шилдс и доступен бесплатно на сайте www.diabetesgenes.org и приложении «Диабет» для мобильных платформ IOS и Android [57]. В сравнительном исследовании программа оказалась столь же хороша, как и клинические специалисты с более чем 20-летним опытом работы с MODY (Б. Шилдс, Университет Эксетера Medical School, Эксетер, Великобритания). Калькулятор вероятности работает лучше для пациентов, которые не получали инсулин. Для пациентов, которые лечатся инсулином, у которых диагноз MODY рассматривается, дополнительные негенетические тесты (островковые аутоантитела и анализ С-пептида): наличие островковых аутоантител и (или) С-пептида менее 200 пмоль/л эффективно исключает MODY [60, 61]. Разработка калькулятора вероятностной MODY оказалась очень перспективным первым шагом на пути прецизионной диабетологии и широко используется (более 6 тысяч загрузок). Это дает хороший пример того, как моделирование сложной диагностической задачи может быть упрощено в простой инструмент, который использует легко доступную клиническую информацию и может способствовать быстрому распространению подходов прецизионного диабета.

Секвенирование следующего поколения упростило выполнение генетического тестирования, но не устранило необходимость клинического отбора пациентов с возможным моногенным диабетом для генетического теста. Можно протестировать все гены, участвующие в моногенном диабете в одном тесте генетической панели быстро и эффективно [62] и определить приблизительно 25 % дополнительно моногенных пациентов с менее распространенными причинами. Это устраняет необходимость в определении вероятных генетической этиологии / подгрупп перед тестированием; однако необходимо уделять особое внимание, когда пациенты не были выбраны по фенотипу — вероятность моногенных случаев диабета значительно снижается, и поэтому ложноположительные результаты становятся более вероятными [63].

В последнее время большое внимание начинает уделяться не только геномным, но и протеомным исследованиям в диабетологии. Обнаружено, что развитие симптомов диабета может быть индуцировано аномальной формы белка, в норме вырабатываемого поджелудочной железой [64]. Полученные данные повышают вероятность того, что СД2 способен передаваться по механизму, сходному с механизмом прионных заболеваний — группе нейродегенеративных

заболеваний человека и животных. По сути, это белки, обладающие способностью к размножению. Более чем у 90 % пациентов с диагнозом СД2 в островковых клетках обнаруживаются патологические отложения островкового амилоидного полипептида (islet amyloid polypeptide, IAPP). Роль этого белка пока не ясна, но известно, что он способен повреждать вырабатывающие инсулин островковые клетки и даже вызывать их гибель. С этой точки зрения, СД2 может быть похож на другие болезни, вызываемые отложениями патологических белков, например, на болезни Альцгеймера и Паркинсона и прионные заболевания (могут передаваться от одного инфицированного к другому).

Другой белок, FKBP51, действует в качестве связующего звена между системой регулирования стресса и метаболизмом, а высокие уровни содержания этого белка могут и вовсе ухудшить способность организма усваивать глюкозу. И это, в свою очередь, может привести к появлению диабета или ожирения. В некоторых случаях организм рассматривает потребление лишнего жира как стрессовое состояние и высвобождает еще больше FKBP51, что только усугубляет проблему. FKBP51 влияет на сигнальный каскад в мышечной ткани, что при чрезмерном потреблении калорий приводит к развитию нарушению толерантности к глюкозе — ключевому показателю СД2.

Таким образом, полученные в последние годы данные с помощью ОМИКСных технологий свидетельствуют о большой гетерогенности СД и его зависимости от разнообразных факторов: генетических, эпигенетических, этнических и др. Развитие прецизионных подходов в диабетологии даст возможность вести персонализированную лабораторную диагностику с использованием панелей биологических маркеров и на этой основе — прогноз возможных осложнений и таргетную терапию.

Список литературы

1. Щербо С.Н., Щербо Д.С. Медицина 5П. Прецизионная медицина // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. — 2015. — 4. — С. 5–10.
2. Щербо С.Н., Щербо Д.С. Персонализированная медицина в 7 томах, том 1 Биологические основы, М., РУДН, 2016 с. 224; том 2 Лабораторные технологии, М., РУДН, 2017, с. 437.
3. Тофило М.А., Егорова Е.Н. МикроРНК, регулирующие адипогенез при сахарном диабете 2-го типа. // Здоровье и образование в XXI веке. — 2017. — 19. — 3 — С. 108–111.
4. Plaisance V., et al. MicroRNA-9 controls the expression of Granulysin/Slp4 and the secretory response of insulin-producing cells. // J. Biol. Chem. — 2006. — 281. — P. 26932–26942.
5. Lovis P., Gattesco S., Reggazi R. Regulation of the expression of components of the exocytotic machinery of insulin-secreting cells by microRNAs. // Biol. Chem. — 2008. — 389. — P. 305–312.
6. Barouk N.N., Van Obberghen E. Function of microRNA-375 and microRNA-124a in pancreas and brain. // FEBS J. — 2009. — 276. — P. 6509–6521.
7. Ahlqvist E., Storm P., Karajamaki A. et al. Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. // The Lancet Diabetes Endocrinology. — 2018. — 6. — 5. — P. 361–369.
8. Дедов И.И., Титович Е.В., Кураева Т.А. и др. Взаимосвязь генетических и иммунологических маркеров у родственников больных СД 1 типа. // Сахарный диабет. — 2008. — 4. — P. 46–50.
9. Meigs J.B., Cupples L.A., Wilson P.W. Parental transmission of type 2 diabetes: the Framingham Offspring study. // Diabetes. — 2000. — 49. — P. 2201–2217.
10. Sanghera D.K., Blackett P.R. Tepe 2 Diabetes genetics: beyond GWAS. // J. Diab. Metab. — 2012. — 3. — P. 2–17.
11. Frier B.M., Schernthaner G., Heller S.R. Hypoglycemia and cardiovascular risks. // Diabetes Care. — 2011. — 34 Suppl 2. — S132–137.
12. Дедов И.И., Шестакова М.В., Аметов А.С. и др. Консенсус совета экспертов Российской ассоциации эндокринологов по инициации и интенсификации сахароснижающей терапии у больных сахарным диабетом 2-го типа. // Сахарный диабет. — 2011. — 4. — P. 6–17.

13. Inzucchi S.E., Bergenstal R.M., Buse J.B. et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach: position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). // *Diabetes Care*.—2012.—35.—6.—P. 1364–1379.
14. Semiz S., Dujic T., Causevic A. Pharmacogenetics and personalized treatment of type 2 diabetes. // *Biochimica Medica*.—2013.—23.—2.—P. 154–171.
15. Fuchsberger C., Flannick J., Teslovich T.M. et al. The genetic architecture of type 2 diabetes. // *Nature*.—2016.—536.—P. 41–47.
16. Borai A., Livingstone C., Ferns G.A. The biochemical assessment of insulin resistance. // *Ann Clin Biochem*.—2007.—44.—P. 324–342.
17. Parfitt C., Church D., Armston A. et al. Commercial insulin immunoassays fail to detect commonly prescribed insulin analogues. // *Clin Biochem*.—2015.—48.—P. 1354–1357.
18. Tuomi T., Santoro N., Caprio S. et al. The many faces of diabetes: a disease with increasing heterogeneity. // *Lancet*.—2014.—383.—P. 1084–1094.
19. Bennett W.L., Maruthur N.M., Singh S. et al. Comparative effectiveness and safety of medications for type 2 diabetes: an update including new drugs and 2-drug combinations. // *Ann Intern Med*.—2011.—154.—P. 602–613.
20. Dawed A.Y., Zhou K., Pearson E.R. Pharmacogenetics in type 2 diabetes: influence on response to oral hypoglycemic agents. // *Pharm. Pers. Med.*.—2016.—9.—P. 17–29.
21. Jones A.G., McDonald T.J., Shields B.M. et al. Markers of β -cell failure predict poor glycemic response to GLP-1 receptor agonist therapy in type 2 diabetes. // *Diabetes Care*.—2016.—39.—P. 250–257.
22. Zeevi D., Korem T., Zmora N. et al. Personalized nutrition by prediction of glycemic responses. // *Cell*.—2015.—163.—P. 1079–1094.
23. Shields B.M., Longergan M., Dennis J. et al. Patient characteristics are associated with treatment response to second line glucose lowering therapy: a MASTERMIND study abstracts of 51st EASD annual meeting. // *Diabetologia*.—2015.—58 (Suppl 1).—S 405.
24. Смирнова О.М., Кононенко И.В., Дедов И.И. Гетерогенность сахарного диабета. Аутоиммунный латентный сахарный диабет у взрослых (LADA): определение, распространенность, клинические особенности, диагностика, принципы лечения. // *Сахарный диабет* — 2008.—4.—P. 18–23.
25. Hawa M.I., Kolb H., Schloof N. the Action LADA consortium. Adult-onset autoimmune diabetes in Europe is prevalent with a broad clinical phenotype: Action LADA 7. // *Diabetes care*.—2013.—36.—P. 908–913.
26. Dabelea D., Pihoker C., Talton J.W. et al. SEARCH for Diabetes in Youth Study. Etiological approach to characterization of diabetes type: the SEARCH for Diabetes in Youth Study. // *Diabetes Care*.—2011.—34.—P. 1628–1233.
27. Pearson E., Flechtner I., Njolstad P.R. et al. Switching from insulin to oral sulfonylureas in patients with diabetes due to Kir6.2 mutations. // *N. Engl. J. Med.*.—2006.—355.—P. 467–477.
28. Edghill E.L., Dix R.J., Flanagan S.E., et al. HLA genotyping supports a non-autoimmune etiology in patients diagnosed with diabetes under the age of 6 months. // *Diabetes*.—2006.—55.—P. 1895–1898.
29. Rubio-Cabezas O., Flanagan S.E., Damhuis A. et al. KATP channel mutations in infants with permanent diabetes diagnosed after 6 months of life. // *Pediatr. Diabetes*.—2012.—13.—P. 322–325.
30. De Franco et al. The effect of early, comprehensive genomic testing on clinical care in neonatal diabetes: an international cohort study. // *Lancet*.—2015.—386.—P. 957–963.
31. Pearson E.R., Flechtner I., Njolstad P.R. et al. Switching from insulin to oral sulfonylureas in patients with diabetes due to Kir6.2 mutations. // *N. Engl. J. Med.*.—2006.—355.—P. 467–477.
32. Beltrand J., Elie C., Busiah K. et al. Sulfonylurea therapy benefits neurological and psychomotor functions in patients with neonatal diabetes owing to potassium channel mutations. // *Diabetes Care*.—2015.—38.—P. 2033–2041.
33. Ellard S., Lango Allen H., De Franco E. et al. Improved genetic testing for monogenic diabetes using targeted next-generation sequencing. // *Diabetologia*.—2013.—56.—P. 1958–1963.
34. Olsen B.S., Hahnemann J.M.D., Schwartz M. et al. Thiamine-responsive megaloblastic anaemia: a cause of syndromic diabetes in childhood. // *Pediatr. Diabetes*.—2007.—8.—P. 239–241.
35. Nademi Z., Slatter M., Gambineri E. et al. Single centre experience of haematopoietic SCT for patients with immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome. // *Bone Marrow Transplant*.—2014.—49.—P. 310–312.
36. Iafusco D., Bizzari C., Cadario F. et al. No beta cell desensitization after a median of 68 months on glibenclamide therapy in patients with KCNJ11-associated permanent neonatal diabetes. // *Diabetologia*.—2011.—54.—P. 2736–2738.
37. Hattersley A., Bruining J., Shield J. et al. ISPAD clinical practice consensus guidelines 2006–2007. The diagnosis and management of monogenic diabetes in children. // *Pediatr. Diabetes*.—2006.—7.—P. 352–360.
38. Tuomi T., Santoro N., Caprio S. et al. The many faces of diabetes: a disease with increasing heterogeneity. *Lancet*, Early Online Publication, December 2013 doi:10.1016/S0140-6736(13)62219-9.
39. Дедов И.И., Кураева Т.А. Генетика сахарного диабета у детей и подростков. Пособие для врачей. 2003, Москва, 59 с.
40. Кураева Т.А., Зильберман Л.И., Титович Е.В. и др. Генетика моногенных форм сахарного диабета. // *Сахарный диабет*.—2011.—1.—С. 20–27.
41. Tattersall R.B., Fajans S.S. Prevalence of diabetes and glucose intolerance in 199 offspring of thirty-seven conjugal diabetic parents. // *Diabetes*.—1975.—24.—P. 452–462.
42. Froguel P., Vaxillaire M., Sun F., et al. Close linkage of glucokinase locus on chromosome 7p to early-onset non-insulin-dependent diabetes mellitus. // *Nature*.—1992.—356.—P. 162–164.
43. Yamagata K., Oda N., Kaisaki P.J. et al. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY3). // *Nature*.—1996.—384.—P. 455–458.
44. Yamagata K., Furuta H., Oda N. et al. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY1). // *Nature*.—1996.—384.—P. 458–460.
45. Horikawa Y., Iwasaki N., Hara M. et al. Mutation in hepatocyte nuclear factor-1 beta gene (TCF2) associated with MODY. // *Nat Genet*.—1997.—17.—P. 384–385.
46. McCarthy M.L., Hattersley A.T. Learning from molecular genetics: novel insights arising from the definition of genes for monogenic and type 2 diabetes. // *Diabetes*.—2008.—57.—P. 2889–2898.
47. Shepherd M., Shields B., Hammersley S. et al. Systematic population screening, using biomarkers and genetic testing, identifies 2.5% of the U.K. pediatric diabetes population with monogenic diabetes. // *Diabetes Care*.—2016.—39.—P. 1879–1888.
48. Chakera A.J., Steele A.M., Gloyd A.L. et al. Recognition and management of individuals with hyperglycemia because of a heterozygous glucokinase mutation. // *Diabetes Care*.—2015.—38.—P. 1383–1392.
49. Pearson E.R., Starkey B.J., Powell R.J. et al. Genetic cause of hyperglycaemia and response to treatment in diabetes. // *Lancet*.—2003.—362.—P. 1275–1281.
50. Pearson E.R., Badman M.K., Lockwood C.R. et al. Contrasting diabetes phenotypes associated with hepatocyte nuclear factor-1alpha and -1beta mutations. // *Diabetes Care*.—2004.—27.—P. 1102–1107.
51. Hattersley A.T., Ashcroft F.M. Activating mutations in Kir6.2 and neonatal diabetes: new clinical syndromes, new scientific insights, and new therapy. // *Diabetes*.—2005.—54.—P. 2503–2513.
52. Gloyd A.L., Dlatloff-Zito C., Edghill E.L. et al. KCNJ11 activating mutations are associated with developmental delay, epilepsy and neonatal diabetes syndrome and other neurological features. // *Eur. J. Hum. Genet*.—2006.—14.—P. 824–830.
53. Laver T.W., Colclough K., Shepherd M. et al. The common p.R114W HNF4A mutation causes a distinct clinical subtype of monogenic diabetes. // *Diabetes*.—2016.—65.—P. 3212–3217.
54. Sturis J., Kurland I.J., Byrne M.M. et al. Compensation in pancreatic beta-cell function in subjects with glucokinase mutations. // *Diabetes*.—1994.—43.—P. 718–723.
55. Pearson E.R., Liddell W.G., Shepherd M. et al. Sensitivity to sulphonylureas in patients with hepatocyte nuclear factor-1alpha gene mutations: evidence for pharmacogenetics in diabetes. // *Diabet Med*.—2000.—17.—P. 543–545.
56. Guenat E., Seematter G., Philippe J. et al. Counterregulatory responses to hypoglycemia in patients with glucokinase gene mutations. // *Diabetes Metab*.—2000.—26.—P. 377–384.
57. Shields B.M., McDonald T.J., Ellard S. et al. The development and validation of a clinical prediction model to determine the probability of MODY in patients with young-onset diabetes. // *Diabetologia*.—2012.—55.—P. 1265–1272.
58. Pihoker C., Gilliam L.K., Ellard S. et al. Prevalence, characteristics and clinical diagnosis of maturity onset diabetes of the young due to mutations in HNF1A, HNF4A, and glucokinase: results from the SEARCH for Diabetes in Youth. // *J. Clin. Endocrinol. Metab*.—2013.—98.—P. 4055–4062.
59. Naylor R.N., John P.M., Winn A.N. et al. Cost-effectiveness of MODY genetic testing: translating genomic advances into practical health applications. // *Diabetes Care*.—2014.—37.—P. 202–209.
60. McDonald T.J., Colclough K., Brown R. et al. Islet autoantibodies can discriminate maturity-onset diabetes of the young (MODY) from Type 1 diabetes. // *Diabet. Med*.—2011.—28.—P. 1028–1033.
61. Besser R.E.J., Shepherd M.H., McDonald T.J. et al. Urinary C-peptide creatinine ratio is a practical outpatient tool for identifying hepatocyte nuclear factor 1/hepatocyte nuclear factor 4- maturity-onset diabetes of the young from long-duration type 1 diabetes. // *Diabetes Care*.—2011.—34.—P. 286–291.
62. Pearson E.R., Pruhova S., Tack C.J., et al. Molecular genetics and phenotypic characteristics of MODY caused by hepatocyte nuclear factor 4alpha mutations in a large European collection. // *Diabetologia*.—2005.—48.—P. 878–885.
63. Flannick J., Beer N.L., Bick A.G. et al. Assessing the phenotypic effects in the general population of rare variants in genes for a dominant Mendelian form of diabetes. // *Nat. Publ. Group*.—2013.—45.—P. 1380–1385.
64. Mukherjee A., Morales-Scheiing D., Salvadores N. et al. Induction of IAPP amyloid deposition and associated diabetic abnormalities by a prion-like mechanism // *Journal of Experimental Medicine*.—2017.—9.—2591.

Для цитирования. Щербо С.Н., Щербо Д.С., Беспалова В.А., Туркина Т.И., Савина М.И., Кралин М.Ю., Тищенко А.А. Медицина 5П: прецизионный сахарный диабет // *Медицинский алфавит. Серия «Современная лаборатория»*.—2019.—Т. 1.—4 (379).—С. 7–15.





А. В. Луговая



В. Ф. Митрейкин



Ю. В. Эмануэль



В. Л. Эмануэль

Апоптоз и пролиферация Т-лимфоцитов периферической крови как альтернативные процессы в патогенезе сахарного диабета первого типа

А. В. Луговая, к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики отделения лабораторной диагностики клиники¹

Н. М. Калинина, д.м.н., проф. кафедры иммунологии¹, главный научный сотрудник, врач аллерголог-иммунолог²

В. Ф. Митрейкин, д.м.н., проф. кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии¹

Ю. П. Ковальчук, к.м.н. заместитель главного врача клиники по лабораторной диагностике¹

А. В. Артемова, врач терапевт-участковый, старший лаборант кафедры неврологии и мануальной медицины факультета последипломного обучения¹

Ю. Р. Белолипецкая, член студенческого научного общества¹

Е. А. Гаврилова, врач-невролог НИИ неврологии, клиника неврологии и мануальной медицины, отделение неврологии № 2¹

О. С. Рузанова, член студенческого научного общества¹

В. С. Эмануэль, член студенческого научного общества¹

Ю. В. Эмануэль, к.м.н. доцент кафедры неврологии и мануальной медицины факультета последипломного обучения.¹

В. Л. Эмануэль, д.м.н., заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины¹

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

²ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, г. Санкт-Петербург

Apoptosis and proliferation of peripheral blood T-cells as alternative processes in pathogenesis of diabetes mellitus type 1

A. V. Lugovaya, N. M. Kalinina, V. Ph. Mitreikin, Yu. P. Kovaltchuk, A. V. Artyomova, Y. R. Belolipetskaya, E. A. Gavrilova, O. S. Ruzanova, V. S. Emanuel, Y. V. Emanuel, V. L. Emanuel

First Saint Petersburg State Medical University n.a. I. P. Pavlov, All-Russian Centre for Emergency and Radiation Medicine n.a. A. M. Nikiforov; Saint Petersburg, Russia

Резюме

Апоптоз наряду с пролиферацией является формой ответа лимфоцитов на активационные стимулы. На ранних этапах клеточной дифференцировки преобладает апоптотический ответ, и его результатом является формирование толерантности к индукторному антигену [2]. Зрелые лимфоциты отвечают на стимуляцию преимущественно пролиферацией, что служит начальным этапом развития иммунного ответа, но определенная вероятность их вступления в активационный апоптоз сохраняется. Поскольку апоптоз при этом выступает в качестве процесса, альтернативного пролиферации, их соотношение может служить мерой результативности ответа клеток на активирующие сигналы [1]. Ключевым моментом в инициации сахарного диабета первого типа (СД-1) является устойчивость к апоптозу активированных аутореактивных Т-лимфоцитов, которые мигрируют из кровяного русла в поджелудочную железу и принимают активное участие в деструкции β-клеток. Резистентность клонов эффекторных Т-клеток к апоптозу может свидетельствовать об их высоком пролиферативном потенциале. Следовательно, сравнительная оценка апоптоза и пролиферации лимфоцитов периферической

Summary

Apoptosis, along with proliferation, is a form of lymphocyte response to activating stimuli. In the early stages of cell differentiation, the apoptotic response prevails and it results to the formation of tolerance to inducer antigen. Mature lymphocytes proliferate in response to stimulation and it means the initial stage in the development of the immune response. Since in this case apoptosis and proliferation acts as alternative processes, their ratio can serve as a measure of the effectiveness of the cellular response to activating signals. The resistance of autoreactive T-cells to apoptosis is the main key point in the development of type 1 diabetes mellitus (T1DM). Autoreactive T-cells migrates from the bloodstream to the islet tissue of the pancreas and take an active part in β cells destruction. The resistance of autoreactive effector T-cells to apoptosis may suggest their high proliferative potential. Therefore, the comparative evaluation of apoptosis and proliferation of peripheral blood lymphocytes can give a more complete picture of their functional state and thus will help to

крови может дать более полное представление об их функциональном состоянии и, таким образом, поможет выявить причины неэффективного апоптоза периферических Т-клеток при СД-1 и глубже понять патогенез заболевания. В статье изучены особенности пролиферативного ответа Т-лимфоцитов периферической крови у больных СД-1 и лиц с высоким риском развития сахарного диабета. Проведена оценка апоптотических процессов в Т-клеточных субпопуляциях. Выявлена корреляционная зависимость между показателями апоптоза и интенсивностью спонтанной и индуцированной *in vitro* пролиферации Т-клеток. Установлено, что аутореактивные Т-лимфоциты периферической крови больных СД-1 и лиц с высоким риском развития СД-1 устойчивы к апоптозу и обладают высоким пролиферативным потенциалом.

Ключевые слова: апоптоз, пролиферация, Т-лимфоциты, фитогемагглютинин (ФГА), инсулин, сахарный диабет первого типа.

reveal the causes of ineffective peripheral blood T-cells apoptosis in patients with T1DM and will help to understand more deeply the pathogenesis of the disease. In this article, the features of proliferative response of peripheral blood T-cells in patients with T1DM and in individuals with high risk of developing T1DM have been studied. Apoptosis of T-cell subpopulations has been investigated. The correlation between the apoptotic markers and the intensity of spontaneous and activation-induced *in vitro* T-cells proliferation of was revealed. It was determined, that autoreactive peripheral blood T-cells were resistant to apoptosis and demonstrated the increased proliferative potential in patients with T1DM and in individuals with high risk of developing T1DM.

Key words: apoptosis, proliferation, T-lymphocytes, phytohaemagglutinin (PHA), insulin, type 1 diabetes mellitus.

Введение

Как известно, оптимальная реакция клетки на внешние активационные сигналы зависит от тонкого баланса между пролиферацией и апоптозом. Реализация этих альтернативных программ клеточной активации зависит от характера экстраклеточных регуляторных сигналов, их интенсивности, продолжительности их воздействия, состояния клетки и ее микроокружения. Следует подчеркнуть, что в передаче этих сигналов внутри самой клетки и при апоптозе, и при пролиферации нередко принимают участие одни и те же транскрипционные факторы [2]. Например, активация транскрипционного фактора NF- κ B (Nuclear Factor of κ -chain B-lymphocytes), с одной стороны, обеспечивает выживание и пролиферацию клетки за счет транскрипции генов ингибиторов апоптоза, а с другой — непосредственно участвует в транскрипции генов Fas, FasL, DR4, DR5 и других инициаторов апоптоза [5]. Дисрегуляция в системе «пролиферация — апоптоз» является причиной срыва периферической ауто толерантности и играет решающую роль в патогенезе многих аутоиммунных заболеваний, к числу которых относится СД-1.

На сегодняшний день ведущая роль в разрушении β -клеток при сахарном диабете первого типа (СД-1) отводится апоптозу [3, 4, 6, 7]. В патогенезе СД-1 с апоптозом связаны два основных механизма: 1) нарушение процессов апоптоза в тимусе, приводящее к неэффективной селекции аутореактивных Т-лимфоцитов; 2) роль апоптоза как завершающего механизма иммунообусловленной деструкции β -клеток. Аутореактив-

ные лимфоциты, устойчивые к апоптозу, мигрируют из кровяного русла в орган-мишень — поджелудочную железу и образуют воспалительные инфильтраты — инсулиты [8, 9]. Началу заболевания предшествует длительный бессимптомный период, во время которого происходит экспансия аутореактивных клонов эффекторных Т-лимфоцитов, участвующих в аутоиммунной деструкции островковой ткани поджелудочной железы, приводящей к прогрессирующей потере секреторной функции β -клеток. Клиническая манифестация СД-1 происходит при разрушении 80–90 % β -клеток [9]. Несмотря на длительное изучение патогенеза СД-1, точные причины резистентности аутореактивных Т-клеток к апоптозу остаются неясными. Не установлены факты, дающие ответ на вопрос: насколько способность Т-лимфоцитов периферической крови вступать в апоптоз ассоциирована с тяжестью и продолжительностью заболевания. По-прежнему продолжается поиск новых методов ранней диагностики СД-1 у ближайших родственников пациентов с аутоиммунным диабетом. В связи с этим представляется актуальным изучение апоптотических процессов в субпопуляциях Т-лимфоцитов периферической крови больных СД-1 и сопоставление полученных данных с результатами оценки пролиферативной активности Т-лимфоцитов в ответ на стимуляцию митогеном и специфическим антигеном.

Цель исследования: провести сравнительную оценку процессов апоптоза и пролиферации Т-лимфоцитов

периферической крови больных СД-1 в зависимости от фазы компенсации и длительности течения заболевания, а также у лиц с высоким риском развития СД-1.

Материалы и методы

Были обследованы 63 больных с достоверно установленным диагнозом СД-1 и 15 человек с высоким риском развития СД-1. Контрольную группу (I группа) составили 30 здоровых лиц, по полу и возрасту сопоставимых с больными СД-1. Распределение пациентов по группам проводилось в зависимости от фазы компенсации и длительности течения заболевания. II группу (декомпенсированный СД-1) составили 17 больных с впервые выявленным СД-1 (IIa группа) и 19 пациентов (IIб группа) с длительностью течения СД-1 в среднем $15,3 \pm 5,1$ года. В III группу (состояние компенсации СД-1) были включены 13 больных с длительностью заболевания до 1 года (IIIa группа) и 14 человек с продолжительностью СД-1 в среднем $15,1 \pm 5,4$ года (IIIб группа). IV группу составили 15 человек с высоким риском развития СД-1, которые являлись близкими родственниками обследованных больных СД-1. У всех пациентов IV группы было выявлено повышение титра аутоантител к цитоплазматическим антигенам островковых клеток — ICA (Islet Cell Autoantibodies) в сыворотке (более 1/20) и нарушение толерантности к глюкозе. Как известно, ICA появляются за несколько лет до клинической манифестации СД-1 [9].

Иммунофенотипирование мононуклеаров периферической крови осуществляли методом проточной

Таблица 1
Пролиферативная активность лимфоцитов периферической крови больных СД-1 и лиц группы риска in vitro

Группы	Спонтанная пролиферация (%)	Фитогемагглютинин			Инсулин		
		2,5 мкг/мл	6,0 мкг/мл	15 мкг/мл	1,75 мкг/мл	3,5 мкг/мл	7,0 мкг/мл
		Индекс стимуляции в ответ на митоген и антиген					
I	1,2	5,7	47,2	5,9	0,7	0,8	0,7
IIa	1,6	20,9**	47,8	8,3	1,8*	2,0*	1,9*
IIб	1,4	21,4**	46,9	6,2	1,1	1,3	1,2
IIIa	1,9	14,8*	58,1*	6,0	1,2	1,5	1,4
IIIб	2,1	2,5*	34,6*	5,8	1,0	1,4	1,2
IV	3,1*	1,4*	30,4*	6,6	1,9*	2,2*	2,0*

Примечания. * — различия по изучаемому показателю с контрольной группой (I) достоверны ($p < 0,05$); ** — различия по изучаемому показателю с контрольной группой (I) достоверны ($p < 0,01$).

Таблица 2
Содержание CD95⁺-клеток и Т-лимфоцитов, экспрессирующих Fas-рецептор, в периферической крови больных СД-1 и лиц группы риска

Группы	CD95 ⁺		CD3 ⁺ CD95 ⁺	CD4 ⁺ CD95 ⁺	CD8 ⁺ CD95 ⁺
	Относительное содержание, %	Абсолютное содержание, мм ³	Относительное содержание, %		
I	4,2	80	3,0	2,3	0,9
IIa	12,4**	260**	10,8**	7,3**	6,0***
IIб	13,2**	222**	11,1**	8,1**	6,7***
IIIa	8,6*	212*	7,3*	5,1*	3,9**
IIIб	8,2*	152*	6,9*	4,8*	3,7**
IV	4,9	90	3,5	3,0	2,1*

Примечания: * — различия по изучаемому показателю с контрольной группой (I) достоверны ($p < 0,05$); ** — различия по изучаемому показателю с контрольной группой (I) достоверны ($p < 0,01$); *** — различия по изучаемому показателю с контрольной группой (I) достоверны ($p < 0,001$).

цитометрии с использованием моноклональных антител производства Immunotech (Coulter Corporation, США) — anti-CD 3, конъюгированные с FITC (Fluorescein Isothiocyanate), anti-CD4-FITC, anti-CD8-FITC, anti-CD 16-FITC, anti-CD 20-FITC, anti-CD 25-FITC, anti-HLA-DR-FITC, anti-CD95-FITC и их изотипических контролей.

Для оценки апоптотических процессов в отдельных субпопуляциях Т-лимфоцитов определяли уровень поверхностной экспрессии Fas-рецептора с использованием двойной флуоресцентной метки — FITC (Fluorescein Isothiocyanate) и PE (Phycoerythrin). Исследование проводили с применением следующих сочетаний антител: anti-CD 3-FITC/anti-CD 95-PE, anti-CD 4-FITC/anti-

CD 95-PE и anti-CD 8-FITC/anti-CD 95-PE. Цитометрический анализ лимфоцитов проводили на проточном цитометре EPICS XL (Coulter Corporation, США).

С целью индукции пролиферации Т-лимфоцитов периферической крови был использован Т-клеточный митоген фитогемагглютинин (ФГА) в концентрациях 2,5; 6,0 и 15,0 мкг/мл согласно прилагаемым инструкциям (Sigma, США). В качестве антигена использовали человеческий рекомбинантный инсулин (Монотард НМ, «Ново Нордиск», Дания) в трех различных концентрациях (1,75; 3,50 и 7,00 мкг/мл). Приведенные концентрации инсулина были утверждены как оптимальные в результате серии начальных экспериментов. Культивирование проводили в CO₂-инку-

баторе. Спонтанную пролиферацию лимфоцитов оценивали в культуре клеток крови без добавления индукторов.

По окончании инкубации в пробы добавляли 15 мкл РНК-азы и 15 мкл раствора ДНК-связывающего красителя этидиума бромид (Sigma, США), перемешивали и анализировали на проточном цитометре. Уровень пролиферативной активности (индекс пролиферации) вычисляли как сумму клеточных ядер в синтетической, постсинтетической фазах и в митозе. Индексы стимуляции рассчитывали как отношение показателей митоген- или антиген-стимулированной бласттрансформации лимфоцитов к спонтанной.

Для статистической обработки полученных данных использовали непараметрический критерий Вилкоксона-Манна-Уитни для сравнения средних, корреляционный анализ по Спирману. Обработка материала проведена с использованием пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft, США). Критический уровень достоверности нулевой гипотезы (при отсутствии значимых различий) принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждения

Поскольку ФГА является Т-клеточным митогеном, в данном разделе обсуждается пролиферативная активность исключительно Т-лимфоцитов. Исследованием установлено, что у пациентов в состоянии декомпенсации СД-1 (IIa и IIб группы) был отмечен аномально высокий пролиферативный ответ лимфоцитов на ФГА в концентрации 2,5 мкг/мл (табл. 1), что свидетельствует о предсуществующей активации Т-лимфоцитов. Полученные результаты согласуются с данными литературы о неадекватно высоком ответе Т-клеток в РБТЛ на малые дозы митогена при прогрессировании аутоиммунного процесса [2]. Установлено, что СД-1 характеризуется неэффективным фагоцитарным клиренсом апоптотических β-клеток, которые становятся источниками дополнительной антигенной стимуляции для активированных иммунокомпетентных клеток. Это приводит

к постоянной аутоиммунной атаке на островковую ткань поджелудочной железы [10].

При компенсированном СД-1 с продолжительностью менее года (IIIa группа) наблюдалось достоверное повышение пролиферативной активности лимфоцитов в ответ на ФГА во всех трех исследуемых концентрациях по сравнению с контрольной группой (табл. 1), что указывает на повышенную реактивность лимфоцитов и напряжение Т-клеточного звена иммунитета. В группе компенсации СД-1 с длительностью заболевания более 15 лет (IIIб) и группе риска (IV) отмечалось достоверное снижение пролиферативного ответа на ФГА по сравнению с контрольной группой (табл. 1). Таким образом, полученные результаты отражают явные различия в иммунологической реактивности на ранних и поздних сроках заболевания, а также волнообразный характер течения СД-1 с чередованием периодов компенсации и декомпенсации углеводного обмена.

Изучение пролиферативного ответа лимфоцитов на инсулин в трех различных концентрациях выявило его достоверное увеличение по сравнению с контрольной группой у больных с впервые выявленным СД-1 (IIa) и в группе риска (IV). Полученные результаты указывают на то, что оценку пролиферативного ответа лимфоцитов *in vitro* на инсулин можно использовать в качестве одного из дополнительных методов ранней диагностики СД-1.

Иммунофенотипирование мононуклеаров периферической крови показало достоверное повышение относительного и абсолютного количества CD95⁺-лимфоцитов во всех группах больных СД-1 по сравнению с группой контроля, что свидетельствует о повышенной готовности иммуокомпетентных клеток к апоптозу (табл. 2).

Максимальное увеличение относительного и абсолютного содержания CD95⁺-клеток и Т-лимфоцитов, экспрессирующих Fas-рецептор, было выявлено при декомпенсации СД-1 независимо от продолжительности заболевания (группы IIa и IIб). Это объясняется влиянием гипергликемии, которая повышает

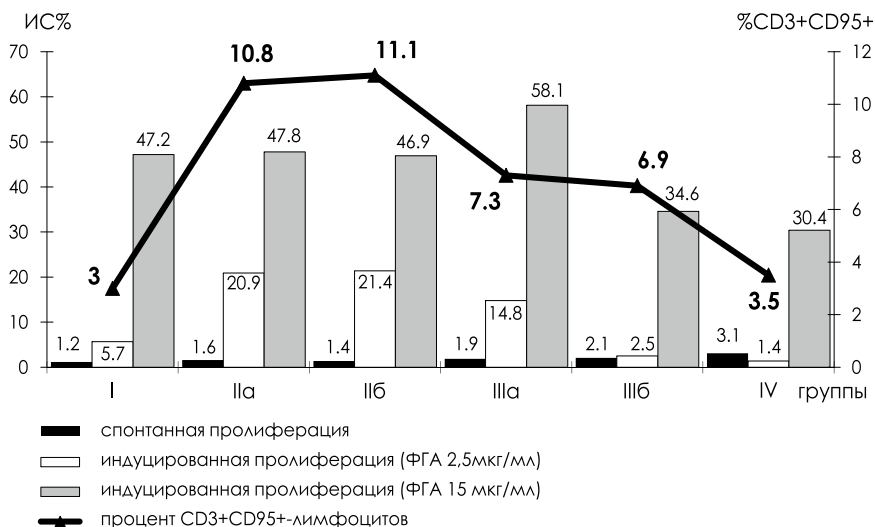


Рисунок. Сравнительная оценка пролиферативного ответа Т-лимфоцитов и содержания аутореактивных Т-клеток (CD3⁺CD95⁺) в периферической крови больных СД-1 и лиц с высоким риском развития сахарного диабета.

