



№ 1 (26) февраль 2009

КЛИНИКО - ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНСИЛИУМ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Главный редактор:

Эмануэль В. Л., д. м. н., проф.

Заместители главного редактора:

Зыбина Н. Н., д. б. н., проф.

Сухоруков В. С., д. м. н., проф.

Директор редакции:

Чердниченко Д. В.

Зав. редакцией:

Эмануэль Ю. В., к. м. н.

Редактор перевода:

Филиппова Н. А., к. м. н.

Адрес редакции:

**197022, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, д. 6/8**

Телефон редакции:

(812) 233 97 26

Эл. почта:

ejvcons@mail.ru

Журнал зарегистрирован

в Северо-Западном
окружном межрегиональном
территориальном управлении
Министерства РФ по делам
печати, телерадиовещания
и средств массовых коммуникаций

Свидетельство о регистрации:

ПИ № 2-6476 от 21.03.2003

Учредитель:

**Отделение Ассоциации
Медицинской Лабораторной
Диагностики,
СПб Государственный
Медицинский Университет
им. акад. И. П. Павлова
(197022, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, д. 6/8)**

Оригинал-макет и верстка:

ООО «Издательско-
полиграфическая
компания «КОСТА»»,
тел. **(812) 445 10 02**

Отпечатано в типографии

ООО «ИПК БИОНТ»
199026, Санкт-Петербург,
Средний пр., д. 86

Тираж 1500 экз.

Заказ №

Бурное развитие лабораторных технологий способствует не только расширению доступных для изучения видов биологических материалов и спектра их исследований в современных, как правило, крупных централизованных лабораториях, но и приближению этих технологий к «месту лечения», выполняемых не лабораторным, а клиническим персоналом.

На практике за кажущейся простотой таких исследований нередко возникают вопросы их интерпретации, особенно при сравнении с результатами, полученными из стационарных лабораторий.

Учитывая возрастающий интерес в широкой клинической практике к использованию этого направления лабораторной диагностики, получившего в русской транскрипции название «анализ вне лаборатории» как перевод английского термина РОСТ «Point of care testing», в Санкт-Петербурге в рамках традиционных встреч специалистов различной клинической направленности с представителями «лабораторной индустрии» в июне 2009 года будет проводиться научно-практическая конференция с международным участием «Оптимизация диалога клиницистов и лабораторий».

Организаторы: Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова (кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины) и Российская Ассоциация медицинской лабораторной диагностики (Санкт-Петербургское отделение). Сроки: 15–16 июня 2009 г.

Предварительная программа:

1. Лабораторный паспорт здоровья: саногенетические аспекты и донозологическая диагностика предиктов.
2. Лабораторная диагностика в педиатрии.
3. Дистанционные методы мониторинга состояния организма.
4. Диагностика в месте лечения, преемственность исследований.
5. Лабораторный результат — объективный критерий фармакотерапии в формате доказательной медицины.
6. Метрологическая корректность лабораторных исследований как критерий их качества: 2009 год объявлен годом Д.И. Менделеева.

В рамках конференции пройдет «Школа новаций в области лабораторной медицины».

Координаты оргкомитета:

тел. (812) 233 9726; e-mail: centrllab@mail.ru

Оргкомитет конференции

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Афанасьев Борис Владимирович,
зав. кафедрой гематологии, трансфузиологии
и трансплантации СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова,
директор Института детской гематологии и трансплантации
им. Р.М. Горбачевой, д.м.н., профессор

Гуревич Виктор Савельевич,
руководитель Центра атеросклероза и нарушений
липидного обмена СПбГМА им. И.И. Мечникова,
д.м.н., профессор

Дюк Вячеслав Анатольевич,
ведущий научный сотрудник Санкт-Петербургского
института информатики и автоматизации РАН, д.т.н.

Зыбина Наталия Николаевна,
начальник НИО клинико-биохимических
исследований Всероссийского Центра экстренной
и радиационной медицины МЧС,
д.б.н., профессор (заместитель главного редактора)

Карпищенко Анатолий Иванович,
руководитель подразделения сбора и анализа данных
СПб ГУЗ МИАЦ,
д.м.н., профессор

Петришев Николай Николаевич,
зав. кафедрой патофизиологии СПбГМУ
им. акад. И.П. Павлова, з.д.н. РФ, академик МАНВШ,
академик РАЕН, д.м.н., профессор

Сухоруков Владимир Сергеевич,
руководитель НИЛ общей патологии НИИ педиатрии
и детской хирургии РАМН, главный специалист
по лабораторной диагностике в педиатрии, д.м.н.,
профессор (заместитель главного редактора)

Тец Виктор Вениаминович,
зав. кафедрой микробиологии, вирусологии
и иммунологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова,
академик РАЕН, д.м.н., профессор

Шляхто Евгений Владимирович,
директор ФГУ «Федеральный центр сердца, крови
и эндокринологии им. В.А. Алмазова», заведующий
кафедрой факультетской терапии СПбГМУ
им. акад. И.П. Павлова, главный кардиолог
Санкт-Петербурга и Северо-Западного федерального
округа, вице-президент Всероссийского научного
общества кардиологов, президент Российской
антигипертензивной лиги, председатель
Санкт-Петербургского научного общества кардиологов
им. Г.Ф. Ланга, член-корр. РАМН, з.д.н. РФ,
д.м.н., профессор

Эмануэль Владимир Леонидович,
заведующий кафедрой клинической лабораторной
диагностики СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова,
д.м.н., профессор (главный редактор)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Вавилова Татьяна Владимировна,
профессор кафедры госпитальной терапии СПбГМА
им. И.И. Мечникова, д.м.н.

Каллер Андерш,
профессор кафедры клинической химии Каролинского
Госпиталя, Стокгольм, Швеция, член бюро Международного
Союза чистой и прикладной химии, д.м.н., профессор

Козлов Антон Владимирович,
зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики
СПбМАПО, д.м.н., профессор

Корячкин Виктор Анатольевич,
зав. кафедрой анестезиологии, реаниматологии
и интенсивной терапии СПбГМУ
им. акад. И.П. Павлова, д.м.н., профессор

Мазуров Вадим Иванович,
зав. кафедрой терапии №1 им. Э.Э. Эйхвальда СПбМАПО,
член-корр. РАМН, з.д.н. РФ, д.м.н., профессор

Меньшиков Вадим Владимирович,
руководитель научно-методического центра
по лабораторной диагностике МЗ РФ,
член-корр. РАЕН, з.д.н. РФ, д.м.н., профессор

Новик Виктор Иванович,
зав. лабораторией цитологии НИИ онкологии
им. проф. М.Н. Петрова МЗ РФ,
член Международной Академии цитологии, д.м.н.

Рыбакова Маргарита Григорьевна,
зав. кафедрой патологической анатомии СПбГМУ
им. акад. И.П. Павлова, д.м.н., профессор

Сапрыгин Дмитрий Борисович,
президент Российской Ассоциации медицинской
лабораторной диагностики, д.м.н., профессор

Сельков Сергей Алексеевич,
руководитель лаборатории иммунологии
НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН,
член-корр. РАЕН, д.м.н., профессор

Смирнов Алексей Владимирович,
зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней
СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, директор НИИ
нефрологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова,
вице-президент Всероссийского общества нефрологов,
Председатель Ассоциации нефрологов и врачей
гемодиализа Северо-Запада России, д.м.н., профессор

Соколовский Евгений Владиславович,
заведующий кафедрой дерматовенерологии
с клиникой СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова,
проректор по научной работе, д.м.н., профессор

Стивен Хау Ян Вонг (Steven How Yan Wong),
Ph.D., DABCC (TC), FACB, председатель секции
Протеомики и Молекулярной Патологии
Американской Ассоциации Клинической Химии, США

Тогузов Руслан Тимофеевич,
зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики
ФУВ РГМУ, д.м.н., профессор

Хоровская Лина Анатольевна,
доцент кафедры клинической лабораторной диагностики
СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, д.м.н., профессор

ВСТУПИТЕЛЬНОЕ СЛОВО	1
РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ, РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ	2
КАЧЕСТВО МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ	
<i>С.В. Ротанов</i>	
О РЕЗУЛЬТАТАХ ПРОВЕДЕНИЯ ЦИКЛОВ ВНЕШНЕГО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА СЕРОДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА В ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЯХ СУБЪЕКТОВ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ	4
<i>Т.С. Смирнова, И.В. Литвиненко</i>	
ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННОЙ СИСТЕМЫ КОНТРОЛЯ ДИАГНОСТИКИ И УЧЕТА ИППП И ПУТИ ЕЕ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ	10
<i>В.Е. Колупаев, И.А. Ареньева</i>	
ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА РЕЗУЛЬТАТОВ СКРИНИНГОВОЙ ДИАГНОСТИКИ	17
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ФОРМАТЕ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ	
<i>А.Б. Чухловин</i>	
ФАКТОРЫ СОЛЕВОГО БАЛАНСА И ВОЗМОЖНАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ В РАЗВИТИИ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	26
<i>Т.В. Виноградова, М.Ю. Дорофеева, В.С. Сухоруков</i>	
ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССА ЛИГАНД-ЗАВИСИМОГО ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В-ЛИМФОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С ВТОРИЧНОЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ	30
ЛАБОРАТОРНЫЕ АСПЕКТЫ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ	
<i>В.В. Вельков</i>	
ПРОКАЛЬЦИТОНИН И С-РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК В СОВРЕМЕННОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ. ЧАСТЬ 2	34
<i>А.А. Жлоба</i>	
ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ПРИ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ. ЛЕКЦИЯ. ЧАСТЬ 1	49
КОНСИЛИУМ У ПОСТЕЛИ БОЛЬНОГО	
<i>В.М. Шмелева, С.И. Капустин, М.Н. Блинов, Л.П. Папаян</i>	
ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЯ — ЗНАЧИМЫЙ ПРЕДИКТОР РАЗВИТИЯ И НЕБЛАГОПРИЯТНОГО КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ ВЕНОЗНЫХ ТРОМБОЗОВ	61
<i>С.В. Лапин, А.Л. Маслянский</i>	
ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА: НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ	69
ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В НАЦИОНАЛЬНОМ ПРОЕКТЕ «ЗДОРОВЬЕ»	
<i>Е.О. Комлева, А.С. Лисянская, Г.М. Манихас</i>	
ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ СА125 КАК МАРКЕРА РАКА ЯИЧНИКОВ	75
<i>Производитель: НПФ «Лабовэй», Россия</i>	
АНАЛИЗАТОР ГЛЮКОЗЫ АВТОМАТИЧЕСКИЙ «ЭНЗИСКАН УЛЬТРА» (РОССИЯ)	80
МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ	
МММ — МЕМОРАНДУМ МЕДИЦИНЫ И МЕТРОЛОГИИ	83

О РЕЗУЛЬТАТАХ ПРОВЕДЕНИЯ ЦИКЛОВ ВНЕШНЕГО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА СЕРОДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА В ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЯХ СУБЪЕКТОВ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

С.В. РОТАНОВ

Федеральное государственное учреждение

«Государственный научный центр дерматовенерологии Министерства здравоохранения и социального развития России» (ФГУ «ГНЦД Минздравсоцразвития России»), г. Москва

Резюме. В ФГУ «ГНЦД Минздравсоцразвития» при выполнении целей и задач Федеральной целевой программы «Предупреждение и борьба с заболеваниями социального характера» (2002–2006 годы) для организации и регулярного проведения внешнего контроля качества серологических методов диагностики сифилиса (ВКК_{сифилис}) в дерматовенерологических учреждениях (ДВУ) России была разработана концепция Системы ВКК лабораторной диагностики инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), определены требования к организации работы этих лабораторий и составлен регистр лабораторий России, осуществляющих исследования по диагностике ИППП.

Для обеспечения качественного проведения циклов ВКК_{сифилис} разработаны и зарегистрированы контрольные материалы — панель контрольных сывороток «ЭП СИФИЛИС», подготовлены стандартные операционные процедуры по проведению регламентированных методов серологического исследования образцов крови (реакция микропреципитации, реакция плазменных реагентов, РПГА, ИФА).

Обсуждаются результаты четырех циклов ВКК_{сифилис}, проведенных в ДВУ субъектов РФ за период 2004–2007 годов. Показана высокая доля неудовлетворительных результатов выполнения контрольных заданий с применением нетрепонемных тестов (22,6; 27,3; 26,9 и 20,8% соответственно) и небольшое количество неудовлетворительных результатов, предоставленных по результатам исследования КМ в трепонемных тестах.

Определены задачи по дальнейшему развитию и совершенствованию системы ВКК_{сифилис}.

Ключевые слова: сифилис, серодиагностика, внешний контроль качества.

RESULTS OF EXTERNAL QUALITY CONTROL SESSIONS FOR SYPHILIS SERODIAGNOSTICS IN DERMATOVENEROLOGY INSTITUTIONS OF RUSSIAN FEDERATION REGIONS

S.V. ROTANOV

Federal State Institution "State Scientific Center for Dermatovenereology, Ministry of Health Care and Social Development of Russia", Moscow

Summary. Federal State Institution "State Scientific Center for Dermatovenereology, Ministry of Health Care and Social Development of Russia" worked out the concept of the external quality control for laboratory diagnosis of sexually transmitted infections. The project is based on Federal Program "Prevention and treatment of social diseases" (2002–2006). The aim of this project was to organize the system of external quality control for serological methods of syphilis diagnosis and to perform regularly the external quality control procedures in dermatovenereologic clinics of Russian Federation. In frames of the project the demands to organization of the work of laboratories were worked out and the all-Russia register of the laboratories performing the investigations for diagnostics of sexually transmitted infections was made.

To improve quality of the external quality control sessions for syphilis the control materials (expert panel of control sera "SYPHILIS") were registered, standard operation procedures for methods of serological investigations of blood samples were prepared (microprecipitation reaction, plasma reagent reaction, indirect hemagglutination, ELISA).

Results of the four sessions of external quality control for syphilis performed in serologic labs of dermatovenereological clinics of Russian Federation in 2004–2007 are discussed. The investigation revealed high percentage of unsatisfactory results in performing of control procedures with the use of non-treponemal test RMP (22.6; 27.3; 26.9 u 20.8% respectively) and small number of incorrect results in treponema-based tests indirect hemagglutination (8.4; 9.3; 2.1; 1.1% respectively), FTA (21.7; 10.1; 2.0; 2.3% respectively) and ELISA IgG+M (15.4; 1.8; 0.8; 0.9% respectively).

Problems and directions for further development and improvement of external quality control for syphilis diagnosis were stated.

Key words: laboratory tests for syphilis, external quality control, control materials.

Введение

В современных условиях при диагностике сифилитической инфекции ведущую роль играют серологические методы исследования. Это обусловлено особенностями клинического течения этого заболевания, для которого характерно чередование периодов развития клинических признаков и периодов их полного разрешения. При отсутствии у пациента клинических проявлений заболевания результаты серологического обследования, позволяющего обнаружить в крови циркулирующие иммунные антитела к возбудителю инфекции, являются подчас единственным основанием для установления правильного диагноза. В этой связи особое значение приобретает проблема качественного проведения лабораторных исследований и получения при этом достоверных результатов.

На оценку качества проведения диагностических исследований в отдельной лаборатории направлены организация и осуществление мероприятий внешнего контроля качества (ВКК). Этот вид контроля позволяет выявлять системные ошибки аналитического процесса, ускользающие от внимания исследователя при регулярном проведении мероприятий внутрилабораторного контроля качества.

В соответствии с современными тенденциями развития клинической лабораторной диагностики как самостоятельной медицинской дисциплины нормативными документами Министерства здравоохранения функции организации и ведения ВКК всех разделов лабораторной диагностики были переданы в ведение специально созданного подразделения, Федеральной системы внешней оценки качества (ФСВОК) [1, 2, 3]. В то же время по некоторым специальным вопросам клинических исследований (в силу их особой социальной значимости для охраны здоровья населения) проведение внешнего контроля закреплено за ведущими научными учреждениями страны. Так, в соответствии с приказами Министерства здравоохранения СССР [4, 5] и Российской Федерации [6] Государственному научному центру дерматовенерологии (ранее ЦНИКВИ Росздрава) поручено проведение ВКК лабораторных методов диагностики инфекций, передаваемых половым путем (ИППП). Более того, в период обострения эпидемиологической обстановки, связанной с неконтролируемым ростом заболеваемости ИППП, Правительством Российской Федерации было принято Постановление о реализации Федеральных целевой программы «Предупреждение и борьба с заболеваниями социального характера» и ее подпрограммы «О мерах по предупреждению дальнейшего распространения заболеваний, передаваемых половым путем» (2002–2006 годы). В числе важнейших мероприятий, направленных на достижение цели подпрограммы, заключавшейся в стабилизации уровня заболеваемости ИППП в стране, была определена задача организации и проведения ВКК оказания диагностической помощи [7].

Целью проведения исследования явилась разработка Системы ВКК серодиагностики сифилитической инфекции, ее методологии и условий реализации, а также проведение практических циклов ВКК серологических исследований на сифилис в дерматовенерологических учреждениях (ДВУ) Российской Федерации.

Материалы и методы. При разработке основных положений Системы ВКК диагностики ИППП применены рекомендации, содержащиеся в действующих нормативных актах Министерства здравоохранения России, а также опыт работы в данном направлении, накопленный в ФГУ «ГНЦД Минздравсоцразвития» в предшествующие годы. Состояние лабораторной диагностики сифилиса в серологических лабораториях ДВУ субъектов России изучали путем анкетного опроса этих лабораторий и анализа протоколов исследования панелей контрольных сывороток в циклах ВКК.

Результаты и обсуждение. Для организации и регулярного проведения мероприятий по ВКК лабораторных исследований, применяемых при диагностике ИППП в дерматовенерологических учреждениях Российской Федерации (в том числе и серологических методов, применяемых при диагностике сифилиса), в ФГУ «ГНЦД Минздравсоцразвития» была разработана концепция Системы внешнего контроля качества лабораторной диагностики ИППП [8]. Основные положения разработанной Системы ВКК сводятся к следующему. На базе ФГУ «ГНЦД Минздравсоцразвития» создается Центр ВКК_{сифилис}, в функции которого входят:

- разработка стандартных требований к организации и функционированию лабораторий, выполняющих серологические исследования на сифилис;
- отбор и регистрация лабораторий-участников системы ВКК из числа ДВУ субъектов Российской Федерации;
- разработка и регистрация панелей контрольных материалов для проведения мероприятий внутрилабораторного и внешнего контроля качества;
- формирование и рассылка контрольных заданий в лаборатории, получение результатов контроля;
- статистическая обработка и общая оценка качества серологической диагностики сифилиса в контролируемых лабораториях ДВУ;
- рассылка результатов контроля и предлагаемых на их основе рекомендаций по повышению качества диагностики;
- оказание методической помощи в обеспечении качественного проведения серологических исследований в региональных лабораториях.

В своей деятельности Центр ВКК опирается на сеть межрегиональных лабораторий (лабораторий ДВУ субъектов Российской Федерации), которые осуществляют внешние контрольные функции на подведомственной территории.

В соответствии с положениями разработанной концепции на подготовительном этапе было проведено

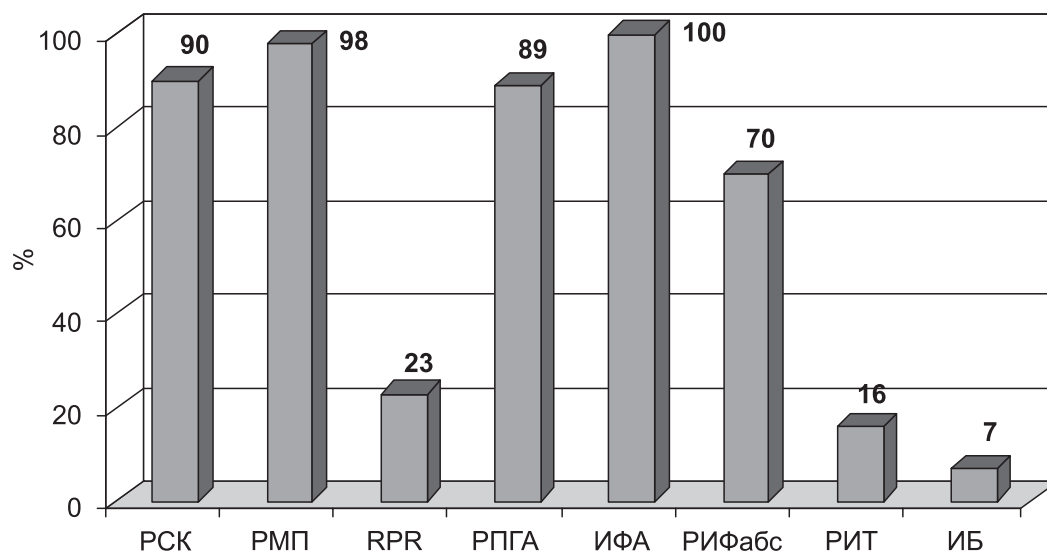


Рис. 1. Методы серологического исследования, применяемые в ДВУ России при диагностике сифилитической инфекции

изучение состояния лабораторной диагностики сифилитической инфекции в ДВУ субъектов РФ и отбор лабораторий для проведения контрольных мероприятий. Для этого была разработана анкета, содержащая вопросы об организации деятельности серологических лабораторий, их табельном оснащении основным и вспомогательным оборудованием, кадровых ресурсах и применяемых серологических методах исследования. На основании данных, полученных при проведении опроса, и рекомендаций, содержащихся в нормативных документах [9, 10, 11, 12], в ФГУ «ГНЦД Минздравсоцразвития» были разработаны «Стандартные требования к организации лабораторий, осуществляющих диагностику ИППП» [13]. Сборник стандартных требований содержал разделы по табелю оснащения специальным оборудованием, позволяющим выполнять современные серологические исследования, кадровому составу медицинских работников лаборатории и набору производственных и вспомогательных помещений. Подготовка стандартных требований была направлена на оптимизацию работы клиничко-диагностических лабораторий в ДВУ и содержала критерии, позволявшие провести первичный отбор лабораторий для включения их в число участников мероприятий ВКК_{СИФИЛИС} [14].

По результатам опроса ДВУ субъектов России также был составлен Регистр лабораторий региональных лечебно-профилактических учреждений, выполняющих серологические исследования с целью диагностики сифилиса, он включал сведения о 798 клиничко-диагностических лабораториях.

При подготовке к проведению циклов ВКК_{СИФИЛИС} была осуществлена подготовка контрольных материалов (КМ) для проведения контроля качества. Результатом исследований по оценке свойств КМ, приготовленных в жидкой и лиофилизированной форме, явилась разра-

ботка и регистрация в Российской Федерации «Экспертной панели контрольных сывороток для серодиагностики сифилиса «ЭП СИФИЛИС»» [15]. Указанная панель КМ представляет собой стабилизированные сыворотки крови человека, содержащие и не содержащие антитела к возбудителю сифилиса, которые на этапе производственного выпуска аттестованы с помощью регламентированных серологических реакций: РМП, RPR, РПГА, РИФ и ИФА.

В соответствии с методологией Системы ВКК мероприятия ВКК_{СИФИЛИС} должны включать все методы диагностических исследований, которые могут быть стандартизированы и подвергнуты контролю.

По результатам анкетирования была проведена оценка видов серологических тестов, применяемых при обследовании на сифилис (рис. 1). Полученные результаты продемонстрировали, что во всех серологических лабораториях ДВУ для диагностики сифилиса применяется иммуноферментный анализ (100%), в подавляющем большинстве — реакция микропреципитации (98%), реакция связывания комплемента (90%) и реакция пассивной гемагглютинации (89%), несколько реже используется реакция иммунофлюоресценции (70%). Другие регламентированные тесты используются в небольшом количестве лабораторий: RPR — в 23%, РИТ — в 16% и иммуноблоттинг — в 7% лабораторий.