чувствительность лимфоцитов периферической крови к Fas-опосредованному апоптозу за счет усиления экспрессии Fas-рецептора на их поверхности, а также индуцирует р53-опосредованный апоптоз клеток-мишеней при участии эффекторной каспазы-3 [4].

Среди субпопуляций Т-лимфоцитов обращает внимание значительное увеличение процента CD8⁺CD95⁺-клеток во всех группах обследуемых пациентов, более выраженное в фазе декомпенсации (группы IIa и IIб). Увеличение количества клеток с фенотипом CD8⁺CD95⁺ при СД-1 является компенсаторным механизмом, направленным на элиминацию аутореактивных цитотоксических Т-лимфоцитов путем Fas-опосредованного апоптоза. Согласно данным литературы, именно эффекторные цитотоксические Т-лимфоциты (CD8⁺CTL) играют доминирующую роль в деструкции β-клеток поджелудочной железы [9, 10].

Полученные нами результаты выявили значимые изменения в пролиферативной и апоптотической активности лимфоцитов в зависимости от фазы компенсации и продолжительности СД-1. Однако остается открытым вопрос о взаимосвязи или конкурентных взаимоотношениях этих процессов в развитии и прогрессировании заболевания.

Для сопоставления процессов апоптоза и пролиферации у больных СД-1 и лиц группы риска была исследована зависимость между количеством CD3⁺CD95⁺-лимфоцитов периферической крови и уровнем спонтанной, а также индуцированной в культуре *in vitro* пролиферации (см. рис.).

В группе контроля была выявлена достоверная обратная корреляционная связь между содержанием CD3⁺CD95⁺-лимфоцитов в крови *in vivo* и уровнем их индуцированной пролиферации в культуре *in vitro* ($r = -0,61$; $p < 0,05$). То есть чем меньше лимфоцитов, готовых к апоптозу, тем интенсивнее происходит пролиферативный ответ на дополнительный стимул. Полученные результаты наглядно иллюстрируют имеющиеся в литературе данные о том, что в нормальных физиологических условиях процессы пролиферации и апоптоза являются альтернативными вариантами путей развития клетки [1, 2].

В обеих группах декомпенсации СД-1 независимо от продолжительности заболевания (IIa и IIб) и в группе риска (IV группа) была отмечена обратная корреляционная связь между количеством CD3⁺CD95⁺-лимфоцитов *in vivo* и интенсивностью спонтанной пролиферации клеток в культуре *in vitro* ($r = -0,69$; $p < 0,05$), ($r = -0,78$; $p < 0,05$).

0,05) и ($r = -0,63$; $p < 0,05$) соответственно. Вероятно, это свидетельствует о включении иммунной системой механизмов, ограничивающих пролиферацию. В случае дополнительной антигенной стимуляции (смоделированной в клеточной культуре на примере стимуляции лимфоцитов ФГА) в группах Па и Пб наблюдалась прямая корреляционная связь между интенсивностью пролиферативных процессов и числом апоптотических Т-клеток ($r = 0,65$; $p < 0,05$) и ($r = 0,71$; $p < 0,05$) соответственно, количество которых возрастало в зависимости от состояния компенсации углеводного обмена. Это означает, что $CD3^+CD95^+$ -лимфоциты, подлежащие элиминации, не подвергались апоптозу, а активно пролиферировали (см. рис.). В клинической практике источниками подобного рода антигенной стимуляции могут являться обострения очагов хронической инфекции, липоидный некробиоз кожи голеней, ишемическая гангрена стопы, развитие трофических язв. Нарушение соотношения между пролиферацией и апоптозом при интенсивных внешних воздействиях на организм больного может привести к срыву регуляторных механизмов и усугублению тяжести состояния пациента в результате накопления активных эффекторных клонов лимфоцитов. Это объясняет высокую частоту случаев декомпенсации у больных СД-1, имеющих тяжелую сопутствующую патологию [3].

Выводы

При СД-1 аутореактивные $CD3^+CD95^+$ -лимфоциты, подлежащие элиминации, не подвергаются апоптозу, а активно пролиферируют. Полученные результаты свидетельствуют о повышенной устойчивости к апоптозу и высоком пролиферативном потенциале аутореактивных Т-клеток при СД-1, что указывает на перспективность изучения апоптоза как механизма, ограничивающего пролиферацию аутореактивных лимфоцитов при аутоиммунном диабете. Это особенно актуально для лиц с высоким риском развития СД-1.

В качестве дополнительного критерия оценки риска развития СД-1 у близких родственников больных диабетом необходимо рассматривать повышение пролиферативного ответа Т-клеток на инсулин в РБТЛ.

Наблюдаемая в нашем исследовании неэффективная элиминация аутоагрессивных клонов Т-лимфоцитов может быть объяснена нарушением функциональной активности регуляторных Т-клеток (Т-reg). Они ответственны за регуляцию численности лимфоцитов в циркуляции и ограничение активности эффекторных Т-клеток, подлежащих удалению [2]. Установлено, что при СД-1 в Т-reg снижена экспрессия гена FoxP3, отвечающего за их функциональную активность [8, 10]. Тем не менее это не объясняет обнаруженный нами высокий пролиферативный потенциал аутореактивных Т-клеток, что оставляет вопрос открытым для дальнейшего изучения.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов и выражают благодарность за сотрудничество коллективу эндокринологического отделения Елизаветинской городской больницы г. Санкт-Петербурга за предоставление базы для обследования пациентов.

Список литературы

1. Зурочка А. В., Давыдова У. В., Альтман Д. А. Интенсивность процессов апоптоза и пролиферации лимфоцитов в условиях дислипидемии при ранних формах хронической ишемии мозга. // Медицинская иммунология. — 2014. — Т. 16. № 1. — С. 27–34.
2. Зурочка А. В., Хайдуков С. В., Кудрявцев И. В., Черешнев В. А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. РИО Уро РАН. — Екатеринбург. — 2018. — 720 с.
3. Abstracts of 52nd EASD Annual Meeting. // Diabetologia. — 2016. — Vol. 59. № 1. — 581 p.
4. Ardestani A., Maedler K. MST1: a promising therapeutic target to restore functional beta cell mass in diabetes. // Diabetologia. — 2016. — Vol. 59. № 9. — P. 1843–1849.
5. Baidwan, S., Chekuri, A., Hynds, D. L., Kowluru A. Glucotoxicity promotes aberrant activation and mislocalization of Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1 [Rac1] and metabolic dysfunction in pancreatic islet β -cells: reversal of such metabolic defects by metformin. // Apoptosis. — 2017. — Vol. 22. № 11. — P. 1380–1393.
6. Giampazolias E., Zunino B., Dhayade S., Bock F. et al. Mitochondrial permeabilization engages NF- κ B-dependent an-

ti-tumour activity under caspase deficiency. // Nature Cell Biology. — 2017. — Vol. 19. № 9. — P. 1116–1129.

7. Hakonen E., Chandral V., Fogarty C. L., Yu N. Y., Ustinov J., Katayama S., Galli E., Danilova T., Lindholm P., Vartiainen A., Einarsdottir E., Krjutškov K., Kere J., Saarma M., Lindah M., Otonkoski T. MANF protects human pancreatic beta cells against stress-induced cell death. // Diabetologia. — 2018. — Vol. 61. № 10. — P. 2202–2214.
8. Mellado-Gil J. M., Jiménez-Moreno C. M., Martín-Montalvo A. et al. PAX4 preserves endoplasmic reticulum integrity preventing beta cell degeneration in a mouse model of type 1 diabetes mellitus. // Diabetologia. — 2016. — Vol. 59. № 4. — P. 755–765.
9. Tan T., Xiang Y., Chang C. et al. Alteration of regulatory T Cells in Type 1 Diabetes Mellitus: a comprehensive review. // Clin Rev. Immunol. — 2014. — Vol. 47. № 2. — P. 234–243.
10. Vives-Pi M., Rodríguez-Fernández S., Pujol-Autonell I. How apoptotic β -cells direct immune response to tolerance or to autoimmune diabetes: a review. // Apoptosis. — 2015. — Vol. 20. № 3. — P. 263–272.
11. Zhang, X., Qiao, Y., Li, W. et al. Human amylin induces $CD4^+Foxp3^+$ regulatory T cells in the protection from autoimmune diabetes. // Immunol. Res. — 2018. — Vol. 66. № 1. — P. 179–186.

Для цитирования. Луговая А. В., Калинина Н. М., Митрейкин В. Ф., Ковальчук Ю. П., Артемова А. В., Белолипецкая Ю. Р., Гаврилова Е. А., Рузанова О. С., Эмануэль В. С., Эмануэль Ю. В., Эмануэль В. А. Апоптоз и пролиферация Т-лимфоцитов периферической крови как альтернативные процессы в патогенезе сахарного диабета первого типа // Медицинский алфавит. Серия «Современная лаборатория». — 2019. — Т. 1. — 4 (379). — С. 16–20.



Маркеры десинхроноза в оценке риска развития метаболического синдрома

О. В. Бобко, врач-невролог отделения неврологии¹

О. В. Тихомирова, д.м.н., зав. отделом клинической неврологии и медицины сна¹

Н. Н. Зыбина, д.б.н., проф., зав. отделом лабораторной диагностики¹

О. А. Клиценко, к.б.н. доцент кафедры педагогики, философии и права медико-биологического факультета²

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

²ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова», г. Санкт-Петербург

Desynchronosis markers in risk assessment of metabolic syndrome development

O. V. Bobko, O. V. Tikhomirova, N. N. Zyбина, O. A. Klitsenko

All-Russian Centre for Emergency and Radiation Medicine n.a. A. M. Nikiforov, North-Western State Medical University n.a. I. I. Mechnikov; Saint Petersburg, Russia

Резюме

Целью исследования стало выявление значимости лабораторных маркеров десинхроноза в определении риска развития метаболического синдрома. Материалы и методы. Обследовали 98 мужчин в возрасте 43–88 лет с диагнозом «дисциркуляторная энцефалопатия» и наличием одного и более факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. В соответствии с международными рекомендациями 2009 года были сформированы две группы: с отсутствием ($n = 37$) и наличием метаболического синдрома (МС) ($n = 61$). В сыворотке крови и моче определяли параметры липидного спектра, обмена глюкозы, медиаторов воспаления, маркеров метаболизма жировой ткани, экскреции метаболита мелатонина — 6-сульфатоксимелатонина (6-SOMT). Результаты. В статье представлены данные об изменениях продукции лептина, адипонектина, PAI-1, тестостерона и экскреции 6-сульфатоксимелатонина у пациентов с метаболическим синдромом. Рассчитаны пороговые значения этих показателей, достоверно увеличивающие риск МС и уравнение логистической регрессии, позволяющее оценить риск развития МС у конкретного пациента. Выводы. Выявленные нарушения суточной динамики синтеза мелатонина у пациентов с МС и наличие связи между продукцией мелатонина и синтезом адипонектина, лептина, PAI-1 и тестостерона позволяют рассматривать эти параметры как маркеры десинхроноза, значимые для развития МС.

Ключевые слова: метаболический синдром, десинхроноз, мелатонин, 6-сульфатоксимелатонин, лептин, адипонектин, PAI-1, тестостерон.

Summary

The objective of the study is to show significance of desynchronosis laboratory markers in risk assessment of metabolic syndrome (MS) development. Materials and Methods. There were examined 98 men, aged 43–88, diagnosed with dyscirculatory encephalopathy showing one and more risk factors for development of cardiovascular diseases. They were divided into 2 groups according to the international guidelines of 2009: with MS ($n = 61$) and without MS ($n = 37$). Parameters of fats, glucose metabolism, inflammatory mediators, fat tissue metabolism markers, melatonin metabolite excretion (6-sulfatoxymelatonin) were defined in blood serum and urine. Results. The article presents data on changes in leptin, adiponectin, PAI-1, testosterone production and 6-sulfatoxymelatonin excretion in patients with MS. There are calculated threshold values of these markers definitely increasing MS risk and logistic regression equation which allows assessing MS risk for an individual patient. Conclusion. Detected disorders of melatonin synthesis diurnal dynamics in patients with MS and interconnection between melatonin production and adiponectin, leptin, PAI-1, testosterone synthesis allow considering these parameters as desynchronosis markers significant for MS development.

Key words: metabolic syndrome, desynchronosis, melatonin, 6-sulfatoxymelatonin, leptin, adiponectin, PAI-1, testosterone.

Прогрессивный рост распространенности ожирения, метаболического синдрома (МС) и диабета за последние 50 лет часто связывают со снижением физической активности и неправильным, избыточным питанием. Однако все больше данных свидетельствуют о значительной роли дефицита сна и десинхроноза в развитии этих состояний. Ведущую роль в синхронизации цикла «сон — бодрствование» с энергетическим обменом отводят мелатонину. Ритм секреции мелатонина эпифизом носит четко выраженный циркадианный характер. Уровень указанного гормона в крови начинает повышаться в вечернее

время, совпадая с уменьшением уровня освещенности, достигает максимума в середине ночи (в 2–3 часа), затем прогрессивно уменьшается к утру. Мелатонин выполняет функцию химического переносчика информации из циркадианного водителя ритма через мелатониновые рецепторы MT1 и MT2. Наличие MT1- и MT2-рецепторов в супрахиазматическом ядре, сосудах, адипоцитах, надпочечниках и поджелудочной железе определяет функции мелатонина в регуляции цикла «сон — бодрствование» и синхронизации наступления сна с изменением метаболических процессов. Жировая ткань играет существенную

роль в регуляции энергетического метаболизма. Адипоциты синтезируют различные адипокины, к числу которых относятся лептин, адипонектин и PAI-1. Лептин синтезируется адипоцитами после приема пищи и является посредником в восприятии чувства сытости. Адипонектин способствует инсулинзависимому поглощению глюкозы мышцами. PAI-1 играет существенную роль в регуляции гемостаза, подавляя активность плазминогена. Соблюдение режима приема пищи в дневное время ассоциировано с низким уровнем лептина и высоким уровнем адипонектина в утренние часы. В ряде исследований

Таблица 1
Характеристика групп с отсутствием и наличием метаболического синдрома

Показатели	Критерии МС	МС нет n = 37		МС есть n = 61		p
		Me	q 25; q 75	Me	q 25; q 75	
Возраст, лет		62	59; 66	64	60; 67	0,200
Окружность талии, см	< 94	92	85; 95	102	96; 110	0,000
ИМТ	< 25	25	23; 27	29,7	27,2; 32,4	0,000
САД, мм рт. ст.	≥ 130	130	120; 140	150	140; 160	0,000
ДАД, мм рт. ст.	≥ 85	80	70; 90	90	80; 90	0,010
ХСЛПВП, ммоль/л	< 1,0	1,3	1,05; 1,43	1,08	0,9; 1,21	0,004
Триглицериды, ммоль/л	> 1,7	0,93	0,71; 1,11	1,49	1,1; 2,0	0,000

Примечание: МС — метаболический синдром, ИМТ — индекс массы тела, САД — систолическое артериальное давление, ДАД — диастолическое артериальное давление, ХСЛПВП — липопротеиды высокой плотности.

выявлено повышение лептина, PAI-1 и снижение адипонектина при метаболическом синдроме [1–3]. В экспериментальных работах на крысах показано, что действие мелатонина на рецепторы надпочечников и поджелудочной железы тормозит синтез кортизола и инсулина соответственно, а длительное применение мелатонина приводит к снижению ИМТ, глюкозы, лептина и повышению адипонектина, что связывают с воздействием мелатонина на рецепторы адипоцитов [4, 5]. Показано, что метаболический синдром и сахарный диабет ассоциированы со снижением ночной секреции мелатонина [6, 7]. В то же время пока нет окончательного единого мнения о полезных и неблагоприятных влияниях адипокинов в развитии МС и роли мелатонина в регуляции их синтеза. Отсутствуют данные, позволяющие использовать лабораторные маркеры десинхроноза в определении риска развития МС.

Материал и методы

Обследовали 98 мужчин в возрасте 43–88 лет, средним возрастом $66,0 \pm 9,1$ года, проходивших лечение в отделении неврологии Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова МЧС России с диагнозом «дисциркуляторная энцефалопатия» и наличием одного и более факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний: гипертоническая болезнь, атеросклероз, сахарный диабет. Критерием исключения был прием бета-блокаторов в связи с известными данными об их влиянии на синтез мелатонина [8].

В соответствии с международными рекомендациями 2009 года [9] были выделены две группы: с отсутствием ($n = 37$) и наличием метаболического синдрома (МС) ($n = 61$).

Лабораторная диагностика включала определение параметров липидного спектра, обмена глюкозы, медиаторов воспаления, маркеров метаболизма жировой ткани, экскреции метаболита мелатонина — 6-сульфатоксимелатонина (6-COMT). Материалом для исследования служили сыворотка и плазма крови пациентов, полученные стандартным способом. Экскрецию 6-COMT оценивали в трех порциях мочи: дневной (08:00–18:00), вечерней (18:00–23:00), ночной (23:00–08:00). Биохимические исследования были выполнены в отделе лабораторной диагностики ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России на биохимическом анализаторе UniCel DxС 600 (Beckman Coulter, США), иммунохимическом анализаторе Immulite 2000 (Siemens, США) с использованием реактивов производителя оборудования. Методом твердофазного иммуноферментного анализа определяли содержание лептина (DBC, Канада), адипонектина (BioVender, Чешская Республика), ингибитора активатора плазминогена первого типа PAI-I (Technoclone, Австрия), 6-COMT (Buhlmann, Швейцария).

Анализ полученных в процессе нашего исследования исходных данных был выполнен с использованием модулей системы Statistica for Windows (версия 10).

В соответствии с задачами анализа был выполнен расчет элементарных статистик (средние значения и сред-

неквадратические отклонения [$M \pm SD$]), размаха разброса данных (минимум — максимум), медианы (Me) и квартилей (q25; q75).

Сравнение изучаемых количественных параметров в группах с отсутствием и наличием метаболического синдрома осуществлялось с использованием непараметрических критериев Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова, медианного χ^2 , так как распределение показателей не соответствовало критериям нормальности.

Для определения пороговых значений показателей, оказывающих принципиальное влияние на риск развития МС, использовался модуль построения классификационных деревьев (classification trees).

Анализ частотных характеристик показателей (в том числе при интервальных оценках по выявленным пороговым значениям) проводился с помощью непараметрических методов χ^2 , χ^2 с поправкой Йетса (для малых групп), критерия Пирсона, критерия Фишера.

Для построения комплексной модели риска развития МС применялся логистический регрессионный анализ (Logistic Regression).

Результаты

Распространенность гипертонической болезни в выделенных группах составила 65 и 95 %, атеросклероза — 62 и 65 %, сахарного диабета — 5 и 32 % соответственно. В табл. 1 представлены данные по показателям, включенным в определение метаболического синдрома. Как видно из таблицы, группы сопоставимы по возрасту и достоверно отличаются по всем параметрам, входящим в определение метаболического синдрома.

Исходя из представлений о значимой роли десинхроноза в развитии метаболического синдрома, оценивали ряд лабораторных показателей, для которых характерны суточные колебания.

Лабораторные показатели, характеризующие десинхроноз и метаболические нарушения, связанные с десинхронозом в группах с МС и без МС, представлены в табл. 2.

Пациенты с МС характеризовались достоверным снижением уровня тестостерона, SHBG, адипонектина, утреннего и вечернего кортизола и досто-

Таблица 2
Лабораторные маркеры десинхроноза в группах с отсутствием и наличием метаболического синдрома

Показатели	МС нет			МС есть			P
	n	Me	q 25; q 75	n	Me	q 25; q 75	
6-COMT, мкг/вечер	36	1,77	0,97; 3,85	61	2,1	1,2; 4,8	0,200
6-COMT, мкг/ночь	36	12,5	6,9; 25,5	61	10,5	4,0; 24,4	0,400
6-COMT, мкг/сутки	36	22,1	12,8; 45,1	61	25,0	12,2; 37,8	0,800
6-COMT, вечер/сутки, %	36	5,8	3,4; 14,6	61	10,6	5,2; 19,4	0,050
6-COMT, ночь/сутки, %	36	61	38; 71	61	46	24; 67	0,070
Лептин, нг/мл (2,0–5,6)	32	6,2	3,8; 10,8	51	12,3	8,3; 18,6	0,000
Адипонектин, мкг/мл (5,6–13,4)	30	11,7	9,3; 16,8	51	9,9	7,5; 13,8	0,020
Лептин/адипонектин	30	0,6	0,32; 0,85	51	1,3	0,8; 1,6	0,000
Тестостерон, нмоль/л (7,0–28,0)	24	17,0	14,8; 20,5	38	11,2	8,9; 15,2	0,000
SHBG, нмоль/л (13,0–71,0)	24	48,8	34,2; 64,6	38	36,7	24,4; 41,9	0,002
hsCRP, мг/л (< 2,5)	35	0,8	0,6; 3	47	2,3	1,3; 4,7	0,020
PAI-1, нг/мл (7–43)	31	41	24; 57	49	49,7	36,5; 85,8	0,030
Кортизол утро, нмоль/л (240–618)	12	348	303; 483	19	285	238; 333	0,020
Кортизол вечер, нмоль/л (50–276)	12	132	87; 179	19	79	66; 111	0,010
Кортизол, вечер/утро, %	12	36	26; 59	19	32	22; 41	0,300

верным увеличением уровня лептина, отношения лептин/адипонектин, PAI-1 и hsCRP. Абсолютные значения концентрации и экскреции 6-COMT в различных порциях мочи в выделенных группах не отличались. В то же время применение расчетных коэффициентов показало отчетливую тенденцию к увеличению вечерней и снижению ночной экскреции 6-COMT.

Из всех анализируемых лабораторных показателей для дальнейшей оценки риска развития МС были включены шесть наиболее значимых лабораторных маркеров: отношение лептин/адипонектин, отношение экскреции 6-COMT в вечерней порции мочи к суточной экскреции в процентах, отношение экскреции 6-COMT в ночной порции мочи к суточной экскреции в процентах, ингибитор активации плазминогена-1 (PAI-1), SHBG и тестостерон. Кортизол не вошел в модель из-за недостаточного количества исследований.

Методом построения классификационных деревьев были выявлены пороговые значения исследуемых показателей, достоверно увеличивающие риск МС. В табл. 3 представлены данные по распространенности МС в группах со значениями исследуемых параметров выше и ниже рассчитанных пороговых значений.

В табл. 4 представлены данные по расчету риска развития МС для каждого из лабораторных маркеров, вошедших в модель.

Таблица 3
Распространенность МС в группах со значениями маркеров десинхроноза выше и ниже рассчитанных пороговых значений

Показатели	Значения показателей	Группы				p
		МС нет		МС есть		
		Абс. число	Процент	Абс. число	Процент	
Лептин/адипонектин	≤ 1	24	61,5	15	38,4	0,000
	> 1	6	14,2	36	85,7	
6-COMT, вечер/сутки, %	≤ 4,6	16	61,5	10	38,5	0,040
	> 4,6	20	28,2	51	71,8	
6-COMT, ночь/сутки, %	≥ 55	24	50,0	24	50,0	0,020
	< 55	13	26,5	36	73,4	
PAI-1, нг/мл	≤ 94,2	31	44,9	38	55,1	0,005
	> 94,2	0	0	11	100	
SHBG, нмоль/л	≥ 42,4	16	64,0	9	36,0	0,001
	< 42,4	8	21,6	29	78,4	
Тестостерон, нмоль/л	≥ 17,25	13	81,2	3	18,7	0,000
	< 17,25	11	23,9	35	76,1	

Значения выделенных показателей, достоверно увеличивающих риск развития МС, для SHBG и тестостерона находились в пределах референтных значений, а для PAI-1 были значительно выше верхней границы нормы. Общепринятых референтных значений для отношений лептин/адипонектин, 6-COMT вечер/сутки, 6-COMT ночь/сутки нет.

В качестве одного из основных признаков десинхроноза может рассматриваться нарушение соотношения утренней и вечерней продукции кортизола. В норме уровень вечернего кортизола не должен превышать 30–35 % от утреннего. Данный показатель не вошел в модель оценки

риска МС, возможно, вследствие недостаточного количества наблюдений. Тем не менее в группе обследованных лиц, у которых доля ночного мелатонина в суточной его продукции была менее 55 % (группа 2), отношение кортизола вечернего к утреннему составило в среднем 49,3 % (SD = 24,8), а в группе при соотношении ночного мелатонина к суточному более 55 % (группа 1) — 31,09 % (SD = 13,6); P = 0,013. При этом в группе с дефицитом продукции ночного мелатонина в 1,5 раза больше было пациентов с МС (P = 0,017), существенно больше была доля вечернего мелатонина в его суточной продукции (P = 0,00008), повы-

Таблица 4
Риск развития метаболического синдрома при рассчитанных пороговых значениях маркеров десинхроноза

Показатели	Значения показателей	Отношение рисков OR [CI]
Лептин/адипонектин	> 1	9,6 [2,9–33,0]
6-COMT вечер/сутки, %	> 4,6	4,1 [1,44–11,73]
6-COMT ночь/сутки, %	< 55	2,7 [1,1–7,1]
PAI-1, нг/мл	> 94,2	18,8 [1,1–332,0]
SHBG, нмоль/л	< 42,4	6,4 [1,8–23,7]
Тестостерон, нмоль/л	< 17,25	13,8 [2,8–75]

шено содержание лептина ($P = 0,044$), увеличено отношение лептин/адипонектин ($P = 0,023$) и снижен уровень продукции тестостерона ($P = 0,05$) (табл. 5).

Для комплексной оценки риска развития МС нами были разработаны две модели, позволяющие с различной точностью получить результат.

Для построения более простой модели на основе формирования суммарного балла риска (СБР) МС были использованы значения показателей, представленные в табл. 3. Суммарный балл риска мы получили простым суммированием шести значений соответствующих показателей. Его значение может находиться в диапазоне 0–6 баллов, то есть фактически это будет количество показателей, находящихся в зоне риска.

Мы получили достоверное ($P < 0,001$) увеличение риска МС в случае, когда таких показателей больше двух (табл. 6).

Мы получили также очень высокий коэффициент ранговой корреляции $R_g = +0,95$, показывающий насколько согласовано увеличение частоты МС при переходах между уровнями.

Полученная таким образом модель не учитывает значимость каждого показателя, так как при имеющемся объеме наблюдений невозможно было корректно определить весовые коэффициенты анализируемых показателей. Но эту модель легко использовать на практике.

Другим вариантом обобщенной оценки по всему комплексу отобранных работающих параметров в вероятностном формате риска развития МС была модель, полученная нами на основе логистического регрессионного анализа. С данным комплексом из шести факторов, оценивающих нахождение показателей в зоне риска, было определено уравнение логистической регрессии. Логистическая регрессионная

модель позволяет получить вероятность явления в зависимости от степени выраженности конкретного набора предикторных признаков (прогноз положительного эффекта дается при $y > 0,5$, отрицательного при $y \leq 0,5$) и степень влияния одного или группы предикторных признаков, в том числе и в процентах, на вероятность наступления прогнозируемого события (развития МС).

Параметры полученной логистической функции Ψ оптимальной модели даны в табл. 7.

Логистическая функция определяется как

$$\Psi = A_1 \times X_1 + A_2 \times X_2 + A_3 \times X_3 + A_4 \times X_4 + A_5 \times X_5 + A_6 \times X_6 + B.$$

Подставив коэффициенты из таблицы, получим Ψ для оценки риска МС:

$$\Psi = 3,17 \times X_1 + 0,611 \times X_2 + 0,47 \times X_3 + 29,12 \times X_4 + 2,20 \times X_5 + 1,43 \times X_6 - 3,64.$$

Каждый из коэффициентов регрессии описывает размер вклада соответствующего фактора. Положительный коэффициент регрессии означает, что данный фактор увеличивает общий риск (то есть повышает вероятность анализируемого исхода), в то время как отрицательный коэффициент означает, что этот фактор уменьшает риск. Величина коэффициентов регрессии определяет влияние на совокупный риск.

В нашем случае все коэффициенты положительные. Чем больше каждый

Таблица 5
Лабораторные маркеры десинхроноза в группах с различным уровнем экскреции ночного мелатонина

Показатели	Группа 1			Группа 2			p
	n	Me	q 25; q 75	n	Me	q 25; q 75	
6-COMT, ночь/сутки, %	48	70,3	62,8; 76,6	49	28,1	21,0; 42,2	0,000
6-COMT, вечер/сутки, %	47	5,6	3,4; 12,5	49	14,2	5,7; 25,2	0,000
6-COMT, ночь/день	48	3,3	2,1; 5,6	47	0,7	0,3; 1,1	0,0012
Лептин, нг/мл	41	10,0	5,3; 12,9	41	9,9	6,4; 18,6	0,044
Адипонектин, мкг/мл	41	11,5	8,9; 14,8	39	10,0	8,2; 14,0	> 0,050
Лептин/адипонектин	41	0,72	0,4; 1,3	39	1,2	0,6; 1,6	0,023
Тестостерон, нмоль/л	29	15,2	10,9; 18,3	33	11,5	8,3; 16,5	0,050
Кортизол, вечер/утро, %	19	32,2	19,8; 36,9	12	41,6	30,9; 70,6	0,012

Примечание: группа 1–6-COMT ночь/сутки > 55%; группа 2–6-COMT ночь/сутки < 55%.

Таблица 6
Частота МС при различных уровнях суммарного балла риска

Показатели в зоне риска	МС нет		МС есть		Всего	OR
	Абс. число	Процент	Абс. число	Процент		
Меньше 3	18	81,82	4	18,18	22	Минимальный риск
3 и более	4	10,81	33	89,19	37	37,13

Таблица 7

Комплекс модельных характеристик для оценки риска МС
посредством логистической регрессии

Параметры модели	Обозначение переменных	Величина коэффициентов	Ранг прогностической значимости
Лептин/адипонектин	X1	3,17	2
Мелатонин, вечер/сутки	X2	0,611	5
Мелатонин, ночь/сутки	X3	0,47	6
PAI	X4	29,12	1
SHBG	X5	2,20	3
Тестостерон	X6	1,43	4
Свободный член		-3,64	

из них, тем выше риск МС. Ранги (прогностическая значимость) в расчете рисков не принимают участия. Они показывают, в каком порядке каждый параметр стоит по значимости риска. Прогностическая значимость — это побочный результат построения модели. Имеет смысл отметить следующий интересный факт.

Полученная модель имеет свойства: $\chi^2 = 37,82$; $p < 0,0001$; $RR = 51,0$; чувствительность 91,9%; специфичность 81,8%.

Основываясь на сути уравнения логистической регрессии, можно сказать, что комплексная оценка риска МС для конкретного пациента зависит от значений всех входящих в данное уравнение показателей, то есть неблагоприятные уровни одних параметров могут быть компенсированы ресурсом других.

Чтобы воспользоваться моделью и точно оценить риск, необходимо по реальным данным рассчитать Ψ (ось абсцисс), а затем по логистической кривой $y = \exp(\psi) / (1 + \exp(\psi))$, определить вероятность шанса успешного лечения (ось ординат).

Так как логистическая кривая стандартна, то можно использовать ключевые значения Ψ для оценки шанса:

- $\Psi < -2,94$ — риск менее 5%;
- $\Psi < 0$ — риск менее 50%;
- $\Psi > 0$ — риск более 50%;
- $\Psi > 2,94$ — риск более 95%.

Полученные разными способами модели не только взаимно подтверждают значимость использованных в них показателей, но и позволяют оценить риск развития МС.

Обсуждение результатов

В соответствии с современными представлениями о жировой ткани, особенно висцеральной, как метаболически активном органе [12], подверженном регуляции мелатонином через гены циркадной системы, можно предполагать и циркадный ритм секреции цитокинов и адипокинов, секретиремых жировой тканью в кровоток. К числу таких активных веществ относятся лептин, адипонектин и PAI-1, данные об уровне которых закономерно вошли в модель прогноза МС.

Наибольший риск развития МС, по нашим данным, был связан с по-

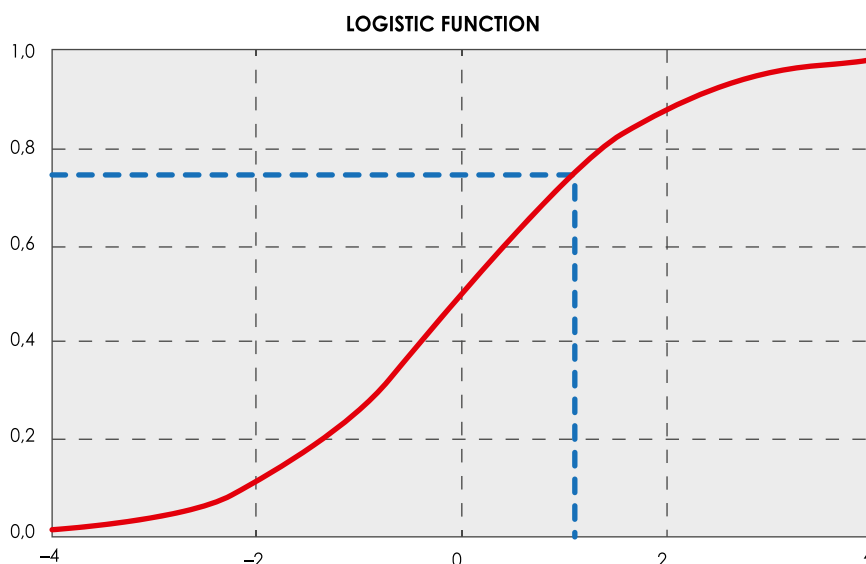


Рисунок 1. Логистическая кривая.

вышением синтеза ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1), активность которого имеет циркадный ритм с максимумом в утренние часы и цирканнуальный с максимумом в зимние месяцы. Рассчитанное нами значение PAI-1, достоверно увеличивающее риск МС, было значительно выше нормативного значения. По-видимому, это связано с тем, что PAI-1 синтезируется не только адипоцитами, но и клетками эндотелия сосудов и является одним из наиболее быстро реагирующих белков острой фазы, поддерживающих процесс хронического неспецифического воспаления. Его повышение выше референтного уровня характеризует любое неспецифическое воспаление. Превышение уровня PAI-1 выше 94,2 нг/мл можно рассматривать в качестве маркера дисфункции адипоцитов и развития метаболического синдрома. Возрастание PAI-1 имеет существенное значение с точки зрения последствий МС для сердечно-сосудистой системы,

так как формирует основу развития гиперкоагуляционного синдрома через систему фибринолиза [13, 14, 15].

Основой патогенеза метаболического синдрома, по мнению многих исследователей, является инсулинорезистентность, в развитии которой существенную роль играет снижение продукции мелатонина [16]. Являясь мощным хронобиотиком, мелатонин регулирует активность инсулиновых рецепторов в зависимости от приема пищи в течение дня. В регуляции уровня глюкозы и триглицеридов также участвуют гены циркадной системы Clock/Bmal [17], посредством повышения экспрессии которых мелатонин регулирует не только метаболизм глюкозы, а также активность клеток жировой ткани, влияет на синтез PAI-1 и других адипокинов. В связи с этим снижение соотношения адипонектин/лептин сегодня рассматривается как маркер дисфункции жировой ткани, который более точно характеризует инсулинорезистент-

ность, чем индекс НОМА, и предлагается некоторыми исследователями в качестве прогностического маркера МС. Данное положение находит подтверждение в нашей модели, в которой отношение лептин/адипонектин стало вторым по значимости показателем для прогноза МС. Увеличение отношения лептин/адипонектин (соответственно снижение отношения адипонектин/лептин) у пациентов с МС происходит в основном за счет повышения уровня лептина, возможно, вследствие развития лептинорезистентности, механизм развития которой до конца не выяснен.

Синтез лептина в клетках жировой ткани регулируется гормонами, в том числе половыми, с чем связывают существенные различия референтного интервала для лептина в зависимости от пола. Данный факт объясняет наличие в нашей модели тестостерона и SHBG (глобулина, связывающего половые гормоны). Наличие мелатониновых рецепторов на поверхности клеток Лейдига и Сертоли, ответственных за синтез и секрецию тестостерона, свидетельствует о циркадном ритме синтеза тестостерона, график суточного колебания которого находится в противофазе относительно мелатонина с максимумом в утренние часы. Значимыми для развития МС оказались значения тестостерона, находящиеся в пределах референтного диапазона. Снижение тестостерона ниже референтного отражает в первую очередь гипогонадизм, в то время как рассчитанное нами значение тестостерона менее 17,25 нмоль/л может быть использовано как маркер риска развития МС.

Оценка десинхроноза по продукции мелатонина не нашла широкого применения в практике из-за большого разброса в индивидуальных значениях мелатонина и отсутствия разработанных утвержденных референтных значений [18]. В нашем исследовании абсолютные значения экскреции 6-COMT также оказались неинформативными для прогноза развития МС. В то же время относительные коэффициенты, отражающие суточную динамику синтеза мелатонина, показали свою прогностическую значимость. Впер-

вые нами установлено, что значимым является не только снижение ночной порции синтеза мелатонина, но и увеличение вечерней доли, что является добавочной характеристикой десинхроноза. Представленные пороговые значения для вечерней (более 4,6%) и ночной (менее 55%) доли 6-COMT могут использоваться как лабораторные маркеры десинхроноза, ассоциированные с риском развития МС.

Наше исследование дополнило существующие представления о значимой роли мелатонина, адипокинов и тестостерона в развитии метаболического синдрома. Нарушение суточной динамики синтеза мелатонина у пациентов с МС и наличие связи между продукцией мелатонина и синтезом адипонектина, лептина, PAI-1 и тестостерона позволяет рассматривать эти параметры как маркеры десинхроноза, значимые для развития МС.

Выводы

1. Показатели лептин/адипонектин, PAI-1, тестостерон, SHBG, 6-COMT вечер/сутки, 6-COMT ночь/сутки могут использоваться как лабораторные маркеры десинхроноза, значимые для развития МС. Сочетание трех и более показателей, превышающих пороговые значения, значительно увеличивает риск развития МС.
2. Десинхроноз, проявляющийся снижением ночной (менее 55%) и увеличением вечерней (более 4,6%) порции экскреции 6-COMT, сопровождается нарушением функции адипоцитов и повышает риск развития МС.
3. Соотношение лептин/адипонектин более 1 отражает дисфункцию адипоцитов с высоким риском развития МС.

Список литературы

1. Schrover I.M., van der Graaf Y., Spiering W., Visseren F.L., SMART study group. The relation between body fat distribution, plasma concentrations of adipokines and the metabolic syndrome in patients with clinically manifest vascular disease // *Eur. J. Prev. Cardiol.*—2018.—V. 25 (14).—P. 1548–1557. doi: 10.1177/2047487318790722.
2. Ahirwar A.K., Singh A., Jain A., Kaim K., Bhardwaj S., Patra S.K., Goswami B., Bhatnagar M.K., Bhattacharjee J. Association of prothrombotic

adipokine (plasminogen activator inhibitor-1) with TSH in metabolic syndrome: a case control study // *Horm. Mol. Biol. Clin. Investig.*—2017.—V. 34 (1). doi: 10.1515/hmbci-2017-0046.

3. Ahirwar A.K., Jain A., Goswami B., Bhatnagar M.K., Bhattacharjee J. Imbalance between protective (adiponectin) and prothrombotic (Plasminogen Activator Inhibitor-1) adipokines in metabolic syndrome // *Diabetes Metab. Syndr.*—2014.—8 (3).—P. 152–155. doi: 10.1016/j.dsx.2014.04.035.
4. Rasmussen D.D., Boldt B.M., Wilkinson C.W., Yellon S.M., Matsumoto A.M. Daily melatonin administration at middle age suppresses male rat visceral fat, plasma leptin, and plasma insulin to youthful levels // *Endocrinology*—1999.—V. 140, № 2.—P. 1009–1012.
5. Agil A., Rosado I., Ruiz R., Figueroa A., Zen N., Fernández-Vázquez G. Melatonin improves glucose homeostasis in young Zucker diabetic fatty rats // *J. Pineal Res.*—2012.—V. 52, № 2.—P. 203–210. doi: 10.1111/j.1600-079X.2011.00928.x.
6. Мелатонин: перспективы применения в клинике / Под ред. проф. С.И. Рапопорта.—М.: ИМА-ПИЕСС, 2012.—176 с.
7. McMullan C.J., Hu F.B., Forman J.P. Melatonin secretion and the incidence of type 2 diabetes. // *JAMA*.—2013.—309 (13).—P. 1388–1396. doi: 10.1001/jama.2013.2710.
8. Cowen P. J., Bevan J. S., Gosden B., Elliott S. A. Treatment with beta-adrenoceptor blockers reduces plasma melatonin concentration // *Br. J. Clin. Pharmacol.*—1985.—Vol. 19, № 2.—P. 258–260.
9. Alberti K.G., Eckel R.H., Grundy S.M. et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the study of Obesity // *Circulation*.—2009.—V. 120.—P. 1640–1645.
10. Боровиков В. П. Популярное введение в современный анализ данных в системе STATISTICA. Технология и методология современного анализа данных / Москва, «Горячая линия-Телеком».—2013.—288 с.
11. Реброва О. В. Статистический анализ медицинских данных с помощью пакета программ «Статистика» / Москва, Медиа Сфера.—2002.—380 с.
12. Свешкина Т. С., Таланцева М. С., Барсуков А. В. Метаболический синдром и воспаление: актуальные вопросы патогенеза // *Клин. лаб. диагностика*.—2013.—№ 3.—С. 7–10.
13. Морозов Ю. А. Система фибринолиза: структура и активация // *Справочник заведующего КДЛ*.—2013.—№ 1.—С. 13–21.
14. De Ferranti S., Mozaffarian D. The perfect storm: obesity, adipocyte dysfunction, and metabolic consequences // *Clin. Chem.*—2008.—54 (6).—P. 945–955.
15. Сумеркина В. А., Головнева Е. С., Телешева Л. Ф. Маркеры дисфункции эндотелия и цитокиновый профиль у пациентов с метаболическим синдромом и абдоминальным ожирением // *Клин. лаб. диагностика*.—2016.—№ 7.—С. 408–412.
16. Cipolla-Neto J., Amaral F. G., Afeche S. C., Tan D. X., Reiter R. G. Melatonin, energy metabolism and obesity: a review // *J Pineal Res.*—2014.—V. 56(4).—P. 371–81. doi: 10.1111/jpi.12137.
17. Джериева И. С., Волкова Н. И. Роль циркадной системы в развитии метаболических нарушений // *Фарматека (кардиология/неврология)*.—2011.—№ 8.
18. Bergiannaki J. D., Soldatos C. R., Paparrigopoulos T. J. et al. Low and high melatonin excretors among healthy individuals // *J Pineal Res.*—1995.—V. 18 (3).—P. 159–164.



B. V. Velkov

Сепсис и острое повреждение почек — дорога с двухсторонним движением: значения биомаркеров

Часть I

В. В. Вельков, к.б.н., директор по науке
АО «ДИАКОН», г. Пушкино, Московская область

Sepsis and acute kidney injury as two-way street: values of biomarkers

V. V. Velkov

DIAKON Co., Pushchino, Moscow Region, Russia

Резюме

Краткий обзор, посвященный септическому острому повреждению почек (С-ОПП), синдрому, одновременно соответствующему критериям сепсиса и ОПП. Согласно статистике, у 30–50% критических пациентов диагностируется или сепсис, или ОПП, при этом сепсис стимулирует развитие ОПП, а развитие ОПП — сепсис. Морбидность и летальность при С-ОПП выше, чем при сепсисе и ОПП по отдельности. Основные патофизиологические механизмы: а) развития ОПП при сепсисе: поступающая в почки («токсичная септическая») кровь содержит большое количество провоспалительных факторов, что повреждает канальцы и приводит к тубулярной дисфункции; б) развития сепсиса при ОПП: ОПП повреждает дистальные органы, а уремия — функции иммунной системы, что провоцирует развитие сепсиса. Для ранней диагностики и мониторинга С-ОПП должны проводиться параллельное измерение и мониторинг маркеров сепсиса и ренальной дисфункции. Однако, как показывают многочисленные данные, наличие ОПП приводит к неинфекционному повышению маркеров сепсиса, а наличие сепсиса повышает маркеры ОПП независимо от ренальной дисфункции. В целом при сепсисе ОПП и С-ОПП ренальные маркеры одновременно отражают как тяжесть ренальной дисфункции, так и тяжесть воспаления, а маркеры сепсиса — как тяжесть сепсиса, так и тяжесть ренальной дисфункции. Для определения пограничных уровней септических маркеров, применяемых для диагностики С-ОПП, необходимы рекомендации по повышению их значений в зависимости от степени тяжести ренальной дисфункции у критических пациентов.

Ключевые слова: сепсис, острое повреждение почек, септическое острое повреждение почек, биомаркеры.

Summary

The brief review, dedicated to Septic Acute Injury (S-AKI) — the syndrome simultaneously corresponding to criteria of sepsis and acute kidney injury. Sepsis or AKI are diagnosed 30–50% of critical patients. Sepsis is promoting the developing of AKI and AKI is promoting the development of sepsis. Morbidity and lethality in S-AKI is higher than that is sepsis and in AKI separately. The main mechanisms of the development of: a) AKI in sepsis — the toxic septic blood containing huge amounts of proinflammatory factors damage the renal tubules resulting tubular dysfunction; b) sepsis in AKI — uremia is damaging distal organs and functions of immune systems which provoke sepsis development. For early diagnostics of S-AKI in patients admitting in critical care units the simultaneous measurements and monitoring of sepsis and kidney biomarkers are to be made. The problems of such measurements is that AKI decreases the clearance of septic markers and their levels are increasing in noninfectious conditions. From the other hand in septic conditions inflammation can increase the levels of renal markers independently of renal pathologies. In general in sepsis, AKI and in S-AKI the increased levels of sepsis markers reflect simultaneously severity of infectious inflammation and of renal dysfunction, and kidney markers reflect simultaneously severity of renal dysfunction and of infectious inflammation. The correction of cut-off values of septic markers used for S-AKI diagnostics must be based on the degree of severity of renal dysfunction in critical patients.

Key words: sepsis, acute kidney injury, septic acute kidney injury, biomarkers.

Статистика тяжелого сепсиса удручает: в США — 300 случаев в год на 100 тысяч человек [1], в Швеции — 430 [2]. Сепсис весьма часто развивается у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ): во Франции — у 14,6%, в Англии — у 27,1%, в странах Европы — у 30,0% [3]. Острое повреждение почек (ОПП) развивается у более 50% пациентов ОРИТ [4, 5]. Еще более удручает, что у пациентов с сепсисом часто развивается ОПП, а у пациентов с ОПП — сепсис. Сепсис стимулирует развитие ОПП, а ОПП стимулирует развитие сепсиса. Результат принято называть септическим ОПП (С-ОПП или S-AKI — septic acute

kidney injury). С-ОПП — это синдром, одновременно соответствующий диагностическим критериям сепсиса [6] и критериям ОПП [7, 8].

Эпидемиология: от сепсиса к ОПП

Согласно текущим данным, у 30–50% септических пациентов развивается ОПП. В ранних исследованиях, включавших наблюдение 192980 пациентов с тяжелым сепсисом, было показано, что ОПП развилось у 22% пациентов, что приводило к 38,2% летальности [1]. В дальнейшем обнаружилось, что среди 3147 пациентов, поступивших в ОРИТ, 37% имели сепсис, у 51% из них было также и ОПП; внутрибольничная смертность

при С-ОПП составляла 41% [9]. В специальном исследовании среди 2901 пациента ОРИТ было выявлено, что 32% имели сепсис, и у 53% из них было ОПП [10]. В недавнем исследовании показано, что среди 582 септических пациентов ОПП развилось у 54,12% [11]. При этом у септических пациентов тяжесть развившегося ОПП гораздо выше, чем тяжесть ОПП у пациентов без сепсиса, и выше, чем у пациентов с нетяжелой пневмонией [12].

Эпидемиология: от ОПП к сепсису

Согласно ранним исследованиям сепсис развивается почти у 50% пациентов с ОПП. При анализе регистров

1753 пациентов с ОПП, наблюдавшихся в 54 госпиталях в 23 странах, установлено, что сепсис развился у 47,5%. Внутригоспитальная смертность при С-ОПП — 70,2% против 51,8% при несептическом ОПП [13]. Весьма показательными оказались результаты многоцентрового проспективного исследования, в котором наблюдались 611 пациентов ОРИТ. Из них 32% сепсиса не имели, 28% имели сепсис до ОПП, у 40% диагноз сепсиса был поставлен через 5 дней после развития ОПП. Смертность при С-ОПП составляла 48% против 21% при несептическом ОПП [14].

Из-за высокой вероятности возникновения С-ОПП у критических пациентов и высокого риска неблагоприятных исходов изучение его патофизиологии и разработка методов его диагностики и терапии приобрели самую высокую актуальность [15–20].

Патофизиология: от сепсиса к ОПП

Как сепсис ведет к ОПП? Ренальная ишемия или ренальное воспаление? Согласно ранним представлениям, основной механизм развития С-ОПП — ишемический: при сепсисе системная гипотензия ведет к ренальной ишемии, она ведет к повреждениям ренальных клеток, острому тубулярному некрозу и в итоге к гипоперфузии [21, 22]. Однако возрастающее количество данных свидетельствует: развитие С-ОПП может происходить и при отсутствии гипоперфузии, при нормальной или повышенной скорости кровотока [23].

Текущая точка зрения — основной механизм развития С-ОПП — поступление с кровотоком в почки септических медиаторов воспаления, провоцирующих развитие воспаления, что ведет к нарушению микроциркуляции в ренальной паренхиме, инфильтрации иммунных клеток и в итоге к повреждению канальцев [24, 25].

Иммунные медиаторы, синтезируемые при сепсисе, преимущественно повреждают канальцы. При сепсисе инфицирующие бактерии и грибки высвобождают в кровоток большое количество экзогенных т. н. патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (pathogen-associated molecular patterns, PAMP), которые

активируют систему врожденного иммунитета. Одновременно в циркуляцию выходит большое количество т. н. молекулярных паттернов, ассоциированных с поврежденными тканями (danger associated molecular patterns — DAMP), сигнализирующих о наличии тканевого повреждения. Эти эндогенные молекулярные паттерны взаимодействуют со специфическими рецепторами иммунных клеток и активируют неспецифический иммунитет. Более того, и PAMPs, и DAMPs активируют не только иммунные клетки, но и клетки других типов, в частности, клетки ренального эндотелия, а также клетки клубочков и канальцев. Повышенная экспрессия молекул адгезии, продуцируемых при сепсисе и попадающих в кровь, способствует связыванию нейтрофилов и тромбоцитов с поверхностью ренального эндотелия, что вызывает выход из них факторов коагуляции и медиаторов воспаления [15–20, 23].

В целом иммунный ответ при сепсисе разрушает бактерии и грибки и ограничивает их распространение по организму. Но заодно циркулирующие иммунные медиаторы повреждают и собственные клетки организма, расположенные вдали от места инфекции. В частности и в особенности, такому повреждающему воздействию медиаторов воспаления подвергается паренхима почек [15, 16, 19, 23, 25, 26]. При этом, как отмечалось, происходит активация эндотелия канальцев за счет действия PAMP и DAMP, поступающих с клубочковым фильтратом. В ответ на это в канальцах активируется синтез протективных белков, таких как NGAL и гепсидин, которые обеспечивают поддержание баланса железа и непрямым образом регулируют образование активных форм кислорода [27–29].

Несмотря на то что эти механизмы исходно являются защитными, их длительная активация усиливает системный воспалительный ответ и приводит к постоянно идущему повреждающему воздействию на почки [30]. Более того, цитокины, хемокины, фрагменты системы комплемента также оказывают токсичное действие на канальцы, так как концентрируясь в ультрафильтрате, они повреждают их эндотелий [31].

Патофизиология: от ОПП к сепсису

ОПП нарушает функции дистальных органов; уремия ведет к дисфункции иммунной системы. Опыты на лабораторных животных показали, что ОПП может влиять на функции различных органов за счет нарушений их транскриптома и протеома (паттернов синтеза РНК и белков), стимулирования оксидативного стресса и воспаления, активации лейкоцитов, утраты васкулярных функций апоптоза и др. Более того, часто происходящие при ОПП повреждения желудочно-кишечного барьера повышают риск бактериальной транслокации и бактериемии [32, 33]. Еще один механизм провоцирующего влияния ОПП на развитие сепсиса — уремия, которая приводит к дисфункции иммунной системы, связанной с нарушениями транспорта лейкоцитов, проницаемости сосудов и регуляции цитокинов [34]. Иммунный паралич также может быть связан с ОПП, особенно сильно при терминальных стадиях ренальных заболеваний (ТСРЗ), что повышает риск развития сепсиса и пневмонии [35].

Восстановление ренальной функции при С-ОПП повышает выживаемость при септическом шоке. В ретроспективном исследовании, в котором анализировались данные наблюдения 5443 пациентов с септическим шоком, поступивших в 28 различных ОРИТ в Канаде, США и Саудовской Аравии, было показано, что при улучшении ренальных функций в течение первых 24 часов, выживаемость таких пациентов повышалась. Обратимое ОПП имело место у 13,0% пациентов, персистирующее — у 54,9%, развивающееся — у 11,7%, 22,4% пациентов ОПП не имели. Внутригоспитальная смертность составляла при обратимом ОПП — 21,2%, при персистирующем — 53,3% и при развившемся — 33,9%. Существенно, что такое повышение выживаемости было связано с более быстрым диагнозом и более своевременным назначением антибиотиков [36].

Что ж, быстрая постановка диагноза — залог успешного лечения. Однако при развитии ОПП «большинство диагностических инструментов оста-

ются несовершенными, диагноз ОПП на основе повышения сывороточного креатинина и олигоурии часто делается после того, как „золотое“ окно терапии или превентивного вмешательства уже пройдено» [37].

Обычно молчаливо полагается, что точность ренальных маркеров при сепсисе такая же, как и без сепсиса, а точность маркеров сепсиса при ОПП такая же, как при отсутствии ОПП.

Влияет ли сепсис на диагностические характеристики ренальных маркеров?

Насколько точен креатинин. У креатинина, как маркера гломерулярной дисфункции, есть ряд недостатков [38], которые при ОПП, сепсисе и С-ОПП только усугубляются. Из-за большого функционального резерва почек концентрация креатинина может не изменяться до тех пор, когда большая часть почек уже не функционирует; показано, что сывороточный креатинин не изменяется, пока не утрачено около 50% функции почек [39]. Чаще всего диагностика ОПП по креатинину происходит через 24–48 часов после первоначального повреждения. И что весьма существенно, уровни креатинина не отражают тубулярную дисфункцию [38]. «Измерение сывороточного креатинина для выработки надежного терапевтического вмешательства при ОПП бесполезно и аналогично ожиданию двух-трех дней перед началом терапии пациентов с ишемическим инсультом, инфарктом миокарда и острым неврологическим инсультом» [40].

Креатинин у септических пациентов. Ранее выявление ОПП у септических пациентов является актуальным не только для быстрого начала лечения, но и потому, что проводимые при сепсисе терапевтические мероприятия часто являются нефротоксичными. Применение ванкомицина, аминогликозидов или вазопрессоров при неадекватном восстановлении жидкости может утяжелять ренальное повреждение. Существенно, что из-за снижения при сепсисе мышечной массы значительно снижается диагностическая

точность креатинина. Гемодилюция, возникающая у гипотензивных пациентов после массивной жидкостной реанимации, «может маскировать повышение креатинина и тем самым задерживать постановку диагноза ОПП до следующего дня» [41, 42].

NGAL в диагностике ОПП: чувствительность и специфичность при сепсисе

NGAL — *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов (также известный как липокалин 2, онкоген 24p3, утерокалин, сидерокалин) — это гликопротеин, который впервые был выделен из супернатанта активированных нейтрофилов человека. Он конститутивно синтезируется в разных органах и выходит в циркуляцию. Согласно ранним представлениям при ОПП «нейтрофильный» NGAL стимулирует дифференцировку и структурную реорганизацию поврежденных ренальных эпителиальных клеток, начинает синтезироваться в канальцах и секретируется в мочу. В моче он связывает железо, необходимое для роста бактерий, что оказывает бактериостатическое действие при инфекциях мочевого тракта [43, 44].

NGAL — три изоформы. При развитии ОПП в почках синтезируется *uNGAL* (*u* — urinary, мочевого) в виде мономеров с молекулярной массой 25 кДа, который секретируется в мочу. При воспалениях и при ОПП в нейтрофилах синтезируются димерные формы, состоящие из двух мономеров: гомодимера (45 кДа) и гетеродимера — мономера, ковалентно связанного с желатиназой (matrix metalloproteinase MMP-9). При развитии ОПП уровни *sNGAL* (сывороточного) возрастают с тяжестью патологии. При этом:

- повышается синтез *sNGAL* в печени, легких, нейтрофилах, макрофагах и в других клетках иммунной системы;
- *sNGAL* поступает в почки и реабсорбируется в проксимальных канальцах; его функция при ОПП — ограничение и (или) уменьшение тяжести повреждений в проксимальных канальцах;

- в дистальных частях нефрона в течение нескольких часов после их повреждения происходит локальный массовый синтез *NGAL de novo*; функции *uNGAL*, синтезированного при ОПП в почках: а) антиинфекционное бактериостатическое действие на дистальный урогенитальный тракт, б) стимулирование выживания и пролиферации клеток в дистальном сегменте канальцев, обычно подвергающегося апоптозу при ишемическом ОПП [43, 44].

В настоящее время *sNGAL* и *uNGAL* применяются как ранние маркеры развития ОПП при разных типах ренальных повреждений. При повреждении канальцев происходит повышение уровня *sNGAL* в 7–16 раз, а *uNGAL* — в 25–1 000 раз [43]. В целом *NGAL* — это эффективный ранний маркер и предиктор: хронических заболеваний почек; диабетической нефропатии; волчаночного нефрита; ОПП различной этиологии; дисфункции почек у пациентов ОРИТ, дисфункции трансплантированной почки; ишемических ренальных повреждений при хирургии с АИК; нефротоксичности фармпрепаратов; нефропатии, связанной с нефротоксичными рентгеноконтрастными препаратами; инфекций мочевого тракта [44, 45].

Но насколько *NGAL* пригоден для диагностики ОПП при сепсисе?

NGAL — это маркер воспаления. Еще в ранних исследованиях было обнаружено, что *NGAL* не столько ренальный маркер, сколько маркер воспаления, основная его роль — стимуляция врожденного иммунитета [46]. С помощью лабораторных животных и культур клеток было показано, что после воздействия на них препаратами ЛПС (липолисахарида) уровни *NGAL* повышались, что указывало на возможное участие *NGAL* в инфекционных процессах [47, 48]. Действительно, трансгенные мыши, дефицитные по *NGAL*, имели очень высокую восприимчивость к инфекциям. При индукции экспериментального сепсиса у мышей, не имевших ренальных нарушений, показана сильная корреляция между повышением *pNGAL* (плазменный), интерлейкинами ИЛ-6,

ИЛ-10 и фактором некроза опухолей альфа (ФНО-альфа) [49]. В норме sNGAL синтезируется в костном мозге при миелопоэзе, а затем направляется в нейтрофильные гранулы, где и хранится до момента индукции и секреции. mPNC, кодирующая NGAL, экспрессируется в таких тканях, как толстая кишка, трахеи, легкие, эпителий почек. Уровни sNGAL повышаются при остром перитоните, обострениях обструктивных пульмонарных заболеваний и тяжелых бактериальных и грибковых инфекциях [50]. Синтез pNGAL индуцируется различными провоспалительными цитокинами, а также активацией сигнального пути NF-κB, центральным компонентом которого является фактор транскрипции NF-κB. Этот сигнальный путь активируется не только в ответ на такие стимулы, как ФНО-альфа, ИЛ-1, но также и паттернами, характерными для патогенов (PAMP). Сигнальный путь NF-κB контролирует большую группу генов, отвечающих за процессы воспаления, пролиферацию клеток и апоптоз. Сейчас считается, что одна из основных функций нейтрофильного sNGAL — амплификация т.н. провоспалительной петли (proinflammatory amplification loop) [50]. Системные воспаления, а также и другие патологии приводят к тому, что sNGAL начинает секретироваться как гематопоэтическими, так и негематопоэтическими клетками. При сильных воспалительных процессах повышение sNGAL связано с повышением С-реактивного белка (СРБ) и может происходить как при инфекционном, так и «стерильном» воспалении, а также у пациентов с нормальной ренальной функцией [51]. Как уже говорилось, uNGAL — бактериостатик, при развитии ОПП он начинает синтезироваться в почках. Выходя из них в мочу, он связывает бактериальные железосодержащие белки сидерофоры, тем самым снижая концентрацию доступного железа, необходимого бактериям, что, однако, не только подавляет инфекции мочевыводящего тракта, но также индуцирует активацию иммунного ответа на инфекцию [52]. Исследования *in vitro* показали, что в условиях стресса ренальные эпителиальные клетки преимущественно секретируют мономерную форму,

неспособную образовывать димеры. Активированные нейтрофилы секретируют преимущественно гомодимерный и гетеродимерный NGAL и в меньшей степени мономерный. В циркуляции NGAL находится в виде трех изоформ, соотношения концентраций которых зависят от различных патологий [53].

Ренальный NGAL. Образование uNGAL в почках индуцируется при стрессе из-за нарушения реабсорбции первичной мочи, которое происходит в проксимальных канальцах из-за снижения образования в почках т.н. рецепторов мегалина и кубулина (megalin-cubulin receptor), которые играют важную роль в механизмах реабсорбции. При этом в стрессированных канальцах резко повышается синтез мономера uNGAL, а также секреция «нейтрофильного» NGAL из макрофагов, инфильтровавшихся в почки.

Коммерческие тесты для определения NGAL измеряют смесь его различных форм, синтезируемых в различных тканях и находящихся как в крови, так и в моче [53]. Так что же в реальности показывают тесты на NGAL?

pNGAL при сепсисе без ОПП. В недавнем исследовании 123 пациентов с тяжелым сепсисом или септическим шоком (о наличии ОПП не сообщалось) показано, что повышенный pNGAL оказался связанным с повышением риска смертности, отношение рисков (ОР) — 2,128, и с развитием полиорганной недостаточности (ПОН), ОР — 1,896. Пациенты с высоким pNGAL более 275 мкг/л имели повышенный в 2,13 раза риск 12-месячной смерти, и в 1,90 раза риск 12-дневного развития ПОН. После необходимых поправок сделан вывод, что высокий pNGAL является независимым предиктором смертности и развития ПОН у пациентов с сепсисом и септическим шоком» [54].

В другом исследовании наблюдалось 186 пациентов ОРИТ без ОПП, 89 — с септическим шоком, 69 — с сепсисом, у 28 была неосложненная инфекция. Измеряли sNGAL, провоспалительные цитокины (ИЛ-6, ИЛ-10) и растворимые эндотелиальные молекулы адгезии VCAM-1 и ICAM-1. Показано, что высокие уровни sNGAL связаны с септическим шоком, кор-

релируют с ИЛ-6, ИЛ-10, VCAM-1 и ICAM-1, а также с ПОН, но имеют слабые предиктивные характеристики по отношению к смертности. При этом уровни sNGAL (медиана, нг/мл) составляли: контроль — 49, инфекция — 173, сепсис — 289 и септический шок — 552 [55].

Еще в одном исследовании при наблюдении 15 пациентов с тяжелым сепсисом (о наличии ОПП не сообщалось) также была обнаружена корреляция между уровнями pNGAL и маркерами воспаления. Наблюдалась сильная связь с прокальцитонином (ПКТ), ИЛ-6, ИЛ-8, умеренная — с ИЛ-6, ФНО-альфа и СРБ; также была установлена корреляция между sNGAL и ренальными функциями, определяемыми по креатинину плазмы и значениям СКФ. Авторы подчеркивают, что «повышенные уровни pNGAL связаны не только с ОПП, но и отражают иммунный ответ, связанный с воспалением, и поэтому повышение pNGAL не может считаться связанным исключительно с ОПП» [56].

В исследовании 124 пациентов с тяжелым сепсисом (о наличии ОПП не сообщалось), уровни pNGAL определяли при поступлении, на второй и на седьмой дни. Показано, что у не выживших пациентов уровни pNGAL на второй и на седьмой дни повышались, а у выживших — снижались. На второй день после поступления высокий pNGAL предсказывал 28-дневную смертность и необходимость длительной почечной заместительной терапии, значения AUC ROC составляли на второй день — 0,675 (0,570–0,780), на седьмой день — 0,752 (0,619–0,885). Что существенно, предиктивные характеристики pNGAL по отношению к летальности были лучше, чем у креатинина. Весьма показательными оказались и результаты, показавшие корреляцию повышения pNGAL и ПКТ [57].

В целом, по мнению многих авторов, димерный pNGAL, секретируемый нейтрофилами, в большей степени маркер именно сепсиса, а не ОПП.

pNGAL при С-ОПП. Вот что показало исследование, в котором наблюдались пациенты ОРИТ, из них 40 — без ОПП, 65 — ОПП без сепсиса; 10 имели сепсис без ОПП, 24 — С-ОПП.

Измеряли pNGAL и уровни активности эндотоксина (АЭ). Показано, что уровни pNGAL ступенчато повышались: самый низкий уровень был в контрольной группе (без сепсиса и без ОПП), затем следовали группы «сепсис без ОПП» и «ОПП без сепсиса». Самым высоким pNGAL был при С-ОПП. Что касается активности эндотоксина, то она была высокой у септических пациентов и почти не зависела от наличия ОПП, табл. 1.

В относительно масштабном исследовании наблюдалось 663 пациента ОРИТ; 12 % имели сепсис, 22 % — ОПП без сепсиса, 66 % — С-ОПП. Показано, что сепсис повышал уровни pNGAL как при ОПП, так и без ОПП. При С-ОПП уровни pNGAL были выше, чем при сепсисе без ОПП [59], табл. 2 и 3.

В целом у критических пациентов сепсис повышал уровни pNGAL как при ОПП, так и без такового. При С-ОПП уровень pNGAL наиболее высокий. Авторы заключили, что «пограничные уровни pNGAL для диагностики ОПП при сепсисе должны быть выше таковых, чем у пациентов без сепсиса» [59].

В недавнем исследовании наблюдали 225 пациентов ОРИТ, 57 % которых имели сепсис; из них 52 % также имели ОПП, 43 % пациентов имели неинфекционный ССВО, из них 21 % имели ОПП. Самый высокий pNGAL был при С-ОПП. Уровни pNGAL (медиана, нг/мл) составляли: без ОПП — 136 (65–343), при С-ОПП — 852 (370–1 300). Пограничный уровень pNGAL для диагностики С-ОПП составлял 454 против 176 нг/мл для пациентов с неинфекционным ССВО; AUC ROC — 0,81 (0,74–0,87), чувствительность 72 %, специфичность 74 % [60].

uNGAL при сепсисе и при С-ОПП. В специальном исследовании из 126 пациентов, поступивших в ОРИТ, 46 % были с С-ОПП, 54 % — с ОПП без сепсиса. Прогностическая точность при пиковой концентрации uNGAL составляла: AUC ROC — 0,86 (0,81–0,93); при поступлении AUC ROC — 0,81 (0,73–0,89). При этом пиковая концентрация коррелировала с пиковым уровнем мочевины крови и сывороточным креатинином, табл. 4.

Таблица 1
Значения AUC ROC для диагностики С-ОПП [58]

pNGAL	0,89 (0,80–0,94)
АЭ	0,79 (0,67–0,88)
pNGAL + АЭ	0,92 (0,84–0,97)

Таблица 2
Пограничные уровни pNGAL для диагностики С-ОПП при поступлении [59]

	Пограничный уровень (нг/мл)	AUC ROC	Чувствительность, %	Специфичность, %
Без сепсиса	266	0,74 (0,70–0,78)	59	83
Сепсис	304	0,80 (0,69–0,88)	80	80

Таблица 3
Пограничные уровни pNGAL для диагностики С-ОПП при максимальных значениях pNGAL [59]

	Пограничный уровень (нг/мл)	AUC ROC	Чувствительность, %	Специфичность, %
Без сепсиса	338	0,76 (0,72–0,79)	58	84
Сепсис	979	0,78 (0,67–0,86)	51	100

Таблица 4
Уровни uNGAL (нг/мл) при сепсисе и С-ОПП [61]

	С-ОПП	Сепсис без ОПП
При поступлении	337 (196–479)	121 (79–185)
Пиковые значения	457 (379–621)	154 (127–213)

Авторы заключили: «у пациентов с сепсисом uNGAL независимо связан с последующим развитием ОПП» [61]. В другом исследовании при наблюдении 168 септических пациентов, у 72 % развилось ОПП. Самые высокие уровни uNGAL и соотношения uNGAL/u-креатинин были при С-ОПП и являлись хорошими предикторами ОПП (значения AUC-ROC составляли 0,73 и 0,70 соответственно), но плохими предикторами летальности (значения AUC-ROC — 0,66 и 0,68 соответственно). Авторы заключили, что «у септических пациентов, поступивших в ОИТ, uNGAL — это высокочувствительный, но не специфический маркер ОПП» [62].

В недавнем исследовании предиктивные характеристики uNGAL по отношению к летальности оценивались у 75 пациентов, поступивших в ОРИТ. У 45,3 % пациентов был септический шок, у 26,7 % — кардиогенный шок, 6,7 % имели травматический шок, 21,3 % — послеоперационную гипотензию, никто не имел предшествовавших ренальных патологий. 21 % пациентов умерло в ОИТ, 32 % —

перед выпиской. Уровень uNGAL в первый день был как предиктором смертности в ОРИТ (AUC = 0,85), так и внутрибольничной смертности (AUC = 0,74). Для оценки риска внутрибольничной смертности пограничный уровень uNGAL 300 нг/мл имел значения AUC — 0,85, чувствительности — 90,5 %, специфичности — 85,7 %. У 34 пациентов, поступивших с септическим шоком, пограничный уровень uNGAL 1000 нг/мл был предиктором смертности в ОРИТ (AUC — 0,90; чувствительность — 91,7 %; специфичность — 81,2 %) [63].

В другом исследовании 56,8 % из 155 септических пациентов ОИТ имели С-ОПП. При поступлении и через 12 часов пограничный уровень uNGAL для выявления С-ОПП составлял 34,32 нг/мл, чувствительность — 86,30, специфичность — 80,60, AUC ROC — 0,81 (0,73–0,89), табл. 5.

При пограничном уровне 199,99 нг/мл чувствительность составляла 90,00, специфичность — 64,66, AUC ROC — 0,82 (0,75–0,88). Авторы при-

Таблица 5
Диагностические уровни uNGAL (нг/мл) при сепсисе и при С-ОПП [64]

	Сепсис	С-ОПП
При поступлении	25,60 ± 11,84	52,93 ± 17,45
Пиковые значения	53,80 ± 27,76	261,06 ± 47,91

Таблица 6
Уровни uNGAL у пожилых септических пациентов без ОПП и с ОПП [65]

	Без ОПП	С ОПП
uNGAL (нг/мл)		
Менее 48 час.	6,8 ± 3,7	19,1 ± 4,6
48–96 час.	6,1 ± 4,0	19,6 ± 5,6

Таблица 7
Динамика соотношений уровней pNGAL/uNGAL при С-ОПП и ОПП без сепсиса [66]

	С-ОПП	ОПП без сепсиса
Исходный	3,1 (1,1–5,0)	1,9 (0,3–3, 9)
12 час.	1,1 (0,2–2,4)	6,4 (1,0–9,8)
24 час.	0,6 (0,3–12,8)	7,9 (1,7–13,3)

шли к заключению, что «у септических пациентов уровни uNGAL, исходные или измеренные через 12 часов, являются высокочувствительным, но мало специфичным предиктором ОПП» [64].

В другом исследовании наблюдались 75 пожилых септических пациентов (возраст 75,0 ± 7,5 года), у 62,7 % развилось ОПП. Уровни uNGAL определяли в течение первых 48 часов после диагноза сепсиса, затем между 48 и 96 часами, табл. 6.