Реакция связывания комплемента (предложенная А. Вассерманом, А. Нейссером и К. Бруком в 1906 году) в течение длительного времени являлась основной лабораторного исследования на сифилис. Однако с современных позиций этот вид исследования трудно стандартизуем: при его проведении применяется большое количество ручных процедур, многие реагенты приготавливаются в лабораторных условиях, при оценке результатов теста используются субъективные критерии.

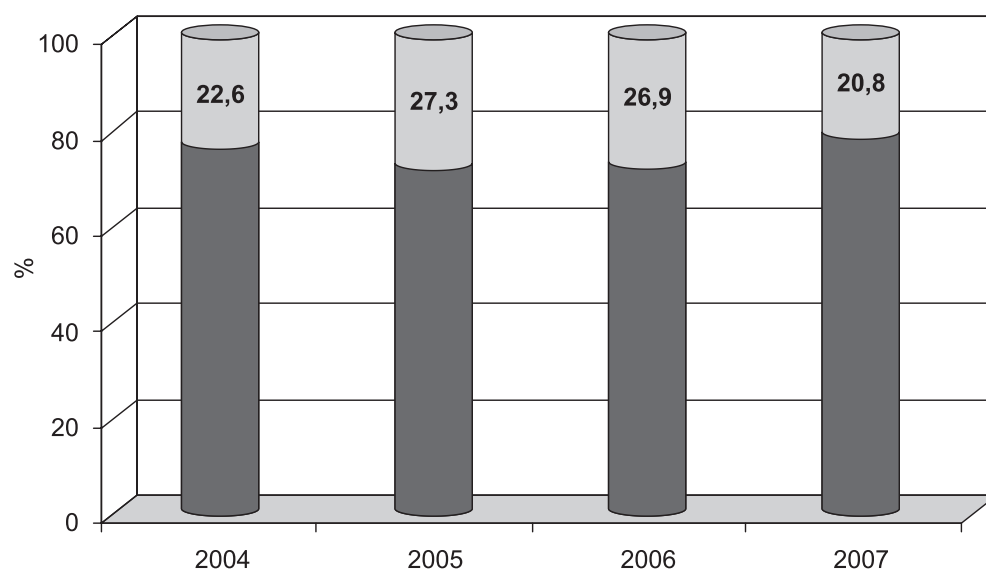


Рис. 2. Соотношение лабораторий, показавших удовлетворительные и неудовлетворительные результаты контроля качества нетрепонемных тестов

Кроме того, по свидетельству многочисленных публикаций, исследование этим методом дает существенную долю ложных результатов (ложноотрицательных и ложноположительных). Таким образом, отдавая должное исторической роли этой реакции, в настоящее время этот метод оценивается как морально устаревший, по уровню клинической эффективности не соответствующий потребностям отечественного здравоохранения; его массовое применение ограничивается в соответствии с рекомендациями Приказа Министерства здравоохранения Российской Федерации № 87 [6].

Оптимальными методами серодиагностики сифилиса, подлежащими внешнему контролю, на настоящий момент являются следующие: реакция микропреципитации с кардиолипидным антигеном РМП и тест быстрого определения реагинов (нетрепонемные тесты), реакции пассивной гемагглютинации, иммунофлюоресценции и иммуноферментный анализ (трепонемные тесты). Для стандартизации методик выполнения перечисленных серологических тестов были разработаны стандартные операционные процедуры (СОП), в которых подробно описаны этапы аналитического процесса, включая правила и технологию проведения внешнего и внутрिलाбораторного контроля качества [16, 17].

Критерием оценки результатов исследований в циклах ВКК_{СИФИЛИС} являлось совпадение результатов тестирования КМ, проведенного в контролируемых лабораториях, по сравнению с их аттестационными характеристиками. Учитывая особенности полуколичественной оценки уровня выявляемых в серологических тестах на сифилис иммунных антител, считалось допустимым отклонение титра выявленных антител на одно разведение в большую или в меньшую сторону по сравнению с аттестованными значениями. Качество исследования образцов КМ в циклах ВКК_{СИФИЛИС} оце-

нивалось как неудовлетворительное при получении в региональных лабораториях результатов, отличающихся от значений, приведенных в аналитическом паспорте контрольного образца (в том числе по титру антител более чем на одно разведение).

В период 2004–2007 годов было проведено четыре контрольных цикла ВКК_{СИФИЛИС} с привлечением от 30 до 80 серологических лабораторий ДВУ страны [18, 19]. Результаты контрольных исследований при этом были предоставлены от 30–70 лабораторий, что составляло от 81,9 до 100% участников. Контрольное задание во всех циклах ВКК_{СИФИЛИС} заключалось в исследовании четырех образцов контрольных сывороток, представлявших собой шифрованные КМ из состава «ЭП СИФИЛИС». Контрольные образцы было необходимо изучить с применением не менее трех из рекомендованных к контролю серологических реакций и в течение 7 дней после получения почтовой бандероли, содержащей контрольные задания, протокол с результатами исследования направить в ФГУ «ГНИЦ Минздравсоцразвития».

Результаты проведения контрольных мероприятий подсказали необходимость разработки и применения дополнительных критериев для оценки эффективности проведения циклов ВКК_{СИФИЛИС} — выполнение формальных условий, таких как сроки проведения контрольных исследований и предоставления результатов в ФГУ «ГНИЦ Минздравсоцразвития» и виды используемых для исследований КМ серологических тестов.

При оценке качества исследования КМ в нетрепонемных тестах (в основном в реакции микропреципитации) было получено 22,6; 27,3; 26,9 и 20,8% неудовлетворительных результатов в контрольных циклах 2004, 2005, 2006 и 2007 годов соответственно (рис. 2).

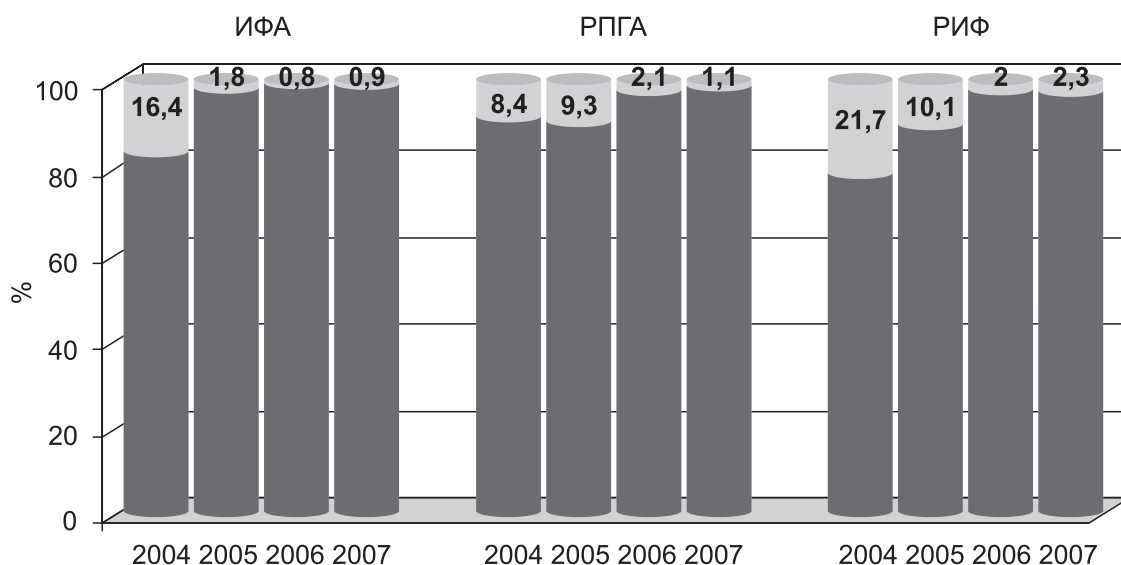


Рис. 3. Соотношение лабораторий, показавших удовлетворительные и неудовлетворительные результаты контроля качества трепонемных тестов

Столь высокий процент неудовлетворительных результатов, отличающихся от аттестационных характеристик КМ, демонстрировал недостаточный уровень качества проведения диагностических исследований путем определения реакиновых антител. Это могло быть обусловлено различными причинами; среди них необходимо обращать внимание на качество используемых для проведения исследований наборов реагентов, а также качество приготовления и сроки использования в каждой лаборатории рабочей эмульсии кардиолипинового антигена. Необходимо отметить, что результаты исследования КМ с использованием RPR-реагента были значительно лучше, что не в последнюю очередь обусловлено тем, что применяемый диагностикум готовится и его качество контролируется в условиях промышленного производства. Однако широкое применение теста быстрого выявления реакинов (RPR) сдерживается высокой стоимостью набора реагентов для его проведения.

В цикле ВКК_{СИФИЛИС} 2004 года также наблюдалось значительное число неудовлетворительных результатов исследования КМ в региональных лабораториях, проведенных с применением трепонемных тестов (РИФ, ИФА и РПГА). Однако в последующие годы, несмотря на то, что к проведению внешнего контроля качества постоянно привлекались и новые лаборатории, доля результатов, существенно отличавшихся от аттестованных значений, значительно сокращалась (рис. 3).

Повышению качества исследований в трепонемных тестах, безусловно, способствовало и повышение опыта работы и качество используемых для проведения исследований наборов реагентов, особенно для методов, которые относительно недавно стали широко применяться в серологических лабораториях (ИФА и РПГА), а также разработка и регистрация в Российской Федерации

наборов реагентов для РИФ промышленного производства.

Таким образом, за период 2004–2006 годов при выполнении целей и задач Федеральной целевой программы «Предупреждение и борьба с заболеваниями социального характера» и ее подпрограммы «О мерах по предупреждению дальнейшего распространения заболеваний, передаваемых половым путем» (2002–2006 годы) в ФГУ «ГНЦД Минздравсоцразвития» была разработана Система внешнего контроля качества диагностики ИППП и осуществлена практическая реализация мероприятий Системы ВКК_{СИФИЛИС}.

Для регулярного проведения контрольных циклов серодиагностики сифилиса были разработаны стандартные требования организации серологических лабораторий, на их основании выбраны участники проведения циклов ВКК_{СИФИЛИС}, подготовлены сборники СОП по основным регламентированным методам серологических исследований с включением правил ведения внутрилабораторного и внешнего контроля качества, разработан и осуществляется выпуск разрешенных к применению в Российской Федерации КМ для внутрилабораторного и внешнего контроля качества серодиагностики сифилиса.

Результаты проведения контрольных циклов ВКК_{СИФИЛИС} позволили оценить качество проведения трепонемных и нетрепонемных тестов в серологических лабораториях ДВУ субъектов Российской Федерации. Установлено, что не все серологические лаборатории ДВУ субъектов РФ принимали активное участие в контрольных циклах 2004–2007 годов. При этом серологическая диагностика сифилиса, в особенности осуществляемая с помощью нетрепонемных тестов, находится на невысоком уровне, что не удовлетворяет современным потребностям здравоохранения. Выявлена устой-

чивая тенденция к повышению качества выполнения трепонеменных тестов, применяемых при диагностике сифилиса.

Полученный в 2004–2007 годах опыт работы позволил определить дальнейшие задачи для развития и совершенствования системы ВКК_{сифилис}, для этого необходимо:

- осуществлять проведение контроля на регулярной основе;
- расширять число участников контрольных циклов;
- формировать более сложные контрольные задания;
- совершенствовать разделы работы, связанные с формой и своевременным и более полным представлением результатов проведенного контроля качества как в Центр ВКК_{сифилис}, так и в региональные лаборатории (с использованием сети Интернет, факс-телефонии);
- привлекать к проведению мероприятий ВКК и другие лаборатории в составе лечебно-профилактических учреждений, осуществляющие серологическую диагностику сифилиса (централизованные клиничко-диагностические лаборатории, лаборатории отделений анонимного обследования и лечения, станции переливания крови, учреждения пенитенциарной системы и других вневедомственных учреждений);
- привлекать лаборатории ДВУ субъектов Российской Федерации к проведению мероприятий ВКК среди лечебно-профилактических учреждений курируемой ими административной территории.

Литература

1. Приказ Минздравмедпрома Российской Федерации № 9 от 6 января 1994 г. «О совершенствовании работы по внешнему контролю качества клинических лабораторных исследований».
2. Приказ Минздрава Российской Федерации № 45 от 7 февраля 2000 г. «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации».
3. Приказ Минздрава Российской Федерации № 220 от 26 мая 2003 г. «Об утверждении отраслевого стандарта «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов»».
4. Приказ Минздрава СССР № 575-ДСП от 20 июня 1977 г. «О дополнительных мерах по усилению борьбы с венерическими заболеваниями».
5. Приказ Минздрава СССР № 1161 от 2 сентября 1985 г. «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса».
6. Приказ Минздрава РФ № 87 от 26 марта 2001 г. «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса».
7. Постановление Правительства Российской Федерации от 13 ноября 2001 г. № 790 «О федеральной целевой программе «Пре-

дупреждение и борьба с заболеваниями социального характера (2002–2006 годы)»».

8. Кубанова А.А. Система внешнего и внутреннего контроля качества лабораторной диагностики заболеваний, передаваемых половым путем, в Российской Федерации. (Основные положения) / А.А. Кубанова, Н.В. Фриго, С.В. Ротанов и др. — М.: ДЭКС-ПРЕСС, 2006. — 40 с. (в свободном доступе на сайте ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий» по электронному адресу <http://www.cnikvi.ru.www>).

9. Приказ МЗ СССР № 380 от 16 апреля 1975 г. «О состоянии и перспективах развития лабораторной клиничко-диагностической службы в стране». Приложение № 2. «Примерный перечень оборудования для клиничко-диагностических лабораторий».

10. Приказ МЗ СССР № 868 от 19 июня 1986 г. «О совершенствовании централизации клинических лабораторных исследований». Приложение № 4. «Примерный перечень лабораторного оборудования для централизованных клиничко-диагностических лабораторий различного профиля».

11. Приказ Минздрава РФ № 291 от 30 июля 2001 г. «О мерах по предупреждению распространения инфекций, передаваемых половым путем» (в редакции № 411 от 15.11.2001). Приложение № 2 «Положение об организации деятельности республиканского, краевого, областного, окружного кожно-венерологического диспансера».

12. Приказ Минздрава РФ № 753 от 01.12.2005 «Об оснащении диагностическим оборудованием амбулаторно-поликлинических и стационарно-поликлинических учреждений муниципальных образований».

13. Кубанова А.А. Стандартные требования к организации деятельности лабораторий, осуществляющих диагностику ИППП / А.А. Кубанова, Н.В. Фриго, А.А. Кубанов, С.В. Ротанов и др. — М.: ФГУ «ЦНИКВИ Росздрава», 2006. — 12 с. (<http://www.cnikvi.ru.www>).

14. Ротанов С.В. Стандартизация условий деятельности серологических лабораторий — путь к оптимизации лабораторной диагностики сифилиса / С.В. Ротанов, Н.В. Фриго // Вестник дерматол. и венерол. — 2007. — № 6. — С. 23–33.

15. «Экспертная панель контрольных сывороток для серодиагностики сифилиса “ЭП СИФИЛИС”», по ТУ № 9398-001-01897647-2007 (№ государственной регистрации ФСР 2007/00695 от 18.09.2007 г.).

16. Кубанова А.А. Обеспечение внутрилабораторного контроля качества при выполнении серологических исследований с целью диагностики сифилиса / А.А. Кубанова, С.В. Ротанов, Н.В. Фриго // Сборник стандартных операционных процедур (СОП № 003-006/01 СИФ). — М.: ФГУ «ЦНИКВИ Росздрава», 2006. — 108 с. (<http://www.cnikvi.ru.www>).

17. Кубанова А.А. Проведение внешнего контроля качества серологических исследований с целью диагностики сифилиса / А.А. Кубанова, С.В. Ротанов, Н.В. Фриго // Сборник стандартных операционных процедур (СОП № 007-010/01 СИФ). — М.: ФГУ «ЦНИКВИ Росздрава», 2006. — 84 с. (<http://www.cnikvi.ru.www>).

18. Ротанов С.В. К оценке качества серологических исследований в диагностике сифилиса // Российский журнал кожных и венерич. болезней. — 2008. — № 1. — С. 52–56.

19. Ротанов С.В. Мероприятия внешнего контроля качества серологических исследований, направленных на серодиагностику сифилиса // Вестник дерматол. и венерол. — 2008. — № 4. — С. 9–16.

ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННОЙ СИСТЕМЫ КОНТРОЛЯ ДИАГНОСТИКИ И УЧЕТА ИППП И ПУТИ ЕЕ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ

Т.С. СМЕРНОВА, И.В. ЛИТВИНЕНКО

СПбГУЗ Городской кожно-венерологический диспансер, Санкт-Петербург

Резюме. Упорядочение деятельности неспециализированных учреждений здравоохранения различных форм собственности и ведомственной принадлежности по лабораторной диагностике ИППП возможно при наличии жестких нормативных правовых актов федерального уровня, утверждающих централизованный порядок обследования населения в лабораториях КВУ. Необходимо ограничить и строго регламентировать лабораторную диагностику и лечение сифилиса в неспециализированных учреждениях, как особо социально значимой инфекции. В статье предложены пути совершенствования системы контроля диагностики и учета ИППП в условиях сложившейся децентрализации в Санкт-Петербурге.

Ключевые слова: ИППП, диагностика и регистрация пациентов, законодательная база.

PROBLEMS OF MODERN QUALITY CONTROL SYSTEM IN DIAGNOSTICS AND REGISTRATION OF PATIENTS WITH SEXUALLY TRANSMITTED INFECTIONS AND WAY OF ITS IMPROVEMENT

T.S. SMIRNOVA, I.V. LITVINENKO

Saint-Petersburg State Institution of Health Care "Municipal dermatovenerology dispensary", Saint-Petersburg

Summary. Improvement of non-specialized health care institutions (federal, municipal, private, etc.) work for laboratory diagnosis of sexually transmitted infections is possible only in presence of strict legal base formulated at federal level. These legal acts should determine the centralized order of observation and investigation of patients in laboratories of dermatovenerological institutions. The laboratory diagnosis and treatment of syphilis at non-specialized institutions should be limited and strictly determined by the legal acts because of the special social significance of the disease. The ways of improvement of quality control for diagnosis and registration of sexually transmitted infections under conditions of decentralized system in Saint-Petersburg are given.

Key words: sexually transmitted infections, diagnostics and registration, legal base.

В течение последних 12 лет в Санкт-Петербурге официальная статистика заболеваемости ИППП (инфекций, передаваемых половым путем) не отражает истинный уровень, что является большой проблемой в условиях мегаполиса.

На рисунках 1 и 2 представлена заболеваемость сифилисом и гонококковой инфекцией в 2006 году в регионах Северо-Западного федерального округа. Показатели заболеваемости и сифилисом, и гонореей в Санкт-Петербурге ниже средних показателей по Российской Федерации и Северо-Западному федеральному округу. На первый взгляд эта ситуация выглядит благополучной.

Яркое опровержение этому — динамика показателей заболеваемости сифилисом и гонококковой инфекцией, которые до 1996 года в Санкт-Петербурге были в 2 и более раз выше показателей по России (табл. 1). Соотношение сифилиса к гонорее было как в России, так и в Санкт-Петербурге — 1 : 32. 1996 год оказался переломным: впервые в Санкт-Петербурге показатель заболеваемости гонореей стал ниже показателя заболеваемости сифилисом, который в свою очередь стал ниже россий-

ского. С 1996 года отмечается тенденция к снижению показателей заболеваемости и сифилиса, и гонореей в Санкт-Петербурге. По итогам 2007 года соотношение сифилиса к гонорее по России 1 : 1, а по СПб — 1 : 0,8.

Считаем, что цифровое снижение заболеваемости сифилисом и гонореей связано с неполной регистрацией больных.

В дерматовенерологической службе города межрайонные централизованные лаборатории (4 серологических и 2 бактериологических) были организованы более 30 лет назад. До 1996 года лабораторная диагностика ИППП (прежде всего сифилиса и гонореей) для всех ЛПУ города была сконцентрирована только в этих лабораториях. Это позволяло четко отслеживать заболеваемость сифилисом и гонореей в масштабах города и легко контролировать деятельность лабораторий. Исключение составляла лишь бактериоскопическая диагностика гонореей, но находки гонококков в обязательном порядке подтверждались в районных кожно-венерологических диспансерах.

В 1996 году в городе получили активное развитие коммерческие структуры, хозрасчетные услуги по дер-

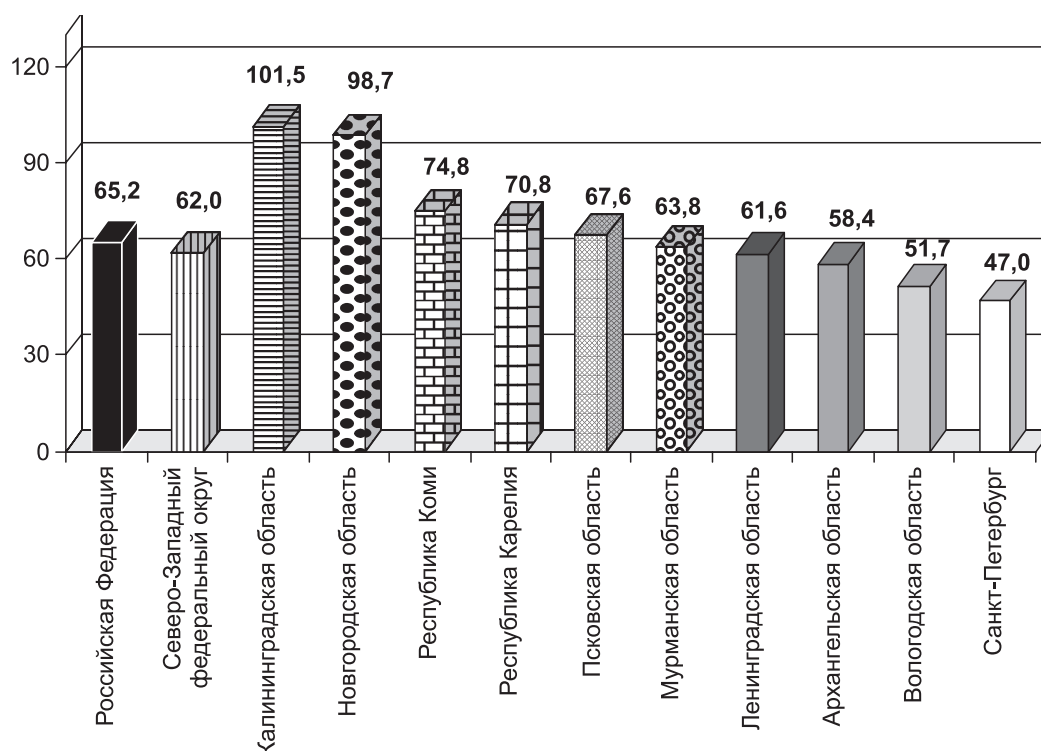


Рис. 1. Заболеваемость сифилисом в 2006 году в регионах Северо-Западного федерального округа

матовенерологии (в т. ч. лабораторная диагностика) в неспециализированных учреждениях здравоохранения и ЛПУ других ведомств, а также анонимное обследо-

вание пациентов. Это привело к децентрализации лабораторной диагностики ИППП и нарушило четкую систему выявления и регистрации больных.