Сделан вывод, что у пожилых септических пациентов uNGAL — отличный предиктор ОПП, предсказывающий постановку диагноза С-ОПП за 2,1 ± 0,3 дня до его развития с AUC-ROC выше 0,95, чувствительностью и специфичностью более 0,89. Факторы, связанные с риском смертности: наличие ОПП (ОР — 2,14), хронические обструктивные легочные заболевания (ОР — 9,37) и применение вазоактивных препаратов (ОР — 2,06). Предиктивные характеристики uNGAL по отношению к летальности были умеренными, в период до 48 часов AUC ROC — 0,61, в период до 96 часов — 0,62; чувствительность и специфичность — 0,65 и 0,70 соответственно. В целом «у пожилых септических пациентов uNGAL — отличный пре-

диктор ОПП, предсказывающий его развитие за 2,1 дня до клинической манифестации» [65].

Что измерять при сепсисе: pNGAL и (или) uNGAL? В раннем исследовании наблюдались 83 пациента с ОПП, у 51,8 % было С-ОПП. При С-ОПП уровни pNGAL и uNGAL были выше, чем при ОПП без сепсиса. Однако динамика pNGAL и uNGAL сильно различалась. Наиболее высокие уровни pNGAL при С-ОПП наблюдались при поступлении и через 12 часов, но через 24 часа и 48 часов уровень pNGAL снижался. Наиболее высокие уровни uNGAL при С-ОПП наблюдались и через 12 часов, и через 24 часа после поступления. Неожиданными оказались результаты по анализу динамики соотношения pNGAL/uNGAL. Оказалось, при развитии С-ОПП эти соотношения снижаются, а при развитии ОПП без сепсиса — возрастают, табл. 7.

Максимальные уровни pNGAL при С-ОПП и при ОПП без сепсиса составляли 381 (253–585) нг/мл против 176 (92–269) нг/мл соответственно. Максимальные значения uNGAL при С-ОПП составляли 396 (97–2552) нг/мл против 50 (26–287) нг/мл при ОПП без сепсиса. Величины максимальных значений pNGAL и uNGAL были связаны с утяжелением ОПП

и необходимостью ренальной заместительной терапии. Значения AUC ROC для диагностики С-ОПП составляли для pNGAL — 0,77 (0,63–0,90); для uNGAL — 0,70 (0,59–0,82) [66].

В другом исследовании наблюдались 107 пациентов с сепсисом. Уровни uNGAL и sNGAL измеряли при поступлении, через 4 и 24 часа. Транзиторным считали ОПП, соответствующее критериям RIFLE, возникшее в течение первых 72 часов и разрешившееся за следующие 72 часа, стойким — не разрешившимся в течение 72 часов. У 57 пациентов развилось транзиторное ОПП, у 22 — стойкое. Принципиально, что степень повышения уровней uNGAL и sNGAL не зависела от наличия или отсутствия транзиторного или стойкого ОПП, но была связана с тяжестью воспаления (согласно высокому СРБ). Уровни uNGAL и sNGAL повышались параллельно с терциями СРБ и баллами по шкале APACHE II. Таким образом, у септических пациентов риски ОПП повышались с тяжестью сепсиса, при этом уровни uNGAL и sNGAL повышались в зависимости от тяжести воспалительного процесса, но независимо от наличия ОПП. Хотя различия между уровнями uNGAL у пациентов без ОПП с транзиторным ОПП и со стойким ОПП были достоверными, они исчезли, когда пациентов стратифицировали согласно тяжести сепсиса (с шоком или без него), согласно терциям СРБ или баллам по шкале APACHE II. Во всех терциях СРБ наблюдалось значительное перекрытие между уровнями uNGAL и sNGAL при ОПП и без ОПП. Авторы заключили: «у септических пациентов NGAL не является надежным биомаркером для дискриминации между наличием и отсутствием ОПП» [67].

В 2016 году были опубликованы два мета-анализа результатов исследований диагностического и прогностического потенциала NGAL при сепсисе. В одном из них были проанализированы результаты 15 исследований, включавших наблюдения 1478 пациентов. Согласно этому мета-анализу предиктивные характеристики по отношению к С-ОПП были таковы:

- у pNGAL: чувствительность — 0,83 (0,77–0,88), специфичность — 0,57 (0,54–0,61);
- у uNGAL: чувствительность — 0,80 (0,77–0,83), специфичность — 0,80 (0,77–0,83).

При этом отмечалось, что «NGAL может иметь значение как предиктор необходимости заместительной ренальной терапии и смертности» [68].

В другом мета-анализе были проанализированы результаты 12 исследований, включавших наблюдение 1 582 септических пациентов, у 19,9% из которых развилось С-ОПП. Согласно результатам этого мета-анализа уровни pNGAL составляли:

- при С-ОПП более 400 нг/мл [среднее значение — 553,58 (460,27–646,89)];
- при сепсисе без ОПП менее 200 нг/мл, [среднее значение — 177,31 (137,71–216,91)].

При пограничном уровне от 150 до 400 нг/мл pNGAL предсказывает С-ОПП с чувствительностью 88,1% (81,9–92,3) и специфичностью 47,4% (36,7–58,3%); положительное предиктивное значение — 1,6% (17,7–26,1); отрицательное — 96,5% (94,5–97,7). У педиатрических и неонатальных пациентов уровни pNGAL между С-ОПП и сепсисом достоверно не различались.

Уровни uNGAL при сепсисе без ОПП и при С-ОПП достоверно не различались [69].

Таким образом, у септических пациентов уровни pNGAL и uNGAL сильно связаны как с тяжестью ООП, так и с тяжестью воспаления, определяемого согласно уровням СРБ. При сепсисе сильная корреляция между уровнями pNGAL и uNGAL не зависит от наличия или отсутствия ОПП.

В целом pNGAL может быть надежным маркером начала развития ОПП у пациентов без воспалений — как инфекционных, так и «стерильных».

У пациентов с развивающимся воспалением диагностический потенциал pNGAL для выявления развития ОПП может быть ограниченным. В этих условиях слабое или

Таблица 8
Уровни р-цистатина С (мг/л), СРБ (мг/л) и креатинина (микромоль/л) при сепсисе и С-ОПП [77]

	Без ОПП и сепсиса	Без ОПП + сепсис	ОПП без сепсиса	С-ОПП
р-цистатин С				
При поступлении	0,72	0,80	1,21	1,36
Через 7 дней	0,73	0,95	1,47	1,99
Пиковые значения	0,79	1,02	1,43	2,25
СРБ				
При поступлении	53	221	Нет данных	Нет данных
Через 7 дней	72	161	84	205
Пиковые значения	130	272	124	277
Креатинин				
При поступлении	79	83	115	121
Через 7 дней	68	72	145	137
Пиковые значения	81	85	151	164

умеренное повышение pNGAL может быть более связанным с воспалением, чем с ОПП.

И в общем «гетерогенность молекул NGAL и практическая невозможность в данный момент специфически измерять uNGAL, секретируемый тубулярными клетками, затрудняет использование этого маркера для диагностики ОПП в гетерогенной популяции критически больных пациентов» [53, 70, 71].

Цистатин С в диагностике ОПП: чувствительность и специфичность при сепсисе

Цистатин С — это негликозилированный белок, который относится к семейству ингибиторов цистеиновых протеиназ. Ингибиторная активность цистатина С необходима для регуляции нормальных физиологических процессов путем торможения активностей протеиназ, активность которых он блокирует и тем самым тормозит осуществляемую ими деградацию внеклеточного матрикса. Цистатин С — эффективный биомаркер ренальной функции, поскольку он с постоянной скоростью синтезируется всеми клетками, содержащими ядра, поступает в кровь, полностью фильтруется в клубочках, полностью реабсорбируется и расщепляется в канальцах и в норме имеет 100% клиренс [72, 73].

s-цистатин С и р-цистатин С — маркеры гломерулярной функции. В норме постоянная скорость

синтеза цистатина С практически не зависит от возраста, пола и веса. Но чем тяжелее ренальная патология, тем хуже цистатин С фильтруется в клубочках, тем выше его уровень в крови. Однократное измерение уровня цистатина С в крови позволяет с помощью специальных формул рассчитать значение СКФ. Как маркер СКФ s-цистатин С значительно превосходит s-креатинин и клиренс креатинина, так как способен диагностировать самые ранние изменения СКФ (ранние стадии гиперfiltrации и гипофильтрации) и отслеживать быстрые изменения СКФ при развитии ОПП [72, 73].

u-цистатин С — маркер тубулярной дисфункции. При тубулярной дисфункции цистатин С выходит в мочу и может возрастать до 200 раз, особенно при ОПП. В целом высокий u-цистатин С — маркер нарушения эффективности реабсорбции в проксимальных канальцах. s-цистатин С диагностирует ОПП, связанное с гломерулярными заболеваниями, а u-цистатин — С-ОПП, связанное с тубулярной патологией [72, 73].

Но насколько адекватно цистатин С оценивает ренальные функции при сепсисе?

s-цистатин С при сепсисе. Еще в ранних исследованиях было замечено, что при ССЗ, системной красной волчанке и при злокачественных заболеваниях s-цистатин С может повышаться [74–76].

Таблица 9
Уровни ренальных показателей у септических пациентов при поступлении [77]

	Без ОПП (n = 49)	с ОПП (n = 113)
Креатинин, мг/дл	0,99 ± 1,90	2,3 ± 1,9
СКФ, мл/мин./1,73 м ²	120,6 ± 43,4	44,0 ± 25,0
s-цистатин С, мг/л	0,7 ± 0,3	1,9 ± 1,3

Таблица 10
Уровни s-цистатина С и СРБ ренальных показателей у пациентов с С-ОПП при улучшении/утяжелении течения ОПП [77]

При поступлении:	Улучшение (n = 34)	Без улучшения (n = 49)
Креатинин, мг/дл	2,0 ± 1,8	2,6 ± 2,3
СКФ, мл/мин./1,73 м ²	50,7 ± 20,0	44,6 ± 35,0
СРБ, мг/л	17,4 ± 11,7	17,2 ± 13,1
s-цистатин С, мг/л	1,3 ± 0,7	2,1 ± 1,5

Таблица 11
Уровни цистатина С в моче и плазме (мг/л) при поступлении пациентов с ОПП и без ОПП [79]

	Сепсис (n = 81)	Без сепсиса (n = 363)	ОПП (n = 125)	Без ОПП (n = 319)
u-Цис С	2,45	0,08	0,45	0,07
p-Цис С	0,98	0,81	1,26	0,76
u-Кр, ммоль/л	7,00	4,70	7,40	4,60
p-Кр, ммоль/л	0,09	0,09	0,14	0,08
30-дневная смертность	12 (15%)	52 (14%)	24 (19%)	40 (13%)
ОПП	30 (37%)	95 (26%)	125 (100%)	0
Сепсис	81 (100%)	0	30 (24%)	51 (16%)

Таблица 12
Уровни u-цистатина С при С-ОПП [80]

	Контроль	С-ОПП	Хроническая гипертензия	СД2
u-Цис С (мг/л)	0,06 (0,04–0,09)	0,91 (0,28–3,25)	0,05 (0,03–0,09)	0,06 (0,04–0,08)
u-Цис С/u-Кр (мг/ммоль)	6,5 (5,3–7,8)	309,6 (123,1–1010,8)	6,9 (5,4–9,1)	6,2 (5,0–8,2)

В специальном наблюдении 327 критических пациентов, поступивших в ОРИТ, в течение первой недели были распределены на группы: 46% — без ОПП и без сепсиса, 24% — с сепсисом и без ОПП, 74% — с ОПП без сепсиса и 22% — с С-ОПП. Измерялись уровни р-цистатина С, СРБ и креатинина, табл. 8, 9, 10.

В течение первой недели в группах с сепсисом без ОПП уровни р-цистатина С достоверно возрастали, а креатинина понижались. Однако динамики уровней р-цистатина С в группах с сепсисом и без сепсиса достоверно не различались, так же как не различались динамики креатинина при сепсисе и без такого. Тем не менее

у всех пациентов при поступлении повышение р-цистатина С являлось предиктором развития и утяжеления ОПП, а также летальности. При этом значения AUC-ROC для р-цистатина С для прогнозирования исходов составляли 0,80 и 0,78 для летального исхода соответственно и у септических и несептических пациентов достоверно не различались.

Сделан вывод, что «сепсис как таковой не влияет на уровень цистатина С. Креатинин в данное время является доминирующим маркером, который используется intensivists всего мира. Однако, поскольку при развитии сепсиса креатинин может снижаться, он должен применяться с осторожностью.

Поскольку цистатин С не подвержен влиянию различных неренальных факторов, которые влияют на креатинин, цистатин С как on-line маркер СКФ может иметь преимущество по сравнению с креатинином» [77].

В более позднем исследовании наблюдали 113 септических пациентов с ОПП, 49 — с сепсисом без ОПП. При поступлении, в первый, третий и седьмой день s-цистатин С у пациентов с С-ОПП был значительно выше, чем у пациентов с сепсисом без ОПП. Из всех проверенных показателей только s-цистатин С, повышенный при поступлении, предсказывал развитие ОПП у септических пациентов, исходно его не имевших, ОР — 19,30 (2,58–144,50). Авторы заключили, что «у септических пациентов повышенные при поступлении уровни s-цистатина С могут быть связаны с высоким риском развития ОПП» [78].

u-цистатин С при сепсисе. В специальном исследовании у 444 пациентов, поступивших в ОРИТ по разным показаниям, измеряли u-цистатин С, p-цистатин С и креатинин. 18% пациентов имели сепсис, 45% — ОПП. 14% пациентов умерли в течение 30 дней. Значения AUC ROC для u-цистатина С составляли: для диагностики сепсиса — 0,80 (0,74–0,87); для диагностики ОПП — 0,70 (0,64–0,75); для предсказания 30-дневной смертности — 0,64 (0,56–0,72). После необходимых поправок u-цистатин С оказался независимо связанным: с сепсисом, ОР — 3,43 (2,46–4,78); с ОПП: ОР — 1,49 (1,4–1,95); с 30-дневной смертностью: ОР — 1,60. Существенно, что уровни u-цистатина С при сепсисе или при ОПП были в повышены в разной степени, табл. 11.

Авторы заключили, что «u-цистатин С независимо от других показателей связан с сепсисом, с ОПП и с 30-дневной смертностью» [79].

В недавнем предварительном исследовании u-цистатин С и u-креатинин одновременно измеряли у пациентов с С-ОПП (n = 33), хронической гипертензией (n = 43) и сахарным диабетом второго типа (СД2; n = 41), табл. 12.

Таким образом, при С-ОПП u-цистатин С был повышен в 15 раз, а соотношение u-Цис С / u-Кр — в 44 раза [80]. Напомним, что первичной

мишенью ренального повреждения при развитии С-ОНН являются именно канальцы, а α -цистатин С — маркер именно тубулярной дисфункции.

Параллельное измерение цистатина С и NGAL в сыворотке и в моче. Наблюдались 11 педиатрических пациентов с сепсисом, контроль ($n = 10$). В течение 48 часов после поступления измеряли NGAL и цистатин С в сыворотке и моче, табл. 13.

Уровни sNGAL у пациентов с С-ОПП и с сепсисом без ОПП достоверно не отличались. Однако у пациентов с С-ОПП уровни uNGAL, s-цистатина С и α -цистатина С были достоверно повышены и, согласно авторам, «могут быть хорошими маркерами и предикторами С-ОПП» [81].

В другом исследовании наблюдались 112 пациентов, имевших сепсис без ОПП ($n = 57$) и С-ОПП ($n = 55$). В плазме и моче измерялись NGAL и цистатин С при поступлении, при постановке диагноза и за 24 часа до его постановки. Показано наличие у данных маркеров диагностических и предиктивных характеристик по отношению к риску развития и тяжести ОПП при сепсисе. Значения AUC ROC для диагностики ОПП при поступлении с сепсисом составляли: для pNGAL — 0,823; uNGAL — 0,855; p-цистатина С — 0,795; α -цистатина С — 0,772. Значения AUC ROC для предсказания ОПП за 24 часа до постановки диагноза составляли: для pNGAL — 0,83; uNGAL — 0,879; для p-цистатина С — 0,737; для α -цистатина С — 0,741. Авторы полагают, что «NGAL и цистатин С плазмы могут использоваться как диагностические и предиктивные биомаркеры ОПП у пациентов с сепсисом» [82].

В целом сепсис как таковой практически не влияет на уровни цистатина С в крови, и поэтому они достаточно адекватно отражают тяжесть гломерулярной дисфункции. Быстрое повышение при сепсисе уровней цистатина С в моче может свидетельствовать о раннем развитии тубулярной дисфункции еще до того, как диагноз ОПП может быть поставлен на основании критериев RIFLE и AKIN.

Часть II читайте в следующем номере журнала «Медицинский алфавит». Серия «Современная лаборатория».

Медиана	С-ОПП	Сепсис без ОПП
uNGAL, нг/дл	300,8 (15,050–5,952)	26,59 (11,5–543,6)
sNGAL, нг/дл	169,7 (101,9–532,5)	237,9 (55,81–641,9)
α CysC, мг/дл	0,4 (0,04–2,90)	0,04 (0,04–0,38)
sCysC, мг/дл	1,27 (0,80–2,12)	0,56 (0,38–0,99)

Список литературы

- Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*. 2001; 29 (7): 1303–1310.
- Wilhelms SB, Huss FR, Granath G et al. Assessment of incidence of severe sepsis in Sweden using different ways of abstracting international classification of diseases codes: difficulties with methods and interpretation of results. *Crit Care Med*. 2010; 38 (6): 1442–1449.
- Suarez A, Gilsanz F, Maseda E et al. Epidemiologic trends of sepsis in western countries. *Ann Transl Med*. 2016; 4 (17): 325.
- Hoste EA, Bagshaw SM, Bellomo R, et al. Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: the multinational AKI-EPI study. *Intensive Care Med*. 2015; 41 (8): 1411–23.
- Bouchard J, Acharya A, Cerda J et al. A prospective international multicenter study of AKI in the intensive care unit. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10: 1324–31.
- Singer M, Deutschman C.S., Seymour M. et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016, 315, 801–810.
- Bellomo R, Kellum J.A., Ronco C. et al. Acute kidney injury in sepsis. *Intensive Care Med*. 2017, 1–13.
- Kellum J.A., Lameire N. KDIGO AKI Guideline Work Group Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: A KDIGO summary (Part 1). *Crit. Care* 2013, 17, 204.
- Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med* 2006, 34: 344–353.
- Poukkanen M, Vaara ST, Pettila V et al. Acute kidney injury in patients with severe sepsis in Finnish intensive care units. *Acta Anaesthesiol Scand* 2013, 57: 863–872.
- Zhi DY, Lin J, Zhuang HZ, et al. Acute Kidney Injury in Critically Ill Patients with Sepsis: Clinical Characteristics and Outcomes. *J Invest Surg*. 2018, 25: 1–8.
- Murugan R, Karajala-Subramanyam V, Lee M et al. Acute kidney injury in non-severe pneumonia is associated with an increased immune response and lower survival. *Kidney Int*. 2010; 77: 527–35.
- Bagshaw SM, Uchino S, Bellomo R et al. Septic acute kidney injury in critically ill patients: clinical characteristics and outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol* 2017, 2: 431–439.
- Mehta RL, Bouchard J, Soroko SB, et al. Sepsis as a cause and consequence of acute kidney injury: Program to Improve Care in Acute Renal Disease. *Intensive Care Med*. 2011; 37: 241–8.
- Mertensson J, Bellomo R Pathophysiology of Septic Acute Kidney Injury. *Contrib Nephrol*. Basel, Karger, 2016, 187, 36–46.
- Bellomo R, Kellum JA, Ronco C, et al. Acute kidney injury in sepsis. *Intensive Care Med*. 2017, 43 (6): 816–828.
- Nusslag C, Weigand MA, Zeier M et al. Issues of Acute Kidney Injury Staging and Management in Sepsis and Critical Illness: A Narrative Review. *Int. J. Mol. Sci*. 2017, 18 (7), 1387.
- Wang K, Xie S, Xiao K, et al. Biomarkers of Sepsis-Induced Acute Kidney Injury. *Biomed Res Int*. 2018, 24, 6937–47.
- Prowle J.R Sepsis-Associated AKI. *Clin J Am Soc Nephrol* 2018, 13: 339–342.
- Steven J. Skube, I Stephen A. et al. Acute Kidney Injury and Sepsis. *SURGICAL INFECTIONS*, 2018, 19.
- Schrier RW, Wang W. Acute renal failure and sepsis. *The New England journal of medicine*. 2004; 351: 159–69.
- Le Dorze M, Legrand M, Payen D et al. The role of the microcirculation in acute kidney injury. *Current opinion in critical care*. 2009; 15: 503–8.
- Gomez H, Ince C, De Backer D, et al. A unified theory of sepsis-induced acute kidney injury: inflammation, microcirculatory dysfunction, bioenergetics, and the tubular cell adaptation to injury. *Shock*. 2014; 41: 3–11.
- Ergin B, Kapucu A, Demirci-Tansel C et al. The renal microcirculation in sepsis. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2015, 30, 169–177.
- Bellomo R, Kellum J.A., Ronco C, et al. Acute kidney injury in sepsis. *Intensive Care Med*. 2017, 1–13.
- Verma SK, Molitoris BA: Renal endothelial injury and microvascular dysfunction in acute kidney injury. *Semin Nephrol* 2015; 35: 96–107.
- Martensson J, Bell M, Oldner A et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in adult septic patients with and without acute kidney injury. *Intensive Care Med* 2010; 36: 1333–1340.
- Linkermann A, Skouta R, Himmerkus N et al. Synchronized renal tubular cell death involves ferroptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111: 16836–16841.
- Mårtensson J, Glassford NJ, Jones S, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin to hepcidin ratio as a biomarker of acute kidney injury in intensive care unit patients. *Minerva Anestesiol* 2015; 81: 1192–1200.
- Zarbock, Gomez H Kellum JA Sepsis-induced AKI revisited: pathophysiology, prevention and future therapies. *Curr Opin Crit Care*. 2014; 20 (6): 588–595.
- Gomez H, Kellum J.A.) Sepsis-induced acute kidney injury. *Curr Opin Crit Care*, 2016 22: 546–553.
- Li X, Hassoun HT, Santora R, Rabb H: Organ crosstalk: the role of the kidney. *Curr Opin Crit Care* 2009; 15: 481–487.
- Matejovic M, Chvojka J, Radej J et al. Sepsis and Acute Kidney Injury Are Bidirectional. *Contrib Nephrol*. 2011; 174: 78–88.

34. Scheel PJ, Liu M, Rabb H. Uremic lung: new insights into a forgotten condition. *Kidney Int.* 2008; 74: 849–51.
35. Himmelfarb J, Le P, Klenzak J, et al. Impaired monocyte cytokine production in critically ill patients with acute renal failure. *Kidney Int.* 2004; 66: 2354–60.
36. Sood MM, Shafer LA, Ho J et al. Early reversible acute kidney injury is associated with improved survival in septic shock. *J Crit Care.* 2014; 29: 711–7.
37. Bagshaw SM, Langenberg C, Haase M, et al. Urinary biomarkers in septic acute kidney injury. *Intensive Care Med.* 2007; 33: 1285–96.
38. Hartmann B, Czock D, Keller F. Renal Failure — Measuring the Glomerular Filtration Rate. *Dtsch Arztebl Int.* 2010 Sep; 107 (37): 647–55.
39. Coca SG, Yalavarth R, Concato J et al. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review. *Kidney Int* 2008; 73: 1008–1016.
40. Devarajan P. Emerging urinary biomarkers in the diagnosis of acute kidney injury. *Expert Opin Med Diag* 2008; 2, 4, 387–398.
41. Doi K, Yuen PS, Eisner C et al. Reduced production of creatinine limits its use as marker of kidney injury in sepsis. *J Am Soc Nephrol.* 2009; 20: 1217–21.
42. Bragadottir, G.; Redfors, B.; Ricksten, et al. Assessing glomerular filtration rate (GFR) in critically ill patients with acute kidney injury—true GFR versus urinary creatinine clearance and estimating equations. *Crit. Care* 2013, 17, R108.
43. Haase M, Bellomo R, Devarajan P et al., Accuracy of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) in Diagnosis and Prognosis in Acute Kidney Injury: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2009; 54 (6): 1012–24.
44. Peacock WF, Maisel A, Kim J et al. Neutrophil gelatinase associated lipocalin in acute kidney injury. *Postgrad Med.* 2013; 125 (6): 82–93.
45. Hjortrup PB, Haase N, Wetterslev M, et al. Clinical review: Predictive value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin for acute kidney injury in intensive care patients. *Crit Care.* 2013; 17 (2): 211.
46. Liu Q, Nilsen-Hamilton M. Identification of a new acute phase protein. *J Biol Chem* 1995; 270: 22565–22570.
47. Meheus LA, Fransen LM, Raymackers JG, et al. Identification by microsequencing of lipopolysaccharide-induced proteins secreted by mouse macrophages. *J Immunol* 1993; 151: 1535–1547.
48. Han M, Li Y, Liu M, Cong B. Renal neutrophil gelatinase associated lipocalin expression in lipopolysaccharide induced acute kidney injury in the rat. *BMC Nephrol.* 2012; 13: 25.
49. Otto GP, Busch M, Sossdorf M et al. Impact of sepsis-associated cytokine storm on plasma NGAL during acute kidney injury in a model of polymicrobial sepsis. *Crit Care.* 2013 17: 419.
50. Buonafina M, Martinez-Martinez E, Jaissier F. More than a simple biomarker: the role of NGAL in cardiovascular and renal diseases. *Clinical Science.* 2018, 132909–923.
51. Choi JW, Fujii T, Fujii N. Diagnostic accuracy of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as an inflammatory biomarker for low-grade inflammation. *Bio-medical Research* 2017; 28 (14): 6406–6411.
52. Flo TH, Smith KD, Sato S et al. 2004, Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature* 432: 917–921.
53. Mertensson J, Bellomo R. The Rise and Fall of NGAL in Acute Kidney Injury. *Blood Purif* 2014; 37: 304–310.
54. Wang B, Chen G, Zhang J et al., Increased Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin is Associated with Mortality and Multiple Organ Dysfunction Syndrome in Severe Sepsis and Septic Shock. *Shock.* 2015; 44 (3): 234–8.
55. Macdonald SPJ, Bosio E, Neil C et al. Resistin and NGAL are associated with inflammatory response, endothelial activation and clinical outcomes in sepsis. *Inflamm Res.* 2017; 66 (7): 611–619.
56. Otto GP, Hurtado- Oliveros J, Chung HY et al. Plasma Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Is Primarily Related to Inflammation during Sepsis: A Translational Approach. *PLoS One.* 2015; 10 (4): e0124429.
57. Chang W, Zhu S, Pan C et al. Predictive utilities of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in severe sepsis. *Clin Chim Acta.* 2018; 481: 200–206.
58. Katagiri D, Doi K, Matsubara T, et al. New biomarker panel of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin and endotoxin activity assay for detecting sepsis in acute kidney injury. *Journal of Critical Care.* 2013, 28, 564–570.
59. de Geus HR, Betjes MG, Schaick Rv et al. Plasma NGAL similarly predicts acute kidney injury in sepsis. *Biomark Med.* 2013; 7 (3): 415–21.
60. Md Ralib A, Mat Nor MB, Pickering JW, Plasma Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin diagnosed acute kidney injury in patients with systemic inflammatory disease and sepsis. *Nephrology (Carlton).* 2017; 22 (5): 412–419.
61. Fan H, Zhao Y, Zhu JH ET et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in septic patients with and without acute kidney injury. *Ren Fail.* 2014; 36 (9): 1399–1403.
62. Nga HS, Medeiros P, Menezes P et al. Sepsis and AKI in Clinical Emergency Room Patients: The Role of Urinary NGAL. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 413751.
63. Algethamy HM, Albeladi FI. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an excellent predictor of mortality in intensive care unit patients. *Saudi Med J.* 2017 Jul; 38 (7): 706–71.
64. Patel ML, Sachan R, Shyam et al. Diagnostic accuracy of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients with septic acute kidney injury. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease* 2016: 9161–169.
65. da Rocha EP, Yokota LG, Sampio BM et al., Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Is Excellent Predictor of Acute Kidney Injury in Septic Elderly Patients. *Aging Dis.* 2018 1; 9 (2): 182–19.
66. Bagshaw S.M., Bennett M., Haase M et al. Plasma and urine neutrophil gelatinase associated lipocalin in septic versus non-septic acute kidney injury in critical illness. *Intensive Care Med.* 2010, 36: 452–461.
67. Vanmassenhove J, Glorieux G, Lameire N et al. Influence of severity of illness on neutrophil gelatinase-associated lipocalin performance as a marker of acute kidney injury: a prospective cohort study of patients with sepsis. *BMC Nephrology BMC Nephrol.* 2015; 16: 18.
68. Zhang A, Cai Y, Wang PF, et al. 1, Diagnosis and prognosis of neutrophil gelatinase-associated lipocalin for acute kidney injury with sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Critical Care.* 2016, 20: 41.
69. Kim S, Kim HJ, Ahn HS, et al. Is Plasma NGAL a Predictive Biomarker for Acute Kidney Injury in Sepsis Patients? A Systematic Review and Meta-analysis. *J Crit Care.* 2016; 33: 213–23.
70. Haase M, Devarajan P, Haase-Fielitz A et al. The outcome of neutrophil gelatinase-associated lipocalin-positive subclinical acute kidney injury. *J Am Coll Cardiol.* 2011 57: 1752–1761.
71. Nickolas TL, Schmidt-Ott KM, Canetta P et al. Diagnostic and prognostic stratification in the emergency department using urinary biomarkers of nephron damage. *J Am Coll Cardiol* 2012, 59: 246–255.
72. Shlipak MG, Mattes MD, Peralta CA. Update on cystatin C: incorporation into clinical practice. *Am J Kidney Dis.* 2013; 62 (3): 595–603.
73. Ferguson TW, Komenda P, Tangri N. Cystatin C as a biomarker for estimating glomerular filtration rate. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2015; 24 (3): 295–300.
74. Okura T, Jotoku M, Irita J et al. Association between cystatin C and inflammation in patients with essential hypertension. *Clin Exp Nephrol.* 2010; 14 (6): 584–8.
75. Evangelopoulos AA, Vallianou NG, Bountziouka V et al. Association between serum cystatin C, monocytes and other inflammatory markers. *Intern Med J.* 2012; 42 (5): 517–22.
76. Lertnawapan R, Bian A, Rho YH et al. Cystatin C is associated with inflammation but not atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2012; 21 (3): 279–87.
77. Mårtensson J, Martling CR, Oldner A et al. Impact of sepsis on levels of plasma cystatin C in AKI and non-AKI Patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2012; 27 (2): 576–81.
78. Leem AY et al. Value of Serum Cystatin C Measurement in the Diagnosis of Sepsis-Induced Kidney Injury and Prediction of Renal Function Recovery. *Yonsei Med J* 2017; 58 (3): 604–612.
79. Nejat M, Pickering JW, Walker RJ., et al. Urinary cystatin C is diagnostic of acute kidney injury and sepsis, and predicts mortality in the intensive care unit. *Crit Care.* 2010; 14 (3): R85.
80. Szirmay B, Kustan P, Horvath-Szalai Z et al. Novel automated immune turbidimetric assay for routine urinary cystatin-C determinations. *Bioanalysis.* 2018 10 (5), 377–384.
81. Di Nardo M, Ficarella A, Ricci Z et al. Impact of Severe Sepsis on Serum and Urinary Biomarkers of Acute Kidney Injury in Critically Ill Children: An Observational Study. *Blood Purif.* 2013; 35 (1–3): 172–6.
82. Dai X, Zeng Z, Fu C, et al. Diagnostic value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin, cystatin C, and soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in critically ill patients with sepsis-associated acute kidney injury. *Crit Care.* 2015; 19: 223.



Современные лабораторные биомаркеры диагностики дисфункций органов-мишеней при синдроме полиорганной недостаточности

И. И. Дементьева, д.б.н., проф., рук. лаборатории экспресс-диагностики
Е. В. Кукаева, к.м.н.

ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б. В. Петровского» РАН, г. Москва

Modern laboratory biomarkers for diagnosis of dysfunctions of target organs in syndrome of multiple organ failure

I. I. Dementieva, E. V. Kukaeva

Russian Scientific Center for Surgery n. a. academician B. V. Petrovsky, Moscow, Russia

Резюме

В обзоре приведены основные сведения по патофизиологии синдрома полиорганной недостаточности в целом и особенностях развития дисфункций органов-мишеней. Рассмотрены современные биомаркеры, которые позволяют диагностировать органную дисфункцию уже на ранних этапах их развития.

Ключевые слова: синдром дисфункции множественных органов, дисфункция органов-мишеней, биомаркеры.

Summary

This review presents the basic information on the generally pathophysiology of multiple organ dysfunction syndrome and especially the development of target-organ dysfunction. The modern biomarkers that can diagnose organ dysfunction in the early stages of their development.

Key words: multiple organ dysfunction syndrome, target-organ dysfunction, biomarkers.

Определение понятия синдрома полиорганной недостаточности

Понятие синдрома полиорганной недостаточности (в английской литературе multiple organ dysfunction syndrome или MODS) было впервые сформулировано А. Е. Вае в 1975 году [6]. Под этим синдромом понимался динамический процесс изменений функций органов больного в широком пределе — от легкой степени дисфункции до полного отсутствия функции, требующий срочного медицинского вмешательства для восстановления гомеостаза пациента. В настоящее время принято считать, что синдром полиорганной недостаточности (СПОН) — это клинический синдром, характеризующийся развитием прогрессирующей и потенциально обратимой физиологической дисфункцией двух или более органов или систем органов, которая была вызвана различными острыми состояниями.

Основными причинами развития СПОН служат сепсис, шок различного генеза, ожоги, острые аллергические и токсические реакции, острый панкреатит. По времени развития выделяют СПОН:

- немедленного типа (первичный) — дисфункция двух или более органов развилась из-за основного заболевания;
- замедленного типа — первоначально отмечалась дисфункция только одного органа, к которой последовательно присоединились нарушения функционирования других органов и систем органов;
- «накопления» — дисфункция двух или более органов возникла в связи с хроническим заболеванием.

Независимо от этиологии СПОН, сочетание тканевой гипоксии / ишемии, системного воспалительного ответа, активации свободнорадикальных процессов и протеолитических ферментов способствует прогрессированию дисфункции органов, что в конечном счете ведет к гибели пациента. Также в развитии СПОН важную роль играют генетические факторы и состояние иммунной системы организма.

Общие вопросы патогенеза СПОН

Первичное повреждение клеток любого органа и тканей может возникнуть непосредственно из-за основного заболевания (травма, инфекция) или явиться следствием токсического влияния

различных медиаторов (цитокины, протеолитические ферменты). Повышение уровня противоспалительных цитокинов и других медиаторов системных ответов вызывает повреждение эндотелия и увеличивает проницаемость сосудов, шунтирование крови и вазоспазм [21]. Это приводит к тканевой гипоксии, нарушению доставки питательных веществ и удаления продуктов жизнедеятельности клеток. Изменение реологических свойств крови сопровождается гиперагрегацией тромбоцитов и эритроцитов, что проявляется в образовании большого количества клеточных микроагрегатов, которые блокируют микроциркуляторное русло и, соответственно, утяжеляют тканевую ишемию.

Активация свободнорадикальных процессов вызывает индукцию апоптоза, связанного с окислительным стрессом, повышением активности мембранатакующего комплекса C5b-9 и нарушением гомеостаза кальция [14]. Наряду с гипоксией / ишемией это сопровождается эндотелиальной дисфункцией, повышением сосудистой проницаемости и нарушением целостности клеточных мембран.

Развитие про- и противовоспалительного дисбаланса сопровождается нарушениями регуляции на уровне

транскрипции [30]. Эти нарушения resultируются через активацию окислительного стресса, ядерного фактора каппа-β и гиперсинтез провоспалительных цитокинов, молекул адгезии и белков острой фазы.

Несоответствие доставки и потребления кислорода тканями приводит к активации ядерной поли-АДФ-рибозосинтетазы и внутриклеточной энергетической недостаточности. Развивающийся дисметаболизм вызывает повышенный катаболизм белков и жиров, отрицательный азотистый баланс, гипергликемию и гликонеогенез в печени [23].