Таблица 1

Динамика показателей заболеваемости сифилисом и гонококковой инфекцией в России и Санкт-Петербурге в 1989–2007 гг. (на 100 тыс. человек)

Год	Сифилис		Гонорея	
	Россия	СПб	Россия	СПб
1989	4,3	7,6	137,0 (L: Gn = 1:32)	248,0 (L: Gn = 1:32)
1992	12,6	29,5	155,0	339,0
1996	254,2	237,3	133,5	176,7
1998	234,8	168,7	103,0	117,2
1999	186,7	129,5	115,2	130,3
2000	165,3	125,0	121,5	133,4
2001	143,7	109,3	109,8	99,2
2002	119,5	84,3	94,2	74,4
2003	95,2	66,5	82,5	53,3
2004	79,2	49,2	79,0	45,9
2005	68,8	43,8	71,5	39,7
2006	61,5	46,5	61,1	38,1
2007	63,0	49,0	59,9 (L: Gn = 1:1)	38,6 (L: Gn = 1:0,8)

Достоверность показателей зависит от представленных каждым врачом извещений (ф. 089/у-кв)

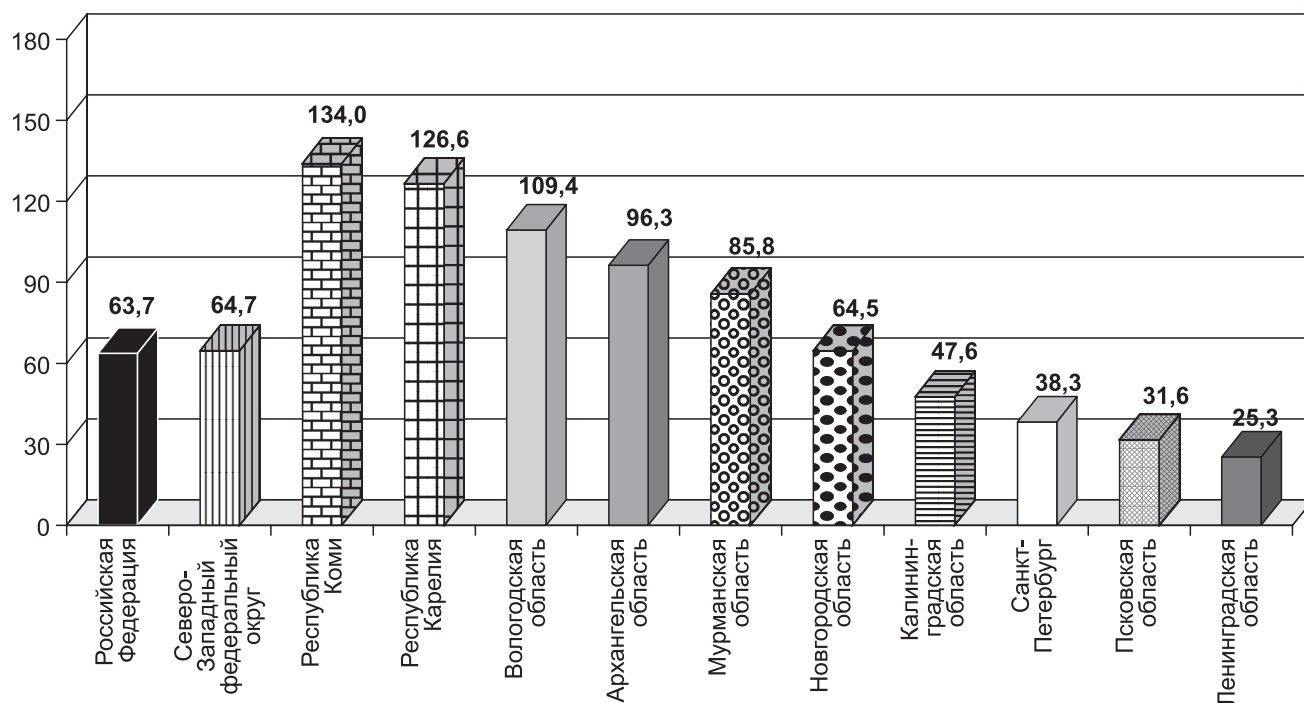


Рис. 2. Заболеваемость гонококковой инфекцией в 2006 году в регионах Северо-Западного федерального округа

На рисунке 3 представлена схема взаимодействия учреждений здравоохранения с кожно-венерологическими учреждениями (КВУ) в настоящее время. В го-

родскую статистику через КВУ полностью попадают сведения из учреждений здравоохранения различных форм собственности и принадлежности, обслуживаемых

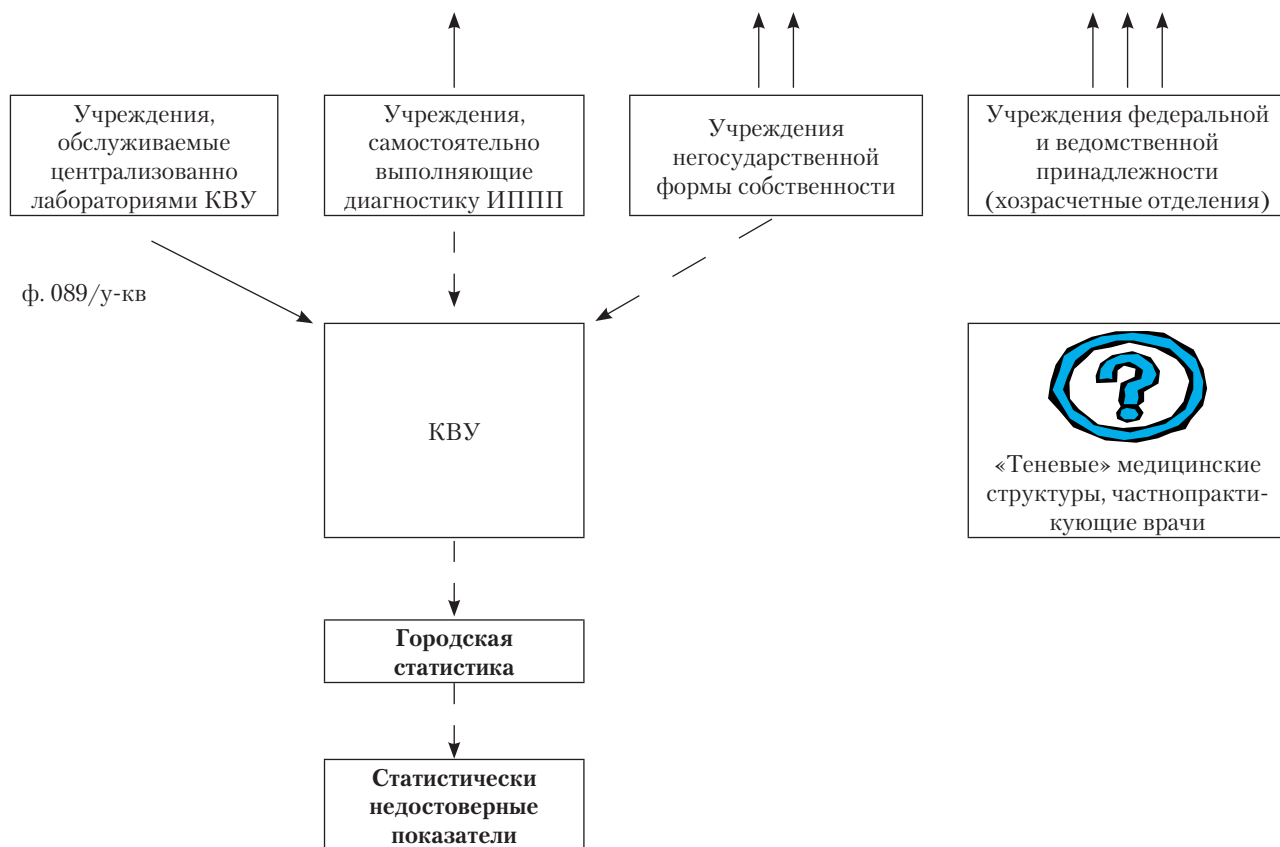


Рис. 3. Схема взаимодействия учреждений здравоохранения с КВУ

Таблица 2

Результаты анкетирования

Количество лабораторий, участвующих в анкетировании	Диагностика сифилиса	Диагностика гонореи	Диагностика трихомониаза	Диагностика хламидиоза
КВУ	20	19	17	17
	16,5%	27,9%	16,2%	27,4%
Другие учреждения	101	49	88	87
	83,5%	72,1%	83,8%	83,7%
Всего	121	68	105	104
	100%	56,2%	86,8%	86,0%

Таблица 3

Результаты анкетирования по диагностике сифилиса

Количество лабораторий, участвующих в анкетировании	Темнопольная микроскопия	МРП, РПР	РВ	ИФА	РПГА	РИФ	РИТ
КВУ	19	15	17	7	8	14	3
	27,9%	83,3%	26,6%	87,5%	44,4%	51,9%	100%
Другие учреждения	49	3	47	1	10	13	—
	72,1%	16,7%	73,4%	12,5%	55,6%	48,1%	—
Всего	68	18	64	8	18	27	3
	56,2%	14,9%	52,9%	6,6%	14,9%	22,3%	0,8%

в централизованном порядке лабораториями КВУ. Частично попадают сведения из учреждений здравоохранения различных форм собственности, которые самостоятельно выполняют исследования, но взаимодействуют с КВУ. Сведения из учреждений здравоохранения федеральной и ведомственной принадлежности, как правило, минуют КВУ. В условиях рыночной экономики образовался пласт «теневых» медицинских структур и частнопрактикующих врачей, где уровень диагностики оценить вообще невозможно.

Таким образом, децентрализация лабораторной диагностики ИППП в Санкт-Петербурге приобрела неконтролируемый размах. Для оценки этого процесса и уровня лабораторной диагностики ИППП в 2004–2006 годах в рамках российско-шведской программы по ИППП (руководители проекта профессор Домейка М. и профессор Савичева А.М.) было проведено анкетирование учреждений здравоохранения различных форм собственности и ведомственной принадлежности, с большими трудностями и далеко не полным охватом учреждений.

В результате анкетирования получено 154 анкеты из 144 учреждений. В 33 учреждениях диагностика ИППП не выполнялась. Анализу подлежали 121 анкета из 111 учреждений, в том числе 20 анкет (16,5%) из лабораторий 16-ти КВУ и 101 анкета (83,5%) из лабораторий 95-ти медицинских учреждений различных форм собственности и ведомственной принадлежности.

Проведенное анкетирование показало масштабы децентрализации (табл. 2): доля лабораторий неспециализированных учреждений, выполняющих диагностику сифилиса, гонореи, трихомониаза и хламидиоза, составила более 72% участников опроса.

Результаты анкетирования по диагностике сифилиса (табл. 3) показали преобладание доли неспециализированных учреждений в выполнении микрореакции и иммуноферментного анализа (ИФА). После получения оборудования для ИФА-диагностики в рамках национального проекта «Здоровье» начался очередной отток ЛПУ из наших централизованных серологических лабораторий (в национальный проект «Здоровье» кожно-венерологические учреждения Санкт-Петербурга не были включены). Вызывает тревогу изменившаяся структура заболеваемости сифилисом за счет увеличения скрытых форм (более 40% с 2004 года) и роста числа больных с поражением нервной системы и внутренних органов (табл. 4). В сложившейся эпидемиологической ситуации требуется высокое качество серодиагностики сифилиса и четкое взаимодействие всех учреждений здравоохранения с дерматовенерологической службой.

Безусловное преобладание доли неспециализированных учреждений видим и по выполнению всех методов диагностики гонореи (табл. 5). С сожалением надо отметить, что взамен приказа МЗ СССР № 1570 от 04.12.86 «Об улучшении выявления больных гонореей

Таблица 4

Динамика регистрации сифилиса по клиническим формам

Годы	Сифилис (уд. вес, в %)				
	Первичный	Вторичный	Скрытый	Врожденный	Нервной системы (поздний)
1989 (минимальная заболеваемость)	29	47	23	0,3	0,3
1995 (пиковая заболеваемость)	36	50	14	0,03	0,1
1998	26	47	26	0,25	0,05
2001	28	43	29	0,3	0,1
2004	17	38	43 !	0,6	0,9 (!)
2005	22	35	42 !	0,5	0,9 (!)
2006	20	35	44 !!	0,2	1,3 (!!)
2007	20	37	41 !	0,3	0,9 (!)

Таблица 5

Результаты анкетирования по диагностике гонореи

Количество лабораторий, участвующих в анкетировании		Бактериоскопический метод	Бактериологический метод	Молекулярно-биологические методы
КВУ	17	17	4	1
	16,2%	16,7%	25,0%	9,1%
Другие учреждения	88	85	12	10
	83,8%	83,3%	75,0%	90,9%
Всего	105	102	16	11
	86,8%	84,3%	13,2%	9,2%

Таблица 6

Результаты анкетирования по диагностике хламидиоза

Количество лабораторий, участвующих в анкетировании		ПИФ	ИФА	ПЦР	Культуральная диагностика
КВУ	17	15	12	3	—
	27,4%	39,5%	29,3%	16,7%	—
Другие учреждения	45	23	29	15	4
	72,6%	60,5%	70,7%	83,3%	100%
Всего	62	38	41	18	4
	51,2%	61,3%	66,1%	29,0%	6,5%

и трихомониазом в акушерских и гинекологических отделениях (палатах, кабинетах), женских консультациях и урологических кабинетах поликлиник» до сих пор нет нормативного документа, регламентирующего не только лабораторную и клиническую диагностику гонореи и трихомониаза, но и взаимодействие неспециализированных учреждений с кожно-венерологическими учреждениями.

По результатам анкетирования по диагностике хламидиоза, представленных в таблице 6, также отмечаем преобладание доли неспециализированных учреждений.

Таким образом, по результатам анкетирования доля лабораторий кожно-венерологических учреждений, выполняющих диагностику сифилиса, гонореи, трихомониаза и хламидиоза, составила менее 25%. Если бы число участников анкетирования соответствовало фактическому количеству лабораторий в городе, то доля КВУ была бы еще меньше.

Децентрализованный порядок обследования на ИППП в неспециализированных учреждениях здравоохранения различных форм собственности и принадлежности не только нарушает систему выявления и регистрации больных, но и делает практически невозможным

контроль за качеством диагностики со стороны дерматовенерологической службы.

Наиболее значимые нарушения и ошибки, выявленные нами в ходе текущих проверок лабораторий *неспециализированных* учреждений:

- отсутствие нормативно-методической документации как федерального, так и территориального значения;
- нарушение алгоритмов обследования пациентов (например, применение скрининговой микро-реакции преципитации для тех контингентов, которые должны быть обследованы с применением комплекса серореакций, или применение методов диагностики, не регламентированных нормативными документами, например, ПЦР-исследование для установления диагноза гонореи);
- отсутствие обучения на специальных курсах в МАПО, на рабочем месте в КВД;
- отсутствие преемственности при смене кадров;
- прием пациентов непосредственно в лабораториях без осмотра и направления врача-клинициста;
- выдача ответов на руки даже с положительными результатами исследований на сифилис;
- отсутствие журналов телефонограмм положительных результатов исследований на сифилис;
- ошибки внутрилабораторного и отсутствие внешнего контроля качества (ФСВОК);
- искажение интерпретации результатов (так, в одной лаборатории присвоили гонококку плюсы — «gN++++», в другой «обнаружили» новый вид гонококка — *Gonococcus rubrum* (гонококк красный), в третьей «открыли» еще один вид трихомонады — *Trichomonas urogenitalis*).

С целью усиления контроля за выявлением и регистрацией ИППП в медицинских учреждениях в 2006 году в рамках российско-шведской программы по ИППП был реализован еще один проект — двойной регистрации ИППП из лабораторий медицинских учреждений и от врачей-клиницистов в 2-х районах города (руководители проекта профессор Домейка М. и профессор Савичева А.М.). Анализ проведенной работы показал неготовность города к двойной регистрации в условиях анонимного обследования пациентов, отсутствия единой программной системы учета и регистрации в ЛПУ.

Централизованный порядок выполнения лабораторных исследований — путь наиболее экономически выгодный и рентабельный, что подтверждается Концепцией реформирования лабораторной службы Санкт-Петербурга. К сожалению, в Концепции реформирования лабораторной службы Санкт-Петербурга отсутствует четкий план реструктуризации специализированных лабораторий как составной части службы клинической лабораторной диагностики города, в частности, специа-

лизированных лабораторий дерматовенерологической службы, решающих проблемы социально-значимых болезней.

Имеющаяся структура лабораторий дерматовенерологической службы города четко вписывается в трехуровневую систему лабораторной службы согласно Концепции ее реформирования в Санкт-Петербурге:

— *специализированные лаборатории 1-го уровня* — клиничко-диагностические лаборатории (КДЛ) районных КВД, в большинстве районов выполняющие в централизованном порядке для всех учреждений здравоохранения района скрининговые исследования на сифилис (микрореакция с плазмой — МРП), бактериоскопическую диагностику гонореи и трихомониаза, иммунофлюоресцентную диагностику ИППП;

— *специализированные лаборатории 2-го уровня* — межрайонные централизованные серологические лаборатории, выполняющие в централизованном порядке диагностические и специфические серологические реакции на сифилис для всех ЛПУ города, и межрайонные бактериологические лаборатории, выполняющие в централизованном порядке культуральную диагностику гонореи и трихомониаза для всех ЛПУ города;

— *специализированная лаборатория 3-го уровня* — лаборатория ГУЗ «ГорКВД», которая может стать (должна быть!) экспертной в области лабораторной диагностики ИППП.

В 2008 году ситуация по децентрализации лабораторной диагностики сифилиса и других ИППП усугубилась в связи с организацией межрайонных централизованных клиничко-диагностических лабораторий (МЦКДЛ), которые выполняют широкий спектр по ИФА- и ПЦР-диагностике ИППП, в том числе самостоятельно выполняют лабораторную диагностику сифилиса без согласования с ГУЗ «ГорКВД». Это является нарушением действующих на территории Санкт-Петербурга распоряжений Комитета по здравоохранению.

Примечание. Деятельность учреждений здравоохранения различных форм собственности и ведомственной принадлежности на территории Санкт-Петербурга регламентируется:

1. Распоряжением Комитета по здравоохранению Администрации СПб от 31 декабря 2002 г. № 500-р/37 «О мерах по предупреждению распространения инфекций, передаваемых половым путем».

2. Распоряжением Комитета по здравоохранению Администрации Санкт-Петербурга от 27.08.2002 г. № 309-р «О совершенствовании лабораторной диагностики сифилиса, гонореи, других инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), дерматозов и заразных кожных заболеваний», в котором утверждены:

— «Перечень лабораторий дермато-венерологической службы, осуществляющих в централизованном порядке серологическую диагностику сифилиса» (Приложение № 1);

— «Перечень лабораторий дермато-венерологической службы, осуществляющих в централизованном порядке бактериоскопическую и культуральную диагностику гонореи, трихомониаза, неспецифических уретритов, дерматозов и дерматомикозов» (Приложение № 2).

Выполнение в децентрализованном порядке серологической диагностики сифилиса и культуральной диагностики гонореи должно быть согласовано с Городским организационно-методическим и консультативным отделом (ГОМКО) по дерматовенерологии в письменном виде. В настоящее время согласования имеют только 9 учреждений здравоохранения.

Заключение

Упорядочение деятельности неспециализированных учреждений здравоохранения различных форм собственности и ведомственной принадлежности по лабораторной диагностике ИППП возможно при наличии жестких нормативных правовых актов федерального уровня, утверждающих централизованный порядок обследования населения в лабораториях КВУ.

Необходимо если не запретить, то строго регламентировать лабораторную диагностику и лечение сифилиса в неспециализированных учреждениях, как особо социально значимой инфекции.

При сложившейся децентрализации в Санкт-Петербурге возможны следующие пути совершенствования системы контроля диагностики и учета ИППП:

- требование органами лицензирования наличия согласований и договоров с ГОМКО по дерматовенерологии на методическое руководство и сдачу извещений на выявленных больных;
- создание единой программы учета и регистрации больных ИППП с последующим внедрением двойной регистрации (т.е. регистрации от врачей-клиницистов и обязательной регистрации случаев обнаружения возбудителей в биоматериале из лабораторий учреждений здравоохранения различных форм собственности и ведомственной принадлежности);
- обязательное подтверждение в централизованных лабораториях кожно-венерологических учреждений положительных результатов исследований на сифилис и гонорею, полученных в лабораториях, работающих децентрализованно, сохранение этих образцов с целью создания банков сывороток крови и культур гонококка;
- разработка на федеральном уровне и внедрение на территориях алгоритмов обследования населения и стандартных операционных процедур по лабораторной диагностике ИППП.

Только правовые нормативные акты федерального уровня помогут контролировать диагностику и учет ИППП.

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ
КОНСИЛИУМ

ПО ВОПРОСАМ СОТРУДНИЧЕСТВА И РАЗМЕЩЕНИЯ РЕКЛАМЫ



в научно-практическом журнале
«Клинико-лабораторный консилиум»
просим обращаться в редакцию:

Эмануэль Владимир Леонидович

e-mail: evl@spmu.rssi.ru

моб. тел. 8 (901) 306-70-03

Чередниченко Денис Владимирович

e-mail: cheredni1@gmail.com

тел./факс (812) 233-97-26

ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА РЕЗУЛЬТАТОВ СКРИНИНГОВОЙ ДИАГНОСТИКИ

В.Е. КОЛУПАЕВ*, И.А. АРЕФЬЕВА**

* ООО «Био-Рад Лаборатории», ** ГУ НИИ Нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко

Резюме. Известно, что достоверность результатов анализа во многом зависит от: (1) правильного назначения теста, (2) характеристик используемых тест-систем — чувствительности и специфичности, (3) правильной работы лаборатории. В данной работе мы попытались обобщить международный опыт в организации диагностических исследований, включая требования, регламентирующие чувствительность и специфичность тест-систем, методику определения этих характеристик, принципы организации внешнего и внутрिलाбораторного контроля качества инфекционного скрининга.

Ключевые слова: внешний и внутрिलाбораторный контроль качества, чувствительность, специфичность, инфекционный скрининг.

QUALITY CONTROL IN SCREENING DIAGNOSIS

V.E. KOLUPAEV*, I.A. AREFYEVA**

* “Bio-Rad laboratory”, ** State Institution “N.N. Burdenko Scientific research institute of neurosurgery”

Summary. It's known that significance of the analysis results seriously depends on the following: (1) correct administration of the test, (2) properties of test-systems used, their sensitivity and specificity, (3) correct work of laboratory. In present work we tried to summarize the international experience in organizing of diagnostic investigations including the demands determining sensitivity and specificity of test-systems, method of determination of these characteristics, principles of organization of external and intralaboratory quality control of the infections screening.

Key words: external and intralaboratory quality control, sensitivity, specificity, infections screening.

Основные этапы обеспечения качества лабораторных исследований в странах ЕС продукции, относящейся к группе высокого риска. Определение характеристик тест-систем в практике стран ЕС.

С точки зрения международной практики обеспечение качества лабораторно-диагностических исследований является сложным, комплексным процессом, который можно представить в виде 3-х связанных между собой составляющих (рис. 1).

1 этап — допуск на рынок качественных тест-систем с требуемыми аналитическими и диагностическими характеристиками, главными из которых являются чувствительность и специфичность.

Этот этап осуществляется под контролем государства экспертными учреждениями на этапе регистрации путем оценки соответствия характеристик тест-систем выработанным экспертами минимальным требованиям к данному виду продукции, а также соответствия требо-

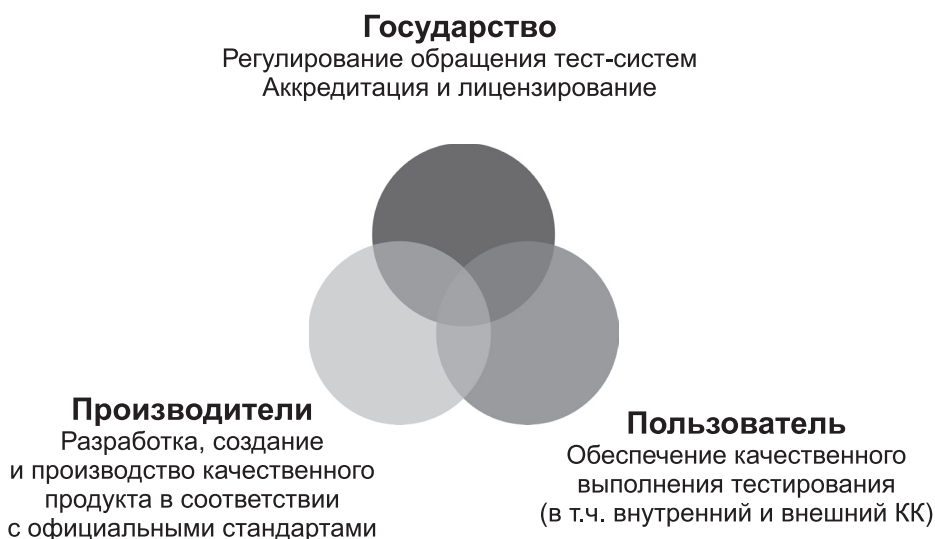


Рис. 1. Участники и их основные функции в обеспечении качества лабораторных исследований

ваний к производству директивам ЕС для продукции для диагностики *in vitro* и собственного законодательства государств-членов ЕС. В ходе регистрации разрабатывается процедура последующего контроля качества тест-системы при выходе каждой партии продукции.

2-й этап — после допуска на рынок зарегистрированных тестов производится **контроль качества каждой партии для продукции высокого уровня риска**.

Целью данной процедуры является гарантия воспроизводимости характеристик тест-систем, установленных на этапе регистрации. В странах ЕС каждая партия продукции высокого уровня риска проходит этап входного контроля качества в независимых аккредитованных экспертных лабораториях.

3-й этап — установление в лаборатории системы контроля качества, частью которой является участие во внешней оценке и выполнение внутрилабораторного контроля качества.

Чувствительность и специфичность тест-систем

Процесс отбора тест-систем с наилучшими характеристиками чувствительности и специфичности для диагностики таких инфекций, как ВИЧ и гепатиты В и С (ВГВ, ВГС), наиболее детально описан в законодательстве стран Европейского союза, в частности в международной Директиве ЕС 98/79. Этот стандарт описывает процессы регистрации, регулирования и мониторинга использования изделий медицинского назначения для *in vitro* диагностики и ставит своей целью обеспечить общие требования к характеристикам продукции в обеспечении безопасности для здоровья пациентов. Благодаря единству требований к процессу производства и контроля качества продукции Директива создает условия к свободному продвижению продукции для *in vitro* диагностики во всех странах ЕС.

Европейский стандарт классифицирует продукцию для *in vitro* диагностики в зависимости от степени риска при диагностической ошибке. Продукция для инфекционного скрининга (ВИЧ, ВГВ, ВГС) относится к **Высокой степени риска для популяции**, поэтому к чувствительности и специфичности тест-систем и к контролю

качества каждой партии этой продукции выдвигаются высокие требования. О выполнении Производителем этих требований свидетельствует маркировка «СЕ» на упаковке тест-системы (СЕ-сертификат). Процесс получения СЕ-сертификата включает в себя целый список процедур:

- Производитель предоставляет сертифицирующему учреждению документацию по всему технологическому процессу изготовления тест-системы, включая процедуры контроля на всех этапах от получения сырья до контроля каждой партии готового изделия до истечения срока годности.
- Проводятся клинические испытания с целью определения чувствительности и специфичности тест-системы. Количество образцов и план испытания регламентированы стандартами.
- В дальнейшем, даже после регистрации и получения СЕ-сертификата, каждая серия продукта исследуется в лаборатории производителя и в независимых референсных лабораториях с целью определения соответствия заявленных и реальных характеристик по процедуре, разработанной Производителем и согласованной с уполномоченным регистрирующим органом.

Следует отметить, что определение чувствительности и специфичности осуществляется на большом массиве нативных сывороток, представляющем собой широкий набор сероконверсионных панелей и клинических образцов.

Инструкции по применению содержат данные о чувствительности и специфичности тест-системы. В таблице 1 в качестве примера представлено минимальное количество клинического материала, необходимое для определения чувствительности и специфичности тест-систем для определения маркеров гепатита С.

В процедуру клинической апробации тест-системы, как правило, включаются сравнительные испытания с участием других СЕ-сертифицированных диагностических наборов с целью сопоставления эффективности

Таблица 1

Техническая спецификация по минимальным количествам и составу исследуемого материала для оценки характеристик анти-ВГС теста согласно стандарту 2002/364 ЕС

		Количество образцов
Клиническая чувствительность	Положительные клинические образцы	400 (включая генотипы 1а–4а (не менее 20 образцов/генотип), генотип 4 не-а и генотип 5 (не менее 10 образцов/генотип))
	Сероконверсионные панели	20 панелей + 10 дополнительных панелей
Специфичность	Случайная выборка доноров	5 000
	Пациенты ЛПУ	200
	Сыворотки с потенциальной интерференцией	100

нового продукта с уже существующими тест-системами.

Таким образом, исследование чувствительности и специфичности тест-систем является весьма трудоемким и дорогостоящим процессом. В связи с этим в практике ЕС оно проводится только при клинических испытаниях в рамках сертификации тест-системы.

Характеристики чувствительности тестов изучаются только в независимых референсных лабораториях и экспертных центрах.

Специфичность тест-системы может определяться Пользователем при наличии в лаборатории адекватной схемы подтверждения скрининговых результатов.

Для гарантии сохранения заявленных характеристик большое внимание уделяется как контролю качества на производстве, так и контролю готовой продукции, который осуществляется и Производителем, и независимой референсной лабораторией.

Процедура контроля качества каждой партии тест-системы, осуществляемая в международной практике независимой референсной лабораторией, называется **входным контролем** и выполняется для продукции, которая относится к группе **Высокой степени риска для популяции**. Целью этого контрольного этапа является оценка воспроизводимости качества тест-системы в отдельных партиях. Изучение клинических характеристик каждой партии тест-систем не является задачей входного контроля, поэтому материалом для исследования служит ограниченный набор сывороток. Полученные на этой панели данные должны совпадать в каждой партии тест-системы. Содержание процедуры предварительно согласовано с Производителем. Каждая партия тест-систем для диагностики гепатита С, снабженных маркировкой «СЕ», в том числе и поставляемая в Россию, в обязательном порядке проходит входной контроль в экспертных организациях Европы.

Таким образом, СЕ-сертификат означает следующее:

- Сертифицированный продукт имеет чувствительность и специфичность, которые позволяют его использовать в практике всех стран ЕС.
- Контролируется каждая новая партия тест-системы. Производитель гарантирует, что высокое качество продукта остается неизменным от партии к партии. Это подтверждается в независимой процедуре входного контроля, осуществляемой в авторитетной референс-лаборатории.
- Применение этой продукции в скрининговых исследованиях контролируется в 29 странах-участницах соглашения по Директиве 98/79. Любые обоснованные претензии к качеству продукции рассматриваются экспертами и могут служить причиной изъятия данной тест-системы из обращения с аннулированием регистрации.

Государство Европейского Союза регулирует внедрение в практику здравоохранения скрининговых тест-систем, руководствуясь не только объективными данными многоцентровых исследований чувствительности и специфичности, но и контролируя воспроизводимость качества в отдельных партиях продукции.

Сравнительные испытания тест-систем

Характеристики чувствительности и специфичности исследуются также в рамках международных сравнительных испытаний, которые организуются экспертными центрами, такими как Группа по ретровирусам при SFTS (Франция), MDA (MiDAS) (Великобритания), Институт Пауля Эрлиха (Германия), ВОЗ. Цель проведения подобных испытаний хорошо отражена в предисловии к отчетам MDA (MiDAS) (Великобритания):

«...Целью настоящих исследований является проведение независимых и объективных оценок существующих на рынке Великобритании тест-систем. ...Исследования обычно проводятся на наборах, предоставляемых производителем. Мы предполагаем, что такие же наборы поставляются на рынок, но не можем этого гарантировать. ...Отчеты предназначены дополнить, но не заменить информацию, которая уже имеется у покупателей...».

Участие Производителей является добровольным. В качестве исследуемого материала используется широкий спектр нативных сывороток пациентов и сероконверсионных панелей, например, в исследовании сравнительной чувствительности с участием тест-системы МОНОЛИЗА ВГС Аг-Ат Ультра («Био-Рад»), организованном группой MDA (Великобритания) в 2006 году, было задействовано 675 образцов в составе сероконверсионных панелей. Независимое заключение о клинических характеристиках тест-систем, как указано выше, носит рекомендательный характер.

Таким образом, в европейской практике государство имеет законодательный механизм, который позволяет гарантировать внедрение тест-систем с наилучшими характеристиками, а также воспроизводимость качества продукта от партии к партии. Такие тест-системы имеют на упаковке маркировку «СЕ». Пользователь в соответствии с целями тестирования (скрининг, диагностика) выбирает тест-систему, руководствуясь данными по чувствительности и специфичности, помещенными в инструкции, публикациями результатов сравнительных испытаний и научными статьями, посвященными этой тест-системе. У Пользователя, как правило, нет возможности практически сравнивать чувствительность различных тест-систем, так как это требует большого количества клинических материалов, а также финансовых и временных затрат.

Внешняя оценка (ВОК) и внутрилабораторный контроль (ВКК) качества скрининговых исследований

В нашей стране приказом Ростехрегулирования от 27 декабря 2006 года № 348-ст утвержден и введен в действие с 1 января 2008 года ГОСТ Р ИСО 15189:2006. Этот национальный стандарт идентичен международному стандарту ИСО 15189:2003 «Лаборатории медицинские. Специальные требования к качеству и компетентности» (ISO 15189:2003 "Medical laboratories — Particular requirements for quality and competence"). В стандарте описаны 23 элемента качества, каждый из которых может иметь свою политику, должен содержать описание минимум одного процесса и одной или нескольких процедур.

Политика определяет основные цели и направления работы лаборатории и формулируется руководством. Процессы содержат общие рекомендации и устанавливают ответственность на каждом этапе. Описание процессов разрабатывается экспертными группами. Процедуры представляют собой пошаговые инструкции и носят предписывающий характер. В их создании принимают участие сотрудники лаборатории, а также производители используемых в ней аналитических систем.

Элемент 5.6 раздела «Технические требования» принятого Стандарта касается обеспечения качества лабораторных исследований. Этот элемент обязывает лаборатории иметь программу контроля качества для обеспечения правильности результатов, а именно, проводить регулярное исследование контрольных материалов с адекватной оценкой полученных результатов и вычислением неопределенности измерений по каждому аналиту (ВКК), а также участвовать в программах внешней оценки качества (ВОК).

ВКК является оперативной формой контроля, по результатам которого аналитические данные могут быть отбракованы до их передачи для клинического использования, тогда как ВОК — это ретроспективная оценка качества. Таким образом, внешняя оценка качества и внутрилабораторный контроль дополняют, но не заменяют друг друга.

В настоящее время детально разработанные статистические алгоритмы внешнего и внутрилабораторного контроля качества существуют только для количественных тестов. Несмотря на то, что, анализируя результат скринингового ИФА, мы используем численное значение оптической плотности (ОП) или коэффициента реактивности ($R = \text{ОП}_{\text{обр.}} / \text{ОП}_{\text{крит.}}$), эти методы являются качественными, и статистические алгоритмы контроля качества можно к ним применять только при определенных условиях.

Скрининговые тесты нельзя рассматривать как количественные по следующим причинам:

1. Клиническое значение имеют качественные данные — наличие или отсутствие маркеров ВГС инфекции.
2. Количественный ИФА подразумевает существование линейной, логарифмической или полулогарифмической зависимости величины оптической плотности от концентрации аналита, при этом в ходе реакции образуются однородные антиген-антителные комплексы. В скрининговых тест-системах, как правило, иммуносорбент включает в себя несколько антигенных детерминант, которые характеризуются различным сродством к специфическим антителам исследуемого образца. Такие системы с точки зрения статистики являются более сложными и исследуются в рамках многофакторного анализа.
3. Производитель скрининговых тест-систем не ставит своей задачей количественно измерять реактивность сыворотки, а, наоборот, конструирует тест таким образом, чтобы образец даже с малым содержанием анти-ВГС антител демонстрировал высокий коэффициент реактивности с целью улучшения дифференцировки слабоположительных и отрицательных образцов.

Ниже представлены алгоритмы и принципы интерпретации результатов ВОК и ВКК, адаптированные для скрининговых исследований в формате ИФА.

Внешняя оценка качества

В литературе цель ВОК часто определяется как объективная оценка **правильности** результатов лаборатории путем **сравнения с результатами других лабораторий или с референсными данными**, осуществляемая внешней организацией. С этой точки зрения понятие «правильность результатов» эквивалентно понятию **«воспроизводимость результатов между лабораториями»**. Такое определение цели внешней оценки качества подходит для скрининговых исследований при условии, что результаты ВОК оцениваются в группах сравнения, которые объединяют лаборатории, использующие одну и ту же тест-систему. Это дает возможность достичь одинаковых условий выполнения анализа и объективизировать сопоставление результатов.

В качестве контрольного материала для ВОК могут быть использованы предварительно лиофилизированные и разведенные образцы и/или сливные сыворотки, которые могут не соответствовать по спектру антител реальной серологической картине ВГС. Для целей ВОК в этом нет необходимости, так как в этой контрольной процедуре не ставится задача определения чувствительности и специфичности диагностических наборов. Количество сывороток, составляющих контрольное задание, недостаточно для объективной оценки клинических характеристик.

В настоящее время для определения воспроизводимости качества работы тест-систем, то есть там, где возникает необходимость использования больших объемов однотипных сывороток (ВОК, ВКК, входной контроль), с экономической точки зрения выгодно использование разведенных высокотит-

ражных сывороток. Такой контрольный материал приготовлен из образцов, полученных у пациентов спустя многие месяцы после начала инфекции в период сформированной серологической картины. В процессе сероконверсии меняется класс антител (IgM на IgG), расширяется спектр структурных и неструктурных антигенных детерминант вируса, участвующих в формировании иммунного ответа. В последние годы получено много данных, свидетельствующих о постепенном увеличении аффинности и авидности антител к разным антигенам, поэтому серологическую картину ранних стадий инфекции нельзя смоделировать, используя многократное разведение высокотитражных сывороток. Такие разведенные образцы будут отличаться от нативных спектром антител против различных антигенных детерминант, а также их свойствами: аффинностью и авидностью. Хорошо известно, что лаборатории не должны использовать разведенные сыворотки для оценки чувствительности и должны относиться с осторожностью к интерпретации результатов, полученных при исследовании таких образцов.

В настоящее время в мировой практике существуют различные системы внешней оценки качества неколичественных тестов, в том числе определения анти-ВГС антител с помощью ИФА. Интерпретация результатов в этих системах, как правило, проводится по одной из трех схем:

1. Результаты контрольных измерений выражаются как «положительные и отрицательные» и отправляются в расчетный центр. В соответствии с используемыми диагностикумами формируются группы сравнения. Выводы о правильности работы каждой лаборатории делаются при сопоставлении результатов ее контрольных измерений с данными, полученными другими участниками группы сравнения. Например, если в лаборато-

рии для некоторой контрольной сыворотки получен отрицательный результат, и у большинства других участников группы сравнения получился такой же результат, расчетный центр интерпретирует отрицательный результат для данной сыворотки в данной тест-системе как **правильный для этой группы сравнения**. Характерной чертой этого подхода является необходимость в статистически значимом количестве участников группы сравнения.

2. В качестве контрольного материала используются сыворотки, предварительно аттестованные в референс-лабораториях с помощью тест-систем, которые используются в группах сравнения. Результаты каждой лаборатории сопоставляются с данными, полученными при аттестации в той тест-системе, с которой данная лаборатория работает. При совпадении данных делается заключение о правильности работы лаборатории. Этой схемой пользуется, например, официальная система ВОК Службы крови Франции — EFS.

Основные недостатки этих схем — ограничение в выборе контрольных материалов и невозможность количественно оценить воспроизводимость работы лаборатории внутри группы сравнения. Критическим является случай, когда результат анализа контрольного материала в какой-либо тест-системе близок к критическому значению оптической плотности. В группе сравнения, работающей с этой тест-системой, могут быть получены как положительные, так и отрицательные контрольные данные (рис. 2Г). Это делает невозможным интерпретацию результатов ВОК в рамках данной схемы. Для того чтобы избежать такой ситуации, применяются другие схемы внешней оценки качества (см. п. 3).

3. Схема VQC повторяет схему 1, но в качестве контрольного материала используются последовательные

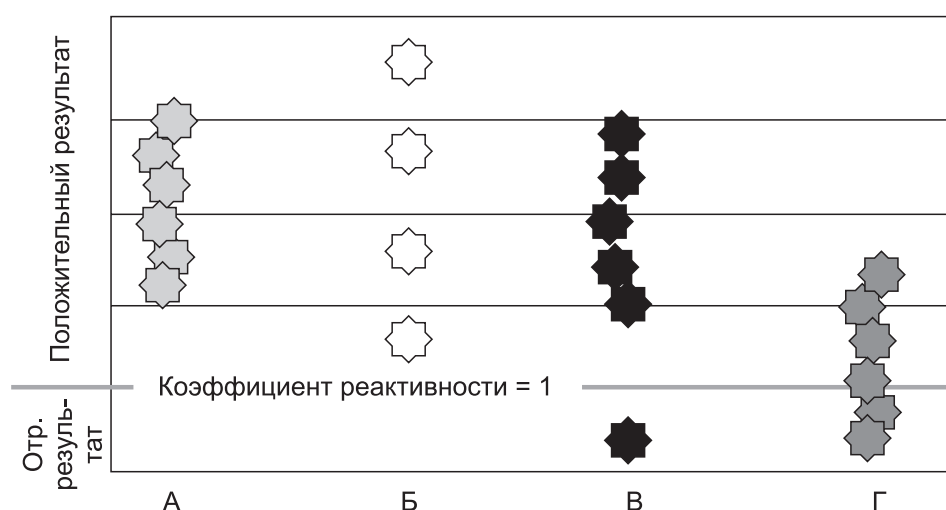


Рис. 2. Схема результатов ВОК в группах сравнения при измерении одного и того же контрольного образца.

А, Б, В, Г — результаты контрольных измерений группы сравнения:

А — идеальный случай: все лаборатории определили данный образец как положительный, высокая воспроизводимость результатов;

Б — все лаборатории определили данный образец как положительный, но воспроизводимость результатов внутри группы сравнения низкая (в схемах ВОК 1 и 2 выявить невозможно);

В — явная случайная ошибка при проведении контрольных измерений в одной из лабораторий в группе сравнения;

Г — неудачно подобрано разведение контрольного материала. Часть лабораторий демонстрируют положительный результат, часть — отрицательный (для удобства «серая зона» не показана) вследствие случайных флуктуаций условий постановки

разведения одного образца. Результаты контрольных измерений дополнительно выражаются в коэффициентах реактивности ($ОП_{образца} / ОП_{крит.}$). Результаты сопоставляются внутри группы сравнения, при этом величина группы сравнения должна быть статистически значимая. Преимуществом такого подхода является возможность количественного выявления однородности результатов в пределах группы сравнения в области, близкой к $ОП_{крит.}$ используемой тест-системы.

Как было отмечено выше, в скрининговых тест-системах решение о реактивности образца принимается на основании сопоставления $ОП_{образца}$ и $ОП_{крит.}$, поэтому область, находящаяся в непосредственной близости от критического значения, является наиболее важной с точки зрения правильности результатов анализа, именно в этой области контроль воспроизводимости данных наиболее значим.

Рассмотрим идеальный случай в системе внешней оценки качества, которая использует контрольный материал, чей результат совпадает с $ОП_{крит.}$ контролируемой тест-системы. При статистически значимом объеме группы сравнения 50% лабораторий получат положительный результат контрольных измерений (выше $ОП_{крит.}$), а 50% — находящийся в «серой зоне», ниже $ОП_{крит.}$. Это различие результатов связано с влиянием случайных неконтролируемых факторов и описывается так называемым нормальным распределением. Рассчитаем среднее значение $ОП$ контрольного материала (в нашем случае он равен $ОП_{крит.}$) и среднеквадратичную ошибку измерений. В идеальном случае, когда все лаборатории-участники правильно выполняют исследование, а используемая тест-система отличается высокой воспроизводимостью результатов, по закону нормального распределения 68% контрольных измерений дадут результаты, которые будут располагаться по обе стороны от $ОП_{крит.}$ в пределах $\pm$ среднеквадратичная ошибка. В область

± 2 среднеквадратичных ошибки от $ОП_{крит.}$ попадут 95,5% результатов. При идеальной работе лабораторий практически все результаты (99,7%) попадут в область ± 3 среднеквадратичных ошибки от $ОП_{крит.}$ (рис. 3).

Безусловно, на практике невозможно подобрать концентрацию контрольного материала таким образом, чтобы результат его измерений совпадал с $ОП_{крит.}$, поэтому в ВКС используют последовательные разведения контрольного материала, стремясь в группах сравнения контролировать воспроизводимость как можно ближе к $ОП_{крит.}$, но в этом случае может возникнуть ситуация, которая отражена на рисунке 4. Для того чтобы избежать ошибочной оценки, необходимо оценивать результат комплексно, сопоставляя данные анализа всех разведений контрольного материала.

С другой стороны, при качественной оценке контрольных измерений (положительный/отрицательный образец) для достижения максимальной эффективности ВОК желательно выбирать разведение контрольного материала таким образом, чтобы среднее значение результатов его измерения было расположено около границ ± 3 среднеквадратичных ошибки от $ОП_{крит.}$. В этом случае практически невероятно появление отрицательного результата для положительного контрольного материала при правильной работе лаборатории.

В России в рамках Федеральной системы внешней оценки качества (ФСВОК) контроль качества лабораторных исследований по выявлению антител к вирусу гепатита С проводится с 1997 года. Как указано в инструкции по выполнению контрольных измерений, целью ФСВОК является «оказание помощи клиничко-диагностическим лабораториям в обеспечении качества

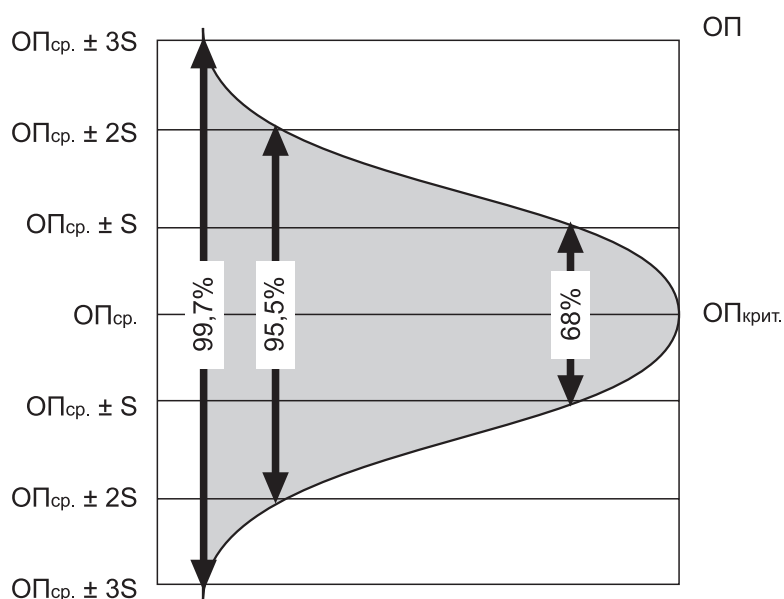


Рис. 3. Гипотетический случай идеальных результатов ВОК. Средний результат контрольного измерения по группе сравнения совпадает с $ОП_{крит.}$ используемой тест-системы.

S — среднеквадратичная ошибка.

В рамках показана вероятность в %, что результат лаборатории попадет в область, выделенную стрелками

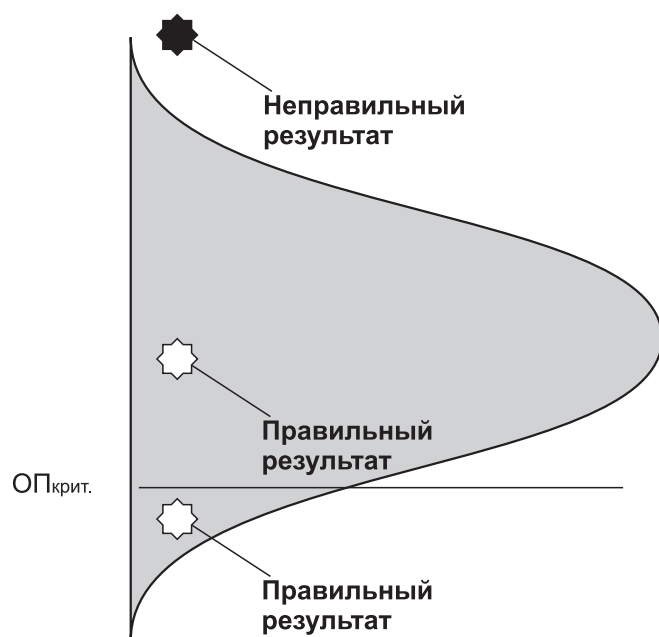


Рис. 4. Особенности оценки результатов лаборатории при интерпретации контрольных данных с использованием алгоритма, предназначенного для количественных тестов

выполняемых исследований путем предоставления им информации о правильности получаемых результатов, рекомендаций по устранению возможных источников обнаруживаемых ошибок и совершенствованию используемых методик». ФСВОК, так же как и другие системы внешней оценки качества, не ставят своей задачей сравнение характеристик тестов.