Проявления эндотелиоза выражаются в повышении экспрессии индуцируемой формы NO-синтетазы, молекул межклеточной адгезии ICAM-1 и ICAM-2, которые способствуют хемотаксису нейтрофилов. Одновременно с активацией полиморфноядерных лейкоцитов в эндотелии происходит уменьшение L-селектина и увеличение интегрина CD 11b / CD 18, что еще более нарушает межклеточные взаимодействия и увеличивает проницаемость эндотелия [27].

Нарушения транспорта кислорода, межклеточных взаимодействий сопровождаются увеличением концентрации в крови токсических веществ за счет повышения сосудистой проницаемости в кишечнике и последующей бактериальной транслокации.

Лабораторная диагностика дисфункций отдельных органов при СПОН

Легкие

Характерным признаком легочной дисфункции при СПОН является артериальная гипоксемия. Изменение внутрилегочного кровотока, образование микротромбов в альвеолярных сосудах, повышение сосудистой проницаемости приводит к развитию ателектазов и увеличению жидкости в интерстиции легких, что сопровождается нарушением нормального газообмена. В дальнейшем миграция нейтрофилов и лимфоцитов, синтез ими биологически активных веществ способствуют формированию фиброза и гиалиноза в легких и стойких дыхательных расстройств.

Возникновение микроателектазов считается основным механизмом в раз-

витии послеоперационной гипоксемии. Во время операций на сердце в условиях искусственного кровообращения (ИК) у пациентов увеличивается в 2 раза риск нарушений функции легких по сравнению с пациентами, оперированными без ИК. Показано, что степень гипоксии коррелирует с продолжительностью послеоперационной искусственной вентиляции легких (ИВЛ) [25]. Для оценки внутрилегочного компонента гипоксемии во время ИВЛ используют определение F-shunt.

Данный показатель вычисляется как соотношение между артериоальвеолярной и артериовенозной разницей к общей концентрации кислорода. Если используется только образец артериальной крови, то F-shunt вычисляется, исходя из артериовенозной разницы в 2,3 ммоль/л. Физиологический смысл данного параметра заключается в том, что он показывает долю венозного возврата в легочных капиллярах без оксигенации крови. В норме величина F-shunt составляет 4–8% [33]. Увеличение значений F-shunt указывает на патологическое легочное несоответствие между вентиляцией и перфузией, например, связанное с перфузией невентилируемых участков легкого, то есть развитие микроателектазов.

Лабораторные признаки респираторной дисфункции при СПОН:

- РаСО₂ более 50 мм рт. ст.;
- альвеолярно-артериальная разница по кислороду свыше 350 мм рт. ст.;
- F-shunt более 10%.

Мозг

Несмотря на многообразие этиологических факторов, приводящих к развитию цереброваскулярных расстройств, патофизиологические механизмы этих процессов подобны. Так, первичное разрушение нервных клеток при черепно-мозговой травме ведет к запуску вторичных гипоксических механизмов повреждения. С другой стороны, исходное нарушение мозгового кровотока (например, при инсульте) ведет к метаболическому стрессу, ионным нарушениям и, как следствие, вторичной гибели нейронов и глии [18].

В патогенезе острой гипоксии тканей мозга существенную роль играют изменения микроциркуляции крови

и процессов трансапиллярного обмена, поддерживающих метаболический и гемодинамический гомеостаз. Микроциркуляторное русло первым реагирует на различные факторы ранними и стойкими изменениями. Длительно существующая гипоксия обуславливает дисфункцию клеточных мембран, агрегацию клеток крови в просвете микрососудов, а также стаз и агрегацию в обменных капиллярах и венолах.

Нарушение доставки кислорода к клеткам мозга приводит к тому, что глюкоза начинает расщепляться путем анаэробного гликолиза до молочной кислоты. Избыточное высвобождение и недостаточный обратный захват астроцитами возбуждающего медиатора глутамата на фоне ацидоза сопровождается активацией глутаматных NMDA-рецепторов с накоплением в нейронах избытка ионов кальция. Это приводит к активации протеаз, липаз и других веществ, повреждающих клетку. Кроме того, развивается деполяризация мембран и распространяющаяся депрессия нейронов. Также повреждение клеток отчасти происходит по механизму апоптоза.

Гипоксия инициирует запуск целого каскада патологических процессов, которые приводят к гибели нервных клеток. Некоторые из этих процессов становятся причинами быстрого некроза клетки (нарушение ионных соотношений, внутриклеточный отек с последующим лизисом), другие ведут к усилению апоптоза. К их числу можно отнести активацию фагоцитарных реакций, изменения в системе нейромодуляторов, активацию свободнорадикальных реакций.

Естественной защитной реакцией мозга в первые минуты ишемии является синтез трофических факторов и рецепторов к ним. При быстрой и активной экспрессии генов, кодирующих нейротрофины (факторы роста), ишемия мозга может длительное время не приводить к инфарктным изменениям. В случае же ишемического повреждения высокий уровень трофических факторов обеспечивает регрессирование неврологического дефицита даже при сохранении морфологического дефекта, вызвавшего его. Одновременно формируются восстановительные механизмы, индуцируется образование эндогенных нейротропекторов (NGF, IGF1, FGF, CGRP) [4]. Они синтези-

руются клеткой-мишенью (например, мышечным веретеном), диффундируют по направлению к нейрону, связываются с молекулами рецепторов на его поверхности, что приводит к активному росту аксона. В результате аксон достигает клетки-мишени, устанавливая с ней сиnapтический контакт. Факторы роста поддерживают жизнь нейронов, которые в их отсутствие не могут существовать.

В качестве биомаркеров для диагностики ишемических поражений мозга было предложено большое количество белков:

- глиофибрилярный кислый протеин;
- нейронспецифическая енолаза,
- рецептор N-метил-D-аспартата (NMDA);
- аполипопротеины СIII и CI;
- белки PARK7 и S100;
- нуклеозид дисфосфаткиназы (NDKA);
- нейротрофический фактор роста В-типа;
- матричная металлопротеиназа MMP-9;
- моноцитарный хемотаксический белок-1.

Нейронспецифическая енолаза

Нейронспецифическая енолаза (HSE) представляет собой гликолитический фермент 2-фосфо-D-глицерат-гидролазу с молекулярным весом около 80 кДа, существующий в различных вариантах димеров, состоящих из трех иммунологически различающихся субъединиц [28]. Это единственный известный в настоящее время общий маркер всех дифференцированных нейронов. При заболеваниях, сопряженных с непосредственным вовлечением нервной ткани в патологический процесс, качественное и количественное определение этого белка в спинномозговой жидкости или сыворотке крови дает информацию о степени выраженности повреждений нейронов и нарушениях общей целостности гематоэнцефалического барьера. Также HSE характеризует степень постишемического повреждения мозга.

Белок S100

Белок S100 является малым димерным протеином с молекулярной массой около 10,5 кДа и принадлежит к полиморфной семье кальций-свя-

зывающих протеинов. Уровень S100 в ликворе повышается при сосудистых мозговых событиях и коррелирует с размером инфаркта и клиническим исходом [17]. Увеличение концентраций белка S100 после острого ишемического инсульта достигает максимума через 2–3 дня, что больше по времени, чем после травмы. После гипоксического повреждения мозга в результате остановки сердца концентрация белка S100 достигает пика в интервале 2–24 часа, коррелируя с исходом и степенью комы [8].

Почки

Острое повреждение почек (ОПП) представляет собой острое снижение ренальной функции, приводящее к структурным изменениям в почке. ОПП ассоциируется с увеличением общегоспитальной летальности, продолжительностью пребывания пациента в стационаре и повышением затрат на лечение [10]. Неблагоприятные исходы ОПП могут быть обусловлены не только объемом поражения почек, но и поздним выявлением ОПП, особенно в тех случаях, когда используется только определение концентрации креатинина в крови.

Стандартные показатели, используемые для определения и мониторинга прогрессирования ОПП, такие как креатинин сыворотки крови и азот мочевины, малочувствительны и неспецифичны. Их величина существенно повышаются только после значительного повреждения почки, и это повышение может быть отсрочено по времени. Эта задержка в диагностике не только препятствует своевременному принятию правильного решения по ведению пациента, но и существенно влияет на раннее выявление нефротоксического воздействия лекарственных средств. Для оценки функции почек, диагностики и прогноза развития ОПП в настоящий момент существуют четыре основные категории почечных биомаркеров:

- функциональные биомаркеры — креатинин сыворотки крови, цистатин С сыворотки;
- регуляторные белки — нейтрофильный желатиназо-ассоциированный липокалин, молекула почечного повреждения типа I, печеночная форма белка, связывающего жирные кислоты, интерлейкин ИЛ-18;

- низкомолекулярные протеины — цистатин С мочи;
- ферменты — N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза, глутатион-S-трансфераза, γ-глутанилтрансептидаза, щелочная фосфатаза и др.

Цистатин С

Цистатин С — эндогенный ингибитор цистеиновых протеаз, относится к группе цистатинов, в которую, помимо него, входят цистатины D, S и SA. Этот протеин представляет собой негликозилированный основной белок низкой молекулярной массы, состоит из 120 аминокислот и синтезируется практически всеми клетками человеческого организма. Образование цистатина С в организме происходит с постоянной скоростью, его уровень относительно стабилен в крови, а низкая молекулярная масса не препятствует свободной фильтрации через клубочковую мембрану.

В исследовании J. Zhu и др. (2006) было показано, что у пациентов после протезирования клапанов сердца максимальный уровень креатинина отмечался на третьи сутки, тогда как цистатин С — уже на вторые послеоперационные сутки. При этом изменение концентрации цистатина С в большей степени отражало состояние функции почек, чем уровень и клиренс креатинина [35].

N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза

N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза (NAG) представляет собой лизосомальный гликолитический фермент, широко распространенный в клетках различных тканей. В почках NAG в основном представлен в щеточной кайме проксимальных извитых канальцев. Высокая молекулярная масса NAG препятствует ее свободной фильтрации через базальную мембрану почечного клубочка. Экскреция NAG с мочой минимальна и относительно постоянна в течение суток.

В работе Y. Hamada и др. (1999) была сделана попытка определить предикторную значимость мочевого NAG в развитии почечной недостаточности после кардиохирургических операций [19]. Однако оказалось, что уровень NAG был одинаковым независимо от развития или отсутствия ренальной дисфункции, тогда как послеоперационная концентрация креатинина в крови достоверно отличалась на 2-е, 6-е и 7-е

сутки. Поэтому авторы заключили, что активность NAG в моче в кардиохирургии является не прогностическим, а диагностическим маркером ОПП после операций на открытом сердце.

Нейтрофильный желатиназо-ассоциированный липокалин (липокалин-2)

Липокалин-2 человека состоит из одной полипептидной цепи, включающей 178 аминокислотных остатков, и имеет молекулярную массу 25 кДа, существует в виде мономера (в моче и нейтрофилах), гомодимера и гетеродимера и связан с матриксной металлопротеиназой-9.

При ОПП липокалин-2 из плазмы крови поступает в почки, фильтруется и реабсорбируется в проксимальных канальцах. Хотя этот белок свободно фильтруется клубочками, он в большой степени подвергается обратной абсорбции в проксимальных канальцах за счет эндоцитоза. Также при ОПП липокалин-2 синтезируется в дистальном нефроне, но в кровообращение не поступает, а экскретируется в мочу.

Повышенные уровни липокалина-2 являются ранним маркером развития ОПП после кардиохирургических операций. При серийном обследовании 71 ребенка, перенесшего кардиохирургические операции в условиях искусственного кровообращения (ИК), у 28% из них развилось ОПП. При этом повышение сывороточного креатинина, характерное для ОПП, наблюдалось только через 1–3 дня после операции. Концентрация липокалина-2 в моче возрастала с 1,6 до 147,0 мкг/л, а в крови — от 3,2 до 61,0 мкг/л уже через два часа после окончания ИК. Наиболее сильным и независимым предиктором ОПП оказался пограничный уровень 50 мкг/л мочевого липокалина-2 через два часа после ИК с чувствительностью 1,00 и специфичностью 0,98 [32].

Молекула почечного повреждения типа 1

Молекула почечного повреждения типа 1 (Kidney Injury Molecule-1 — KIM-1) представляет собой трансмембранный гликопротеин суперсемейства иммуноглобулинов, который экспрессируется на поверхности эпителиальных клеток проксимальных канальцев почек. Считается, что увеличение выделения

KIM-1 с мочой специфично для ишемического поражения почек и не зависит от других повреждающих факторов.

В ряде исследований значимости KIM-1 в выявлении острого ишемического почечного повреждения почек у кардиохирургических пациентов было установлено, что этот биомаркер обладал высокой диагностической ценностью, превосходя N-ацетил-β-глюкозаминидазу, мочевого интерлейкин ИЛ-18 и α₁-микроглобулин [20].

Глутатион-S-трансфераза

α-глутатион-S-трансфераза (α-GST) локализуется в проксимальных канальцах нефрона, тогда как π-форма (π-GST) содержится в основном в дистальных канальцах. Одновременное определение экскреции с мочой изоформ этого биомаркера позволяет дифференцировать поражение этих отделов почки на ранних стадиях ее возникновения.

Соотношение α-GST и креатинина в моче является чувствительным и ранним маркером повреждения почек при операциях на брюшной аорте. Этот показатель возрастал уже через час после пережатия аорты во время хирургического вмешательства и коррелировал с послеоперационным уровнем креатинина крови [13]. Считается, что увеличение в моче содержания глутатион-S-трансферазы является диагностическим тестом субклинического повреждения почечных канальцев.

Миокард

Нарушение кровоснабжения сердечной мышцы приводит к развитию дисбаланса между доставкой кислорода и потребностью в нем кардиомиоцитов и как следствие — ишемии миокарда. Недостаток кислорода вызывает изменения метаболизма кардиомиоцитов.

Ограниченное количество кислорода распределяется между окислением глюкозы и свободных жирных кислот, причем активность обоих путей метаболизма снижается. При ишемии глюкоза расщепляется преимущественно путем анаэробного гликолиза, образующийся пируват не подвергается окислительно-мембранному декарбоксилированию, а переходит в лактат, что потенцирует внутриклеточный ацидоз [2]. Накопление свободных жирных кислот — основного субстрата свободнорадикального окисления в ци-

топлазме, оказывает повреждающее действие на мембрану кардиомиоцита, нарушает его функции.

Клеточный ацидоз, локальное воспаление и пероксидация, нарушение ионного равновесия, уменьшение синтеза АТФ лежат в основе развития электрофизиологической и функциональной дисфункции миокарда. Клинические проявления заболевания в данном случае представляют собой верхушку айсберга, в основании которого лежат возникшие из-за нарушений перфузии изменения метаболизма миокарда.

В 1947 году C. J. Wiggers в экспериментальной модели геморрагического шока установил наличие в крови фактора, угнетающего миокардиальную функцию. В дальнейшем был описано два типа таких молекул. Первая из них с молекулярной массой менее 1 кДа оказывала немедленное депрессивное воздействие на сердце, а другая фракция с молекулярной массой от 1 до 10 кДа обладала отсроченным эффектом. В настоящее время к веществам, угнетающим миокард, относят фактор некроза опухоли ФНО-α, интерлейкин ИЛ-1β, фракция C5a системы комплемента, интерферон γ и эндотоксина.

Непосредственно интерферон γ обладает слабым депрессорным действием, но он действует синергически с ФНО-α и ИЛ-1β, что отмечалось в экспериментах *in vivo* и *in vitro* [7].

К основным биомаркерам повреждения и дисфункции миокарда относятся:

- тропонин Т;
- тропонин I;
- сердечный белок, связывающий жирные кислоты;
- натрийуретические пептиды.

Сердечные тропонины I и T

Тропониновый комплекс, регулирующий процесс мышечного сокращения в кардиомиоцитах, состоит из трех субъединиц: Т — связана с тропомиозином, I — является ингибиторным протеином и С, которая соединяется с ионами кальция. Молекулярная масса тропонина Т составляет 37 кДа, тропонина I — 23,8 кДа. В цитоплазме содержится 6–8% тропонина Т и 2,8–4,1% тропонина, поэтому концентрация первого в крови повышается быстрее.

Диагностическая чувствительность тропонинов достигает 100% при их измерении не позднее 12–14 часов от начала проявления симптоматики ишемии миокарда. Регистрация повышенной концентрации тропонинов в крови больных даже при минимальных изменениях на ЭКГ (например, депрессия сегмента ST или инвертированный T-зубец) или при нетипичной клинической картине является достаточным основанием для постановки диагноза ишемии миокарда [3].

Высокочувствительный тропонин

В последние годы были разработаны методы определения тропонинов, чувствительность которых повышена в 1 000–10 000 раз. Благодаря этому нижний предел измерения может достигать 90 пкг/л.

В общей популяции повышенные уровни высокочувствительных тропонинов связаны с рисками развития структурных патологий миокарда, сердечной недостаточностью, гипертрофией левого желудочка, кардиоваскулярной и общей смертностью, а также заболеваниями коронарных артерий и выраженностью атеросклероза. При стабильной стенокардии, сердечной недостаточности, кардиальном амилоидозе, а также у пожилых пациентов в крови регистрируется увеличенная концентрация тропонина в высокочувствительном диапазоне [15].

Сердечная форма белка, связывающего жирные кислоты

Кинетика белка, связывающего жирные кислоты (сБСЖК) в крови при инфаркте миокарда, сходна с кинетикой миоглобина. Его содержание повышается в течение первых трех часов после появления симптомов и возвращается к нормальному значению через 12–24 часа [31]. Несмотря на то что уровень сБСЖК в миокарде меньше, чем миоглобина (0,5 против 2,5 мг/кг), минимальная определяемая концентрация сБСЖК в 15 раз ниже, чем миоглобина (2 против 32 мкг/л). Этим обусловлена большая чувствительность сБСЖК по сравнению с миоглобином при выявлении некроза миокарда.

Натрийуретические пептиды

К натрийуретическим пептидам относят предсердный (atrial natriuretic

peptide — ANP) и мозговой (brain natriuretic peptide — BNP) натрийуретический пептид, а также недавно описанные пептиды CNP и DNP. Их синтез значительно увеличивается при объемной перегрузке миокарда, которая возникает при поражении сердечной мышцы: предсердий — для ANP, желудочков — для BNP [1]. ANP и BNP синтезируются в виде неактивных прогормонов, которые под действием протеаз расщепляются на неактивный N-концевой и активный C-концевой фрагменты (NT-proANP и NT-proBNP). В лабораторной практике доступно определение как собственно пептидов, так и их фрагментов, но чаще всего в диагностике используют определение мозгового натрийуретического пептида. Так как период полувыведения BNP составляет всего 20 минут по сравнению с NT-proBNP (120 минут), поэтому определение прогормона является предпочтительным.

Однако при сепсисе повышенная концентрация BNP может не отражать дисфункцию миокарда, так как в ряде исследований было показано, что уровень BNP коррелирует с содержанием в крови С-реактивного белка и интерлейкина ИЛ-1 β [29]. В исследовании T. Ogawa A. J. и de Bolt (2012) установлено, что экспрессия генов MCP-1, MMP-8, TIMP-1, CINC-1, ФНО- α , ICAM-1 и MIP-3 коррелирует с экспрессией гена BNP [26]. Эти результаты подтверждают, что BNP при сепсисе связан именно с воспалительным процессом, а не повреждением миокарда.

Печень

Патофизиологические аспекты дисфункции печени являются сложными и пока не до конца изученными вопросами. При нарушении печеночного кровотока происходит активация белкового синтеза, приводящая к увеличению в крови концентрации острофазовых протеинов — С-реактивного белка, α_1 -антитрипсина, фибриногена, протромбина, гаптоглобина, а также уменьшение содержания отрицательных реактантов — альбумина, трансферрина. Кроме этого, при печеночной дисфункции отмечается нарушение синтеза основных эндогенных антикоагулянтов — антитромбина III и протеинов С и S, что сопровождается развитием прокоагулянтного статуса организма

и запуском микротромбообразования и внутрисосудистого свертывания крови.

Метаболические расстройства при повреждении печени проявляются прежде всего в усилении гликогенолиза и глюконеогенеза, а также в уменьшении биотрансформационной функции печени, снижении активности цитохрома P450 [9, 24].

Активация купферовых клеток способствует значительному выбросу в кровь провоспалительных медиаторов, в том числе ФНО- α , а также усилению взаимодействия этих клеток с тромбоцитами и лейкоцитами, приводя к проникновению нейтрофилов в печеночные синусоиды, микротромбированию последних и уменьшению перфузии печени [16].

Функциональные печеночные нарушения после любой хирургической операции обусловлены изменением органного кровотока во время анестезии и хирургического вмешательства, использованием лекарственных средств, влияющих на функцию печени, а также повышенной энергетической потребностью, возникающей в послеоперационном периоде. Как правило, транзиторные изменения печеночной функции не связаны с морфологическими изменениями в органе и чаще всего являются лабораторными находками. Однако спектр повреждения печени может быть весьма широким — от бессимптомного повышения уровня специфических ферментов до развития послеоперационных холестаза и желтухи, а также острого ишемического гепатита, что значительно увеличивает летальность.

Послеоперационная гипербилирубинемия является фактором удлинения времени пребывания пациентов в стационаре и повышения летальности в 25–35% случаев [22]. Так, госпитальная смертность составила 0,9% у кардиохирургических пациентов с нормальным уровнем билирубина в крови после хирургического вмешательства и 25% у лиц с гипербилирубинемией.

Механизм развития послеоперационной гипербилирубинемии включает нарушения конъюгации билирубина в печени, его транспорта с желчью, а также увеличение свободного билирубина в крови за счет гемолиза, возникающего по время ИК. Если раньше считалось, что основной вклад в уве-

личение билирубина в крови после кардиохирургических операций вносит гемолиз [34], то в дальнейшем было показано, что чаще гипербилирубинемия была обусловлена повышением его конъюгированной фракцией, то есть была печеночно-клеточной [11, 12]. В работе Y. An и др. (2006) у 80,2% пациентов в раннем послеоперационном периоде увеличивался как свободный, так и конъюгированный билирубин [5].

В целом понятие «лабораторные показатели функции печени» в значительной степени неправильно. Большинство из этих тестов отражают «утечку» внутриклеточных печеночных ферментов в плазму крови, и служат, скорее, маркерами гепатоцеллюлярной травмы, чем в качестве истинной меры функционального состояния печени. Поэтому соотношение между уровнем ферментной «утечки» и нарушением функции печени остается неясным.

Лабораторные показатели печеночной дисфункции при СПОН следующие:

- билирубин крови выше 70 мкмоль/л
- увеличение АЛТ, АСТ или щелочной фосфатазы более чем в два раза.

Заключение

Таким образом, современная лабораторная диагностика располагает широким спектром тестов, позволяющих выявлять уже на ранних стадиях субклиническую дисфункцию органов-мишеней при СПОН. Грамотное и своевременное определение ряда биомаркеров позволяет минимизировать отрицательное действие СПОН, сократить затраты на лечение пациента, уменьшить летальность при этом грозном осложнении.

Список литературы

- Елисеев О.М. Натрийуретические пептиды. Эволюция знаний. // Елисеев О.М. // Тер. арх.— 2003.— №9.— С. 40–45.
- Лишнева В.Ю. Метаболическая терапия при ИБС — из прошлого в будущее. // Лишнева В.Ю. // Consilium Medicum Ukraina.— 2008.— № 1.— С. 34–39.
- Трифонов И.Р. Биохимические маркеры некроза миокарда. Часть 1. Общая характеристика биомаркеров. Их применение для диагностики инфаркта миокарда: обзор современных рекомендаций. // Трифонов И.Р. // Кардиология.— 2001.— Т. 41, № 11.— С. 93–98.
- Aguilar L. Psychometric analysis in children with mental retardation due to perinatal hypoxia treated with fibroblast growth factor (FGF) & showing improvement in mental development. / Aguilar L. // J. Intellect. Disabil. Res.— 1993.— Vol. 37.— P. 507–520.
- An Y. Hyperbilirubinemia after extracorporeal circulation surgery: a recent and prospective study. / An Y., Xiao Y.B., Zhong Q.J. // World J. Gastroenterol.— 2006.— Vol. 12, № 41.— P. 6722–6726.
- Baue A.E. Multiple, progressive, or sequential systems failure. A syndrome of the 1970s. / Baue A.E. // Arch. Surg.— 1975.— Vol. 110, № 7.— P. 779–781.
- Billiau A. Cytokines and their interactions with other inflammatory mediators in the pathogenesis of sepsis and septic shock. / Billiau A., Vandekerckhove F. // Eur. J. Clin. Invest.— 1991.— Vol. 21, № 6.— P. 559–573.
- Böttiger B.W. Astroglial protein S-100 is an early and sensitive marker of hypoxic brain damage and outcome after cardiac arrest in humans. / Böttiger B.W., Möbes S., Glatzer R. et al. // Circulation.— 2001.— Vol. 103.— P. 2694–2698.
- Casteleijn E. Endotoxin stimulates glycogenolysis in the liver by means of intercellular communication. / Casteleijn E., Kuiper J., Van Rooij H.C. et al. // J. Biol. Chem.— 1988.— Vol. 263.— P. 6953–6955.
- Chertow G.M. Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. / Chertow G.M., Burdick E., Honour M. et al. // J. Am. Soc. Nephrol.— 2005.— Vol. 16.— P. 3365–337.
- Chu C.M. Jaundice after open heart surgery: a prospective study. / Chu C.M., Chang C.H., Liaw Y.F., Hsieh M.J. // Thorax.— 1984.— Vol. 39.— P. 52–56.
- Collins J.D. Incidence and prognostic importance of jaundice after cardiopulmonary bypass surgery. / Collins J.D., Bassendine M.F., Ferner R. et al. // Lancet.— 1983.— Vol. 1.— P. 1119–1123.
- Cressey G. Renal tubular injury after infrarenal aortic aneurysm repair. / Cressey G., Roberts D.R.D., Snowden C.P. // J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.— 2002.— Vol. 16.— P. 290–293.
- De Bel E.E. Systemic inflammation after trauma, infection, and cardiopulmonary bypass: is autodestruction a necessary evil? / De Bel E.E., Goris R.J.A. Multiple organ failure: Pathophysiology, prevention, and therapy.— New York: Springer-Verlag., 2000.— P. 71–81.
- De Filippi C.R. Association of serial measures of cardiac troponin T using a sensitive assay with incident heart failure and cardiovascular mortality in older adults. / De Filippi C.R., de Lemos J.A., Christenson R.H. et al. // JAMA.— 2010.— Vol. 304, № 22.— P. 2494–2502.
- Dhainaut J.F. Hepatic response to sepsis: interaction between coagulation and inflammatory processes. / Dhainaut J.F., Marin N., Mignon A., Vinsonneau C. // Crit. Care Med.— 2001.— Vol. 29.— P. S42–S47.
- Elting J.W. Comparison of serum S-100 protein levels following stroke and traumatic brain injury. / Elting J.W., De Jager A.E.J., Teelken A.W. et al. // J. Neurol. Sci.— 2000.— Vol. 181.— P. 104–110.
- Gentleman S.M. Long-term intracerebral inflammatory response after traumatic brain injury. / Gentleman S.M., Leclercq P.D., Moyes L. et al. // Forensic Sci Int.— 2004.— Vol. 146.— P. 97–104.
- Hamada Y. N-acetyl-beta-D-glucosaminidase is not a predictor, but an indicator of kidney injury in patients with cardiac surgery. / Hamada Y., Kanda T., Anzai T. et al. // J. Med.— 1999.— Vol. 30, № 5–6.— P. 329–336.
- Han W.K. Urinary biomarkers in the early diagnosis of acute kidney injury. / Han W.K., Waikar S.S., Johnson A. et al. // Kidney Int.— 2008.— Vol. 73.— P. 863–869.
- Iba T. The role of the endothelium in changes in procoagulant activity in sepsis. / Iba T., Kidokoro A., Yagi Y. // J. Am. Coll. Surg.— 1998.— Vol. 187.— P. 231–329.
- Kraev A.I. Postoperative hyperbilirubinemia is an independent predictor of long-term outcomes after cardiopulmonary bypass. / Kraev A.I., Torosoff M.T., Fabian T. et al. // Am. Coll. Surg.— 2008.— Vol. 206, № 4.— P. 645–653.
- Majetschak M., Waydhas C. Infection, bacteraemia, sepsis, and the sepsis syndrome: Metabolic alterations, hypermetabolism, and cellular alterations. / Majetschak M., Waydhas C. Multiple organ failure: Pathophysiology, prevention, and therapy. // New York: Springer-Verlag., 2000.— P. 101–107.
- Meinz H. Alterations in hepatic gluconeogenic amino acid uptake and gluconeogenesis in the endotoxin treated conscious dog. / Meinz H., Lacy D.B., Eijofor J., McGuinness O.P. // Shock.— 1998.— Vol. 9.— P. 296–303.
- Nozawa E. Assessment of factors that influence weaning from long-term mechanical ventilation after cardiac surgery. / Nozawa E., Kobayashi E., Matsumoto M.E. et al. // Arq. Bras. Cardiol.— 2003.— Vol. 80.— P. 301–310.
- Ogawa T. Uncoordinated regulation of atrial natriuretic factor and brain natriuretic peptide in lipopolysaccharide-treated rats. / Ogawa T., de Bold A.J. // Biomarkers.— 2012.— Vol. 17, № 2.— P. 140–149.
- Pinsky M.R. Pro- and anti-inflammatory balance in sepsis. / Pinsky M.R. // Opin. Crit. Care.— 2000.— Vol. 6.— P. 411–415.
- Reiber H. Dynamics of brain-derived proteins in cerebrospinal fluid. / Reiber H. // Clin. Chim. Acta.— 2001.— Vol. 310.— P. 173–186.
- Shor R. BNP in septic patients without systolic myocardial dysfunction. / Shor R., Rozenman Y., Bolshinsky A. et al. // Eur. J. Int. Med.— 2006.— Vol. 17, № 8.— P. 536–540.
- Van der Poll T. Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis. / Van der Poll T., van Deventer S.J.H. // Infect. Dis. Clin. N. Am.— 1999.— Vol. 13.— P. 413–426.
- Van Nieuwenhoven F.A. Putative membrane fatty acid translocase and cytoplasmic fatty acid-binding protein are co-expressed in rat heart and skeletal muscles. / Van Nieuwenhoven F.A., Verstijnen C.P., Abumrad N.A. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun.— 1995.— Vol. 207, № 2.— P. 747–752.
- Wagener G. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. / Wagener G., Jan M., Kim M. et al. // Anesthesiology.— 2006.— Vol. 105, № 3.— P. 485–491.
- Wandrup J.H. Quantifying pulmonary oxygen transfer deficits in critically ill patients. / Wandrup J.H. // Acta Anaesth. Scand.— 1995.— Vol. 39, № 107.— P. 37–44.
- Welbourn N. Changes in serum enzyme levels accompanying cardiac surgery with extracorporeal circulation. / Welbourn N., Melrose D.G., Moss D.W. // J. Clin. Pathol.— 1966.— Vol. 19.— P. 220–232.
- Zhu J. Cystatin C as a reliable marker of renal function following heart valve replacement surgery with cardiopulmonary bypass. / Zhu J., Yin R., Wu H. et al. // Clin. Chim. Acta.— 2006.— Vol. 374, № 1–2.— P. 116–121.

Оценка стратегии управления результатами лабораторных исследований в образцах сыворотки крови с гемолизом

О. А. Клименкова, врач клинической лабораторной диагностики¹

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

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

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

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

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

Evaluation of management strategy results of laboratory studies in serum samples with hemolysis

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

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

Резюме

Продолжаются споры о том, как должна поступать лаборатория с гемолизированными пробами, в связи с чем рассматриваются несколько стратегий по управлению результатами, полученными в таких образцах. Наиболее безопасный вариант с аналитической и клинической точек зрения — выполнение исследования в новом образце без гемолиза. Другой подход заключается в том, чтобы в любом случае выполнить исследование, но при этом указать ограничение по клинической интерпретации результата путем внесения комментария о возможной интерференции со стороны гемоглобина. Выбор стратегии должен проводиться на основе сравнения риска негативных последствий при отсутствии результата теста и вероятности причинения вреда вследствие передачи клиницисту результата с высокой неопределенностью.

Ключевые слова: управление гемолизированными образцами; безопасность пациента.

Summary

There is an ongoing debate about what the laboratory should do with hemolyzed samples. Several strategies are proposed for managing the results obtained in such samples. The safest option from the analytical and clinical points of view is to perform a study of a new sample without hemolysis. Another approach is to carry out a test regardless, but at the same time indicate a limit on the clinical interpretation of the result, by making a comment on possible hemoglobin interference. The choice of strategy should be based on a comparison of the risk of negative consequences in the absence of a test result and the likelihood of harm due to the transfer of the result with high uncertainty to the clinician.

Key words: management of hemolysis, patient safety.

В данный момент государственное здравоохранение стоит перед необходимостью повышения эффективности процессов и внедрения новых управленческих решений. Лабораторные исследования являются неотъемлемой частью клинических рекомендаций, стандартов и порядков оказания медицинской помощи, а также входят в критерии качества оказания медицинской помощи. Как видно, ценность и значимость лабораторной информации для принятия правильного клинического решения и оценки качества работы медицинской организации подтверждены на уровне системы здравоохранения в целом.

При этом клиническая лабораторная диагностика является отраслью здравоохранения, которая обладает признаками промышленного производства. В условиях ограниченного финансирования оптимизация лабораторных услуг может быть реализована безболезненно для пациентов, а снижение затрат достигается за счет повышения эффективности управления производственными ресурсами [1]. Кроме того, показано, что наиболее выраженный финансовый результат достигается при оптимизации массовых рутинных назначений [2]. В связи с этим централизованные клинические лаборатории представ-

ляются удобной моделью для применения управленческих решений, реализацией современных методологий и оценкой результатов их внедрения на большом массиве данных.

Известно, что наиболее уязвимым этапом лабораторного процесса является преаналитический, при этом доля ошибок, возникающая на данном этапе, стабильно поддерживается на уровне 40–70%. Поступление гемолизированных образцов в лабораторию является одной из наиболее частых преаналитических ошибок. При этом гемолиз может происходить как *in vitro*, так и *in vivo*, но гемолиз *in vivo* составляет менее 2% случаев [3].



О. А. Клименкова



В. П. Пашкова



Т. В. Вавилова



В. С. Берестовская

По данным литературы, гемолиз встречается в пять раз чаще по сравнению с другими ошибками, совершаемыми на преаналитическом этапе (сгустки, неправильный выбор пробирок, ошибки идентификации и т.д.) [4]. Во многом это связано с тем, что в выполнении преаналитических процедур вовлечены сотрудники внелабораторных подразделений медицинской организации с различным уровнем профессиональных компетенций и навыков. Одной из основных проблем является возникновение гемолиза *in vitro* вследствие погрешностей при взятии венозной крови в вакуумные системы [6].

Современные аналитические системы позволяют проводить объективную оценку гемолиза одновременно с выполнением исследований в образце пациента. Результат измерения концентрации свободного гемоглобина выражается в виде индекса гемолиза (hemolysis index, HI). Индекс гемолиза — это показатель, соответствующий определенной концентрации свободного гемоглобина в образце сыворотки крови, выраженной в единицах концентрации (мг/дл, г/л) или в условных единицах. Согласно стандарту CLSI EP07-A22 каждый производитель реагентов для аналитической системы устанавливает концентрацию свободного гемоглобина, значение индекса гемолиза, выше которых возможно получение некорректного результата в связи с интерференцией. Считается, что при значении индекса гемолиза выше лимита, указанного производителем для исследуемого аналита, следует запросить новый образец. В последней нашей работе было показано, что производитель может указывать для HI более жесткую границу с целью надежного исключения потенциальной интерференции, чем подход, основанный на расчете величины критической разницы RCV (Reference Change Value). Нами был предложен алгоритм работы с гемолизированными пробами, значительно снижающий долю запросов на повторные образцы пациентов [6]. Однако ранее мы не оценивали экономический эффект при реализации данного алгоритма в практике медицинской лаборатории.

Цель исследования: оценить медицинский риск и экономические преимущества от использования алгорит-

ма выбора образцов для повторного тестирования на основе оценки достоверности влияния гемолиза на результаты аспаратаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) с использованием RCV.

Материалы и методы

Исследование было проведено на базе централизованной клинико-диагностической лаборатории Санкт-Петербургского консультативно-диагностического центра для детей в 2018 году. В 68 первичных образцах пациентов со значением HI, превышающим содержание свободного гемоглобина, указанным производителем как потенциально влияющим на результат, была определена первичная активность АСТ (HI > 40), затем в интервале 14 дней для всех 68 пациентов получен образец крови без гемолиза, в котором было проведено вторичное определение активности АСТ. Аналогичная схема использовалась при измерении активности АЛТ для 41 первичного гемолизированного образца сыворотки крови (HI > 200), и 41 вторичного образца без гемолиза. Оценка свободного гемоглобина в первичных и вторичных образцах сыворотки проводилась на основании измерения индекса гемолиза на автоматическом биохимическом анализаторе cobas 6000 (cobas c 501) фирмы Roche. Статистическую обработку данных проводили в программе Excel для Windows.

Для расчета затрат на лабораторные исследования были использованы тарифы возмещения расходов медицинских лабораторий на проведение исследований, которые регламентируются генеральным тарифным соглашением Территориального фонда обязательного медицинского страхования г. Санкт-Петербурга. Тариф на 2018 год предусматривал оплату выполненного биохимического исследования в размере 25 рублей 40 копеек.

Результаты и обсуждение

Гемолитические пробы являются одной из самых сложных преаналитических проблем в лабораторной медицине, а профессиональное сообщество продолжает активную дискуссию по стратегиям управления гемолизированными образцами. В отсутствие руководств и директив существует зна-

чительное различие в том, как лаборатории могут поступать с результатами, подверженными интерференции со стороны свободного гемоглобина. По данным опроса, проведенного Д. Кадамуро и соавт., в Австрии 37,1 % лабораторий сообщают результат с комментарием о возможном влиянии гемолиза на результат, при наличии в лабораторной информационной системе (ЛИС) комментария о присутствии гемолиза 42,3 % респондентов удаляют из итогового отчета значение аналита, 19,6 % из участвовавших в опросе предоставляют только общую информацию о наличии гемолиза в образце, а 1 % не сообщают и не используют эту информацию вообще [7].

При построении стратегии управления гемолизированными образцами необходимо помнить, что результат лабораторного теста не является ценностью самой по себе. Клиническая значимость исследования определяется последствиями, которые этот результат будет иметь для здоровья пациента. Проблема управления образцами с гемолизом лежит в области решения двух задач. С одной стороны, передача лечащему врачу данных, полученных в гемолизированном образце, по результатам которых лечащий врач может принять неправильное клиническое решение и нанести вред пациенту. С другой стороны, отказ в выдаче результатов также может иметь неблагоприятные последствия для пациента, поскольку удлиняет время принятия решения лечащим врачом, особенно в ситуациях, когда необходимо не точное значение, а, скорее, ответ на вопрос: «Является ли аналит повышенным или пониженным или лежит в зоне нормальных значений». Решение данной задачи особенно актуально для амбулаторных пациентов, которым показана плановая госпитализация в стационар. Основываясь на этой дилемме и в большинстве случаев имея ограниченные клинические данные по пациентам, лаборатории разрабатывают собственные способы управления результатами теста в гемолизированном образце. Например, в централизованной клинико-диагностической лаборатории Санкт-Петербургского консультативно-диагностического центра для детей при обнаружении в образце пациента гемолиза, превы-

шающего лимит, установленный производителем для исследуемого аналита, ЛИС автоматически добавляет в ячейку с результатом комментарий о возможном влиянии гемолиза на результат. [8] В Университетском госпитале Зальцбурга используется тот же принцип с единственным отличием: результат переносится в ячейку для комментария. Таким образом, внимание клинициста акцентируется на том, что полученный результат может быть искажен гемолизом, но решение о приемлемости этого результата или необходимости получения нового образца лечащий врач принимает самостоятельно. Решение определяется клинической задачей и условиями оказания медицинской помощи. По мнению Д. Кадамуро и соавт., предоставить врачу полную информацию о гемолизе и его влиянии на соответствующий аналит в образце пациента предпочтительнее, чем совсем не сообщать результат [7].

Несомненно, что лучший вариант при получении гемолизированного образца — запросить другую пробу, хотя повторный сбор образцов не всегда возможен. Также получение нового образца крови приводит к дополнительному дискомфорту для пациента, задержке в лечении и увеличению финансовой нагрузки на медицинскую организацию [9]. Эти аспекты приобретают особое значение в амбулаторном звене, где процесс взаимодействия с пациентом сосредоточен во времени и затруднена возможность согласования стратегии по каждому гемолизированному образцу с лечащими врачами.

С целью оценки потенциального медицинского риска в прошлом году мы провели оценку значимости изменений активности АСТ и АЛТ у одних и тех же пациентов в гемолизированных пробах и новых образцах без гемолиза. Было установлено, что в первичных образцах с гемолизом в 51 из 68 случаев для активности АСТ и в 30 из 42 случаев для активности АЛТ результаты пациентов не превышали верхний референсный предел [7]. В связи с тем, что химическая реакция, лежащая в основе определения активности аминотрансфераз, подвержена

интерференции со стороны свободного гемоглобина, этим пациентам было рекомендовано выполнить вторичное исследование в новых образцах для подтверждения достоверности результата. После проведения вторичного измерения АСТ и АЛТ в образце без гемолиза было установлено, что разница между первичным и вторичным измерениями в этих группах находилась в пределах RCV в 85% для АСТ и в пределах 87% для АЛТ. Следовательно, необходимость в запросе повторного образца и выполнении в нем исследования АСТ и АЛТ при описанных условиях не очевидна. Затраты, связанные с выполнением повторных АСТ и АЛТ в этих группах, составили 1295,4 и 762,0 руб. соответственно. Опираясь на оценку достоверности изменений результатов на основании RCV и нахождение результата в пределах референсного интервала, а также исключив запрос повторного образца, можно сохранить 75% от потенциальных затрат на проведение вторичных исследований для АСТ и 73% для АЛТ.

Также было установлено, что в 17 первичных гемолизированных образцах из 68 случаев (25%) для АСТ и 11 из 41 для АЛТ (27%) результат превышал верхний референсный предел аналита. При оценке достоверности изменений выяснилось, что группы состоят из двух категорий: с достоверным измерением активности ферментов и без достоверной разницы между первичным и вторичным исследованиями, установленной на основе RCV [7]. Таким образом, если в образце с гемолизом результат АСТ и АЛТ превышает верхний референсный предел, необходимо провести повторное исследование в образце без гемолиза для того, чтобы получить достоверный результат.

Использование стратегии управления гемолизированными образцами, учитывающего значимость влияния гемолиза на аналит в зависимости от его активности и концентрации в первичном образце, обладает значимым ресурсом для сокращения затрат на вторичные исследования и низким медицинским риском. В данном исследовании запрос нового образца и вто-

ричное исследование АСТ и АЛТ почти в 3/4 случаев не изменили мнение врача о пациенте, но отодвинули время получения результата на несколько дней, привели к дополнительным затратам на выполнение повторного исследования и беспокойству для пациента. Предлагаемый нами подход прост в реализации: автоматизированное измерение индекса гемолиза в каждом образце и внесение комментария к каждому результату в случае присутствия гемолиза в образце, реализуемое через ЛИС. При этом лечащий врач имеет возможность принять решение о приемлемости результата, опираясь на клиническую задачу при лечении пациента. Рациональная стратегия управления гемолизированными образцами обладает потенциалом для снижения финансовых затрат на проведение повторных лабораторных исследований и согласуется с концепцией обеспечения безопасного оказания медицинской помощи.

Список литературы

1. Гильманов А. А., Хайруллин И. И. и соавт. Централизация лабораторной службы государственных медицинских учреждений города на базе клинично-диагностической лаборатории крупного многопрофильного стационара // Менеджер здравоохранения. — 2013. — № 11. — С. 14–22.
2. Сорокина Н. А., Ярцев С. Е. и соавт. Роль централизованной клинично-диагностической лаборатории в управлении лабораторными назначениями // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. — 2016. — Т. 4, № 23. — С. 5–9.
3. Heireman L, Van Geel P., et al Causes, consequences and management of sample hemolysis in the clinical laboratory // Clin Biochem. — 2017. — N 50 (18). — P. 1317–1322.
4. Lippi G., Blanckaert N. et al. Causes, consequences, detection, and prevention of identification errors in laboratory diagnostics // Clin. Chem. Lab. Med. — 2009. — Vol. 47. — P. 143–153.
5. Cadamuro J, von Meyer A, et al. Hemolysis rates in blood samples: differences between blood collected by clinicians and nurses and the effect of phlebotomy training // Clin Chem Lab Med. — 2016. — № 54 (12). — P. 1987–1992.
6. Клименкова О. А., Пашкова В. П. и соавт. Практический подход к управлению гемолизированными образцами в лаборатории практике // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. — 2018. — № 26, том 3. — С. 22–24.
7. Cadamuro J, Mrazek C, et al. To report or not to report: a proposal on how to deal with altered test results in hemolytic samples // Clin Chem Lab Med. — 2017. — N 55 (8). — P. 1109–1111.
8. Клименкова О. А., Берестовская В. С., Иванов Г. А. На пути к гармонизации измерения индекса гемолиза // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. — 2014. — Т. 1, № 2. — С. 57–60.
9. Green SF. The cost of poor blood specimen quality and errors in preanalytical processes // Clin Biochem. — 2013. — N 46. — P. 1175–1179.

Решение задачи повышения специфичности современных тест-систем для диагностики ToRCH-инфекций на примере IgM CMV

С. С. Васькова, К.М.Н., гл. врач

СПб ГБУЗ «Городской консультативно-диагностический центр (вирусологический)», г. Санкт-Петербург

Increasing specificity of modern test-systems for diagnosis of ToRCH-infections on example of IgM CMV

S.S. Vashukova

City Consultative and Diagnostic Center (virological), Saint Petersburg, Russia

Резюме

Цель исследования. Обосновать формат тестов для лабораторной диагностики ToRCH-инфекций, выявить причины недостаточной чувствительности и специфичности иммуноферментных тестов на примере определения иммуноглобулинов класса М против цитомегаловируса, предложить способы решения. Выводы. Метод «мю-захвата» решает проблему специфичности, а вариант последовательных инкубаций с конъюгатами — первая с биотином, вторая со стрептавидином — усиливает сигнал путем увеличения числа ковалентных связей, что повышает чувствительность теста.

Ключевые слова: ToRCH-инфекции, иммуноглобулины класса М (IgM), цитомегаловирусная инфекция, capture-метод захвата, конъюгат биотин, конъюгат стрептавидин.

Summary

The aim of the study was to substantiate the format of tests for laboratory diagnosis of ToRCH-infections, to identify the causes of insufficient sensitivity and specificity of the ELISA tests on the example of determination of immunoglobulin M against cytomegalovirus, and to offer the solutions. Conclusions. The method of mu-capture solves the problem of specificity, and the variant of sequential incubation with conjugates — the first incubation with Biotin, the second with streptavidin — enhances the signal by increasing the number of covalent bonds, which increases the sensitivity of the test.

Key words: ToRCH-infections, M-class immunoglobulins (IgM), cytomegalovirus infection, capture- method, conjugate biotin, conjugate streptavidin.

Внутриутробные инфекции (ВУИ) — это инфекционные заболевания эмбриона, плода и новорожденного, заражение которыми происходит внутриутробно, и путь передачи ВУИ всегда вертикальный — от матери к плоду.

Возбудителями ВУИ могут быть вирусы, бактерии, реже — паразиты. Результатом инфицирования могут быть гибель плода, выкидыш, врожденные пороки развития или острый инфекционный процесс у новорожденного. Нередко, если нет четкого этиологического диагноза, но есть отклонения в развитии новорожденного, говорят о ToRCH-синдроме.

В 1971 году Всемирная организация здравоохранения из всего перечня ВУИ выделила четыре инфекции, и собирательный термин ToRCH получил название по этим четырем возбудителям ВУИ:

- Т — *Toxoplasma gondii*;
- R — *Rubella*;
- С — *Cytomegalovirus*;
- Н — *Herpes simplex virus*.

ToRCH-инфекции были выделены в отдельную группу по следующим признакам.

1. Трансплацентарное заражение плода при первичной инфекции или при реактивации латентной вторичной инфекции (в частности, цитомегалии, герпетической инфекции), которое вызвано изменением иммунитета при беременности.
2. Тератогенное действие на плод зависит от срока беременности: чем меньше срок беременности, на котором произошло инфицирование, тем больше риск заражения и тяжелее степень поражения плода. В I триместре беременности возникают тяжелые пороки развития или гибель плода, во II–III триместрах — множественные поражения органов плода, приводящие к инвалидизации ребенка.
3. Клинические проявления ToRCH-инфекций: микроцефалия, гидроцефалия, хориоретинит, глухота, катаракта, пороки сердца, кожные поражения, скелетно-мышечные нарушения, что отличает ToRCH-инфекции от других ВУИ.

Сегодня основные проявления врожденной краснухи известны как триада Грега: поражения глаз,

глухота, дефекты развития сердечно-сосудистой системы.

Сходство клинических проявлений ToRCH-синдрома у плода исключает возможность постановки диагноза только на основании клинической картины, в связи с чем возрастает роль специфической лабораторной диагностики. Программа скрининга и ведения беременных при ToRCH-инфекциях отличается от других ВУИ.

Для российского здравоохранения ToRCH-инфекции, как наиболее значимые причины смерти детей в неонатальном периоде и инвалидизации детей, важны и обозначены законодательно: диагностика ToRCH-инфекций представлена широко во всех государственных лабораториях РФ.

Основным скрининговым методом диагностики ToRCH-инфекций на сегодняшний день является иммуноферментный анализ (ИФА), а в качестве дополнительных методов используют иммуноблот и ПЦР.

ИФА ToRCH-инфекций определяет наличие антител и степень их созревания. Сила иммунного ответа при любой инфекции нарастает постепенно, поэтапно вовлекая каждый

из компонентов иммунной системы на определенной стадии заболевания. Выявив активность отдельного звена иммунитета, можно судить о давности инфицирования. Первыми образуются IgM-антитела, затем присоединяются IgA, Ig G. Постепенно начинают преобладать IgG-антитела. Своего пика количество IgG-антител в крови достигает приблизительно за неделю, держится 1–3 месяца, затем медленно снижается.

При повторном поступлении антигена в организм выработка антител происходит быстрее и в большем объеме, при этом образуются сразу IgG-антитела. Иммунная система способна запоминать свои встречи с некоторыми антигенами очень надолго, этим объясняется, например, пожизненный иммунитет к токсоплазмозу и краснухе.

IgG-антитела, проникающие через плаценту, которые обнаруживаются в крови новорожденного, по происхождению материнские. IgM-антитела не проникают через плаценту; если они определяются в крови новорожденного, то они его собственные. В таком случае думают об острой инфекции у ребенка. Это важный тест: присутствие антигенспецифических IgM дает возможность первично выявить период острой фазы. Поэтому определяют одновременно наличие IgG- и IgM-антител у беременных женщин на весь комплекс ToRCH-инфекций, и при наличии IgM-антител подтверждают их, а при обнаружении антител класса IgG определяют их количество и смотрят на показатель avidности. Уровень avidности IgG пропорционален дозе и природе антигена, а также индивидуальному уровню соматических мутаций. Низкие дозы антигена приводят к более быстрому возрастанию avidности, а высокие дозы — более медленному. Таким образом, низкоавидные антитела продуцируются в течение первой стадии инфекции, когда содержание антигенов обычно высокое.

Остановимся более подробно на тест-системе для определения IgM-антител. Это самый сложный в исполнении тест.

Лаборатории сталкиваются на практике с двумя проблемами: много ложноположительных (число доходит до десяти с планшета) результатов, а также встречаются ложноотрицательные.

Рассмотрим возможные причины низкой чувствительности и специфичности на примере IgM против цитомегаловируса (IgM ЦМВ).

Прежде всего специфичность снижают иммуноглобулины класса G (IgG). IgG после перенесенной (латентной) инфекции могут успешно конкурировать за антиген с IgM, образовавшимся в ответ на новую инфекцию (IgG меньшего размера, чем IgM). Также специфичность ограничивает ревматоидный фактор (РФ). В «сэндвиче» РФ может образовать схожий комплекс.

Третьей причиной понижения специфичности традиционно считаются перекрестные реакции. Вирус герпеса (HSV) и вирус Эпштейна-Барра эволюционно родственны ЦМВ и имеют с ним множественные общие антигенные детерминанты [Чарльз Ли, Мина Гадеши, Деннис Састерсик, Рома Леви «Использование разных форматов методов серологического определения антиген-специфического IgM при диагностике инфекционных заболеваний», 2005].

Для получения точных результатов причины возникновения низкой специфичности должны быть исключены.

Одним из обязательных условий наиболее полного выделения IgM является *capture*-метод (μ -захват). Безусловно, если лаборатория в предложениях поставщиков видит как альтернативный метод определения IgM-*capture*, то выбор тест-системы в его пользу.

И это вполне обоснованно. Суть *capture*-метода состоит в том, что в качестве иммуносорбента в лунки планшета нанесены не обычные антигены, а антитела против μ -цепей Ig M.

Такие антитела высокоспецифичны к IgM, поскольку ориентированы на консервативный район тяжелой μ -цепи Ig M. Конкурирующие IgG и ревматоидный фактор не могут выявляться этим методом, поскольку аминокислотная последовательность консервативного района тяжелой Y-цепи РФ отличается от аналогичной последовательности μ -цепи Ig M.

Исключить перекрестные реакции, возникающие преимущественно из-за наличия в сыворотке родственных цитомегаловирусу герпесвирусов (вирус Эпштейна-Барр, вирус ветряной оспы, вирус простого герпеса) позволяют конъюгированные антигены ЦМВ, ко-

торые также участвуют в образовании сэндвича. Специфический антиген входит в состав конъюгатов российских и зарубежных разработчиков. Однако наиболее полно решить проблему перекрестных инфекций позволяет решить лиофилизат антигена, который непосредственно перед инкубацией вносится в биотилированный конъюгат.

Пример такого решения удачно воспроизведен в тест-системе бренда Radim (владелец РУ РФ ГК «Алкор Био»), и это отражается на повышении специфичности. Диагностическая специфичность тест-системы «Цитомегаловирус IgM» Radim составляет 100 %, в представленном методе отсутствует влияние ревматоидного фактора и IgM других вирусов герпеса (вируса Эпштейна-Барр, вируса ветряной оспы и вируса простого герпеса).

Постановка теста в такой модификации полностью избавляет от ложноположительных результатов.

Обращая еще раз внимание на сложность определения IgM, и акцентируя его на специфичности, не нужно забывать о чувствительности, вернее, о балансе между чувствительностью и специфичностью. Те же отдельные IgG меньшего размера, конкурируя с антигенспецифическими IgM за место связывания, увеличивают шанс пропустить Ig M.

Часто на практике *capture*-метод обеспечивает высокую специфичность, но не во всех тест-системах дает оптимальную чувствительность.

В последнее время в лабораторной диагностике существует модный тренд: короткое время постановки теста. Действительно, российские производители конкурируют между собой за общее время инкубаций. Если это не сказывается на качестве тестов, то это вполне понятно и приветствуется лабораториями. Но в некоторых тестах, в частности, ЦМВ IgM, в погоне за коротким временем постановки страдает чувствительность.

Установлено, что многостадийность вообще положительно влияет на чувствительность: двух- и более стадийные наборы обладают лучшими диагностическими характеристиками.

Обращаясь к классике, хочется рассмотреть именно варианты инкубаций с конъюгатами более подробно.

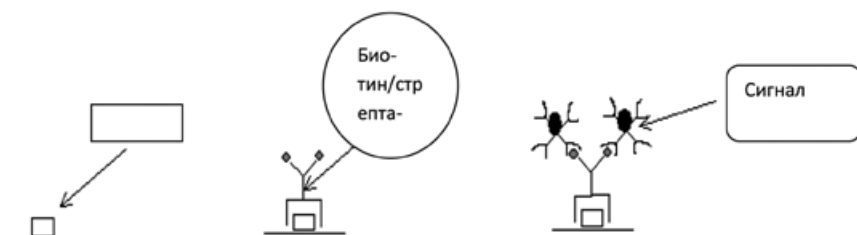


Рисунок 1. Инкубация с одним конъюгатом: биотин / стрептавидин.



Рисунок 2. Две последовательные инкубации с двумя конъюгатами.

Таблица 1
Результаты исследований на краснуху методом ИФА тест-систем формата RADIM в 2015–2016 годах

Обследовано человек	Обнаружено	
	Абс. число	Процент
Всего 1703		
IgM-антитела, 1703	1	0,05
IgG-антитела, 1097	981	89,40
В т.ч. беременных 213		
IgM-антитела, 213	0 (20?)	0 (9,4%)
IgG-антитела, 118	100	84,70
В т.ч. детей 1490		
IgM-антитела, 1490	0	0
IgG-антитела, 269	227	84,30

Таблица 2
Результаты исследований на TORCH-инфекции новорожденных детей ДГБ № 17 в 2015–2016 годах

Наименование инфекции	Обследовано	Обнаружено	
		Абс. число	Процент
Токсоплазмоз, IgM	816	1	0,1
Токсоплазмоз, IgG	550	181	32,9
Краснуха, IgM	604	0	0
Краснуха, IgG	368	232	63,0
Цитомегалия, IgM	911	11	1,2
Цитомегалия, IgG	812	638	78,6
Герпес простой, IgM	555	5	0,9
Герпес простой IgG	410	348	84,9

В качестве конъюгата используется систему «биотин / стрептавидин», основанную на высоком родстве этих компонентов. Биотин — низкомолекулярный растворимый витамин, стрептавидин — бактериальный белок. Система «биотин / стрептавидин» (БС) дает дополнительные участки связывания и используется в реагентах как для закрытых автоматических ана-

лизаторов (фирм Roche, Abbott и др.), а также всех открытых у всех российских и зарубежных производителей.

На рис. 1 и 2 представлены два варианта инкубаций с конъюгатами: одна инкубация с одним конъюгатом (биотин / стрептавидин) и две последовательные инкубации с двумя конъюгатами (вначале с биотином, затем со стрептавидином).

Видно значительное увеличение ковалентных связей на рис. 2, что ведет к усилению сигнала, то есть значительному повышению чувствительности теста (Н. Кузьмина, «Моноклональные антитела»).

Две последовательные инкубации с двумя конъюгатами (с биотином, а затем со стрептавидином) представлены в тест-системах IgM ToRCH-инфекций бренда Radim. Благодаря многостадийности постановки тесты Radim обладают высокой чувствительностью.

Тест-системы бренда Radim на протяжении многих лет используются крупными диагностическими лабораториями Санкт-Петербурга, экспертными лабораториями. Статистические данные СПб ГБУЗ «Городской консультативно-диагностический центр (вирусологический)».

У 20 обследованных на IgM-антитела ранее выявленные ложноположительные результаты после постановки на тест-системах бренда Radim были сняты даже по краснухе (в табл. под знаком вопроса).

Заключение

Множественные варианты формата анализа, основанного на связывании и детекции антител класса IgM ToRCH-инфекций (в том числе цитомегаловирусной инфекции) могут быть скомбинированы в различные методики для повышения достоверности результата. В конечном итоге формат теста зависит от разнообразных факторов, влияющих на специфичность и чувствительность. И хотя теоретически можно обосновать то, что кажется лучшим выбором, определение наиболее эффективного метода нужно поручить практике. Тест, оптимально соответствующий требованиям высокой чувствительности и специфичности, может применяться на практике в соответствии с общей клинической картиной для достижения точного результата.

Список литературы

1. Н. Кузьмина. Моноклональные антитела. 1995–2013.
2. Ч. Ли, М. Гадеши, Д. Састерсик, Р. Леви. Использование разных форматов методов серологического определения антиген-специфического IgM при диагностике инфекционных заболеваний. 2005.

Современная тактика лабораторной диагностики нарушений обмена железа во время беременности

С. В. Хабаров, д.м.н., заслуженный врач России, проф. кафедры акушерства и гинекологии¹, сотрудник кафедры клинической лабораторной диагностики и патологической анатомии², гл. врач³
О. В. Денисова, к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики и патологической анатомии²

¹Медицинский институт ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет», г. Тула

²Академия постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий» ФМБА России, г. Москва

³ООО «ВИТРОМЕД», г. Москва

Modern tactics laboratory diagnosis of disorders of iron metabolism during pregnancy

S. V. Khabarov, O. V. Denisova

Medical Institute Tula State University, Tula, Academy of Postgraduate Education Federal Research and Clinical Centre of Specialized Medical Assistance and Medical Technologies, Moscow, VITROMED Co., Moscow; Russia

Резюме

Современные терапевтические подходы способны существенно корректировать ЖДС и нормализовать обмен железа у женщин в период гестации, но для этого практикующему врачу необходимо принять правильное решение о проведении как скрининговых исследований в данной группе пациентов, так и о выборе оптимальной персонализированной лабораторной диагностики у беременных женщин с клинически выраженными патологическими изменениями.

Ключевые слова: **анемия беременных, латентный железодефицит, эритропоэз, транспорт железа, сывороточный ферритин, гепсидин.**

Summary

Modern therapeutic approaches can significantly correct iron-deficient co and normalize iron metabolism in women during gestation, but for this, the practitioner must make the right decision to conduct both screening studies in this group of patients and to choose the optimal personalized laboratory diagnosis in pregnant women with clinically expressed pathological changes.

Key words: **anemia of pregnant women, latent iron deficiency, erythropoiesis, iron transport, serum ferritin, hepsidin.**

Железо — один из 15 эссенциальных микроэлементов, имеющий важное значение в функционировании клеток практически всех систем организма и участвующий в транспорте и депонировании кислорода, базовом клеточном метаболизме, окислительно-восстановительных процессах с детоксикацией свободных радикалов, росте и пролиферации клеток, механизмах общей и тканевой резистентности, регуляции кроветворения, антимикробной активности, инициации и ингибирования более чем 70 различных ферментов [1, 2, 3].

В результате сидеропении повреждаются не только физическая, неврологическая, терморегулятивная, но и умственная функции; страдают поведение, когнитивные способности и толерантность к любым физическим нагрузкам [4].

Обмен железа в организме осуществляется в несколько этапов: абсорбция в ЖКТ, перенос, внутрикле-

точный метаболизм и депонирование, утилизация и реутилизация, дальнейшая экскреция [4].

Запас этого биометалла в теле человека находится в пределах 2 500–4 000 мг преимущественно в соединении с сывороточным ферритином (СФ). Ежедневные потери у женщины вне менструации составляют около 1 мг, за каждое менструальное кровотечение она дополнительно расходует 15–30 мг железа, и организм способен компенсировать эти утраты до начала следующего цикла. Беременность увеличивает необходимость в железе в I триместре на 16 %, во II — на 59 %, в III — на 67 %. Полностью за весь период гестации и грудного вскармливания расходуется до 1 200–1 400 мг железа [5, 6].

Железодефицитная анемия (ЖДА) — одно из распространенных социально значимых заболеваний на планете, соизмеримое с эпиде-

мией, которое затрагивает почти 2 млрд человек (из 7,3 млрд живущих в мире), а лабораторные признаки дефицита железа могут быть еще у 3,6 млрд что составляет в общей сложности 74 % населения Земли [7, 8]. Эксперты ВОЗ считают, что среди разнообразных анемических состояний ЖДА, развивающаяся вследствие абсолютного гипосидероза в организме, составляет около 80 % всех анемий. Доля ЖДА в общей популяции беременных, определенная по уровню гемоглобина (HGB/Hb) в венозной крови, колеблется от 21 до 80 % и от 49 до 99 % случаев, определенная по уровню сывороточного железа (СЖ) [9, 10, 11].

Для России проблема состояний, связанных с дефицитом железа, крайне важна. Данные Минздрава РФ демонстрируют, что 45 % завершенных беременностей сопровождаются различной степени тяжести ЖДА. Результаты независимых исследований

говорят о еще большей частоте этого заболевания — до 60%. Уровень же предлатентного и латентного ферродефицита в период гестации достигает 92% случаев [6, 12, 13]. По мнению отечественных ученых, к завершению этого ответственного этапа в жизни женщины железодефицитное состояние (ЖДС) формируется почти у каждой беременной [1, 2, 10, 11].

Важнейшими свойствами ЖДС являются их успешная коррекционная обратимость и реальность их профилактики. Даже на самых начальных латентных стадиях гипосидероз имеет лабораторные признаки, которые позволяют его обнаруживать и, следовательно, проводить своевременное лечение. Хотя диагностика и терапия ЖДС находятся на этапе согласованного междисциплинарного взаимодействия, обследовать и лечить беременных с этими нарушениями должны в первую очередь гематологи, терапевты, врачи семейной практики. Основная же задача акушера заключается в профилактике акушерских и перинатальных осложнений у больных женщин с учетом специфики экстрагенитальных поражений. Именно это регламентируется стандартами и порядком оказания медицинской помощи беременным женщинам по профилю «акушерство и гинекология» (Приказ МЗ РФ от 01.11.2012 № 572н) [14].

В основе патогенеза ЖДА лежит нарушение равновесия между расходом и поступлением железа с пищей, изменениях при его абсорбции в кишечнике, сокращении ферроресурсов в депо при хронической кровопотере, повышенном потреблении железа матерью и плодом в условиях его недостаточного поступления и (или) усвоения за период беременности и грудного вскармливания [15]. При этом баланс этого биометалла находится на грани дефицита и целый ряд разнообразных факторов, уменьшающих поступление железа или увеличивающих его расход, приводят к образованию ЖДА.

Выделяют анемию, сформировавшуюся впервые на этапе беременности, и догестационные или хронические. ЖДС у беременных могут развиваться в любом сроке гестации.

Различают три последовательные стадии железодефицита по Гейнриху (Н. С. Heinrich, 1970): предлатентный (ПДЖ), латентный (ЛДЖ) и манифестный (МДЖ) или собственно ЖДА.

Для ПДЖ характерно уменьшение запасов микроэлемента во всех тканях организма без снижения его расхода на эритропоэз. Отсутствуют клинические симптомы и лабораторные признаки ЖДС. При использовании различных методов клинических исследований крови каких-либо проявлений недостаточности железа не обнаруживают. Это приводит к запоздалой диагностике, так как данную стадию лечащие врачи зачастую пропускают. На сегодня единственным предиктором, позволяющим реально выявить истощение депонированного железа, является радиоизотопное исследование абсорбции $^{59}\text{Fe}^{3+}$: организм отвечает на ферродефицит усилением всасывания микроэлемента в проксимальных отделах тонкого кишечника. Примерно в 60% случаев отмечается рост уровня абсорбции более 50% (при нормальных величинах — до 10–15%).

Следующая стадия — ЛДЖ — выявляется при полном истощении запасов железа и эритропоэтина в костном мозге и постепенном уменьшении активности ферресохраняющих ферментов, что зачастую сопровождается симптомами гипосидероза, обусловленными тканевым железодефицитом (мышечная слабость, нарушение функции сфинктеров, поражения слизистых оболочек: атрофический глоссит, трещины в углах рта («заеды»), ангулярный стоматит, повышенная склонность к кариесу и пародонтозу, сухость и бледность кожных покровов, выпадение волос, ломкость и слоистость ногтевых пластин, извращение вкуса и (или) обоняния, нарушения при глотании твердой и (или) сухой пищи — сидеропеническая дисфагия) [3, 6]. ЛДЖ характеризуется отсутствием явных клинических признаков ЖДС и гематологическими показателями (содержание гемоглобина, гематокрита и эритроцитов) в пределах нижней границы референтного диапазона, отсутстви-

ем морфологических изменений эритроцитов), однако обнаруживается уменьшение концентрации СФ.

Признаки сидеропении при скрытых формах ЖДС в гестационном периоде не всегда воспринимаются именно в качестве симптомов ферродефицита в организме. Пациенты (а часто и врачи) нередко считают их вариантом нормы в гестационном периоде.

Отсутствие терапии беременных с ЛДЖ ферропрепаратами приводит к дальнейшему значимому снижению гемоглобинового фонда железа и формированию ЖДА. МДЖ проявляется неспецифическими симптомами гипоксии (слабость, утомляемость, головокружение, шум в ушах, сердцебиение, одышка при незначительной физической нагрузке) и вышеперечисленными сидеропеническими признаками [6, 10, 16].

У беременных железодефицитный синдром проявляется в виде абсолютного или функционального дефицита железа и его недостатка на фоне воспаления, связанного с повышенной продукцией гепсидина (анемия хронических болезней).

Изменения в организме беременных женщин при ЖДА, приводящие к волеическим, гормональным, иммунным отклонениям, нарушают течение гестации даже при отсутствии клинических проявлений заболевания и способствуют формированию акушерских осложнений, уровень которых напрямую зависит от степени выраженности анемии [17, 18]. Ферродефицит достоверно повышает частоту невынашивания беременности в различные ее сроки, фетоплацентарной недостаточности с развитием синдрома задержки роста плода, нарушений родовой деятельности, инфекционных осложнений и гипогалактии у родильниц [2, 19, 20]. При тяжелых формах ЖДА возможно возникновение патологических акушерских состояний в виде преждевременной отслойки плаценты, кровотечений в родах и послеродовом периоде. По данным американских исследователей, до 50% случаев материнской смертности — прямой или опосредованный результат ЖДА.

Кроме того, недостаточное накопление железа в антенатальном периоде является одной из ведущих причин формирования в дальнейшем анемии у новорожденных, гипотрофии, отставания в психомоторном и умственном развитии детей раннего возраста [11, 21, 22].

По окончании беременности, родов и лактации адекватный уровень железа восстанавливается крайне медленно, так как всасывание пищевого железа в ЖКТ ограничено. Абсорбция микроэлемента совершается преимущественно в двенадцатиперстной кишке, где у взрослого человека из пищи его ежедневно усваивается не более 2 мг. Организм в первую очередь наполняет железом Нб, а лишь затем все остальные ферменты, поэтому уровень Нб в пределах нормативных показателей в составе крови еще не означает, что в организме в целом железа достаточно.

Диагноз ЖДС основывается на клинических признаках и уровне гематологических показателей, и врачу-клиницисту необходимо сделать оптимальный выбор пути лабораторного поиска в каждом конкретном случае с учетом принципов доказательной медицины.

Тесты, на которых базируется алгоритм лабораторной диагностики дефицита железа в организме (iron status), условно можно разделить на три группы в зависимости от этапов метаболизма изучаемого биометалла.

Оценка эритропоэза:

- гемоглобин (HGB/Hb);
- гематокрит (HCT/Ht);
- эритроциты (RBC);
- средний объем эритроцита (MCV);
- среднее содержание (MCH) и средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC);
- ширина распределения эритроцитов по объему — индекс анизоцитоза (RDW).

Для оценки транспорта железа в сыворотке используются:

- трансферрин (ТФ) — белок, транспортирующий ионы Fe^{3+} от места их всасывания и (или) высвобождения в процессе рас-

пада эритроцитов в печени и селезенке до основных мест использования или хранения (в основном костный мозг, печень, селезенка, скелетные мышцы);

- сывороточное железо (СЖ) — количество железа, связанного с ТФ и транспортируемого к клеткам-потребителям;
- общая (максимальная) железосвязывающая способность сыворотки крови (ОЖСС) — максимальное количество железа, которое может присоединить ТФ до своего полного насыщения;
- два расчетных показателя: латентная (ненасыщенная) железосвязывающая способность сыворотки крови (ЛЖСС), отражающая способность к связыванию с ТФ дополнительного количества железа и представляющая собой разницу между ОЖСС и реальным содержанием СЖ, и коэффициент насыщения трансферрина железом (КНТ), вычисляемый по соотношению концентрации СЖ к ОЖСС.

В оценочные тесты депонирования и мобилизации вошел сывороточный ферритин (СФ) — белковый комплекс, концентрация которого показывает размеры запасов внутриклеточного депонированного в нетоксической форме железа.

Ведущим лабораторным симптомокомплексом при ЖДС продолжает считаться уменьшение количества эритроцитов и содержания Нб в единице объема крови ниже нормальных величин. Вместе с тем следует помнить, что гипогемоглобинемия слишком поздно сигнализирует о железодефиците и говорит об уже глубоко запущенном состоянии [23, 24].