В настоящее время в качестве контрольных образцов используются предварительно лиофилизированные разведенные сыворотки с различным коэффициентом разведения. Указанные образцы проходят предварительную аттестацию в референсной лаборатории в различных тест-системах. Результаты контрольных измерений для лаборатории, участвующей в цикле ФСВОК, сопоставляются с данными, полученными в референсной лаборатории для одной и той же тест-системы. Если лаборатория пользуется диагностическим набором, который не участвовал в предварительной аттестации контрольных образцов, сделать какое-либо заключение о качестве полученных результатов можно только при сопоставлении результатов лаборатории с результатами группы сравнения использующих ту же тест-систему. В разных тест-системах могут быть получены несовпадающие результаты, так как контрольными образцами являются искусственные сыворотки, в том числе с высоким коэффициентом разведения.

Таким образом, схема оценки качества скрининговых исследований в рамках ВОК (ФСВОК) основана на следующих принципах: во-первых, присутствует раздельная оценка по разным тест-системам (группы

сравнения), во-вторых, сравниваются друг с другом не тест-системы, а результаты исследований *одних и тех же образцов на одной и той же тест-системе в разных лабораториях*. ВОК не ставит своей задачей оценки чувствительности и специфичности теста, поэтому использует ограниченное число сывороток, которое недостаточно для объективной сравнительной оценки клинических характеристик тест-систем, кроме этого образцы могут не соответствовать нативным и по-разному определяться в разных тест-системах.

Внутрилабораторный контроль качества

Как было указано выше, ВОК является ретроспективной оценкой результатов после их клинического использования, то есть правильность результатов оценивается с помощью ВОК, и далее до получения следующего контрольного задания лабораторный работник должен быть уверен в воспроизводимости качества своей работы, которую отражает внутрилабораторный контроль качества. ВКК — это объективная проверка результатов лаборатории, постоянно осуществляемая непосредственно в лаборатории, в том числе путем оценки измерений контрольных материалов с использованием соответствующих алгоритмов преимущественно с целью оценить их воспроизводимость. К сожалению, алгоритмы внутрилабораторного контроля качественных (скрининговых) методов не разработаны столь детально, как для количественного анализа, поэтому в данном разделе мы представим несколько наиболее часто используемых алгоритмов и попробуем проанализировать их преимущества и недостатки.

Один из подходов во внутрилабораторном контроле скринингового ИФА-тестирования основан на использовании принципов ВКК, разработанных для количественных тестов. В настоящее время этот подход реализован в рекомендациях компании «Вектор Бест». В качестве количественного параметра в этом методе используется коэффициент реактивности: отношение ОП контрольного материала и ОП критического в данной постановке. Процедура ВКК основана на ежедневном измерении одного и того же контрольного материала (КМ) в рамках рутинной процедуры тестирования. Полученные результаты контрольных измерений наносятся на специальную карту. Оценивается отклонение результата контрольного измерения в текущей постановке от целевого значения, в роли которого выступает среднее значение, рассчитанное в течение так называемой установочной серии (20 первых контрольных измерений). Оперативное решение о качестве данного опыта принимается в случае, когда отклонение превышает величину в 2 стандартных ошибки (S), которая рассчитывается на 20 первых контрольных измерениях установочной серии. Для выявления случайных и систематических ошибок используют правила (критерии) Вестгарта, описанные в приказе МЗ РФ № 220 для количественных методов анализа.

Замечания к данному методу:

- Получаемые при анализе контрольных образцов результаты должны распределяться вокруг среднего значения по закону нормального распределения. Только в этом случае критерии Вестгарта будут работать (вероятность выхода за пределы 2-х стандартных отклонений менее 4,5%). Однако для большинства тест-систем это условие не выполняется на высокореактивных положительных сыворотках. К сожалению, критерии выбора концентрации образца для данной методики не описаны.
- Некоторые критерии Вестгарта для исследования систематической ошибки описывают повторяющийся в нескольких измерениях сдвиг контрольных данных на величину в пределах одной стандартной ошибки ($10\bar{x}$, 4_{1SD} и др.). Для того чтобы эти критерии работали, необходимо быть уверенным в том, что тест-система в пределах установочной серии демонстрирует на данном контрольном материале стабильный результат. К сожалению, критерии воспроизводимости при выполнении установочной серии в методике отсутствуют.
- При выполнении ВКК сам контрольный материал должен быть высокостабилен в течение длительного периода времени. Для этого производитель контрольного материала должен исследовать содержание аналита в течение всего срока годности контрольного материала на всех тест-системах, для которых этот контрольный материал рекомендован, при этом данные тест-системы должны отличаться высокой воспроизводимостью результатов. Однако это требование не отражено в описании методики проведения контроля качества. Паспорт контрольного материала не содержит контрольных значений, полученных в ходе аттестационных измерений.

Другой подход к процедуре внутрилабораторного контроля качества для неколичественных тестов отражен в официальном стандарте, который приводится в «Техническом руководстве Американской ассоциации банков крови (AABB)». Стандарт использует следующие термины:

Внутренние контрольные материалы (внутренние контроли) — контрольные образцы, которые входят в состав диагностического набора.

Внешние контрольные материалы (внешние контроли) — контрольные материалы независимого производителя.

Внутренние контроли предназначены для демонстрации предписанного хода выполнения исследования, включая точность следования протоколу. Внешние контроли используются в качестве дополнения к указаниям инструкции производителя «для усиления мероприятий

по обеспечению безопасности и повышения бдительности в отношении возможной ошибки».

До практического использования необходимо определить, будет ли приобретенный внешний контроль демонстрировать в имеющейся тест-системе ожидаемые результаты, поскольку контрольный образец может неодинаково работать в различных диагностических наборах. Определение пригодности внешнего контроля можно осуществить следующим образом:

- Исследовать внешний контроль в течение 20 дней по 4 образца в день.
- Если контрольный материал будет демонстрировать то положительные, то отрицательные или неопределенные результаты, он не годится для проведения процедуры ВКК в данной тест-системе.
- Рассчитать среднее значение $ОП_{крит.}$ в этих постановках и среднееквадратичное отклонение (S).

Так как с точки зрения интерпретации результатов наиболее важной является область, лежащая вблизи $ОП$ критического, для проведения ВКК внешний контрольный материал необходимо развести по следующему алгоритму:

- Рассчитать среднее значение $ОП_{крит.}$ и среднееквадратичное отклонение (S) за 20 предыдущих постановок.
- Сделать серию последовательных разведений внешнего контрольного образца и проанализировать их в исследуемой тест-системе.
- Выбрать такое разведение внешнего контрольного образца, чтобы средняя оптическая плотность, полученная в результате анализа этого образца, лежала в пределах $3S$ по отношению к среднему $ОП_{крит.}$ исследуемой тест-системы за 20 постановок, где S — среднееквадратичная ошибка $ОП_{крит.}$
- Полученное разведение контрольного материала необходимо аликвотировать и хранить в соответствии с инструкцией к внешнему контролю.

После подготовки контрольного материала, используя аликвотированные образцы, проводят регулярную процедуру внутрилабораторного контроля качества, при этом в каждую постановку включают внешние и внутренние (в составе тест-системы) контрольные образцы. Выводы о приемлемости результатов постановки делают на основании следующего:

1. При обнаружении отклонения оптической плотности внутренних контрольных образцов от критериев, приведенных в инструкции к тест-системе, аннулируются все результаты, полученные в данной постановке.
2. В случае если результаты внешних контролей не соответствуют ожидаемым, следует **повторно тестировать** только образцы, которые в данной

постановке были определены как **отрицательные**. Положительные образцы могут не аннулироваться и считаются первично реактивными.

Таким образом, исходя из задач оперативного выявления аналитических ошибок в скрининговых исследованиях, в качестве метода для выполнения ВКК можно рекомендовать стандарт Американской ассоциации банков крови (ААВВ), который регламентирует проведение контрольных измерений в области, близкой к критическому значению оптической плотности, то есть наиболее важной с клинической точки зрения. Он содержит критерии выбора контрольного материала и описание его подготовки с учетом особенностей контролируемой тест-системы. Стандарт также содержит рекомендации по действиям при окончании срока годности тест-системы или контрольного материала.

Заключение

Таким образом, для получения достоверного результата лабораторных исследований важно правильное назначение теста, его высокие характеристики и правильная работа лаборатории. Можно выделить три участника процесса обеспечения качества лабораторных исследований: государство с его законодательной базой, производитель тест-систем и непосредственно пользователь. В странах ЕС функции между ними распределены следующим образом:

- Разрабатывается и внедряется лабораторно диагностический стандарт, который регламентирует применение различных методов для скрининга, первичной диагностики и подтверждения результатов анализа.
- Государство через экспертные организации регламентирует внедрение в практику тест-систем по их клиническим характеристикам чувствительности и специфичности. Показателем того, что тест-система удовлетворяет всем указанным требованиям и может использоваться в клинической практике стран Европы, является СЕ-сертификат.
- Характеристики тест-системы рассчитываются в рамках клинических испытаний на основании многоцентрового исследования с участием референсных лабораторий на большом массиве нативных сывороток. Входной контроль осуществляется аккредитованной референсной лабораторией.

- Экспертные центры организывают проведение сравнительных испытаний тест-систем, привлекая производителей на добровольной основе.
- Для получения аккредитации лаборатория обязана участвовать в одной или нескольких системах внешней оценки качества (в нашей стране ФСВОК).
- Заинтересованный производитель, разрабатывая новые конкурентоспособные тест-системы, демонстрирует преимущества своей продукции при внедрении их в клиническую практику, поэтому в ходе клинических испытаний он использует расширенный, по сравнению с государственным регламентом, набор клинических образцов, сопоставляя результаты с другими СЕ-сертифицированными тест-системами.
- Добросовестный производитель также вводит строгий контроль всех стадий производства от закупки сырья и до окончания срока годности тест-системы с целью обеспечения воспроизводимости характеристик теста от партии к партии.
- Пользователь выбирает тест-системы, принимая во внимание их чувствительность и специфичность. Источником информации о клинических характеристиках служат инструкция к тесту, где кратко описаны официально утвержденные результаты клинических испытаний, а также опубликованные данные сравнительных испытаний и другие литературные источники.
- Пользователь обеспечивает качество работы своей лаборатории, ориентируясь на результаты, полученные в других лабораториях при выполнении контрольного задания ВОК и в рамках ежедневного внутрилабораторного контроля качества.

Описанное разделение функций между государством, экспертными центрами, производителями и лабораторией-пользователем в обеспечении качества скрининговых исследований позволяет выбирать объективно качественные тест-системы и добиваться максимально эффективного их использования.

Список литературы находится в редакции.

ФАКТОРЫ СОЛЕВОГО БАЛАНСА И ВОЗМОЖНАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ В РАЗВИТИИ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

А.Б. ЧУХЛОВИН

Кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины
ГОУ ВПО «СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Росздрава»

Резюме. В настоящем обзоре литературы приводятся современные данные, подтверждающие ведущую роль баланса растворимости мочевых оксалатов и фосфатов, а также роли белковых факторов и сиаловых кислот как протективного фактора в развитии мочекаменной болезни. Подчеркивается важная роль цитрата и белка Тамма–Хорсфалла в профилактике образования мочевых камней. Также рассматривается возможная роль в развитии уролитиаза ряда патогенетически значимых вариантов генов, кодирующих белки, прежде всего — регуляторов транспорта ионов в почках, что является возможным фактором генетической предрасположенности к мочекаменной болезни.

Ключевые слова: мочевые фосфаты и оксалаты, мочекаменная болезнь, белок Тамма–Хорсфалла, генетическая предрасположенность к мочекаменной болезни.

SALT BALANCE FACTORS AND POSSIBLE GENETIC PREDISPOSAL IN DEVELOPMENT OF UROLITHIASIS (A REVIEW)

A.B. CHUKHLOVIN

Clinical laboratory diagnosis department with the course of molecular medicine,
State Educational Institution of Higher Professional Education
“Saint-Petersburg Pavlov State Medical University,
Federal Agency for Health Care and Social Development”

Summary. Present review contains some novel data that confirm the leading role of solubility balance of oxalates and phosphates, as well as modifying role of protein factors and sialic acids as protective factors in development of urolithiasis. We stress an important role of citrate and Tamm–Horsfall protein in prevention of stone formation. Also a potential role of pathogenetically important gene variants is considered, with respect to the gene encoding protein transporters and receptors regulating renal ionic transport, thus representing an opportunity for higher risk of urolithiasis.

Key words: oxalates and phosphates, urolithiasis, Tamm–Horsfall protein, genetic predisposal of urolithiasis.

Введение

МКБ является весьма частым заболеванием в различных возрастных группах начиная с 20–30 лет. По данным F.L. Сое и соавт., в США МКБ развивается на протяжении жизни примерно у 5% женщин и 12% мужчин. Необструктивная форма болезни не вызывает явных клинических симптомов, за исключением гематурии. Болевой синдром возникает при попадании почечного камня из почечной лоханки в мочеточник (боль в боку) и позже, при его уретеральной миграции. Камни размером менее 5 мм чаще всего проходят по мочеточнику, тогда как конкременты более 7 мм обычно требуют вмешательства урологов. Помимо болевого синдрома, важным осложнением МКБ является нарушение почечной фильтрации, наряду с артериальной гипертензией.

Образование МКБ связано с физико-химическими процессами, происходящими в результате превышения

концентрации солей над порогом их растворимости в почечном фильтрате. В этих случаях начинается образование кристаллов в почечных канальцах (лоханках) и их постепенный рост.

Преимущественный состав камней зависит от растворимости данной соли, ее экскреции в почечных канальцах и общего объема выделяемой мочи [17]. Как правило, первичные конкременты образуются из растворимых солей кальция и оксалата (оксалатные камни). Отложения фосфатных солей также связаны с повышенной экскрецией кальция, а также pH мочи. Камни, состоящие из относительно малорастворимой мочевой кислоты (уратные конкременты), легче возникают при изменении pH. При титровании кальция или оксалата в моче показано, что т.н. предел метастабильности, по достижении которого наступает выпадение конкрементов (Са-оксалата или Са-фосфата), значительно пони-

жен у больных МКБ по сравнению с соответствующей группой контроля [1]. Это позволяет предположить о значительном ослаблении у больных МКБ тех механизмов, которые в норме защищают от выпадения нерастворимых конкрементов.

Известно, что в моче содержатся молекулы, как неорганические, так и белковые, замедляющие образование твердофазных структур Са-оксалата и Са-фосфата [3]. К ним относятся, в частности, следующие компоненты:

1. Цитратные соли снижают порог насыщения, подавляя образование и рост кристаллов из кальциевых солей.
2. К числу белков мочи, ингибирующих камнеобразование, относят: остеопонтин, фрагмент протромбина F1, интер-альфа-трипсин, кальгранулин и в особенности — белок Тамма-Хорсфалла, который является основным протеином, выполняющим важные протективные и иммунологические функции.
3. Другие белки и нуклеиновые кислоты, а также глюкозаминогликаны также способны подавлять образование кристаллов в моче.

Локальные механизмы развития оксалатных камней

В большинстве случаев образование оксалатных конкрементов в мочевых путях не связано с явным системным заболеванием, т.е. его причина, как правило, неизвестна. В небольшом числе случаев появление камней связано с гиперпаратиреонизмом или иными нарушениями кальциевого метаболизма. У некоторых больных причиной МКБ является гипероксалурия из-за кишечных заболеваний (энтеральная гипероксалурия) или генетические нарушения (первичная гипероксалурия).

Первичные депозиты нерастворимых солей образуются в базальной мембране в области почечных сосочков, возможно — нижней части петли Генле (бляшки Рэндалла, состоящие из апатитов, аналогичных костным), и на их основе формируются кристаллы оксалата кальция — основа дальнейшего роста камней в почечных лоханках.

Гиперкальциурия: метаболические факторы

Уровень кальция в моче зависит от многих факторов, в особенности — от его содержания в диете и уровней экскреции. У больных с мочекаменной болезнью цифры экскреции кальция с мочой находятся на верхних пределах нормы [13]. Это является существенной предпосылкой развития МКБ, поскольку снижение содержания кальция в моче препятствует развитию камней [4, 6].

При подозрении на идиопатическую гиперкальциурию требуется тщательное клиническое обследование больных с целью исключения гиперкальциемии, избытка витамина D, гиперпаратиреонизма или злокачественных новообразований. В частности, у больных с гиперкальциурией отмечается, в среднем, повышенное

содержание витамина D₃ (кальцитриола) в сыворотке крови, более активная экспрессия рецепторов витамина D в моноцитах и усиленная абсорбция кальция в кишечнике [8]. Это может способствовать повышению уровней кальция в почечном фильтрате. Несмотря на существенную роль гиперкальциемии в развитии МКБ, значимость мероприятий по снижению кальция в диете пока не вполне однозначна, поскольку ее профилактическая ценность в отношении МКБ пока не доказана [2]. Гипероксалурия возникает и при диарее с потерей воды, цитрата и бикарбонатов, что приводит к снижению pH мочи и создает патологический фон для формирования оксалатных и оксалатно-уратных камней.

К редким моногенным заболеваниям, вызывающим гиперкальциурию, относят, в частности, болезнь Дента. Специфические мутации гена эндосомного хлоридного канала (*CLCN5*) приводят к потерям низкомолекулярных белков, в том числе паратиреоидного гормона (ПТГ). При этом возрастают уровни кальцитриола в крови (производного витамина D) и развивается кальциурия с камнеобразованием. Другой характерный тип моногенной патологии кальциевого обмена связан с патологическим усилением функции гена кальций-чувствительного рецептора (ген *CaSR*). Такие мутации с усилением функции гена приводят к снижению ПТГ в сыворотке и падению реабсорбции кальция в дистальных трубках и восходящих сегментах, что вызывает гипокальциемию. При назначении витамина D с целью повышения уровня кальция и ПТГ развивается выраженное накопление кальция в моче с образованием камней в почках.

Гипероксалурия и ее причины

Роль повышения оксалатов в камнеобразовании столь же важна, как и уровни кальциурии, т.е. любые состояния, связанные с повышением их содержания в диете или усилением их продукции, могут вызвать образование оксалатных камней в почках. Считается, что нормальная экскреция оксалатов находится в пределах ниже 45 и 55 мг/сутки, соответственно для женщин и мужчин [4].

Частой причиной гипероксалурии является белковая диета или повышенное потребление оксалатов, причем существенное значение имеют также уровни абсорбции оксалатов в кишечнике, которые обусловлены локальной экспрессией соответствующих транспортных белков. При так называемой энтеральной оксалурии главную роль играют нарушения функции кишечника и экзокринной поджелудочной железы. Так, любое нарушение переваривания и всасывания жиров в толстой кишке приводит к усилению абсорбции оксалатов в кишечнике и, соответственно, повышению их концентрации в моче [18].

В редких случаях первичная оксалурия связана с мутациями гена AGXT или GRNPR, которые сопровождаются избыточным накоплением глиоксилата и его

усиленной конверсией в оксалат, который экскретируется с мочой [7].

Причины дефицита цитрата как протективного фактора при МКБ

Как уже отмечалось, недостаток цитрата в моче является важным фактором, способствующим развитию МКБ. В качестве критерия сниженной экскреции цитрата предложены уровни ниже 500 мг/сутки у женщин и ниже 350 мг/сутки у мужчин [16]. Уровни цитрата в моче определяются, прежде всего, его тубулярной реабсорбцией, которая угнетается при пониженной кислотности, и наоборот. Поэтому заболевания с потерей щелочей (например, нарушения всасывания в кишечнике при диареях) или любой фактор, вызывающий метаболический ацидоз, в частности гипокалиемия, приводят к снижению цитрата в моче.

Роль мочевой кислоты в МКБ

Мочевая кислота является, как известно, продуктом распада пуриновых оснований. Этот продукт катаболизма относительно слабо растворим в биологических жидкостях и поэтому входит в состав мочевых конкрементов. Однако соли мочевой кислоты сами по себе способны снижать растворимость оксалатов, что способствует их усиленной кристаллизации [12]. Эффективность малопуриновых (главным образом, вегетарианских) диет пока еще не доказана. В клинических ситуациях с выраженным распадом тканей и повышенной продукцией мочевой кислоты применяют лечение аллопуринолом — веществом, блокирующим выработку этого соединения.

«Фосфатная» МКБ

Фосфат кальция также является обычным компонентом мочевых камней (обычно не более 10% от общей массы). В некоторых случаях, однако, весовая доля фосфатов превышает 50%, и эти камни считают «фосфатными». Фосфаты в мочевых конкрементах могут содержаться в виде апатитов (аналогов фосфатов костной ткани). В отличие от апатитов фосфатные конкременты в форме «брашитов» (замещенных фосфатов) весьма резистентны к разрушающим воздействиям и вызывают типичную клиническую картину МКБ.

Возможная роль функциональных генных вариантов в патогенезе МКБ

Участие генетических факторов в развитии идиопатической кальциурии подтверждается семейными исследованиями, в которых показано, что около 50% родственников первой степени родства данных больных также имеют повышенную экскрецию кальция в моче.

В. Гао и соавт. (2005) изучали генные варианты остеопонтина в качестве возможного генного маркера мочекаменной болезни (76 больных с кальций-содержащими камнями). Из двух полиморфизмов в кодирующей

части гена была показана большая частота встречаемости для варианта с замещением G/A в позиции 9402. Следует, однако, отметить предварительный характер этого исследования и необходимость проверки этого факта в европейской популяции.

Некоторое число исследований в разных странах касается роли полиморфизма гена рецептора витамина D (VDR). Этот белок влияет на транспорт цитрата и повышает уровни цитрата в моче. Так, проводилось генотипирование 220 больных МКБ в Неаполе с различными уровнями экскреции цитрата на наличие вариантов BsmI и TaqI гена VDR [14]. Выявлено достоверное различие в распределении этих генотипов у больных с гипоцитратурией и без нее (большая частота генотипов bb и TT у лиц с более низкой экскрецией цитрата). Исследования других генотипов VDR приводили к противоречивым результатам.

Работа из Милана была посвящена изучению роли гена кальций-чувствительного мембранного рецептора (CaSR), регулирующего тубулярную абсорбцию ионов кальция [20]. Изучены 4 генных варианта у 231 больного МКБ с наличием и отсутствием кальциурии. В целом, эффект этих генных вариантов (или их гаплотипов) на экскрецию кальция был небольшим. Авторы, однако, сделали вывод о том, что полиморфизм Arg990Gly CaSR может облегчать активацию этого гена, повышая тем самым экскрецию кальция и вероятность развития идиопатической гиперкальциурии.

Как показывают данные последних лет, гиперактивные варианты генов также могут приводить к развитию определенных заболеваний. В случае с МКБ примером этого является исследование трех полиморфных аллелей гена кальций-транспортирующего мембранного белка кишечника TRPV6, который был полностью секвенирован у 170 больных МКБ [19]. Этот сложный анализ показал, что гаплотип (C157R, M378V, M681T) данного гена встречался несколько чаще у больных по сравнению с контрольной группой. Этот генотип оказался связанным с повышенной проницаемостью клеток для ионов кальция, что говорит о «гиперактивном» генном варианте.

Исследователи из г. Нагоя предположили, что матриксный белок Gla, ингибитор кальцификации сосудов, может влиять и на вероятность образования камней в почках [11]. Авторы провели полное секвенирование соответствующего гена MGP, включая промоторный участок, и выявили 19 возможных генных вариантов. Один из них, с заменой A на G, показал двукратное снижение риска МКБ по сравнению с носителями аллеля A. Остается выяснить, сколько вариантов гена ассоциированы с патологией, и насколько эта связь воспроизводима в неазиатских популяциях.

В поисках клинических эффектов гипоцитратурии исследователи из Токио проводили оценку связей между камнеобразованием и генотипом почечного натрий-цитратного транспортного белка (NaDC-1), который

экспрессируется в проксимальных канальцах почки [15]. Оценивался функциональный вариант I550V этого гена у 105 больных с повторными эпизодами МКБ с кальциевыми депозитами, и было показано, что гомозиготный генотип ВВ (рестриктурируемый аллель) был ассоциирован с более низкими уровнями экскреции цитрата в моче, нежели у гомозигот bb. Генотип ВВ встречался чаще у больных с МКБ по сравнению с контролем.

Литература

1. Asplin J.R., Parks J.H., Nakagawa Y., Coe F.L. Reduced crystallization inhibition by urine from women with nephrolithiasis // *Kidney Int.* — 2002. — Vol. 61. — P. 1821–1829.
2. Borghi L et al. Comparison of two diets for the prevention of recurrent stones in idiopathic hypercalciuria // *N. Engl. J. Med.* — 2002. — V. 346. — P. 77–84.
3. Coe F.L., Evan A., Worcester E. Kidney stone disease // *J. Clin. Invest.* — 2005. — V. 115. — N 10. — P. 2598–2608.
4. Coe F.L., Parks J.H. Pathogenesis and treatment of nephrolithiasis. In: *The Kidney*. D. Seldin and G. Giebisch, eds. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia, Pennsylvania, USA. — 2000. — P. 1841–1867.
5. Coe F.L., Parks J.H., Nakagawa Y.N. Inhibitors and promoters of calcium oxalate crystallization: their relationship to the pathogenesis of nephrolithiasis. In: *Disorders of bone and mineral metabolism*. F. L. Coe and M.J. Favus, eds. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia, Pennsylvania, USA. — 2002. — P. 741–775.
6. Curhan G.C., Willett W.C., Speizer F.E., Stampfer M.J. Twenty-four-hour urine chemistries and the risk of kidney stones among women and men // *Kidney Int.* — 2001. — Vol. 59. — P. 2290–2298.
7. Danpure C.J., Rumsby J. Molecular aetiology of primary hyperoxaluria and its implications for clinical management // *Expert Rev. Mol. Med.* — 2004. — P. 1–16.
8. Favus M.J., Karnauskas A.J., Parks J.H., Coe F.L. Peripheral blood monocyte vitamin D receptor levels are elevated in patients with idiopathic hypercalciuria. — 2004.
9. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2004. — V. 89. — P. 4937–4943.
10. Gao B., Yasui T., Okada A., Tozawa K., Hayashi Y., Kohri K. A polymorphism of the osteopontin gene is related to urinary calcium stones // *J. Urol.* — 2005. — V. 174. — N 4, Pt 1. — P. 1472–1476.
11. Gao B., Yasui T., Itoh Y., Tozawa K., Hayashi Y., Kohri K. A polymorphism of matrix Gla protein gene is associated with kidney stones // *J. Urol.* — 2007. — V. 177. — N 6. — P. 2361–2365.
12. Grover P.K., Ryall R.L., Marshall V.R. Calcium oxalate crystallization in urine: role of urate and glycosaminoglycans // *Kidney Int.* — 1992. — V. 41. — P. 149–154.
13. Lemann J., Jr., Worcester E.M., Gray R.W. Hypercalciuria and stones (review) // *Am. J. Kidney Dis.* — 1991. — Vol. 17. — P. 386–391.
14. Mossetti G., Vuotto P., Rendina D., Numis F.G., Viceconti R., Giordano F., Cioffi M., Scopacasa F., Nunziata V. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and tubular citrate handling in calcium nephrolithiasis // *J. Intern. Med.* — 2003. — V. 253. — N 2. — P. 194–200.
15. Okamoto N., Aruga S., Matsuzaki S., Takahashi S., Matsushita K., Kitamura T. Associations between renal sodium-citrate co-transporter (hNaDC-1) gene polymorphism and urinary citrate excretion in recurrent renal calcium stone formers and normal controls // *Int. J. Urol.* — 2007. — V. 14. — N 4. — P. 344–349.
16. Parks J.H., Coe F.L. A urinary calcium-citrate index for the evaluation of nephrolithiasis // *Kidney Int.* — 1986. — Vol. 30. — P. 85–90.
17. Parks J.H., Coward M., Coe F.L. Correspondence between stone formation and urine supersaturation in nephrolithiasis // *Kidney Int.* — 1997. — Vol. 51. — P. 894–900.
18. Parks J.H., Worcester E.M., O'Connor R.C., Coe F.L. Urine stone risk factors in nephrolithiasis patients with and without bowel disease // *Kidney Int.* — 2003. — Vol. 63. — P. 255–265.
19. Suzuki Y., Pasch A., Bonny O., Mohaupt M.G., Hediger M.A., Frey F.J. Gain-of-function haplotype in the epithelial calcium channel TRPV6 is a risk factor for renal calcium stone formation // *Hum. Mol. Genet.* — 2008. — V. 17. — N 11. — P. 1613–1618.
20. Vezzoli G., Tanini A., Ferrucci L., Soldati L., Bianchini C., Franceschelli F., Malentacchi C., Porfirio B., Adamo D., Terranegra A., Falchetti A., Cusi D., Bianchi G., Brandi M.L. Influence of calcium-sensing receptor gene on urinary calcium excretion in stone-forming patients // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 2002. — V. 13. — N 10. — P. 2517–2523.

Российская Ассоциация лабораторной диагностики

ТЕПЕРЬ МЫ БЛИЖЕ:

www.ralm.ru

ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССА ЛИГАНД-ЗАВИСИМОГО ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В-ЛИМФОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С ВТОРИЧНОЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Т.В. ВИНОГРАДОВА, М.Ю. ДОРОФЕЕВА, В.С. СУХОРИКОВ

Московский НИИ педиатрии и детской хирургии

Резюме. Полисистемная биоэнергетическая недостаточность оказывает влияние и на функции иммунокомпетентных клеток, в частности на их рецепторный аппарат, что наблюдается при многих заболеваниях. Одним из способов определения функционального состояния рецепторов клетки является метод лиганд-зависимого перераспределения иммуноглобулиновых рецепторов на поверхности В-лимфоцитов. В результате проведенного исследования у детей с вторичной митохондриальной недостаточностью (синдром Элерса–Данло, туберозный склероз, синдром Марфана) в целом было установлено увеличение кэппирующих клеток, в том числе и «О-образных», снижение поглотительных процессов (эндоцитоза), наличие феномена «сброса кэпов» *in vitro*, заторможенность динамики перераспределения IgR В-лимфоцитов. Степень выраженности указанных изменений зависела от нозологической формы ВМН, и наиболее значима она при туберозном склерозе. Учитывая количественные отличия в показателях параметра «сброс кэпов» (ср. 24,4 и 64%) при туберозном склерозе, можно думать о различной локализации первичной генной мутации, что, безусловно, требует параллельного проведения молекулярно-генетического анализа с целью подтверждения данного предположения, а также диагностики и дифференциальной диагностики у этой категории больных.

Ключевые слова: дети, В-лимфоциты, иммуноглобулиновые рецепторы, вторичная митохондриальная недостаточность, синдром Элерса–Данло, синдром Марфана, туберозный склероз.

PECULIARITIES OF LIGAND-DEPENDING DISPOSITION CHANGES OF B-LYMPHOCYTES IMMUNOGLOBULIN RECEPTORS IN CHILDREN WITH SECONDARY MITOCHONDRIAL INSUFFICIENCY

T.V. VINOGRADOVA, M.YU. DOROFEEVA, V.S. SUKHORUKOV

Moscow Scientific Research Institute of Pediatrics and Pediatric Surgery

Summary. Multisystemic bioenergetic insufficiency influences the immune competent cells functions and receptors. These changes are observed in several diseases. One of the methods of cellular receptors evaluation is ligand-depending immunoglobulin receptors disposition changes on the surface of B-lymphocytes. The present study performed in children with secondary mitochondrial insufficiency (Elers–Danlos syndrome, tuberous sclerosis, Marphan syndrome) revealed the increase of the capping cells including “O-shaped” and decrease of the absorption processes (endocytosis), presence of phenomenon of “cap shed *in vitro*”, slow dynamic of disposition changes for immunoglobulins receptors on B-lymphocytes. The severity of changes depended on nosological form, and was maximal in tuberous sclerosis. Basing on the quantitative difference of the indications of “cap shed” (mean 24.4 and 64%) in tuberous sclerosis the probability of different localization of primary genetic mutation can be proposed. This concept is to be confirmed by parallel molecular genetic analysis, which is also important from point of view of diagnostics and differential diagnostics in these patients.

Key words: children, B-lymphocytes, immunoglobulin receptors, secondary mitochondrial insufficiency, Elers–Danlos syndrome, tuberous sclerosis, Marphan syndrome.

Неоспорим тот факт, что в патогенезе многих заболеваний важную роль играет состояние клеток (в частности иммунокомпетентных), а именно: состав мембраны и ее физико-химические свойства, экспрессия и функциональная активность рецепторов, состояние цитоскелета клетки и ее биоэнергетика [1, 2]. Следует отметить, что все структурно-функциональные характеристики клетки связаны между собой теснейшим образом.

Рецепторы иммунокомпетентных клеток — это генетически детерминированные структуры клетки, роль которых состоит в узнавании соответствующих лигандов с высокой степенью сродства. Взаимодействие специфических лигандов (антигенов, аллергенов) с клеточными рецепторами приводит к агрегации последних. Считается, что именно микроагрегаты — «петчи» — являются ключевыми сигнальными активационными структурами для клетки [3]. В результате этого взаимодей-

ствия происходит трансформация полученного сигнала в биохимическую реакцию, а затем в биологическую функцию клеток. Кроме того, в литературе высказывается предположение [4], что взаимосвязь одних рецепторов с лигандами оказывает влияние на экспрессию других рецепторов. Из вышесказанного вытекает важность исследования работы рецепторного аппарата иммунокомпетентных клеток при многих заболеваниях.

Одним из способов определения функционального состояния рецепторов клетки, а именно, иммуноглобулиновых на В-лимфоцитах, является оценка кэппобразования. Этот метод основан на параметрировании трех, уже ставших классическими, стадий перераспределения микроагрегатов рецепторов по поверхности клетки — «ринг», «кэп», «эндоцитоз», характеризующих различные последовательные этапы процесса. В то же время есть высказывания, что в некоторых случаях «эндоцитоз», или, как его еще называют, «рецептор-индуцированный» эндоцитоз, может происходить со всей поверхности мембраны, начиная со стадии «петча», минуя стадию «кэпа». В частности, это касается и иммуноглобулиновых рецепторов (IgR) В-лимфоцитов. Однако данное наблюдение оставалось без должного внимания, и исследований в этом направлении нам не встретилось.

В конце 1990-х гг. в нашей лаборатории начались исследования по изучению состояния рецепторного аппарата иммуноцитов. Был разработан новый метод оценки лиганд-зависимого перераспределения иммуноглобулиновых рецепторов В-лимфоцитов [5], включающий регистрацию 5 фазовых состояний процесса: «ринг» — равномерное свечение внешней оболочки клетки; «интактный петч» — гранулярное свечение по всей внешней оболочке клетки; «кэп» — свечение одного из полюсов клетки (с учетом особенностей — О-образный, грушеобразный кэп); «абсорбированный петч» — гранулярное свечение внешней оболочки с отдельными свечениями внутри клетки; «эндоцитоз» — светящиеся включения внутри клетки (цитоплазме) при отсутствии свечения внешней оболочки. В результате исследования было установлено наличие 2 путей перераспределения иммуноглобулиновых рецепторов на поверхности мембраны В-лимфоцитов, существенно различающихся в зависимости от вида патологии. Для количественной характеристики особенностей лиганд-зависимого перераспределения рецепторов как в норме, так и при патологии, выяснения преобладания того или иного пути у конкретного индивидуума был введен общий коэффициент, представляющий собой сумму отношений максимального значения параметра «абсорбированный петч» к максимальным значениям остальных параметров, который, как оказалось, существенно изменен (снижен) у больных с atopией [6]. В дальнейшем, на основании учета клинической картины заболевания, был разработан количественный показатель — коэффициент сенсибилизации, представляющий собой сумму отно-

шений максимального значения основного параметра «абсорбированный петч» к максимальным значениям параметров «ринг» и «интактный петч», коррелирующий со степенью выраженности сенсибилизации организма.

Данный метод используется в клиниках и до настоящего времени, что способствует выяснению задействованности atopического процесса в патогенезе различных заболеваний (аллергические заболевания, почечная и бронхолегочная патология, ЛОР-патология, парциальные и генерализованные формы эпилепсии, вторичная митохондриальная недостаточность и т.д.).

Исследования процесса лиганд-зависимого перераспределения иммуноглобулиновых рецепторов В-лимфоцитов, проведенные у детей, подвергшихся воздействию радиации, и детей, родившихся в семьях участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, выявили замедление его динамики, что указывало на изменение функционального состояния иммунокомпетентных клеток.

Одной из причин этого могла быть полисистемная биоэнергетическая недостаточность. Последняя сказывается не только на функциях высокоэнергетозависимых нервной и мышечной тканей, но и на состоянии других элементов, в том числе и иммунокомпетентных клеток. Высокочувствительными к уровню окислительного фосфорилирования являются процессы миграции и адгезии, рецепции, фагоцитоза, секреции интерлейкинов и иммуноглобулинов.

Параллельные исследования процесса перераспределения активированных лигандом рецепторов и цитохимический анализ активности митохондриальных ферментов у больных с различными заболеваниями подтвердили это предположение. На основании полученных результатов был разработан коэффициент (коэффициент торможения) для количественной оценки скорости процесса лиганд-зависимого перераспределения иммуноглобулиновых рецепторов В-лимфоцитов. Значения «коэффициента торможения» $K_{\text{торм}} < 10$ усл. ед. указывают на отсутствие полисистемной митохондриальной недостаточности у пациентов.

Целью данной работы явилось выяснение особенностей лиганд-зависимого перераспределения иммуноглобулиновых рецепторов на поверхности В-лимфоцитов у детей с вторичной митохондриальной недостаточностью.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось в два этапа.

На первом этапе для выяснения влияния энергетической недостаточности на функциональное состояние иммуноцитов, а именно В-лимфоцитов, было обследовано 25 детей в возрасте от 3,6 до 15 лет, страдающих заболеваниями с доказанной вторичной митохондриальной дисфункцией, в том числе синдромом Элерса–Данло (10 детей), туберозным склерозом (10 детей), синдромом Марфана (5 детей). Так как при atopии от-

мечается гиперреактивность В-лимфоцитов, в качестве группы сравнения были взяты дети (15 человек) аналогичного возраста с atopическим дерматитом (с легкой и средней степенью тяжести заболевания).

На втором этапе было обследовано 63 ребенка в возрасте от 9 месяцев до 17 лет с туберозным склерозом, в связи с тем что наибольшие изменения при исследовании процесса лиганд-зависимого перераспределения IgR В-лимфоцитов у детей с вторичной митохондриальной недостаточностью были выявлены именно при данной патологии.

Определение функционального состояния В-лимфоцитов проводилось путем изучения процесса лиганд-зависимого перераспределения иммуноглобулиновых рецепторов на их поверхности методом прямой иммунофлуоресценции с помощью диагностических флуоресцентных антивидовых иммуноглобулинов против иммуноглобулинов человека производства ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН на люминесцентном микроскопе ЛЮАМ ИЗ, увеличение 65×7.

Результаты

Как показал анализ результатов, для больных с atopическим дерматитом характерно увеличение относительного числа В-лимфоцитов (27,2%). У детей с вторичной митохондриальной недостаточностью их количество не отличалось от нормы (22,2% при норме 21,7%). Общий коэффициент, указывающий на наличие атопии, в группе сравнения составил 8,0 усл. ед., что соответствует легкой степени выраженности процесса. В основной группе он превышал 13 усл. ед. (14,38 усл. ед.), что позволяло предполагать отсутствие у больных atopических реакций. Однако максимальные значения и суммарный процент кэпирующих клеток у больных с вторичной митохондриальной недостаточностью были идентичны значениям группы сравнения — 44,4 и 170,1%, особенно при туберозном склерозе (туберозный склероз — 49,1 и 196,4%; atopический дерматит — 47,2 и 196,8% соответственно). Практически не было зарегистрировано отличий между группами процента содержания «О-образных» кэпирующих клеток (атопия — 45,5%; вторичная митохондриальная недостаточность — 41,5%; норма — отсутствуют). В то же время для больных с вторичной митохондриальной недостаточностью, за исключением синдрома Элерса–Данло, был характерен «сброс кэпов», представляющий собой светящийся комплекс микроагрегатов лиганд-рецепторов, находящийся во внешней среде, что не наблюдается ни в норме, ни при атопии. Максимальные значения и суммарное количество клеток в стадии эндцитоза у больных с вторичной митохондриальной недостаточностью были снижены как по отношению к группе сравнения (вторичная митохондриальная недостаточность — 41,7 и 138,6%; атопия — 50,8 и 165,6%), так и нормативным показателям (70,7 и 230,5%). При этом «коэффициент торможения», косвенно характеризующий состояние энергетики кле-

ток, у больных с atopическим дерматитом был равен 6,4 усл. ед., а у больных с вторичной митохондриальной недостаточностью — 12,9 усл. ед. (при норме до 10 усл. ед.).

Так как степень выраженности указанных изменений зависела от нозологической формы вторичной митохондриальной недостаточности, и наиболее значимой она оказалась при туберозном склерозе, эта группа для исследования была расширена.

У детей с туберозным склерозом наблюдалось снижение адгезии в 39,6% случаев. Митохондриальная недостаточность, выявленная на основании увеличения коэффициента торможения ($K_{\text{торм}} > 10,0$ усл. ед.), была зарегистрирована в 54% случаев. В возрастном аспекте наиболее уязвимыми оказались дети от 3 до 6 лет — ср. 10,7 усл. ед. и от 13 до 17 лет — ср. 11,5 усл. ед. Наличие «О-образных» кэпов, что косвенно отражает состояние вязкости клеточных мембран, а также цитоскелета клетки, было повышено и имело возрастные отличия — от 3 до 6 лет встречалось в 32,7%, в возрасте от 7 до 12 лет — в 48,6% от общего количества кэпирующих клеток, что в 1,5 раза больше, чем в предыдущей подгруппе.

У детей, больных туберозным склерозом, в 72% случаев (46 человек) наблюдался «сброс кэпов», что не характерно практически для всех ранее исследованных нами нозологий (кроме вторичной митохондриальной недостаточности, токсического воздействия солей тяжелых металлов и выраженной глистной инвазии. В двух последних ситуациях этот феномен расценивался нами как «защитная реакция» организма). В зависимости от выраженности показателя «сброс кэпов» дети были разделены на 2 подгруппы: < 50% от общего количества кэпирующих клеток и > 50%. Первая подгруппа составила 44% (28 чел.), где средний процент «сбросов кэпов» был равен 24,4%; вторая — 28% (18 чел.), где аналогичный показатель равнялся 64%. Прослеживалась и возрастная зависимость «сбросов кэпов». Так, среди детей дошкольного возраста в основном были зарегистрированы показатели «сбросов кэпов» < 50% (ср. 26,8%), а показатели > 50% (ср. 63,9%) определялись у больных туберозным склерозом школьного возраста (7–15 лет).

Обсуждение

Проведенные исследования показали, что для больных с вторичной митохондриальной недостаточностью в целом характерно нормальное содержание В-лимфоцитов, увеличение кэпирующих клеток, в том числе и «О-образных», при отсутствии задействованности у них реакции немедленного типа. Относительно наблюдаемого у больных с вторичной митохондриальной недостаточностью феномена «сброса кэпов» во внешнюю среду можно высказать несколько предположений, одним из которых является несостоятельность цитоскелетного аппарата клетки. Однако для подтверждения данного предположения требуются дальнейшие научные изыскания. Снижение поглотительных процессов (эн-

доцитоза) почти в два раза, заторможенность динамики перераспределения иммуноглобулиновых рецепторов по поверхности В-лимфоцитов указывают на дисбаланс энергетического обмена в митохондриях клетки. Степень выраженности указанных изменений зависит от нозологической формы вторичной митохондриальной недостаточности. Наиболее значима она оказалась при туберозном склерозе.

Помимо вышеперечисленных особенностей, выявленных нами при исследовании состояния рецепторного аппарата В-лимфоцитов у детей с вторичной митохондриальной недостаточностью, у больных туберозным склерозом при более расширенном и углубленном анализе дополнительно было зафиксировано снижение адгезивных свойств иммуноцитов почти в 40% случаев. Значения «коэффициента торможения» > 10 усл. ед., указывающие на вероятное наличие полисистемной митохондриальной недостаточности, были получены у 54% больных с данным заболеванием. Была установлена возрастная зависимость ряда показателей, а именно: степень выраженности нарушений клеточного энергообмена, наличие «О-образных» кэспирующих клеток, присутствие феномена «сброса кэпов». Наибольшие отклонения по всем этим показателям наблюдаются у детей в пубертатном периоде. К тому же количественные отличия в показателях параметра «сброс кэпов» (ср. 24,4 и 64%) позволяют предположить различную локализацию первичной генной мутации, что, безусловно, требует параллельного проведения молекулярно-генетического анализа с целью подтверждения данного предположения.

В основе патогенеза туберозного склероза, по всей видимости, лежит нарушение координации между ключевыми процессами индивидуального развития — пролиферацией, миграцией, дифференцировкой и специализацией ряда клеток. Согласно последним молекулярно-генетическим и эпигенетическим данным литературы [7–9], в развитии туберозного склероза основную роль играют первичные мутации, по крайней мере, в двух генах, локализованных в участке 34 длинного плеча хромосомы 9 (туберозный склероз первого типа — TSC1, продуктом которого является белок гамартин), и в участке 13 короткого плеча хромосомы 16 (туберозный склероз второго типа — TSC2, который кодирует белок туберин). Некоторые мутации встречаются в обоих генах, но некоторые являются характерными только для TSC1 или TSC2. Однако более тяжелые проявления болезни, связанные с обширными участками повреждения генома, наблюдаются при мутации гена TSC2.

Белок гамартин обнаружен в мозге, почках, сердце и других органах [10, 11]. Взаимодействуя с одним из семейств актин-связывающих белков, он вызывает реорганизацию актина, в частности обеспечивая связи последнего с клеточной мембраной, что необходимо для

проявления адгезивных свойств клетки [12], а также для удержания клеточных рецепторов на мембране [13]. Белок туберин является тем контролирующим звеном процессов клеточной пролиферации и дифференцировки, о которых говорилось ранее [14, 15].

Сопоставляя полученные результаты с изложенным выше, становятся понятными многие особенности, выявленные нами при исследовании процесса лиганд-зависимого перераспределения IgR В-лимфоцитов у детей с туберозным склерозом, что в дальнейшем позволит рекомендовать использовать данный метод с целью диагностики и дифференциальной диагностики у этой категории больных.