Учитываются также HCT/Ht и структурные показатели, позволяющие понять процессы, протекающие в эритроците, — MCH, MCHC, MCV, которые снижаются при анемии, и RDW, указывающий на морфологические изменения в нем (гипохромия, анизохромия, анизоцитоз, микроцитоз и пойкилоцитоз), напротив, повышающийся при данном заболевании.

Уровень лейкоцитов и тромбоцитов при ЖДА сохраняется в пределах референсных величин. При хронических кровопотерях может наблюдаться незначительная тромбопения или тромбоцитоз. СОЭ чаще всего остается нормальной.

При продолжительном течении ЖДА в анализе крови отмечается снижение числа эритроцитов, гемоглобина, может наблюдаться лейкопения с нейтропенией, СОЭ — в норме или несущественно повышена.

Наиболее точно о сидеропеническом характере анемии говорят феррокинетические показатели, используемые в современных клинических лабораторных технологиях. Наравне с измерением концентрации СЖ диагностическое значение также имеет оценка уровня СФ, ОЖСС, ТФ и КНТ.

На сегодня золотым стандартом диагностики дефицита запасов железа, в том числе и у беременных, остается определение СФ, снижение уровня которого является самым чувствительным и специфичным признаком сидеропении [2, 12, 25]. Однако при этом нельзя забывать, что уровень СФ не всегда отражает истинные запасы железа в организме и служит маркером тканевых депо железа только в отсутствие инфекционно-воспалительных, опухолевых и деструктивных процессов в организме, при которых он бывает ложноповышенным — оценивать его концентрацию следует лишь в сопоставлении с СОЭ или с уровнем С-реактивного белка [26, 27].

В последние десятилетия в сыворотке крови для характеристики гипосидероза определяют концентрацию растворимых рецепторов к трансферрину (sTFR), уровень которых отражает адекватное поступление железа в клетки эритропоэза и повышается уже при ЛДЖ, но остается неизменным при беременности и воспалительных процессах [28].

В 2000–2001 годах исследователи Park и Krause независимо друг от друга сообщили о выделении белка воспаления гепсидина, который, выступая главным гуморальным регулятором метаболизма железа, может тормозить или ускорять кишечное всасывание этого биометалла. Рост его уровня

повышается при всех воспалительных заболеваниях, опухолевых процессах и блокирует выход железа в кровь. Гепсидин является прямым медиатором в патогенезе анемии хронических заболеваний, непосредственно снижая всасывание и метаболизм железа. Анемии воспаления у беременных обусловлены в первую очередь аккумулярованием железа в макрофагах, индуцируемых гепсидином [9, 29].

В организме гиперсидероз приводит к активизации синтеза гепсидина, что тормозит поглощение железа в кишечнике и его реутилизацию из депо. В свою очередь, уменьшение абсорбции железа в ЖКТ ведет к угнетению образования гепсидина в печени и по принципу обратной связи — к восстановлению захвата микроэлемента из пищи и кишечника [3, 30].

У пациентов с ЛДЖ лабораторные признаки обмена железа характеризуются снижением концентрации СЖ и СФ, ростом содержания ОЖСС и ТФ, значительным увеличением латентной железосвязывающей способности и уменьшением КТН.

Синтезирование гемоглобина на стадии ЛДЖ еще не нарушается, поэтому эритроцитарные показатели (Hb, RBC, MCV, MCH, MCHC) удерживаются в пределах нормы.

ЖДА характеризуется нарушением процессов гемоглобинообразования со снижением значений гематокрита, RBC, MCV, MCH, MCHC. Уменьшается количество эритроцитов и постепенно увеличивается RDW, что коррелирует с существованием смешанного анизоцитоза и анизохромии эритроцитов в мазках крови. Происходят дальнейшие изменения в феррокинетических показателях: снижение содержания СЖ и СФ, рост уровней ОЖСС и ТФ, увеличение ЛЖСС и прогрессирующее уменьшение коэффициента насыщения трансферрина железом [31].

В скрининговый тест при первом обращении беременной должно входить определение восьми базовых показателей обмена железа (Hb, Ht, RBC, MCV, MCH, MCHC, RDW, СФ). При отсутствии лабораторных возможностей для определения концентрации СФ диагностику ЖДС проводят на основании гематологических критериев.

ЖДА во время беременности приходится дифференцировать с физиологической гемодилюцией, связанной в основном с увеличением абсолютного объема плазмы и в гораздо меньшей степени — форменных элементов. Со второй половины гестации происходит разведение эритроцитов в большем количестве жидкости, что приводит к относительному уменьшению их числа. Для гемодилюции характерно при нормальном цветном показателе, который изменяется только при анемии, одновременное весьма переменное снижение значений Hb и Ht, а также уровня эритроцитов при отсутствии морфологических трансформаций в них [11].

Компенсаторное значение гемодилюции у беременных состоит в облегчении процесса прохождения через плаценту питательных веществ и газов, а при кровопотере — в уменьшении истинного дефицита эритроцитов.

Клинические симптомы проявления анемии (признаки гипоксического характера) часто не соответствуют лабораторным критериям ее тяжести.

При оценке результатов исследования СЖ необходимо учитывать выраженные суточные, недельные и сезонные циркадные ритмы его уровня. Этот маркер наиболее высок в утренний период (разница до 40%). Концентрация СЖ у женщин также связана с менструальным циклом (максимальное содержание — в лютеиновую фазу, самое низкое — после менструации). В первые недели беременности содержание железа в сыворотке крови также выше, чем в последнем ее триместре. Уровень СЖ растет на 2–4-й день по окончании терапии железосодержащими лекарственными веществами, а затем снижается. Для получения корректных результатов взятие крови необходимо проводить спустя 10–12 дней после отмены ферросодержащих препаратов. Значительное потребление мясных продуктов перед исследованием может сопровождаться гиперсидеремией и способно исказить полученные лабораторные результаты [32, 33].

СФ, так же как ТФ, напротив, не имеет суточных колебаний. Предпочтительно, чтобы одну и ту же порцию крови использовали для

установления уровней СФ, ТФ и СЖ. Контрольное определение СФ осуществляют не ранее, чем через 14 дней после начала приема препаратов железа внутрь и через месяц по окончании их парентерального введения.

Заключение

Современные терапевтические подходы способны существенно корректировать ЖДС и нормализовать обмен железа у женщин в период гестации, но для этого практикующему врачу необходимо принять правильное решение о проведении как скрининговых исследований в данной группе пациентов, так и о выборе оптимальной персонализированной лабораторной диагностики у беременных женщин с клинически выраженными патологическими изменениями.

Список литературы

1. Ломова Н. А., Дубровина Н. В., Кан Н. Е., Тютюнник В. А. Быстрая коррекция дефицита железа у беременных: обзор современных возможностей. *Русский медицинский журнал*. 2017; 2: 121–124.
2. Железодефицитные состояния в акушерско-гинекологической практике: информационный бюллетень / авт.-сост. И. Д. Ипастова, Ю. А. Бриль; под ред. Т. В. Галиной. — М.: Редакция журнала Status Praesens, 2016. — 24 с.
3. Лукина Е. А., Деженкова А. В. Метаболизм железа в норме и при патологии. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2015; 4: 355–361.
4. Долгов В. В., Луговская С. А., Почтарь М. Е., Федорова М. М. Лабораторная диагностика нарушений обмена железа: учебное пособие. 3-е изд., перераб. М. — Тверь: Триада, 2014. 74 с.: ил.
5. Короткова Н. А., Прилепская В. Н. Анемия беременных. Современная профилактика и терапия. Эффективная фармакотерапия. *Акушерство и гинекология*. 2016; 1–2 (14): С. 34–41.
6. Тихомиров А. Л., Сарсания С. И., Ночевкин Е. В. Железодефицитные состояния в акушерстве и гинекологии. Грани проблемы. Современное лечение. *Русский медицинский журнал. Мать и дитя. Акушерство и гинекология*. 2011; 19 (1): 24–33.
7. Протопопова Т. А. Железодефицитная анемия и беременность. *Русский медицинский журнал*. 2012; 17: 862–867.
8. Auerbach M., Deloughery T., Auerbach M. Single-dose intravenous iron for iron deficiency: a new paradigm. *Hematol. Am Soc Hem. Educ Program*. 2016; 1: 57–66.
9. Демидов В. Г., Морщакова Е. Ф., Румянцев А. Г. Патогенез и лечение анемий беременных. — М.: Практическая медицина, 2015. 224 с.
10. Тютюнник В. А., Кан Н. Е., Ломова Н. А., Докучева Р. С.-Э. Железодефицитные состояния у беременных и родильниц. *Медицинский совет. Мать и дитя*. 2017; 13: 58–62.

11. Логутова А.С. Анемия у беременных: вопросы этиологии, диагностики и лечения. Русский медицинский журнал. 2016; 5: 290–293.
12. Коноводова Е.Н., Бурлев В.А. Железодефицитные состояния у беременных и родильниц. Акушерство и гинекология. 2012; 1: 137–142.
13. Серов В.Н., Бурлев В.А., Коноводова Е.Н., Протопопова Т.А., Орджоникидзе Н.В., Тютюнник В.Л. Профилактика манифестного дефицита железа у беременных и родильниц (медицинская технология): Разрешение (серия АА № 0000150) Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития на применение новой медицинской технологии ФС № 2010/004 от 18.01.2010. М.: МедЭкспертПресс, 2010. 16 с.
14. Апресян С.В. Беременность и роды при экстрагенитальных заболеваниях. Под ред. В.Е. Радзинского. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 536 с.
15. Shao J., Lou J., Rao R., Georgieff M.K., Kaciroti N., Felt B.T., Zhao Z.Y., Lozoff B. Maternal serum ferritin concentration is positively associated with newborn iron stores in women with low ferritin status in Late Pregnancy. J Nutr. 2012; 142, (11): 2004–2009.
16. Сельчук В.Ю., Чистяков С.С., Толокнов Б.О., Манзюк А.В., Никулин М.П., Юрьева Т.В., Кононец П.В., Титова Г.В. Железодефицитная анемия: современное состояние проблемы. Русский медицинский журнал. 2012; 1: 1–7.
17. Диагностика, профилактика и лечение железодефицитных состояний у беременных и родильниц: Федеральные клинические рекомендации / Российское общество акушеров-гинекологов, ФГБУ «Научный Центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава России, 2013. — 26 с.
18. Сабитов Р.Ш., Лукач В.Н., Орлов Ю.П. Расстройства обмена железа при беременности. Омский научный вестник. 2013; 118 (1): 45–47.
19. Якунина Н.А., Дубровина Н.В., Балущкина А.А. Современные принципы лечения родильниц с железодефицитной анемией. Русский медицинский журнал. 2010; 20: 1249.
20. Christoph P., Schuller C., Studer H., Irion O., De Tejada B.M., Surbek D. Intravenous iron treatment in pregnancy: comparison of high-dose ferric carboxymaltose vs. iron sucrose. J Perinat Med. 2012; 40 (5): 469.
21. Auerbach M., Adamson J.W. How we diagnose and treat iron deficiency anemia. Am J Hematol. 2016; 91 (1): 8–11.
22. Balesaria S., Hanif R., Salama M.F., Raja K., Bayele H.K., McArdle H., Srai S.K.S. Fetal iron levels are regulated by maternal and fetal Hfe genotype and dietary iron. Haematologica. 2012; 97: 661–669.
23. Зильбернагель С., Ланг Ф. Клиническая патофизиология: атлас. пер. с англ., под ред. П.Ф. Литвицкого. М.: Практическая медицина, 2015. 448 с.
24. Walch T., O'Broin S. D., Cooley S., Donnelly J., Kennedy J., Harrison R.F., McMahon C., Geary M. Laboratory assessment of iron status in pregnancy. Clin Chem Lab Med. 2011; 49 (7): 1225–1230.
25. Schantz-Dunn J., Robert L. Recognize and treat iron deficiency anemia in pregnant women. OBG Manag. 2017; 29 (12): 8–11.
26. Camaschella C. Iron-Deficiency. N Engl J Med. 2015; 372 (19): 1832–1843.
27. Радзинский В.Е., Ордянц И.М., Симоновская Х.Ю. Железное право на здоровое деторождение. Влияние железодефицита на репродукцию и возможности его терапевтической коррекции. StatusPraesens. 2016; 1 (30): 58–64.
28. Рукавицын О.А. Актуальные вопросы диагностики и лечения анемии при хронических заболеваниях. Клиническая онкогематология. 2012; 5 (4): 296–304.
29. Демихов В.Г., Демихов Е.В., Климовская Е.В., Журина О.Н., Морщакова Е.Ф., Соловьева А.И. Роль провоспалительных цитокинов и эстрогенов в мультифакторном патогенезе анемий беременных. Цитокины и воспаление. 2011; 3: 17–21.
30. Schrier S.L. So you know how to treat iron deficiency anemia. Blood. 2015; 126: 1971.
31. Клиническая лабораторная диагностика: Национальное руководство. В 2 т. / гл. ред. В.В. Долгов, В.В. Миньшиков; Т. 1. АСМОК. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 928 с.; ил.
32. Вялов С.С. Общая врачебная практика: диагностическое значение лабораторных исследований. 6-е изд. — М.: МЕДпресс-информ, 2014. 176 с.
33. Зубкова Н.В. Анализ типичных ошибок медицинского персонала на преаналитическом этапе лабораторных исследований. Заместитель главного врача: лечебная работа и медицинская экспертиза. 2015; 10: 54–63.

Для цитирования. Хабаров С.В., Денисова О.В. Современная тактика лабораторной диагностики нарушений обмена железа во время беременности // Медицинский алфавит. Серия «Современная лаборатория». — 2019. — Т. 1. — 4 (379). — С. 49–53.



II Международный конгресс ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ МИОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ В МЕДИЦИНЕ

28–30 марта 2019 года
Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
(Сеченовский Университет),
Москва, Россия



Возможности гематологических анализаторов XN-серии в диагностике волосатоклеточного лейкоза

А. В. Мироненко, биолог¹

А. А. Москаленко, ст. менеджер по продукции (направление «гематология»)

¹ООО НПФ «Хеликс», г. Санкт-Петербург

²ООО «Сисмекс РУС», г. Москва

Possibilities of XN-series hematology analyzers in diagnosis of hairy cell leukemia

A. V. Mironenko, A. A. Moskalenko

Helix Co., Saint Petersburg; Sysmex RUS, Moscow; Russia

В данной статье рассмотрен интересный факт, который удалось обнаружить с помощью линейки гематологических анализаторов конфигурации XN-9000 Compact Integration, предложенной компанией Sysmex.

При выполнении обычного скринингового анализа крови для паци-

ента Б., 1929 года рождения, были выявлены: лейкоцитоз WBC $156,82 \times 10^9/\text{л}$, анемия HGB 66 г/л и тромбоцитопения PLT $92 \times 10^9/\text{л}$. (табл. 1)/

В ходе дифференциального анализа, проведенного на модуле XN-10 на основании кластеризации диаграмм рассеивания WNR и WDF,

сработал флаг *WBC Abn Scattergram*. Исходя из наличия бластов / аномальных лимфоцитов на диаграмме рассеивания WDF, сработал флаг *Blasts/Abn Lympho?*. Q-флаг дает значение 300 (рис. 1), что говорит о серьезной патологии.

Таблица 1
Результаты анализа пациента при первичном измерении 01.09.2017

ЛЕЙКОЦИТЫ			
Пар.	Данн.		Ед.
WBC	156,82	+	$10^3/\mu\text{L}$
Пар.	Данн.		Ед.
NEUT, %	2,60*	–	%
LYMPH, %	34,50*		%
MONO, %	62,70*	+	%
EO, %	0,10	–	%
BASO, %	0,10	–	%
NEUT#	4,08*		$10^3/\mu\text{L}$
LYMPH#	54,17*	+	$10^3/\mu\text{L}$
MONO#	98,27*	+	$10^3/\mu\text{L}$
EO#	0,11		$10^3/\mu\text{L}$
BASO#	0,19	+	$10^3/\mu\text{L}$
Активированные лимфоциты			
RE-LYMP, %	0,00*		%
RE-LYMP#	0,00*		$10^3/\mu\text{L}$
Плазматические клетки			
AS-LYMP, %	5,00*	+	%
AS-LYMP#	7,85*	+	$10^3/\mu\text{L}$
Незрелые гранулоциты			
IG, %	0,40*		%
IG#	0,65*	+	$10^3/\mu\text{L}$
Сегментация ядра / зернистость			
NEUT-GI	148,60*		SI
Активация нейтрофилов			
NEUT-RI	46,40*		FI

ЭРИТРОЦИТЫ			
Пар.	Данн.		Ед.
RBC	2,43	–	$10^{12}/\text{L}$
HGB	66,00	–	g/L
HCT	23,60	–	%
MCHC	280,00	–	g/L
MCV	97,10		fL
MCH	27,20		pg
Тип анемии			
MacroR	9,20		%
MicroR	3,20	+	%
Ядеросодержащие эритроциты			
NRBC, %	0,00		/100WBC
NRBC#	0,07	+	$10^3/\mu\text{L}$
Анизоцитоз эритроцитов			
RDW-SD	68,90	+	fL
RDW-CV	19,90	+	%
ТРОМБОЦИТЫ			
Пар.	Данн.		Ед.
PLT	92,00	–	$10^3/\mu\text{L}$
Размер тромбоцитов			
MPV	9,70		fL
Процент больших тромбоцитов			
P-LCR	22,00		%
Морфология тромбоцитов			
PDW	10,40		fL
Тромбокрит			
PCT	0,09	–	%

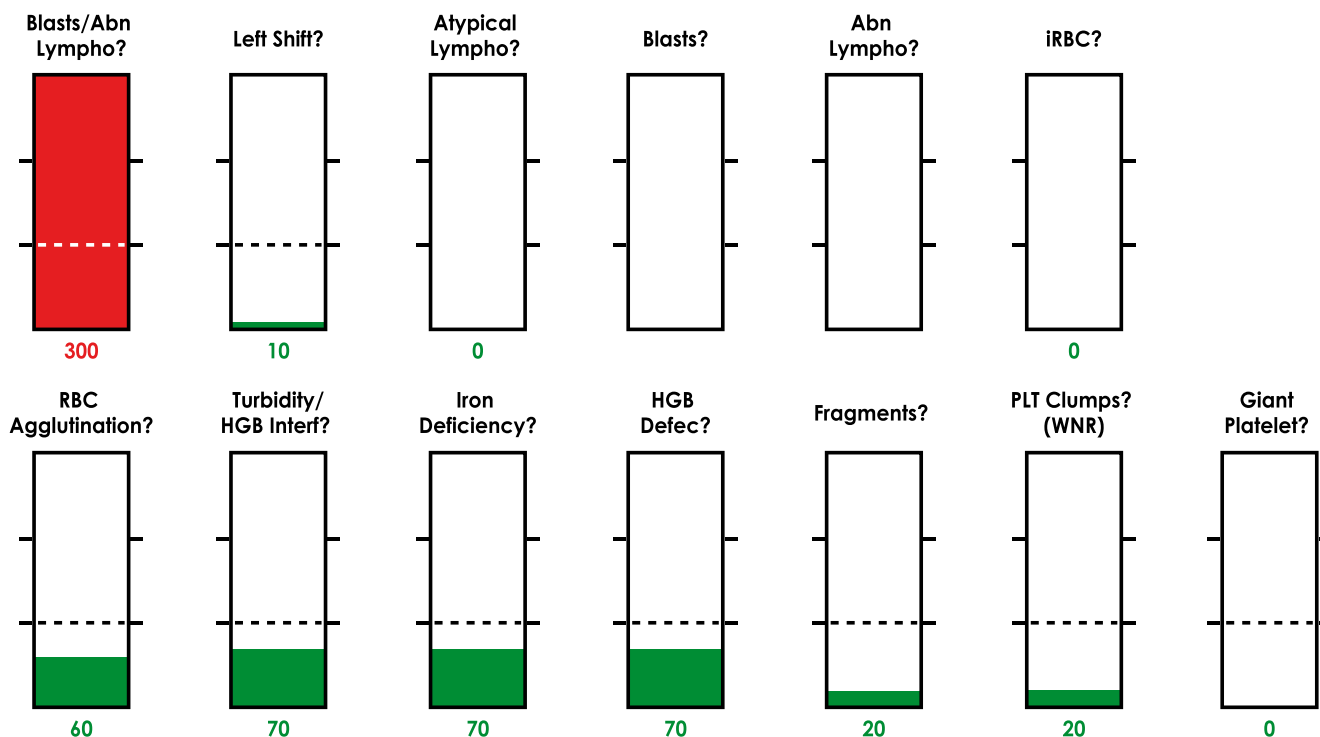


Рисунок 1. Q-флаги, полученные на анализаторе при первичном измерении образца 01.09.2017.

На диаграмме рассеивания WNR предполагаемая область кластера WBC значительно отличается от формы при нормальном распределении лейкоцитов (рис. 2). Мы наблюдаем высокий шлейф в той области, где располагаются моноциты. Для более точного понимания скатерограмм на рис. 3 и 4 приведены примеры нормального распределения клеток на скатерограмме WDF (канал, в котором происходит дифференцировка лейкоцитов) в сравнении со скатерограммами, которые получены в результате измерения образца пациента с волосатоклеточным лейкозом. Наличие аномальных клеток также было подтверждено при микроскопии мазка.

На скатерограмме рассеивания WDF (рис. 4) мы видим неполное разделение клеток на кластеры. Кластер лимфоцитов и моноцитов представляет собой большое серое облако, что свидетельствует о том, что четкое разделение этих клеток на две популяции невозможно. По данным анализатора, моноциты составляют 62% всех клеток.

Приготовление мазка производилось при помощи окрашивающей станции SP-10 в автоматическом режиме согласно критериям на основе правил (окраска по Романовскому).

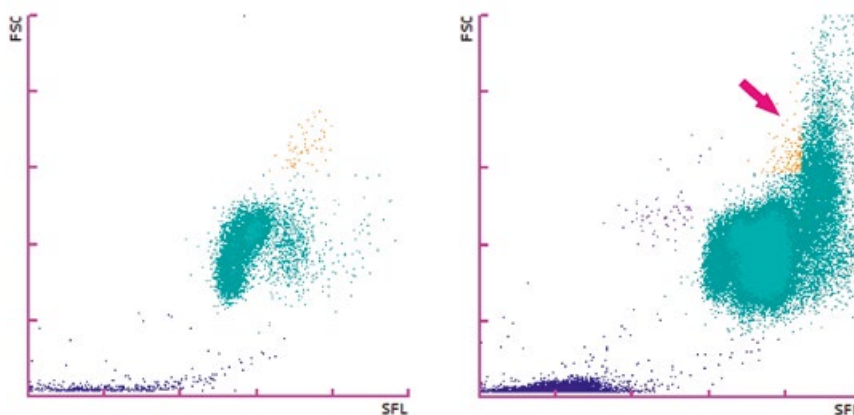


Рисунок 2. Сравнение скатерограмм из канала WNR для нормального образца (слева) и для образца с волосатоклеточным лейкозом (справа). Стрелкой отмечен аномальный кластер.

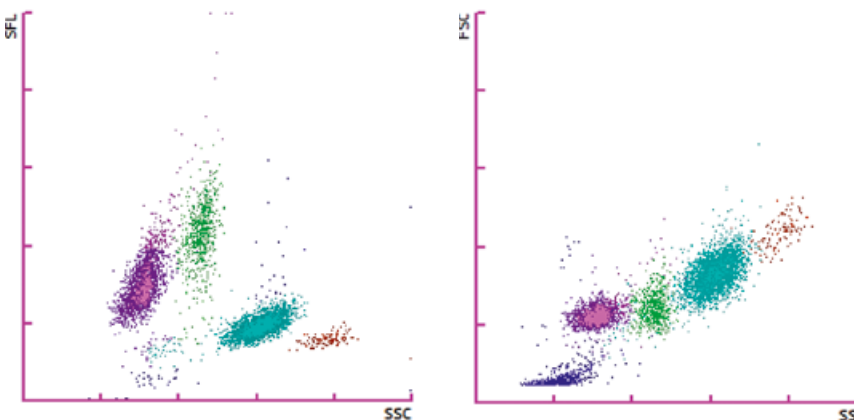


Рисунок 3. Скатерограммы WDF (в двух проекциях), на которых показана дифференцировка лейкоцитов в образце здорового пациента.

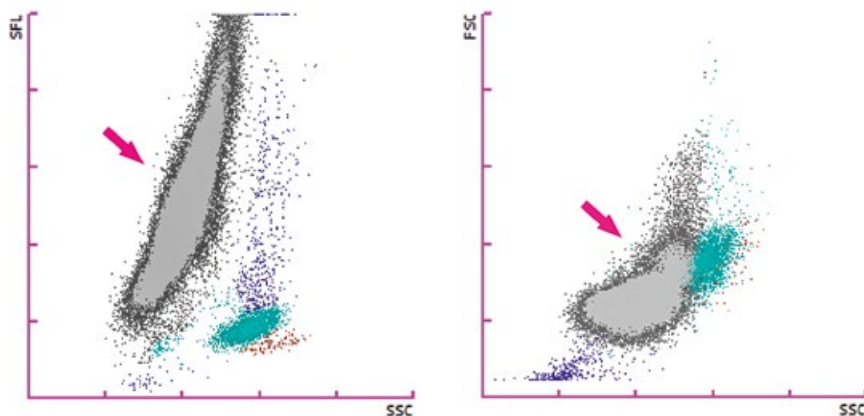


Рисунок 4. Скатерограммы WDF (в двух проекциях), на которых показана дифференцировка лейкоцитов в образце пациента с волосатоклеточным лейкозом. Стрелками отмечен кластер злокачественных лимфоцитов.

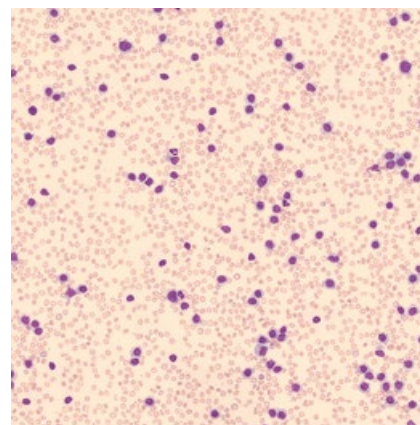


Рисунок 5. Мазок крови (увеличение 40×).

Таблица 2
Результаты подсчета лейкоформулы 01.09.2017

Тест	Результат
Нейтрофилы: палочкоядерные	1
Нейтрофилы: сегментоядерные	5
Лимфоциты	89
Моноциты	4
Эозинофилы	1
Базофилы	0

При подсчете лейкоцитарной формулы были выявлены абсолютный лимфоцитоз, нейтропения (агранулоцитоз). Среди лимфоцитов обнаружены «волосатые клетки», которые составляют около 90% от всех лимфоцитов. Это клетки среднего размера с овальным, округлым, почковидным ядром,

гомогенной, сглаженной структурой хроматина, нуклеолы, как правило, отсутствуют, цитоплазма обильная, светло-голубого (или серо-голубого) цвета, с отростками (рис. 5 и 6).

В результате проведения микроскопии мазка становится очевидной причина, по которой наблюдается увеличение

моноцитов при подсчете анализатором (табл. 1). Поскольку «волосатые клетки» имеют значительно больший размер, они могут содержать моноцитоподобные ядра, и их цитоплазма имеет серо-голубой цвет (рис. 5 и 6).

При волосатоклеточном лейкозе характерно угнетение одного или двух ростков кроветворения, в нашем случае мы наблюдаем анемию и тромбоцитопению при значительном лейкоцитозе, что в некоторых случаях может быть показателем микросгустков. Однако отсутствие флагов по каналам PLT и RBC подтверждает истинную тромбо-, эритроцитемии (рис. 1).

В бланке ответа по данному случаю мы указали комментарий для врача-гематолога, который позволяет дать правильное направление дальнейшего обследования пациента: «Более 90% лимфоцитов с овальным ядром, сглаженным рисунком хроматина, отростчатой цитоплазмой».

Новое поколение гематологических анализаторов Sysmex XN-9000 не позволяет пропустить патологию, хотя «волосатые клетки» дифференцируются анализатором как моноциты, но обозначаются флагом *Blasts/Abn Lympho?*. Данный случай наглядно показывает, что при любом флагировании показателей крови необходим индивидуальный подход к каждому конкретному случаю, так как за каждой пробой, поступающей в лабораторию, стоит жизнь человека.

Для цитирования. МIRONENKO A. B., МОСКАЛЕНКО А. А. Возможности гематологических анализаторов XN-серии в диагностике волосатоклеточного лейкоза // Медицинский алфавит. Серия «Современная лаборатория». — 2019. — Т. 1. — 4 (379). — С. 54–56.

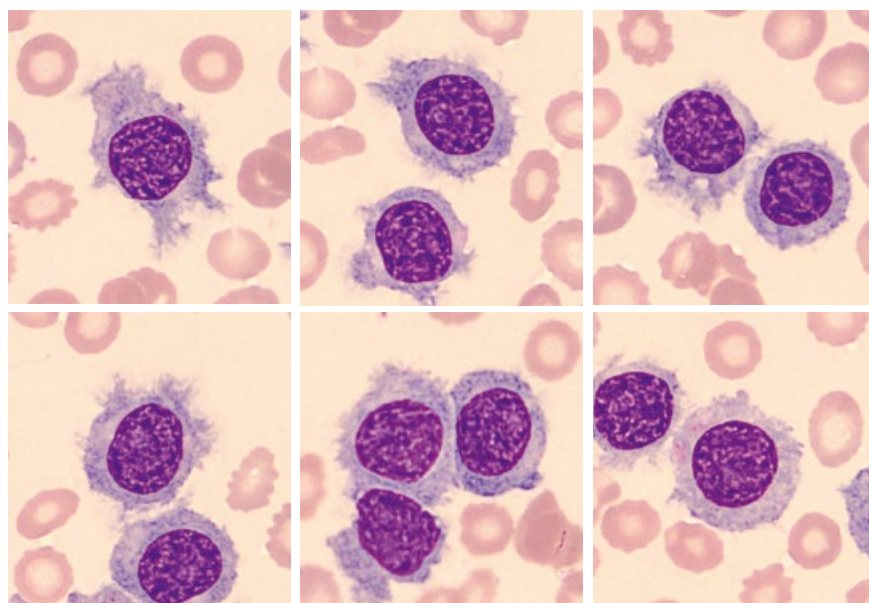


Рисунок 6. «Волосатые клетки» в мазке крови (увеличение 100×).

XN-серия

Уверенность в полученных
результатах

Высокочувствительное обнаружение
лейкозов и лимфом



Показатели системы фибринолиза при аортокоронарном шунтировании в условиях искусственного кровообращения минимизированным контуром

В. И. Корнев, зав. отделением анестезиологии-реанимации № 1 (сердечно-сосудистой патологии)
Н. М. Калинина, д.м.н., проф., гл.н.с. отдела лабораторной диагностики
Д. А. Шелухин, к.м.н., зав. отделом анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии
О. Н. Старцева, к.б.н., биолог лаборатории клинической химии отдела лабораторной диагностики

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

Fibrinolysis system indicators during aorto-coronary bypass surgery in terms of cardiopulmonary bypass with minimized circuit

V. I. Kornev, N. M. Kalinina, D. A. Shelukhin, O. N. Startseva

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

Резюме

Введение. Проблема нарушений в системе фибринолиза при искусственном кровообращении пристально изучается и не теряет актуальности. **Цель:** исследовать и выявить нарушения системы фибринолиза у кардиохирургических больных, оперированных в условиях искусственного кровообращения с минимизированным экстракорпоральным контуром (MiECC). **Материалы и методы.** Обследовано 50 пациентов с аортокоронарным шунтированием: 15 оперированных с использованием MiECC (основная группа); 35 оперированных с использованием экстракорпорального контура без гепаринового покрытия (контрольная группа). **Оценку показателей системы фибринолиза проводили до операции, после протамина, спустя 12 часов после операции, на седьмые сутки, при выписке и через месяц после операции. Результаты.** Баланс системы фибринолиза после операции смещается в сторону угнетения. Структурные показатели фибринового сгустка (размер CS и плотность D), по данным теста тромбодинамики, коррелируют с XII-а-зависимым фибринолизом. Пациенты после операции с MiECC в сравнении с обычным контуром имеют более низкий уровень тромбинемии, меньшее количество активированных тромбоцитов, более быстрое восстановление фибринолитического потенциала плазмы и соответственно более низкие риски тромботических осложнений. **Заключение.** Показатели системы фибринолиза свидетельствуют о преимуществе использования при аортокоронарном шунтировании минимизированного экстракорпорального контура с гепариновым покрытием.

Ключевые слова: фибринолиз, тромбодинамика, плотность сгустка, размер сгустка, искусственное кровообращение, гепарин-покрытый экстракорпоральный контур, MiECC.

Summary

Introduction. The problem of irregularities in the fibrinolysis system during extracorporeal circulation is investigated closely and does not lose its relevance. **The aim of research.** To research and identify fibrinolysis system violations performed in cardiac surgical patients undergoing cardiopulmonary bypass surgery with minimized extracorporeal circuit (MiECC). **Materials and methods.** 50 patients were examined with coronary artery bypass grafting: 15 ones operated with MiECC (main group); 35 ones operated with heparin-coated extracorporeal bypass circuits (control group). **Performance evaluation of fibrinolytic system was carried out prior to surgery, after protamine, 12 hours after operation, 7 days later, on discharge and one month after surgery. Results.** Balance of fibrinolytic system after the operation shifts to the side of the oppression. **Structural parameters of a fibrin clot (size CS and D density) according to thrombodynamics test correlate well with XII-dependent fibrinolysis.** Patients after surgery with MiECC in comparison with the conventional circuit have lower thrombinemia, minimal number of activated platelets, faster recovery of plasma fibrinolytic capacity, and accordingly lower risks of thrombotic complications. **Conclusion.** Fibrinolysis system indicators show the advantage of usage at aorto-coronary bypass with minimized heparin-coated extracorporeal bypass circuits.

Key words: fibrinolysis, thrombodynamics, clot density, clot size, cardiopulmonary bypass, heparin-coated extracorporeal bypass circuits, MiECC.

Введение

Фибринолиз — сложный и динамически меняющийся важный компонент системы гемостаза. Наиболее выраженные изменения в виде активации системы фибринолиза происходят при контакте крови с воздухом и эндотелиальной поверхностью экстракорпорального контура аппарата искусственного кровообращения (ИК) за счет усиленного образования тромбина и выброса тканевого активатора

плазминогена (tPA) с образованием активного комплекса плазминогена, фибрина и tPA [1, 2, 3, 4, 5]. В период инициации ИК происходит активация фибринолиза по внутреннему пути за счет контактной активации (факторы XI, XII; прекалликреин; калликреин), способствующей прямому превращению плазминогена в плазмин [6, 7, 8, 9, 10]. К окончанию и после ИК активация фибринолиза проис-

ходит по внешнему пути с выбросом tPA [10]. Система фибринолиза препятствует во время ИК избыточному образованию фибрина, но не препятствует образованию плазмина и тромбина [1, 11].

Основными компонентами фибринолиза в настоящее время считаются: плазминоген, плазмин, α_2 -антиплазмин (α_2 AP), tPA и урокиназный активаторы плазминогена, ингибитор

активатора плазминогена 1 (PAI-1) и тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза (ТАФИ) [12]. Важное значение для системы фибринолиза имеют тромбоциты и степень их активации во время и после ИК, уровень фибриногена, температурный режим ИК, степень гемодилюции и выраженность процесса потребления основных компонентов системы гемостаза.

С целью устранения отрицательного влияния контура аппарата ИК были созданы закрытые минимизированные контуры (MiECC) с белково-гепариновым покрытием Bioline, позволяющие редуцировать степень системной гипокоагуляции, устранить контакт крови с воздухом, снизить степень контактной активации [13].

Цель работы: исследовать и выявить нарушения системы фибринолиза у кардиохирургических больных, оперированных в условиях ИК с MiECC.

Задачи

1. Изучить влияние экстракорпорального контура с покрытием Bioline на систему фибринолиза.
2. Изучить влияние активированных тромбоцитов на фибринолиз у кардиохирургических больных.
3. Выявить зависимость показателей системы фибринолиза и структурных показателей (плотность [D] и размер [CS]) фибринового сгустка тестом тромбодинамики.
4. Оценить риски тромботических событий после аортокоронарного шунтирования с искусственным кровообращением с использованием различных видов экстракорпоральных контуров.

Материалы и методы

В исследование включены 50 пациентов, средний возраст 64 года [57; 69], из них 74 % мужчин и 26 % женщин, имеющих многососудистое поражение коронарных артерий с абсолютными показаниями к аортокоронарному шунтированию в условиях искусственного кровообращения.

Критерии включения в исследование. Пациенты после аортокоронарного шунтирования с ИК в режиме

умеренной гипотермии (35 °C) с периоперационным приемом ингибиторов циклооксигеназы 1 (ацетилсалициловая кислота), с отсутствием наследственных нарушений системы гемостаза и прошедших скрининг гемостаза (активированное время свертывания, активированное парциальное тромбопластиновое время [АПТВ], тромбиновое время [ТВ], протромбиновое время [ПТВ], фибриноген, агрегация тромбоцитов и их количество, α_2 AP, плазминоген, XII-а-зависимый фибринолиз, антитромбин [АТ], фактор VIII, фактор Виллебранда [ФВ], Р-селектин, D-димер, растворимые фибрин-мономерные комплексы [РФМК], тест тромбодинамики).

Критерии исключения из исследования. Пациенты с наследственными нарушениями гемостаза. Пациенты, принимающие антагонисты P2Y₁₂, низкомолекулярные и нефракционированные гепарины, тромболитики, антагонисты витамина К и новые оральные антикоагулянты.

Все пациенты прошли предоперационное анкетирование на наличие гемостазиологических нарушений и дали информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом.

Материалом для исследования служила венозная кровь, забранная аспирационным способом в пробирки VACUETTE объемом 4,5 мл с 3,2 % цитрата натрия в соотношении 9:1. Забор крови осуществлялся по следующему временному промежутку: Т1 — поступление в операционную, Т2 — после протамина, Т3 — через 12 часов после операции, Т4 — 7-е сутки, Т5 — выписка пациента, Т6 — 1 месяц после операции.

Показатели системы гемостаза определяли на автоматическом анализаторе гемокоагуляции ACL TOP 500 (Instrumentation Laboratory Company, Италия) с использованием стандартных наборов для определения АПТВ, ПВ, ТВ, концентрации фибриногена, активности АТ, ФВ, плазминогена, α_2 AP, фактора VIII, D-димера. Для определения активности XII-а-зависимого фибринолиза

и содержания РФМК использовались реагенты НПО «Ренам» (г. Москва, Россия).

Структурные показатели фибринового сгустка (D, CS) оценивали тестом тромбодинамики [14] путем регистрации и анализа пространственно-временной динамики роста фибринового сгустка с помощью диагностической лабораторной системы «Регистратор тромбодинамики Т-2» стандартными реагентами ООО «Гемакор» (г. Москва, Россия). Для оценки полученных результатов использовали референтные интервалы, разработанные фирмой-производителем. Пробоподготовку для теста тромбодинамики проводили строго в соответствии с рекомендациями производителя оборудования и реактивов.

Определение количества тромбоцитов, экспрессирующих Р-селектин, проводили в цельной крови методом проточной цитометрии на цитометре CYTOMICS FC 500 (Beckman Coulter, США) с использованием флуоресцентно-меченых моноклональных антител CD 61-FITC и CD 62P-PE.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 6.1 (StatSoft, США). За меру центральной тенденции принималась медиана (Me) с интерквартильной шириной Q25 и Q75. Проверку нормальности распределения количественных признаков проводили с использованием критерия Шапиро-Уилка. Межгрупповое сравнение количественных признаков независимых выборок проводили непараметрическим критерием Манна-Уитни (U-критерий). Качественные показатели анализировали по двустороннему точному критерию Фишера. Анализ зависимости количественных признаков выполнялся с использованием ранговой корреляции Спирмена. За статистически значимые принимали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты сбора и обработки демографических и клинических данных (табл. 1) групп обследования показали, что основная и контрольная группы сопоставимы по возрасту, полу, индексу массы тела (ИМТ), продолжи-

Таблица 1
Демографические и клинические данные

Показатель	Основная группа	Контрольная группа	Статистический анализ
	n = 15	n = 35	
Возраст, лет	65 [62; 68]	61 [55; 69]	p = 0,27
Пол: мужской/женский, n (%)	13 (86,7) / 2 (13,3)	24 (68,6) / 11 (31,4)	p = 0,29
ИМТ, кг/м ²	28,1 [25,9; 30,6]	27,5 [26,3; 28,8]	p = 0,63
Продолжительность анестезии, мин.	360 [340; 430]	385 [340; 465]	p = 0,48
Продолжительность операции, мин.	310 [290; 360]	307 [270; 360]	p = 0,75
Искусственное кровообращение, мин.	128 [119; 136]	123 [108; 150]	p = 0,38
Интраоперационная кровопотеря, мин.	400 [350; 500]	550 [450; 600]	p = 0,01
Кровопотеря за 12 часов после операции, мл	220 [200; 350]	300 [200; 445]	p = 0,19
Прайм в АИК, мл	575 [575; 575]	1500 [1500; 1700]	p = 0,00
Гепаринизация перед ИК, тыс. ед.	128 [119; 136]	128 [119; 136]	p = 0,00
Протамин, мг	105 [100; 120]	240 [200; 275]	p = 0,00
Температурный режим ИК, °С	35,2 [35; 35,5]	35,1 [35; 35,3]	p = 0,21
Баланс ИК	290 [250; 475]	730 [570; 890]	p = 0,00
Транексам, мг	1300 [1125; 1425]	1275 [1185; 1440]	p = 0,96
Рестернотомии, n (%)	0 (0)	5 (14,3)	p = 0,30

Таблица 2
Трансфузионная терапия

Показатель	Основная группа	Контрольная группа	Статистический анализ
	n = 15	n = 35	
Свежезамороженная плазма, мл / пациенты, n (%)	0 [0; 410] / 4 (26,7)	590 [0; 790] / 22 (62,9)	p = 0,013
Эритроцитарная взвесь, мл / пациенты, n (%)	0 [0; 170] / 4 (26,7)	600 [0; 930] / 23 (65,7)	p = 0,004

тельности операции, анестезии, продолжительности и температурному режиму искусственного кровообращения, кровопотере за первые 12 часов после операции, дозе транексамовой кислоты. Обследуемые группы значительно отличались по уровню интраоперационной кровопотери, объему первичного заполнения экстракорпорального контура, дозам вводимого нефракционированного гепарина и протамина, общим балансом перфузии.

Особенности трансфузионной терапии представлены в табл. 2. Основная группа имела значимые различия в меньшем объеме интраоперационного использования препаратов крови (свежезамороженной плазмы, эритроцитарной взвеси).

Оценка системы фибринолиза (XII-а-зависимый фибринолиз, α_2 AP,

плазминоген, D-димер), а также маркера активации тромбоцитов (Р-селектин) в предоперационном периоде (Т1) показала отсутствие значимых отклонений от референтных значений в обеих группах (табл. 3). Однако отмечено повышение в обеих группах маркера тромбинемии РФМК на фоне нормальных значений плотности сгустка (D) и незначительного увеличения размера сгустка на 30-й минуте (CS), по данным теста тромбодинамики.

После нейтрализации гепарина протамином (Т2) отмечалось увеличение времени XII-а-зависимого фибринолиза с медианой в контрольной группе 20 минут на фоне статистически значимого снижения α_2 AP ($p \leq 0,001$), плазминогена ($p = 0,001$) и роста D-димера ($p = 0,002$).

Статистически незначимый рост активированных тромбоцитов в контрольной группе связан, вероятно, с более высокой дозой нефракционированного гепарина [10], аспирацией крови из операционной раны с активированными тромбоцитами в кардиотомный резервуар аппарата искусственного кровообращения, а также с низкой биосовместимостью внутренней поверхности контура. Угнетение фибринолиза на данном этапе, вероятно, связано с высвобождением ингибиторов фибринолиза активированными тромбоцитами: TAFI, PAI-1 [8]. Уровень РФМК выше в основной группе ($p = 0,03$).

Через 12 часов после операции (Т3) XII-а-зависимый фибринолиз подавлен в обеих группах. За счет

Таблица 3
Система фибринолиза и показатели тромбодинамики

Показатели	T1			T2			T3		
	О	К	p	О	К	p	О	К	p
	n = 15	n = 35		n = 15	n = 35		n = 15	n = 35	
XII-а-зависимый фибринолиз, мин.	10 [8; 11]	10 [9; 20]	0,33	10 [10; 18]	20 [10; 20]	0,370	20 [19; 20]	20 [20; 20]	0,610
α 2-антиплазмин, %	100 [92; 127]	95 [82; 109]	0,17	92 [85; 96]	47 [30; 81]	0,000	79 [77; 83]	58 [50; 65]	0,008
Плазминоген, %	94 [82; 98]	93 [84; 102]	0,39	76 [69; 84]	65 [59,5; 71,0]	0,001	68 [55; 75]	67,5 [60; 76]	0,920
Д-димер, нг/мл	136 [91; 196]	169 [108; 238]	0,50	196 [129; 221]	353,5 [318; 582]	0,000	421 [366; 602]	437 [359; 574]	0,960
РФМК, мг%	11 [7; 13]	9,9 [7; 14]	0,67	8 [7; 10]	6 [6; 9]	0,03	20 [17; 21]	12 [9; 20]	0,001
Фибриноген, г/л	3,1 [2,8; 3,9]	3,4 [2,7; 4,4]	0,54	2,6 [2,2; 3,2]	2,1 [1,8; 2,8]	0,020	4,9 [3,9; 5,4]	3,9 [3,4; 4,6]	0,010
D, у.е.	30342 [26494; 30826]	27991 [24044; 29988]	0,14	27724 [24086; 29231]	22121 [21172; 25016]	0,000	31972 [28543; 33104]	30543 [27526; 32179]	0,190
CS, мкм	1454 [1352; 1500]	1366 [1222; 1500]	0,22	1287 [1212; 1330]	1197,5 [1095; 1299]	0,040	1426 [1397; 1500]	1500 [1438; 1500]	0,030
P-selectin, %	4,1 [2,9; 4,3]	4 [3,2; 4,8]	0,67	4 [3,6; 6,6]	6 [4,2; 8,0]	0,290	3,7 [2,5; 5,8]	4,4 [3,4; 6,7]	0,170

Таблица 4
Система фибринолиза и показатели тромбодинамики

Показатели	T4			T5			T6		
	О	К	p	О	К	p	О	К	p
	n = 15	n = 35		n = 15	n = 35		n = 15	n = 35	
XII-а-зависимый фибринолиз, мин.	10 [8; 11]	20 [20; 20]	0,00	16 [12; 20]	20 [20; 20]	0,007	19 [12; 20]	20 [18; 20]	0,190
α 2-антиплазмин, %	112 [100; 135]	118 [113; 129]	0,47	122 [100; 129]	101 [86; 130]	0,260	125 [116; 132]	110 [100; 126]	0,005
Плазминоген, %	97 [85; 112]	101,5 [94; 109]	0,23	109 [102; 119]	103 [99; 112]	0,200	115,5 [107; 120]	108 [101; 114]	0,020
Д-димер, нг/мл	1220 [1071; 1534]	1966 [1151; 2627]	0,12	2018 [1678; 2509]	2157 [1130; 2612]	0,970	1004 [785; 1157]	606 [432; 1820]	0,090
РФМК, мг%	16 [15; 21]	21,5 [19; 26]	0,04	21 [16; 22]	16 [14; 20]	0,040	8 [6; 12]	21 [16; 25]	0,001
Фибриноген, г/л	6,9 [5,6; 8,4]	6,4 [4,4; 7,8]	0,31	5,6 [4,6; 6,2]	5,8 [4,9; 6,4]	0,820	4,7 [3,99; 5,20]	4,89 [3,93; 5,50]	0,870
D, у.е.	32610 [31651; 34654]	34234 [32822; 35204]	0,48	34109 [31523; 36027]	31342 [29848; 33169]	0,012	30896 [26930; 35127]	30526 [28329; 31997]	0,800
CS, мкм	1305 [1271; 1512]	1440 [1202; 1500]	0,85	1349 [1309; 1500]	1355,5 [1299; 1500]	0,460	1432 [1399; 1541]	1500 [1439; 1518]	0,660
P-selectin, %	4,1 [2,9; 4,3]	4 [3,2; 4,8]	0,64	3,1 [2,5; 3,5]	5,5 [4,0; 8,5]	0,000	2,3 [1,7; 2,8]	4,5 [3,7; 5,8]	0,000

активного выброса tPA во время ИК и в первые сутки после ИК отмечается снижение уровня плазминогена независимо от используемого контура. Значимый рост РФМК на данном этапе исследования получен в основной группе ($p = 0,001$), статистически незначимый рост D-димера — в обеих исследуемых группах. Размер сгустка (CS) больше в контрольной группе ($p = 0,03$). На фоне незначимого между группами роста плотности сгустка (D) отмечаются значительно

меньший уровень фибриногена ($p = 0,01$) и уровень РФМК ($p = 0,001$) в контрольной группе.

На седьмые сутки (T4) после операции (табл. 4) восстановление уровня ингибитора и активатора фибринолиза приводит к нормализации фибринолитической активности (XII-а-зависимый фибринолиз; $p = 0,00$) в основной группе, значительно меньшим уровням РФМК ($p = 0,04$), статистически незначимым снижениям D и CS и незначимым повышениям Д-димера ($p = 0,12$).

Оценка системы фибринолиза при выписке пациентов (T5) демонстрирует значимое угнетение фибринолиза в контрольной группе ($p = 0,007$). В обеих группах на данном этапе исследования выявлен пик подъема уровня D-димера с последующим снижением через месяц после операции. РФМК и D значимо выше в основной группе ($p = 0,040$ и $p = 0,012$ соответственно).

Спустя месяц после открытой реваскуляризации миокарда сохра-

нялось статистически незначимое угнетение XII-а-зависимого фибринолиза в контрольной группе с более высокой тромбинемией (РФМК с медианой 21 мг; $p = 0,001$), гиперфибриногенемией, увеличением размера сгустка, по данным тромбодинамики (медиана 1500; $p = 0,66$). Количество активированных тромбоцитов при выписке и спустя месяц значимо ниже в основной группе ($p \leq 0,001$).

При использовании ранговой корреляции Спирмена установили значимую положительную связь XII-а-зависимого фибринолиза и CS в T5 ($r_s = 0,456$) в контрольной группе и XII-а-зависимого фибринолиза и D в T4 и T5 ($r_s = 0,693$; $r_s = 0,545$) в основной группе. При анализе зависимости состояния фибринолитической системы и кровопотери за первые 12 часов (T3) после операции выявлена отрицательная взаимосвязь средней степени выраженности в основной группе ($r_s = -0,53$). При анализе показателей тромбодинамики выявлена следующая положительная корреляция: D и D-димер в основной группе T2 ($r_s = 0,729$); в контрольной группе T2 ($r_s = 0,418$), T3 ($r_s = 0,602$), T6 ($r_s = 0,488$). Разнонаправленная корреляционная связь между CS и D-димером в контрольной группе T2 ($r_s = -0,458$) и T4 ($r_s = 0,466$). Положительная корреляционная связь между D и фибриногеном в основной (T2 $r_s = 0,664$, T3 $r_s = 0,727$, T4 $r_s = 0,807$, T6 $r_s = 0,696$) и контрольной группах (T1 $r_s = 0,717$, T2 $r_s = 0,607$, T3 $r_s = 0,540$, T4 $r_s = 0,425$, T5 $r_s = 0,588$, T6 $r_s = 0,724$). Корреляции между XII-а-зависимым фибринолизом и балансом ИК в T2, T3, а также интраоперационной кровопотерей и объемом прайма не найдено.

Таким образом, сбалансированное состояние системы фибринолиза в дооперационном периоде у пациентов обеих групп претерпевает изменения в виде ее угнетения в раннем послеоперационном периоде с потреблением основных факторов фибринолиза (потребление плазминогена на плазмин и α_2 AP на инактивацию уже образованного плазмина). Однако на седьмые сутки,

при выписке и через месяц у пациентов, оперированных в условиях MiECC, происходит восстановление фибринолитической активности плазмы.

Структурные характеристики фибринового сгустка (CS, D), по данным теста тромбодинамики, значимо коррелируют с уровнем фибриногена и степенью угнетения фибринолиза в обеих группах.

РФМК, как маркер тромбинемии, на всех этапах нашего исследования выше референтных значений, с более низкими значениями в основной группе спустя месяц после операции, что свидетельствует о более низких рисках тромботических событий.

В послеоперационном периоде отмечается рост уровня D-димера в обеих группах, что может свидетельствовать об отсроченном фибринолитическом ответе на клинически незначимое тромбообразование, а также о системной воспалительной реакции на обширную хирургическую травму.

Количество активированных тромбоцитов, экспрессирующих P-селектин, значительно меньше в группе с использованием MiECC, с меньшим ингибирующим влиянием на фибринолиз высвобождаемых ими TAFI и PAI-1.

Выводы

1. Система фибринолиза при использовании экстракорпорального контура MiECC системы с покрытием Bioline угнетается, но значительно меньше в сравнении с операциями, выполненными с использованием обычного контура.
2. Приобретенная депрессия фибринолиза связана с активацией тромбоцитов при проведении экстракорпорального кровообращения.
3. Структурные показатели фибринового сгустка (CS, D), исследуемые тестом, тромбодинамика коррелируют с маркерами фибринолиза и должны использоваться в комплексной оценке фибринолитической активности плазмы у кардиохирургических больных.
4. Уровень тромбинемии, а следовательно, и риски тромбогенных

осложнений в отдаленном периоде после кардиохирургических операций ниже при использовании MiECC-системы.

Список литературы

1. Chapin JC, Hajjar KA. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Rev.* 2015; 29 (1): 17–24.
2. Longstaff C, Kolev K. Basic mechanisms and regulation of fibrinolysis. *J Thromb Haemost* 2015; 13 (Suppl. 1): S98–S105.
3. Longstaff C, Kolev K. Basic mechanisms and regulation of fibrinolysis. *J Thromb Haemost* 2015; 13 (Suppl. 1): S98–S105.
4. Saes JL, Schols SEM, van Heerde WL, Nijziel MR. Hemorrhagic disorders of fibrinolysis: a clinical review. *J Thromb Haemost* 2018; 16: 1498–509.
5. Lord ST. Molecular mechanisms affecting fibrin structure and stability. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 494–499.
6. Sniecinski R.M., Chandler W.L. (2011) Activation of the hemostatic system during cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 113: 1319–1333.
7. Cesarman-Maus G, Hajjar KA. Molecular mechanisms of fibrinolysis. *Br J Haematol.* 2005; 129: 307–321.
8. Ilich A, Bokarev I, Key, NS. Global assays of fibrinolysis. *Int J Lab Hematol.* 2017; 39: 441–7.
9. Schmaier AH. Extracorporeal circulation without bleeding. *Sci Transl Med* 2014; 6: 222fs7.
10. Paparella D., Brister S. & Buchanan M. (2004) Coagulation disorders of cardiopulmonary bypass: a review. *Intensive Care Medicine* 30, 1873–1881.
11. Levy JH, Koster A, Quinones QJ, et al. Antifibrinolytic Therapy and Perioperative Considerations. *Anesthesiology* 2018; 128: 657.
12. Rijken DC, Hoegee-De Nobel E, Jie AFH, Atsma DE, Schallij MJ, Nieuwenhuizen W. Development of a new test for the global fibrinolytic capacity in whole blood. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 151–7.
13. Palatianos GM, Foroulis CN, Vassili MI, et al. A prospective, double-blind study on the efficacy of the bioline surface-heparinized extracorporeal perfusion circuit. *Ann Thorac Surg.* 2003; 76: 129–135.
14. Атауллаханов Ф. И., Баландина А. Н., Ваданян Д. М. и др. Применение теста тромбодинамики для оценки состояния системы гемостаза: Учебно-методические рекомендации / Под ред. д-ра мед. наук, проф. А. М. Шулуток. — М. — 2015. — 72 с.

Для цитирования. Корнев В.И., Калинина Н.М., Шелухин Д.А., Старцева О.Н. Показатели системы фибринолиза при аортокоронарном шунтировании в условиях искусственного кровообращения минимизированным контуром // Медицинский алфавит. Серия «Современная лаборатория». — 2019. — Т. 1. — С. (379). — С. 58–62.



ВСЕ ПОДРОБНОСТИ НА САЙТЕ
WWW.UNCIA.RU



18 АПРЕЛЯ
ПЛАТИНОВАЯ
УНЦИЯ 2018

**ГОЛОСОВАНИЕ ВТОРОГО ЭТАПА ПРОЙДЕТ В ПЕРИОД
С 25 ФЕВРАЛЯ 2019 ПО 29 МАРТА 2019 ГОДА**

КОНТРОЛЬ СООТВЕТСТВИЯ ПРОЦЕДУРЫ
ПРОВЕДЕНИЯ ГОЛОСОВАНИЯ РЕГЛАМЕНТУ
КОНКУРСА ОСУЩЕСТВЛЯЕТ:



ГЕНЕРАЛЬНЫЙ
ИНФОРМАЦИОННЫЙ
ПАРТНЕР:



ИНФОРМАЦИОННЫЕ ПАРТНЕРЫ



ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ



ИСПОЛНИТЕЛЬНАЯ
ДИРЕКЦИЯ
КОНКУРСА



125317, МОСКВА, ПРЕСНЕНСКАЯ НАБЕРЕЖНАЯ 6/2, БАШНЯ «ИМПЕРИЯ»
+7495 775-73-65 ДОБ. 35645 +7495 786-25-43 ДОБ. 667
ФАКС: +7(495) 334-22-55, E-MAIL: INFOUNCIA.RU



ОРГАНИЗАТОР
ЦЕРЕМОНИИ
НАГРАЖДЕНИЯ



В рамках направления:
«Внедрение новых медицинских технологий,
методик лечения и профилактики заболеваний
в практическое здравоохранение»



XV Московский
городской съезд
эндокринологов

**Эндокринология
столицы 2019**

**29-31 марта
2019**

Уважаемые коллеги!
Приглашаем Вас принять участие в работе XV Московского городского съезда эндокринологов «Эндокринология столицы – 2019», который состоится 29-31 марта 2019 г. в здании Правительства Москвы, ул. Новый Арбат, 36

**Мероприятие
проводится
под патронатом**

**Московская ассоциация эндокринологов
Медицинская секция МООИ «Московская диабетическая ассоциация»
ФГБОУ ДПО «РМАНПО» Минздрава России**

В программе Съезда доклады ведущих отечественных и зарубежных эндокринологов, симпозиумы, семинары, дискуссии по наиболее актуальным вопросам лечения, диагностики и профилактики сахарного диабета и его осложнений; заболеваний щитовидной железы, надпочечников, гипоталамо-гипофизарной системы; перспективам развития городской эндокринологической службы.

В мероприятиях XV Московского городского съезда эндокринологов (30 марта – 1 апреля 2018 г.) участвовало более 1 500 специалистов из разных регионов России и стран ближнего и дальнего зарубежья. В выставочной экспозиции Съезда были представлены 32 компании, информационную поддержку оказывали 19 изданий и электронных средств массовой информации.

В 2019 году планируется расширение состава участников, которые уже сейчас проявляют большой интерес к Съезду и его тематике. В работе Съезда предполагается участие около 1600 медицинских специалистов.

В рамках Съезда организована тематическая выставочная экспозиция производителей и дистрибьюторов лекарственных средств, медицинской техники, продукции профилактического и лечебного назначения, специализированной литературы.

Организована online-трансляция заседаний съезда
Подробная информация на сайте www.imfd.ru

Посещение заседаний Съезда
по пригласительным билетам

Информационно-выставочное агентство «ИнфоМедФарм Диалог»
127055, Москва, ул. Сущевская, дом 25, корп. 1
Тел./факс: (495) 797-62-92, (499) 750-07-27



E-mail: info@imfd.ru
Сайт: www.imfd.ru

XI Ежегодный Всероссийский Конгресс по инфекционным болезням с международным участием

«Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы»

1–3 апреля 2019 года

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

Соорганизаторы

- Национальное научное общество инфекционистов
- Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора
- Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
- Национальная Ассоциация диетологов и нутрициологов
- Федерация педиатров стран СНГ

Технический Организатор

ООО «Медицинское Маркетинговое Агентство»

Научная программа

- Эпидемиологический надзор за инфекционными и паразитарными болезнями
- Фундаментальные исследования в области эпидемиологии и инфекционной патологии
- Демографическая и социально-экономическая оценка инфекционных болезней. Заболеваемость и смертность от инфекционных болезней
- Новое в изучении возбудителей и патогенеза инфекционных заболеваний
- Актуальные вопросы инфекционных болезней детей и взрослых
- Новые и возвращающиеся инфекции
- Диагностика инфекционных болезней: лабораторная, клиническая, эпидемиологическая
- Интенсивная терапия и реанимация инфекционных больных
- Инфекционные болезни и коморбидность. Сочетанные инфекции
- Противовирусная и антибактериальная терапия
- Заболевания, связанные с оказанием медицинской помощи. Заболеваемость инфекционными болезнями медицинского персонала
- Интенсивная терапия и реанимация инфекционных больных
- Профилактика инфекционных болезней
- Роль общественных организаций и СМИ в борьбе с инфекционными болезнями

Для участия в научной программе Конгресса необходимо **до 1 декабря 2018 г.** направить заявку в Оргкомитет на сайте www.congress-infection.ru Члены Национального научного общества инфекционистов имеют преимущественное право участия в научной программе Конгресса.

Регистрация участников

Для участия в работе Конгресса необходимо пройти предварительную электронную регистрацию на сайте www.congress-infection.ru **до 26 марта 2019 г.** (подробная информация о вариантах регистрации размещена на сайте).

Для зарегистрированных участников предусмотрена возможность посещения образовательных мероприятий, проводимых в рамках Конгресса и запланированных к аккредитации в системе непрерывного медицинского образования Минздрава РФ.

Тезисы

Для публикации тезисов необходимо оплатить 500 рублей на расчетный счет ООО «Медицинское Маркетинговое Агентство». Оплаченные тезисы должны быть высланы через сайт www.congress-infection.ru **не позднее 10 февраля 2019 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 2019 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 1–3 апреля 2019 г. Постеры размером 120 x 80 см должны быть выставлены авторами на стендах 1 апреля с 10.00 до 14.00. Подведение итогов конкурса состоится 3 апреля 2019 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

Оплата регистрационного взноса и тезисов

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

Участие компаний в выставке и научной программе

Макарова Татьяна Владимировна Тел.: (495) 517-7055; (906) 750-6377; e-mail: mtv@mm-agency.ru

Усенко Денис Валерьевич Тел.: (925) 518-4791; e-mail: congress-infection@pcr.ru

Шеметова Елена Альбертовна Тел.: (916) 993-6576; e-mail: infection@med-congress.ru

Участие в конкурсе молодых ученых

Тел./факс: (925) 518-4791; e-mail: konkurs@nnoi.ru

Технический организатор

Медицинское маркетинговое агентство
Medical Marketing Agency

**Генеральный
информационный спонсор**

PHDYNASTY
www.phdynasty.ru



XVII Научно-практическая конференция

ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ В МЕДИЦИНСКИХ УЧРЕЖДЕНИЯХ РАЗЛИЧНОГО ПРОФИЛЯ, РИСКИ, ПРОФИЛАКТИКА, ЛЕЧЕНИЕ ОСЛОЖНЕНИЙ

Тематическая выставочная экспозиция

3-4 апреля
2019 года

Здание Правительства Москвы ул. Новый Арбат, д. 36

Уважаемые коллеги!

Приглашаем Вас принять участие в работе XVII Научно-практической конференции «Внутрибольничные инфекции в медицинских учреждениях различного профиля, риски, профилактика, лечение осложнений», которая проводится 3 – 4 апреля 2019 года, в здании Правительства Москвы.

Конференция проводится в рамках направления «Внедрение новых медицинских технологий, методик лечения и профилактики заболеваний в практическое здравоохранение города Москвы».

Цель конференции

- Внедрение новых современных медицинских технологий в практическое здравоохранение, обмен достижениями, результатами;
- Повышение профессионального уровня и квалификации врачей эпидемиологов и специалистов смежных специальностей;
- Повышение качества оказываемых услуг медицинских организаций;
- Эффективное использование возможностей и средств организационных организаций;
- Обмен опытом по санитарно-противоэпидемическим (профилактическим) мероприятиям в части контроля за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи на всех уровнях;
- Своевременная диагностика и мониторинг инфекций, связанными с оказанием медицинской помощи;
- Улучшение качества жизни пациента, профилактика и лечение осложнений.

Основные направления

- Эпидемиология и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) на современном этапе в мире, Российской Федерации, в городе Москве;
- Организация санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий в части контроля за (ИСМП) на всех уровнях оказания медицинской помощи. Требования к организации этих мероприятий в операционных, отделениях анестезиологии и реанимации и других отделениях групп риска и асептического профиля;
- Эпидемиология в акушерстве, гинекологии и неонатологии;
- Методы и технологии в диагностике и лечении пациентов по всем направлениям оказания медицинской помощи в части профилактики (ИСМП). Инфекционный контроль и эпидемиологическая безопасность;
- Внедрение современных достижений в части дезинфекции, стерилизации в медицинских организациях;
- Мониторинг возбудителей ИСМП, циркулирующих в медицинских организациях, современные методы их диагностики и тактика персонала при их выявлении;
- Лекарственная устойчивость возбудителей ИСМП. Антибиотикорезистентность, контроль и профилактика;
- Безопасность среды пребывания пациентов. Обеспечение безопасной воздушной среды;
- Безопасность медицинских изделий, дезинфицирующих препаратов, кожных антисептиков и методы оценки их эффективности;
- Взаимодействие и ответственность медицинской организации и производителя;
- Защита медицинского персонала от ИСМП. Гигиена рук медицинского персонала;
- Организация биологической безопасности при работе лабораторий медицинских организаций, при обращении с медицинскими отходами;
- Аутсорсинг в организациях, осуществляющих медицинскую помощь. Обеспечение биологической безопасности при введении этой технологии в деятельность медицинской организации: экономические аспекты в проблеме ИСМП;
- Эпидемиология и вакцинопрофилактика;
- Проведение противоэпидемических мероприятий в случаях выявления больных, подозрительных на заболевания инфекционными болезнями, вызывающими чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения, а также социально значимых инфекционных заболеваний.

Докладчики и аудитория

В работе конференции примут участие руководители и врачи учреждений здравоохранения Москвы, Московской области и других регионов (по статистике, в 2018г. в конгрессно-выставочном мероприятии приняло участие 750 человек, on-line – около 550 человек).

Возглавят заседания и выступят с докладами главные специалисты и врачи учреждений Министерства здравоохранения РФ, Департамента здравоохранения города Москвы, руководители кафедр и медицинских центров, ведущие ученые и практики.

Выставочная экспозиция

В рамках конференции организуется тематическая выставочная экспозиция производителей и дистрибьюторов:

- Современных средств дезинфекции и стерилизации;
- Кожных антисептиков;
- Антибиотиков, антимикробных препаратов;
- Стерилизационных упаковочных материалов;
- Современных расходных материалов для дезинфекции и стерилизации;
- Моющих средств;
- Индикаторов контроля параметров процесса стерилизации, контроля концентраций растворов дезинфицирующих средств;
- Стерилизационного оборудования, автоклавов, сухожаровых шкафов, дистилляторов, моечно-дезинфекционных машин;
- Ультразвуковых моек;
- УФ-обеззараживателей воздуха и поверхностей в помещении;
- Установок для обеззараживания воздуха;
- Одноразовых медицинских материалов;
- Машинок для упаковки инструмента;
- Камер для стерильного хранения инструмента;
- Асептических материалов и одноразового белья для операционных;
- Приборов и реактивов для клинической лабораторной диагностики инфекционных заболеваний;
- Средств контроля и оборудования для «холодовой цепи».

Организатор: Информационно-выставочное агентство «ИнфоМедФарм Диалог»

Время проведения: 3-4 апреля 2019 г., с 9:00 до 18:00.

Адрес проведения: здание Правительства Москвы (г. Москва, ул. Новый Арбат, 36).

Вход на мероприятие свободный, по пригласительным билетам.

Материалы конференции, пакет участника предоставляется при регистрации.

По окончании конференции выдается свидетельство участника.

Организована on-line трансляция конференции.

Координатор проекта: Желтякова Ольга Александровна

E-mail: zh.olga@imfd.ru

Менеджер проекта: Носова Дарья Дмитриевна

E-mail: n.daria@imfd.ru



**Информационно-выставочное агентство
«ИнфоМедФарм Диалог»**

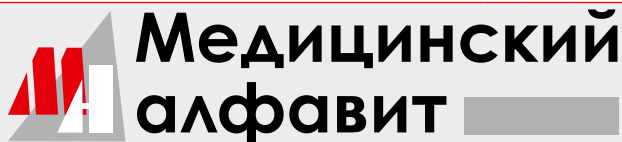
127055, Москва, ул. Сущевская, д. 25, корп. 1

Т/ф: 8 (495) 797-62-92, 8 (499) 750-07-27 (многоканальные)

E-mail: info@imfd.ru

Сайт: www.imfd.ru

БЛАНК-ЗАКАЗ на подписку на журнал 2019 год



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

Адрес (с почтовым индексом) _____

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

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

Наш индекс в каталоге
«РОСПЕЧАТЬ» 36228

Извещение	ООО «Альфмед»
	(наименование получателя платежа) 7716213348
	(ИНН получателя платежа) Рс № 40702810738090108773
	(номер счета получателя платежа) ПАО «СБЕРБАНК РОССИИ» г. МОСКВА
Кассир	(наименование банка и банковские реквизиты) К/с 30101810400000000225 БИК 044525225
	Годовая подписка на журнал «Медицинский алфавит. _____» на 2019 год
	(наименование платежа) Дата _____ Сумма платежа _____
	Плательщик (подпись) _____ Адрес доставки: _____
Квитанция	ООО «Альфмед»
	(наименование получателя платежа) 7716213348
	(ИНН получателя платежа) Рс № 40702810738090108773
	(номер счета получателя платежа) ПАО «СБЕРБАНК РОССИИ» г. МОСКВА
Кассир	(наименование банка и банковские реквизиты) К/с 30101810400000000225 БИК 044525225
	Годовая подписка на журнал «Медицинский алфавит. _____» на 2019 год
	(наименование платежа) Дата _____ Сумма платежа _____
	Плательщик (подпись) _____ Адрес доставки: _____

Как подписаться

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

АМГ

Elecsys® AMH Plus*



Точный

Надежный

Инновационный

Фертильность



COBAS, ELECSYS являются товарными знаками Рош.

2019 Рош

ООО «Рош Диагностика Рус»:

Россия, 115114, Москва, ул. Летниковская, д. 2, стр. 2,

Бизнес-центр «Вивальди Плаза»

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

www.rochediagnostics.ru

- Возраст-специфические референсные значения**
- Высокая точность: CV<5%
- 50 мкл образца
- Быстрый результат – 18 мин
- Широкий диапазон измерения (0,01 – 23 нг/мл; 0,07 – 164 пмоль/л)
- Готовые к использованию реагенты
- Стабильность реагентов на борту: 8 недель

* РУ №РЗН 2018/7613 от 14.09.2018

Plus - Плюс

** Инструкция к тесту Elecsys® AMH Plus

Данный материал предназначен для медицинских специалистов

cobas®

DIA 1737

Лабораторная информационная Система «Ариадна» — основа эффективного управления современной лабораторией



ОТЧЕТЫ

Статистические отчеты (стандартные и индивидуальные)	Выборки	Журналы	Результаты исследований
---	---------	---------	-------------------------

Регистрационное удостоверение на медицинское изделие №РЗН 2018/6977 от 10 июля 2018 года.

ООО «Брегис»

Адрес:

119992, Россия, Москва,
Ленинские горы, д.1, стр.77

Факс:

(495) 939-09-97

Электронная почта:

info@bregis.ru

Телефоны:

(495) 540-60-44

(495) 939-10-60

(495) 939-23-64