Литература

1. Вельтищев Ю.Е., Святкина О.Б. О роли структурно-функциональных изменений биологических мембран в патогенезе atopической аллергии у детей // *Вопр. охр. мат. и дет.*, 1983; 6: 3–9.
2. Петров Р.В., Атауллаханов Р.И. Клеточные мембраны и иммунитет. — М.: Высшая школа, 1991. — 144 с.
3. Hollenberg H.D. Mechanism of receptor-mediated transmembrane signaling // *Experiments*, 1986; 42 (7): 718–727.
4. Йереп Л. Клиническая иммунология и аллергология: Пер. с нем. — М.: Медицина, 1990. — Т. 1–3.
5. Виноградова Т.В., Стефани Д.В. Исследование процесса мембранной сборки иммуноглобулиновых рецепторов В-лимфоцитов. — Роспатент 2029952; 1995.
6. Виноградова Т.В., Стефани Д.В., Смолкин Ю.С. Диагностика заболеваний atopического генеза. — Роспатент 2029937; 1995.
7. Chong-Kopera H., Inoki K., Li Y., Zhu T., Garcia-Gonzalo F.R., Rosa J.L., Guan K.L. TSC1 Stabilizes TSC2 by Inhibiting the Interaction between TSC2 and the HERC1 Ubiquitin Ligase // *J. Biol. Chem.*, 2006; Mar. 31; 281(13): 8313–6.
8. Hengstschiager M., Rosner M., Fountoulakis M., Lubec G. The cellular response to ectopic overexpression of the tuberous sclerosis genes, TSC1 and TSC2: a proteomic approach // *Int. J. Oncol.*, 2005; Sep; 27(3): 831–8.
9. Astrinidis A., Senapedis W., Henske E.P. Hamartin, the tuberous sclerosis complex 1 gene product, interacts with polo-like kinase 1 in a phosphorylation-dependent manner // *Hum. Mol. Genet.*, 2006; Jan. 15; 15(2): 287–97.
10. McCall T., Chin S.S., Salzman K.L., Fuets D.W. Tuberous sclerosis: a syndrome of incomplete tumor suppression // *Neurosurg. Focus*, 2006; Jan. 15; 20(1): E3.
11. Piedimonte L.R., Wailes I.K., Weiner H.L. Tuberous sclerosis complex: molecular pathogenesis and animal models // *Neurosurg. Focus*, 2006; Jan. 15; 20(1): E4.
12. Jozwiak J. Hamartin and tuberin: working together for tumour suppression // *Int. J. Cancer*, 2006; Jan. 1; 118(1): 1–5.
13. Jozwiak J., Wlodarski P. Hamartin and tuberin modulate gene transcription via beta-catenin // *J. Neurooncol.*, 2006; Mar. 22; 24(3): 18–23.
14. Tuberous Sclerosis Complex / Ed. M.R. Gomez, J.R. Sampson, V.H. Whittemore. — New York, Oxford: Oxford University Press, 1999; 340.
15. Tuberous Sclerosis complex: from Basic Science to Clinical Phenotypes / Ed. P. Curatolo. — London, England: MacKeith Press 2003; 314.

ПРОКАЛЬЦИТОНИН И С-РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК В СОВРЕМЕННОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Часть 2

В. В. ВЕЛЬКОВ

ЗАО «ДИАКОН», Россия

Резюме. Высокая эффективность измерения уровней ПКТ и СРБ для диагностики критически больных пациентов, для мониторинга и прогнозирования течения их патологий является твердо установленной многочисленными проспективными и ретроспективными исследованиями. Измерение уровней ПКТ и СРБ должно быть рутинной практикой в отделениях неотложной и интенсивной терапии, в особенности, в педиатрических, а также в ожоговых центрах, в хирургических отделениях, и в инфекционных центрах. Сочетанное измерение ПКТ и СРБ позволяет: 1) проводить раннюю дифференциальную диагностику воспалительных процессов, связанных и не связанных с инфекциями; 2) прогнозировать их развитие и осуществлять мониторинг их тяжести, на основе которого 3) проводить объективно обоснованную терапию.

Ключевые слова: сепсис, тяжелые инфекции, прокальцитонин и С-реактивный белок, маркеры воспаления.

PROCALCITONIN AND C-REACTIVE PROTEIN IN MODERN LABORATORY DIAGNOSTICS

Part 2

V. V. VELKOV

DIAKON Ltd., Russia

Summary. High efficacy of procalcitonin and CRP measurement for diagnosis in critically ill patients, for monitoring and prognosis of the disease course in this group is already determined by numerous prospective and retrospective investigations. Measurement of procalcitonin and CRP should become the routine practice in departments of emergency and intensive care treatment, especially pediatric, as well as in thermal burns centers, surgical and infectious departments. Measurement of both procalcitonin and CRP gives possibility to: 1) perform the early differential diagnosis of inflammatory processes, related and not related with infections; 2) make the prognosis of their development and monitor severity, and basing on this 3) perform the correct treatment.

Key words: sepsis, severe infections, procalcitonin and CRP, inflammation markers.

ПКТ и СРБ: могут ли повышаться без инфекции?

Что касается ПКТ — самая распространенная точка зрения: «Нет, не может, поэтому ПКТ — наилучший показатель инфекционного процесса у тяжелобольных пациентов; более того, уровень ПКТ коррелирует с тяжестью инфекции». Увы, это не совсем так.

В 1994 г. 25 паломников, совершавших хадж, были госпитализированы с тепловым ударом в г. Мекка. Уровни ПКТ измерялись каждые 6 часов в течение суток с момента поступления. Как оказалось, у всех пациентов при поступлении уровни ПКТ были повышены (по сравнению с контрольной группой) в 20(!) раз. К шестому часу уровень ПКТ достигал плато и оставался повышенным целые сутки [66]. Провести аналогичное исследование удалось только через 9 лет. Когда в августе 2003 г. во Франции столбик термометра зашкаливал за 40°C, в отделениях неотложной терапии двух парижских госпиталей оказалось 53 пациента с тепловым ударом. 14 (26%) пациентов впоследствии были переве-

дены в отделение интенсивной терапии (ОИТ). В течение 30 дней 24 (45%) пациента скончались. Медианный уровень ПКТ у всех пациентов составлял 0,58 мкг/л, 31 пациент имел уровни ПКТ выше 0,2 мкг/л («ПКТ положительные»). В группе умерших пациентов уровни ПКТ составляли 1,4 мкг/л (0,16–4,71), в группе выживших — 0,18 (1,12–1,61). У всех пациентов, переведенных в ОИТ, уровни ПКТ были повышены. «ПКТ положительные» больные имели более выраженный ССВО. Авторы полагают, что «высокие сывороточные уровни ПКТ могут наблюдаться при тепловом ударе без каких-либо сопутствующих бактериальных инфекций. При тепловом ударе ПКТ не может служить предиктором смертности, но может быть индикатором тяжести заболевания. В целом, тепловой шок может представлять модель “несептического пути” в синтезе ПКТ» [67]. Отметим, что при тепловом ударе уровни провоспалительных цитокинов (ФНО-альфа, ИЛ-1 бета, интерферон-гамма) также повышены [68, 69].

А недавно получены данные, согласно которым ПКТ синтезируется по «несептическому пути» и у некоторых гематологических пациентов. Так, уровни ПКТ и СРБ измеряли у 56 гемато-онкологических педиатрических больных в течение 110 последовательных эпизодов неинфекционной лихорадки, связанных: 1) с введением антител к Т-клеткам (22 пациента, группа А); 2) с введением препарата *alemtuzumab* (моноклональные антитела CD52, САМРАТН-1Н; 8 пациентов, группа В); 3) с введением ИЛ-2 (41 пациент, группа С); 4) с проведением профилактической трансфузии донорскими гранулоцитами (9 пациентов, группа D); 5) с болезнью острого отторжения трансплантата (10 больных, группа Е). Результаты сравнивали с шестью эпизодами сепсиса, вызванного грамотрицательными бактериями (20 пациентов, группа F). Обнаружилось, что в большинстве неинфекционных эпизодов повышение сывороточных уровней ПКТ и СРБ было статистически неотличимо от такового при «грамотрицательном сепсисе». Медианные значения ПКТ и СРБ (нормальными значениями считались 0,5 нг/мл и < 8 мг/л соответственно) составляли: 1) группа А — 4,34 и 59,0; 2) группа В — 10,1 и 93,5; 3) группа С — 1,11 и 175,0; 4) группа D — 1,43 и 164,0; 5) группа Е — 0,96 и 34,0. При грамотрицательном сепсисе (группа F) уровни ПКТ составляли 8,14 нг/мл, а СРБ — 120,0 мг/л. Авторы полагают, что «при указанных терапевтических процедурах ПКТ и СРБ не могут служить маркерами сепсиса» [70]. Все это не позволяет считать, что ПКТ — стопроцентный маркер инфекции.

Что касается СРБ, то в высокочувствительном диапазоне (до 10 мг/л) его уровень повышается, как правило, по причинам, не связанным с инфекциями. Такими причинами могут быть и окисление Х-ЛПНП, приводящее к вялотекущему воспалительному процессу в эндотелии, и повышение базового уровня СРБ, вызываемое ожирением, метаболическим синдромом, сахарным диабетом, гемодиализом и др. патологиями [71].

Таким образом, ни ПКТ, ни тем более СРБ нельзя со стопроцентной уверенностью считать маркерами, связанными исключительно с воспалениями инфекционной природы. Тем не менее повышение ПКТ все же в большей степени связано именно с инфекциями, нежели повышение СРБ. Но насколько и в каких случаях?

ПКТ и СРБ при локальных инфекциях

Насколько надежны данные о достоверном повышении уровней ПКТ и СРБ при локальных инфекциях? Если считать, что нормальные значения концентрации ПКТ в плазме находятся ниже уровня 0,5 нг/мл, то при локальных воспалениях уровень ПКТ редко повышается выше этих значений. При очаговых инфекциях, в том числе у больных со средним отитом и с инфекциями нижних дыхательных путей, уровни ПКТ остаются ниже, чем при генерализованных инфекциях, и составляют в среднем 0,5–2 нг/мл. Однако если инфекция

начинает распространяться на соседние ткани, уровни ПКТ могут повышаться. Повышаются уровни ПКТ также при наличии замкнутых воспалительных очагов. При урологических инфекциях наблюдается корреляция уровней ПКТ с выраженностью сморщивания почки. У детей с пневмококковой бактериемией ПКТ повышается до 2 нг/мл. У взрослых больных в терминальном состоянии и с выявленным инфекционным очагом ПКТ может повышаться значительно [62]. Подчеркнем еще раз, что уровни ПКТ от 0,5 до 2,0 нг/мл — это «серая зона».

«Различает» ли ПКТ инфекции, вызванные грамотрицательными и грамположительными бактериями?

В зарубежной медицинской литературе есть особый термин — «время от двери до иглы» («door-to-needle time»), обозначающий время, которое проходит от момента поступления пациента с признаками сепсиса, до решения, какой антибиотик применять. Длительность этого времени — вопрос жизни и смерти [72]. Но и в тех случаях, когда «время от двери до иглы» невелико, после «первого применения иглы» 25% пациентам с сепсисом приходится, согласно статистике, изменять режим антибиотикотерапии. Ибо только к этому моменту успевают данные о том, какая именно инфекция, грамположительная (ГП) или грамотрицательная (ГО), имеет место [73].

Как говорилось, индукция синтеза ПКТ следует за индукцией провоспалительных цитокинов. Известно, что воспалительный процесс индуцируется ГО и ГП бактериями по-разному, в зависимости от природы их клеточных стенок. Действительно, *in vitro* уровень ПКТ в супернатанте культуры клеток человека, стимулированных липополисахаридом (основной компонент внешней мембраны ГО бактерий), был выше уровня ПКТ в супернатанте клеток, стимулированных мурамиловым пептидом (основной компонент внешней мембраны ГП бактерий) [74]. Проявится ли такая разница *in vivo*? Ранее сообщалось, что в случаях инфекционных эндокардитов уровни ПКТ были выше тогда, когда в гемокультурах обнаруживались ГО штаммы, чем когда обнаруживались ГП штаммы. Уровни СРБ этой разницы не улавливали [75]. Результаты недавней работы по анализу 97 эпизодов ГО бактериемии (ГОВ) и 52 эпизодов ГП бактериемии (ГПБ) показали, что уровни ПКТ при ГОВ выше, чем при ГПБ. Более того, оказалось, что более высокие уровни ПКТ независимо связаны с ГОВ. В целом, для ГОВ уровень ПКТ, составлявший 16,0 нг/мл, имел положительное предиктивное значение, составлявшее 83%, и отрицательное предиктивное значение, составлявшее 73%. Уровни СРБ и число лейкоцитов разницы между обоими типами сепсисов не выявляли. Авторы делают вывод: «У критических больных с клиническим сепсисом грамотрицательная бактериемия может быть связана с более высокими уровнями

ПКТ, чем грамположительная бактериемия, и притом независимо от тяжести заболевания» [76].

ПКТ при инфекционном эндокардите

Вариабельность клинической манифестации инфекционных эндокардитов (ИЭ) делает их диагностику затруднительной. Но если при ИЭ уровни ПКТ повышены, это может помочь решить проблему. Действительно, оказалось, что у пациентов с ИЭ медианные уровни ПКТ составляли 6,56 нг/мл. При этом пограничный уровень ПКТ в 2,3 нг/мл имел чувствительность 81% и специфичность 85%, отрицательное предиктивное значение 92%, положительное предиктивное значение 72% [77]. Для выяснения надежности измерения ПКТ для диагностики эндокардита и зависимости уровней ПКТ от типа патогенов, вызывающих ИЭ, проводилось проспективное наблюдение 77 пациентов, госпитализированных по поводу трансторакальной эхокардиографии (transthoracic echocardiography) с целью выявления у них ИЭ. У 15 пациентов ИЭ была действительно подтверждена. Как оказалось, у пациентов без ИЭ средние уровни ПКТ составляли 6,9 ($\pm 21,6$) мкг/л и 6,4 ($\pm 11,7$) мкг/л при подтвержденном ИЭ. У 8 пациентов с ИЭ и с бактериемией, вызванной *Staphylococcus aureus*, уровни ПКТ были значительно выше, чем у больных с ИЭ, вызванными другими типами бактериемии (13,1 против 0,435 мкг/л). И хотя уровни ПКТ были очень высокими у пациентов с бактериемией, вызванной *S. aureus*, у больных с бактериемией, вызванной *Streptococcus viridans* (а это обычный казуативный агент ИЭ), уровни ПКТ были на удивление низкими. Авторы полагают, что «измерение сывороточных уровней ПКТ может быть использовано для ранней диагностики ИЭ, связанных с *S. aureus*» [78].

ПКТ и СРБ в дифференциальной диагностике вирусных и бактериальных инфекций

Хотя уровни ПКТ, характерные для локальных бактериальных и вирусных инфекций, лежат, как говорилось, в «серой зоне», насколько надежным может быть измерение ПКТ и СРБ для различения вирусных и бактериальных инфекций? Чтобы ответить на этот вопрос, у 360 детей, госпитализированных с подозрением на бактериальную или вирусную инфекцию, определяли уровни ПКТ, СРБ, ИЛ-6 и интерферона-альфа. У 46 детей с септицемией или с бактериальным менингитом средний уровень ПКТ составлял 46 мкг/л (медианное значение 17,8). У 44 из этих 46 детей (95,6%) уровни ПКТ были > 1 мкг/л. У 59 из 78 детей (75,6%) с локальной бактериальной инфекцией, и у которых были отрицательные гемокультуры, уровни ПКТ также были > 1 мкг/л (чувствительность 83%). И только у 16 из 236 детей (6,8%) с вирусными инфекциями уровни ПКТ были > 1 мкг/л (специфичность 93%). У 9 из 10 детей с ССВО (9%) уровни ПКТ были низкими.

Что касается СРБ, то его уровни ≥ 20 мг/л наблюдались у 61 из 236 детей с вирусными инфекциями (26%) и у 105 из 124 детей с бактериальными инфекциями (85%). Уровни ИЛ-6 > 100 пг/мл были у 14% детей с вирусными инфекциями и у 53% детей с бактериальными. Секреция интерферона-альфа найдена у 77% детей с вирусными инфекциями и у 8,6% — с бактериальными. Авторы делают вывод: «Для различения между вирусными и бактериальными инфекциями уровни ПКТ ≥ 1 мкг/л имеют лучшую специфичность, чувствительность и лучшие предиктивные значения, чем уровни СРБ, ИЛ-6 и интерферона-альфа. При инвазивных бактериальных инфекциях уровни ПКТ более высокие; пограничный уровень ПКТ в 1 мкг/л указывает на тяжесть заболевания при локальной бактериальной инфекции и помогает в отделении неотложной терапии принять решение об антибиотикотерапии». И в целом авторы заключают: «ПКТ в отделении неотложной терапии полезен для дифференциации у детей бактериальной и вирусной инфекции и для принятия решения об антибиотикотерапии» [79].

Справедливость этих важных рекомендаций была подтверждена в более масштабном исследовании, включавшем уже 436 детей. Как оказалось, у 53 детей с септицемией и с бактериальным менингитом концентрация ПКТ была $41,3 \pm 77,4$ мкг/л. У 274 детей с вирусными инфекциями — $0,39 \pm 0,57$ мкг/л. У 109 детей с локальной бактериальной инфекцией (и отрицательными гемокультурами) — $3,9 \pm 5,9$ мкг/л. У 126 детей с локальной или системной бактериальной инфекцией ПКТ был > 1 мкг/л (чувствительность 78%). У 258 детей с вирусными инфекциями уровни ПКТ были < 1 мкг/л (специфичность 94%).

При этом для дифференциации между бактериальными и вирусными инфекциями уровни СРБ ≥ 20 мг/л (специфичность 85% и чувствительность 73%), уровни ИЛ-6 > 100 пг/мл (48% чувствительности и 82% специфичности), интерферона-альфа > 0 UI/мл (76% чувствительности и 92% специфичности). Сделан вывод: «В педиатрическом отделении неотложной терапии для дифференциации между бактериальными и вирусными инфекциями уровни ПКТ ≥ 1 мкг/л имеют лучшую специфичность, чувствительность и лучшие предиктивные значения, чем уровни СРБ, ИЛ-6 и интерферона-альфа» [80].

В другом исследовании у 173 пациентов, поступивших с симптомами лихорадки и/или воспалительного процесса, измеряли уровни ПКТ, СРБ и количество лейкоцитов. У 60 больных (группа 1), были бактериальные или грибковые инфекции, а у 113 пациентов (группа 2) — воспалительные заболевания, не связанные с бактериальными инфекциями. У 39 пациентов первой группы (65%) уровни ПКТ были $> 0,5$ нг/мл, у 3 пациентов второй группы с вирусными инфекциями уровни ПКТ были повышены слабо (0,7; 0,8 и 1,1 нг/мл соответственно). Все остальные пациенты второй

группы имели уровни ПКТ $< 0,5$ нг/мл. При этом уровни ПКТ были более чувствительны и специфичны для дифференциации бактериальных и вирусных инфекций, чем уровни СРБ и количество лейкоцитов. Авторы делают вывод, что в их исследовании *«уровни ПКТ $> 1,2$ нг/мл всегда были очевидностью бактериальной инфекции и указанием на начало антибиотикотерапии»* [81].

Острый респираторный синдром — ТОРС (severe acute respiratory syndrome, SARS), более известный как атипичная пневмония, вызывается коронавирусом SARS-CoV. Как и в других случаях вирусной пневмонии, пациенты с ТОРС имели низкие уровни ПКТ [82].

ПКТ и СРБ при сепсисе

В классическом исследовании (опубликовано в 1996 г.), при наблюдении 337 пациентов с ССВО и с сепсисом было обнаружено, что уровни ПКТ составляли (нг/мл): 1) при ССВО (без инфекции) — 0,6 (215 пациентов); 2) при ССВО + инфекция — 6,6 (53 пациента); 3) при ССВО + септицемия — 8,5 (49 пациентов); 4) при ССВО + септический шок — 34,7 (20 пациентов) [97]. В другом исследовании у 16 пациентов с ССВО без инфекции, у 7 с сепсисом и у 12 с септическим шоком измерение уровней ПКТ и СРБ продемонстрировало, что медианные уровни ПКТ (нг/мл): 1) при ССВО без инфекции составляли 0,6 (0,1–3,4); 2) при сепсисе — 5,4 (0,9–47,7); 3) при септическом шоке — 73,4 (9,6–824,1), и достоверно различались между этими тремя группами пациентов. При этом медианные уровни СРБ составляли (мг/л): 1) при ССВО без инфекции 138 (3–488); 2) при сепсисе — 233 (14–266); 3) при септическом шоке — 174 (22–341), и достоверно между этими группами больных не различались. Авторы делают вывод, что *«СРБ повышается как при воспалительном процессе, так и при инфекции, и не может быть хорошим индикатором тяжести инфекции у пациентов с ССВО. ПКТ — хороший индикатор тяжести инфекции и полиорганной недостаточности у пациентов с тяжелым ССВО»* [98]. В еще одном проспективном исследовании при наблюдении 53 пациентов с септическим шоком было показано, что *«уровни ПКТ и СРБ, измеренные при поступлении, слабо предсказывают исход заболевания, однако снижение уровней ПКТ и СРБ связано с повышением вероятности выживания. В этом отношении ПКТ — более ранний маркер, чем СРБ»* [99].

При наблюдении 70 взрослых пациентов, поступивших в ОИТ, медианные уровни ПКТ составляли (нг/мл): 1) при ССВО без инфекции — 0,4; 2) при локальных инфекциях — 1,4; 3) при сепсисе, тяжелом сепсисе и септическом шоке — 3,65. Уровни СРБ были (мг/л): 1) 79,9 (ССВО без инфекции); 2) 95,3 (локальные инфекции), и 3) 115,6 (сепсис и септический шок). При полиорганной недостаточности уровни ПКТ повышались сильнее, чем уровни СРБ. Авторы полагают, что

«ПКТ — лучший маркер сепсиса, чем СРБ. Динамика ПКТ имеет лучшую корреляцию с тяжестью инфекции и дисфункцией органов, чем динамика СРБ» [100]. В сравнительно небольшом проспективном исследовании (255 пациентов) было обнаружено, что для ПКТ наилучший пограничный уровень для диагностики сепсиса — 0,47 нг/мл, а для СРБ — 128 мг/л. Максимальный уровень СРБ при сепсисе и тяжелом сепсисе наблюдался на 24–48 день после поступления. Уровни ПКТ при поступлении пациентов с травмами были выше в тех случаях, когда затем развивались септические осложнения — 3,4 (2,63–12,71) нг/мл против 1,2 (0,5–5,2) нг/мл (при травмах без инфекционных осложнений). Авторы полагают, что *«результаты измерения уровней ПКТ и СРБ вместе с бактериологическими данными могут быть полезными для диагностики сепсиса. При этом уровни ПКТ более тесно связаны с тяжестью инфекции и могут применяться для прогноза течения заболевания»* [101]. В совсем недавнем проспективном и многоцентровом исследовании наблюдали 20 пациентов без ССВО, 9 — с ССВО, 34 — с сепсисом и 19 — с тяжелым сепсисом. Авторы полагают, что *«определение уровней ПКТ может быть полезным не только для диагностики сепсиса, но и для дифференциации между сепсисом и тяжелым сепсисом»* [102]. Проведенный мета-анализ (49 опубликованных статей, 33 исследования, 3943 пациента, 1828 мужчин, 922 женщины, средний возраст 56,1 лет, 1825 пациентов с сепсисом, тяжелым сепсисом или с септическим шоком, 1545 пациентов с неинфекционным ССВО, уровень смертности 29,3%) позволил сделать вывод, что *«ПКТ является хорошим биологическим диагностическим маркером сепсиса, тяжелого сепсиса и септического шока у трудно диагностируемых критически больных пациентов. ПКТ должен быть включен в правила диагностики сепсиса и в клиническую практику отделений интенсивной терапии»* [47].

ПКТ и СРБ при респираторных инфекциях

Самый частый источник системных инфекций — легкие. Инфекции нижних дыхательных путей (острый бронхит, обострение хронической обструктивной болезни легких, астма, пневмония) обуславливают почти 10% заболеваемости и смертности во всем мире. 75% всех доз антибиотиков назначаются именно для лечения острых респираторных инфекций, тогда как большинство из них имеют вирусную этиологию и антибиотики для их терапии бесполезны [103]. А избыточное применение антибиотиков — это основная причина массового распространения антибиотикостойчивых патогенных штаммов [104]. Поэтому необходимость оправданного уменьшения применения антибиотиков имеет как большое экономическое значение, так и медицинское — в конечном счете это позволяет более эффективно бороться с патогенными штаммами, пока они не стали устойчивыми к антибиотикам [105, 106].

ПКТ и СРБ и инфекции нижних дыхательных путей у детей и взрослых

В большом и весьма детальном исследовании, итоги которого опубликованы в 2007 г., сообщается о результатах измерений уровней ПКТ, неоптерина и СРБ: 1) у 139 пожилых пациентов (средний возраст 70 лет) с инфекциями нижних дыхательных путей (ИНДП) с подтвержденной бактериальной этиологией, и 2) у 128 детей с ИНДП с вирусной этиологией. Контрольная группа — 146 здоровых лиц.

Согласно результатам этого исследования, уровни СРБ > 10 мг/л и ПКТ > 0,1 мкг/л в 60–95% случаев указывают на бактериальную инфекцию, а уровень неоптерина > 10 нмоль/л в 97% случаев указывает на вирусную инфекцию. Авторы совершенно справедливо полагают, что «для дифференциации между бактериальными и вирусными ИНДП и для правильной терапии ИНДП бактериальной этиологии наиболее эффективной может быть комбинация из двух или трех маркеров» [107].

ПКТ и СРБ в диагностике ИНДП и в мониторинге их терапии, направленной на недопущение передозировки антибиотиков

В четырех больших исследованиях (наблюдалось более 1200 пациентов) анализировали результаты терапии больных с подозрением на ИНДП, исходно полагая, что если пациент выздоровел без применения антибиотиков, то он и не имел серьезного инфекционного заболевания. Было найдено, что:

- при ПКТ менее 0,1 мкг/л — антибиотикотерапия не целесообразна, инфекции нет;
- при ПКТ 0,26 и 0,5 мкг/л — необходимо начать прием антибиотиков, есть указание на возможную бактериальную инфекцию;
- ПКТ 0,5 мкг/л — это серьезное указание на серьезную инфекцию и необходимость антибиотикотерапии. Эти же уровни ПКТ рекомендованы для пациентов, которые принимали антибиотики до поступления в отделение неотложной помощи [108, 109].

ПКТ и СРБ при диабетических язвах нижних конечностей

Инфекции трофических язв, связанных с диабетической стопой, представляют весьма серьезные проблемы, которые могут приводить к ампутации нижних конечностей. Трудности ранней дифференциальной диагностики неинфицированных язв, язв, колонизированных нормальной микрофлорой, и язв, инфицированных вирулентными бактериями, часто приводят к серьезным обострениям этих патологий.

Наблюдалось 49 пациентов с язвами диабетической стопы, у 27 пациентов были подтверждены инфекции, 22 пациента составляли «неинфекционную группу». При поступлении у «инфекционных пациентов» (по

сравнению с «неинфекционными») были заметно повышены уровни ПКТ, СОЭ, количество лейкоцитов и, в меньшей степени, уровни СРБ. Наилучший пограничный уровень для ПКТ был 0,08 нг/мл (чувствительность 77%, специфичность 100%), а для СРБ — 320 мг/л (чувствительность 29% и специфичность 100%). Авторы утверждают, что «ПКТ может быть полезным диагностическим маркером для инфицированных язв диабетической стопы» [132].

Во втором исследовании наблюдались 93 пациента, имевшие эпизоды язвы диабетической стопы и не получавшие антибиотики в течение 6 месяцев, контрольная группа — 102 пациента с диабетом без указанных язв. Определялись уровни СРБ, ПКТ, орозомукоида и гаптоглобина, а также количество лейкоцитов и нейтрофилов. Показано, что наилучшим образом инфицированные от неинфицированных язв отличал пограничный уровень СРБ, составляющий 17 мг/л, сходными характеристиками обладали и повышенные уровни ПКТ, остальные проверенные индикаторы таких характеристик не имели. Авторы считают, что «измерение уровней СРБ и ПКТ может иметь значение для дифференциальной диагностики инфицированных и неинфицированных язв у subgroup пациентов, страдающих диабетом, и для соответствующей антибиотикотерапии». Но подчеркивают, что «для рутинного использования ПКТ и СРБ для этих целей необходимы дополнительные исследования» [133].

ПКТ и СРБ при нейтропении

В клинической практике пациенты с лихорадкой, связанной с нейтропенией, не имеют микробиологически и клинически определяемых признаков инфекций. Поэтому и необходим специфический и чувствительный маркер, который бы независимо от подсчета лейкоцитов позволял бы проводить раннюю диагностику инфекций в случае нейтропенической лихорадки. В проспективном исследовании уровни ПКТ, СРБ и СОЭ определяли у 49 педиатрических пациентов, имевших 60 эпизодов нейтропенической лихорадки и находившихся под интенсивной химиотерапией. У всех пациентов уровни ПКТ и СРБ (но не СОЭ) были выше, чем в контрольной группе. Однако у пациентов, не имевших подтвержденных инфекций, медианные концентрации ПКТ снижались сразу после начала лихорадки. А у пациентов с подтвержденными инфекциями уровни ПКТ снижались только через 48 часов. Авторы полагают, что «измерение концентрации ПКТ — лучший диагностический параметр для определения этиологии педиатрической нейтропенической лихорадки, пригодный для оценки тяжести связанной с ней инфекции и для прогнозирования длительности ее течения» [134].

ПКТ и СРБ в хирургии

Как быстро отличить воспаление, связанное острым фазным ответом на некроз тканей в месте хирургиче-

ского вмешательства, от начала присоединения инфекции?

ПКТ и СРБ в кардиохирургии. В одном из ранних исследований в течение 1 года наблюдали 563 пациента, перенесших операции на сердце. У 7 больных (1,2%) после сердечно-легочного шунтирования развились системные инфекции, у 8 (1,4%) больных были локальные инфекции. Найдено, что при присоединении инфекции уровни ПКТ составляли 10,86 (3,28–15,13) нг/мл против 0,12 (0,08–0,21) и затем, по мере применения терапии, снижались к пятому дню до 0,51–0,85 нг/мл. При этом уровни СРБ также были значительно повышены, но не демонстрировали динамики, направленной к нормализации. Так, в первый день СРБ был 164,5 (137–223) мг/л против 1,95 (1,1–2,8) мг/л (этот уровень был перед операцией), а на пятый день — 181,1 (134–189,6) мг/л. В группе больных с локальными инфекциями ПКТ повышен не был, но были значительно повышены уровни СРБ. Так, в первый день СРБ был 165,9 (96,6–181,6) мг/л против 3,7 (2–4,3) мг/л (перед операцией) и 98 (92,8–226,2) мг/л — на пятый день. У больных без инфекционных осложнений послеоперационные уровни ПКТ повышались незначительно и составляли: преоперативный — 0,13 (0,08–0,19) нг/мл; на первый день — 0,46 (0,26–0,77) нг/мл; на третий день — 0,37 (0,2–0,65) нг/мл и на пятый день — 0,24 (0,11–0,51) нг/мл. При этом уровни СРБ были: перед операцией — 1,75 (0,6–2,9) мг/л; в первый день — 97,5 (74,5–120) мг/л; на третий день — 114 (83,05–168,5) мг/л и на пятый день — 51,4 (27,4–99,8) мг/л. Таким образом, как утверждают авторы, **«высокий ПКТ/высокий СРБ указывает на системную инфекцию, низкий ПКТ/высокий СРБ — указывает на острофазный ответ или на локальные инфекции в ранах, но не на системную инфекцию»**. Авторы делают окончательный вывод: **«...ПКТ наиболее пригоден для различения между острофазным ответом (происходящим после сердечно-легочного шунтирования или при локальных раневых инфекциях) и системными инфекциями, при этом дополнительное измерение СРБ повышает специфичность»** [35].

Весьма показательны результаты аналогичного исследования, в котором уровни ПКТ и СРБ определяли: 1) у 12 пациентов с шунтированием коронарных артерий и с сердечно-легочными шунтами (группа 1); 2) у 12 пациентов с сердечно-легочными шунтами и без шунтов коронарных артерий (группа 2), и 3) у 3 больных, подвергшихся сосудистой хирургии с сердечно-легочными шунтами. Уровни ПКТ и СРБ в сыворотке измеряли перед операцией, в конце операции и ежедневно в течение 8 дней. Уровни ПКТ на первый день после всех типов операций возрастали и составляли в среднем 1,1–1,4 нг/мл и оставались в течение 5 дней ниже 5 нг/мл, а затем снижались во всех трех группах. При этом у 19 больных с ССВО уровни ПКТ составляли 1,79 нг/мл, а у 17 больных без ССВО — 0,34 нг/мл. Уровни СРБ возрастали также и составляли на 3–4 день во всех груп-

пах 150–200 мг/л. Уровни ПКТ и СРБ измерялись также у 10 других больных (7 с недостаточностью кровообращения, 2 с активным эндокардитом, 1 с септическим шоком). У этих больных уровни ПКТ составляли: 6,2 нг/мл (эндокардит), 129 нг/мл (недостаточность кровообращения) и 230 нг/мл (септический шок). Уровни СРБ были повышены у всех данных больных независимо от патологии. Авторы считают, что **«степень подъема уровней ПКТ на первый день после кардиохирургии не зависит от типа операции и имеет (в благоприятных случаях) транзиторный характер; послеоперационные уровни ПКТ, превышающие 5 нг/мл, с высокой степенью убедительности указывают на послеоперационные осложнения»** [146].

Сходные результаты были получены при наблюдении пациентов, перенесших сердечно-легочное шунтирование, у которых в течение 8 дней также определялись уровни ПКТ и СРБ. В момент подачи анестезии уровни ПКТ составляли $0,17 \pm 0,08$ нг/мл, затем достигали пика в первый день ($1,08 \pm 1,36$ нг/мл) и к третьему дню снижались до нормальных. У 97 пациентов с подозрением на инфекцию уровни ПКТ определяли вместе с уровнями СРБ, параллельно проводился микробиологический анализ. Среди них 17 имели пневмонию, 16 — бактериемию, 9 — медиастинит, 12 — септический шок. У 43 остальных пациентов на основе микробиологических тестов инфекция была исключена. **ПКТ.** Оказалось: 1) у неинфицированных пациентов сывороточные уровни ПКТ составляли $0,41 \pm 0,36$ нг/мл; 2) у больных с септическим шоком — $96,98 \pm 119,61$ нг/мл; 3) при пневмонии уровни ПКТ составляли $4,85 \pm 3,31$ нг/мл; 4) при бактериемии — $3,57 \pm 2,98$ нг/мл, и 5) при медиастините ПКТ оставался низким — $0,8 \pm 0,58$ нг/мл. В целом, для предсказания инфекции наилучший пограничный уровень ПКТ был равен 1,0 нг/мл, чувствительность составляла 85%, специфичность — 95%, положительное предиктивное значение — 96%, отрицательное предиктивное значение — 84%. У пациентов с септическим шоком уровни ПКТ выше, чем у больных с кардиогенным шоком: $96,98 \pm 119,61$ против $11,30 \pm 12,3$ нг/мл. **Для дифференциации между кардиогенным и септическим шоком наилучший пограничный уровень ПКТ — 10 нг/мл, чувствительность — 100%, специфичность — 62%.** **СРБ.** Сывороточные уровни СРБ были повышены у всех групп пациентов независимо от различий в группах. Для предсказания инфекций с помощью СРБ пограничный уровень в 50 мг/л был чувствительным на 84%, но имел низкую специфичность — 40%. Авторы делают вывод, что **«кардиохирургия с сердечно-легочным шунтированием приводит к подъему уровней ПКТ, достигающих пика в первый послеоперационный день. В случае лихорадки сывороточные уровни ПКТ — надежный маркер инфекции у пациентов, перенесших кардиохирургию, за исключением пациентов, принимавших антибиотики. При послеоперационной недостаточно-**

сти кровообращения концентрация ПКТ > 10 нг/мл — это указание на септический шок» [147].

Показательны результаты исследования, в котором ПКТ и СРБ определяли на 7 день после операции (22 пациента, коронарное шунтирование). Исходные уровни ПКТ (после наложения анестезии) у пациентов, у которых впоследствии не развились осложнения (группа А), составляли $0,11 \pm 0,09$ нг/мл, у больных с последовавшими осложнениями (группа В) — $0,20 \pm 0,21$ нг/мл. После операции в группе А было незначительное повышение ПКТ, а в группе В — значительное, достигавшее $> 0,5$ нг/мл. Исходные уровни СРБ в группе А были $1,44 \pm 1,30$, в группе В — $1,58 \pm 1,35$ нг/мл, затем уровни СРБ повышались в обеих группах. После статистического и корреляционного анализа выяснилось, что изменение уровней ПКТ предсказывает осложнения после хирургии, а изменение уровней СРБ — нет. В общем, «повышение уровней ПКТ от 0,20, 0,40 и до 0,60 нг/мл указывает на повышение риска осложнений после кардиохирургии на 5, 26 и 69% соответственно» [148].

Синдром остановки кровообращения (post-cardio-circulatory arrest syndrome) может быть связан с ранним воспалительным ответом и, возможно, с толерантностью к эндотоксину. Плазменные уровни ПКТ и СРБ измеряли (через 12 и 24 ч) у 11 детей (не старше 14 лет), поступивших после остановки сердца. У выживших пациентов уровни ПКТ возрастали через 12 ч после остановки сердца, но затем, между 12 и 24 ч, более не повышались. У не выживших пациентов уровни ПКТ повышались и после 12 ч. Через 24 ч после остановки сердца у выживших медианные уровни ПКТ составляли 22,7 нг/мл (0,2–41,0) против 205,5 нг/мл (116,6–600,0) у умерших. Уровни СРБ были повышены в обеих группах больных и друг от друга достоверно не отличались. Авторы считают, что «при синдроме остановки кровообращения определение ПКТ в первые 24 ч может быть маркером смертности» [149].

ПКТ и СРБ при других типах хирургии. В результате наблюдения 50 пациентов, перенесших разные типы хирургических вмешательств, было показано, что *пограничный уровень ПКТ в 1,1 нг/мл предсказывал развитие сепсиса с чувствительностью в 81% и со специфичностью 72%*. Повышенные после операции уровни СРБ и ИЛ-6 такой способностью не обладали [150]. Показательны данные по измерению уровней ПКТ и СРБ после декорткации при плевральной эмпиеме. На второй день после операции уровни ПКТ достигали 43,55 нг/мл, а СРБ — 384,0 мг/л. Затем у 90% больных уровень ПКТ к седьмому дню быстро снижался, уровень СРБ снижался слабо, только у 54% пациентов на седьмой день он достиг 100 мг/л и ниже. Таким образом, уровни ПКТ имели лучшую корреляцию с динамикой тяжести инфекции, чем уровни СРБ [151].

Похоже, что разные типы хирургических вмешательств вызывают разную интенсивность *неинфекционного ССВО*. Так, в недавнем исследовании у 48 пациентов

уровни ПКТ и ИЛ-6 измеряли перед разными грудными операциями, сразу после операций, через 6 ч и затем на 1, 3 и 5 послеоперационные дни. Из них 6 пациентов подверглись электропневмозектомии, 20 — лобэктомии, 22 — клиновидной резекции. Во всех группах больных уровни ПКТ и ИЛ-6 после хирургии возрастали и достигали максимума через 6 ч (ПКТ) и на первый день (ИЛ-6). Время, за которое уровни ПКТ и ИЛ-6 возрастали, от типа операции не зависело. Однако уровни ПКТ и ИЛ-6 при лобэктомии и клиновидной резекции были выше, чем при пневмозектомии. Авторы делают важный вывод: «*Разные типы грудной хирургии связаны с разным послеоперационным синтезом ПКТ и ИЛ-6*» и предупреждают, что «*до того как будут установлены пограничные уровни ПКТ и ИЛ-6, предсказывающие послеоперационные осложнения, должны быть установлены ожидаемые значения повышения уровней ПКТ и ИЛ-6 при разных типах хирургических процедур*» [152].

Критический анализ статей, опубликованных в 1990–2006 гг., касающихся вопроса об изменении уровней ПКТ после хирургических вмешательств, приводит к общему заключению, что «*в подавляющем большинстве неосложненных случаев сывороточный ПКТ достигает пика через 24 ч после операции и возвращается к норме в течение первой недели. Пограничные уровни ПКТ, свидетельствующие о наступающем сепсисе, находятся в диапазоне от 1 до 5 нг/мл, и при этом по отношению к динамике тяжести сепсиса динамика ПКТ более показательна, чем динамика уровней СРБ. Повышение уровней ПКТ предшествует усилению тяжести сепсиса, развитию полиорганной недостаточности и летальному исходу*». При отторжении трансплантата уровни ПКТ не повышаются, но резко возрастают после бактериальной или грибковой инфекции. При системных инфекциях уровни ПКТ значительно выше, чем при локальных. Наличие вирусных инфекций по изменению уровней ПКТ определить трудно. Авторы делают общий вывод: «*Скорее динамика уровня ПКТ, а не его абсолютные значения, может быть важной для идентификации пациентов с инфекционными осложнениями после кардиохирургии. ПКТ полезен для дифференциации отторжения трансплантированного сердца и/или легкого от бактериальной и грибковой инфекции*» [153].

Итак, некоторые предварительные итоги.

ПКТ. Если после операции возникает *неинфекционный ССВО*, то происходит кратковременное, транзиторное и небольшое повышение уровня ПКТ. Если на этом фоне развивается *инфекционный ССВО*, уровни ПКТ повышаются сильно, отражают динамику тяжести септического процесса и прогнозируют его исход. Однако ПКТ не поможет оценить динамику тяжести *неинфекционного ССВО* в послеоперационном периоде.

СРБ. Повышение после операции уровней СРБ связано (по крайней мере) с *неинфекционным ССВО*, такое повышение может длиться достаточно долго и отражать динамику нормализации в послеоперационный

период. При присоединении инфекции уровень СРБ может повышаться дополнительно, однако такое повышение, происходящее в течение 1–3 дней после операции, не может быть достоверным индикатором присоединения инфекции.

В целом, сочетанное послеоперационное измерение уровней ПКТ и СРБ и их последующий мониторинг может: 1) достаточно надежно дифференцировать инфекционный и неинфекционный ССВО, 2) четко отражать динамику тяжести обоих процессов, и 3) достоверно прогнозировать исход операции.

ПКТ и СРБ при ожогах

Ожоги вызывают сильный ССВО, мощным индуктором которого являются частицы некротизированных тканей. При ожогах происходит массивная индукция ОФ воспалительного ответа. При этом повышаются уровни ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10, ПКТ и СРБ [154]. Напомним, что диагностическая роль ПКТ была открыта именно при ожогах. В ранних исследованиях было обнаружено, что наиболее высокие уровни ПКТ были у ожоговых пациентов, умерших от ранних респираторных осложнений, связанных, как тогда полагалось, с ингаляцией продуктами горения, вызывающей, в свою очередь, как предполагалось, гиперкальцитонемии [17, 155]. Более детальная картина была получена в последующем исследовании, когда у 40 пациентов с ожогами, покрывавшими не более 30% поверхности тела (33 из них страдали также от ингаляции продуктами горения) при поступлении и затем регулярно измеряли уровни ПКТ, ИЛ-6, ФНО-альфа и эндотоксина. Действительно, все пациенты имели повышенные уровни ПКТ и ИЛ-6 при отсутствии какой-либо подтвержденной инфекции. При этом уровни эндотоксина и ФНО-альфа оставались низкими или вообще не обнаруживались. Существенно, что уровни ПКТ и ИЛ-6 коррелировали с тяжестью ожогов кожного покрова. При этом уровни ПКТ не были связаны с ингаляцией продуктами горения. Авторами сделан вывод, что «на момент поступления ПКТ и ИЛ-6 — прогностические факторы смертности, но менее надежные стандартные клинические показатели тяжести ожога» [156]. С другой стороны, именно присоединение инфекции и развивающийся затем сепсис — наиболее частые причины смерти после ожогов. Действительно, еще в 1993 г. было обнаружено, что повышение ПКТ после ожогов (наблюдали 9 больных), достигавшее 120 нг/мл, было тесно связано с инфекционными осложнениями, острыми септическими эпизодами и с их тяжестью [157].

Так можно ли дифференциально оценить тяжесть и динамику неинфекционного и инфекционного ССВО при ожогах? Может быть, для ожогов с присоединившейся инфекцией и для ожогов без таковой характерны разные пограничные уровни ПКТ?

Уровни ПКТ измеряли у 19 пациентов с различными ожогами (медианное значение — 30% поверхности

тела). У 9 пациентов наблюдался сепсис. Именно у этих пациентов и были, по сравнению «несептической группой», самые высокие уровни ПКТ: на второй день после ожога — 0,4 мкг/л против 0,2; на четвертый день — 1,0 мкг/л против 0,3; на седьмой день — 5,5 против 0,3; на девятый день — 10,0 против 0,5; на двенадцатый — 4,2 против 0,4 и на четырнадцатый день — 1,7 против 0,5 мкг/л. Три пациента, у которых ПКТ превышал 15 мкг/л, скончались от полиорганной недостаточности, вызванной септическим шоком. Изменение при этом уровней СРБ было менее выраженным и не достигало статистической достоверности. Авторы сделали вывод, что «ПКТ — это высокоэффективный лабораторный параметр для диагностики тяжелых инфекционных осложнений после ожогов» [158]. Еще одно исследование. У 27 пациентов со средней площадью ожогов в 51% (20–91%) ПКТ измеряли при поступлении и затем трижды в неделю. Все пациенты были разделены на три группы: А — без септических осложнений, В — выжившие после септических осложнений и С — умершие после септических осложнений. При поступлении у 24 больных уровни ПКТ составляли в среднем 2,1 нг/мл, у трех, поступивших с электрическими ожогами, ПКТ был в среднем 15,7 нг/мл. При этом пиковые уровни ПКТ коррелировали с тяжестью ожогов, а уровни СРБ — нет. Пиковые значения ПКТ были значительно повышены в группах В и С ($49,8 \pm 76,9$ нг/мл), в группе А — $2,3 \pm 3,7$ нг/мл. Самые высокие уровни ПКТ были зафиксированы непосредственно перед смертью ($86,8 \pm 97$ нг/мл). У семи пациентов с ингаляционными травмами третьей степени через 24 ч после поступления связи между уровнями ПКТ и ингаляционными повреждениями не было, но на следующие дни у всех пациентов с ингаляционными травмами третьей степени развились септические осложнения. При поступлении корреляции между уровнями ПКТ и площадью, пораженной ожогами, обнаружено не было, однако такая корреляция проявилась в последние дни наблюдения. Авторы делают вывод, что при ожогах «пограничный уровень в 3 нг/мл является надежным для указания на тяжелую бактериальную или грибковую инфекцию. Уровни выше 10 нг/мл обнаружены только в ситуациях, угрожающих жизни из-за системной инфекции. Индивидуальная динамика ПКТ у конкретного пациента — более важный показатель, чем абсолютные значения уровней ПКТ» [159]. В другом исследовании наблюдались 43 ожоговых пациента, у которых измерялись уровни ПКТ, СРБ, количество белых кровяных клеток, количество нейтрофилов и температура тела. Ежедневно пациенты классифицировались по трем признакам: А — несистемное воспаление, В — системное воспаление без инфекции, С — инфекционное системное воспаление (сепсис). Пациенты групп С и В характеризовались уровнями ПКТ, составившими $11,8 \pm 15,8$ и $0,63 \pm 0,43$ нг/мл соответственно. При этом показатели лейкоцитов, нейтрофилов и температуры тела у пациентов этих групп не отличались.

Уровни СРБ были повышены во всех трех случаях, но между группами В и С достоверно не различались [160]. В совсем недавнем исследовании наблюдали 25 пациентов, поступивших с ожогами, составлявшими $40 \pm 17\%$ ($20-86\%$) площади тела. У 84% из них основными осложнениями были инфекции респираторного тракта. Пограничные уровни ПКТ, характеризовавшие инфекцию, составляли в среднем 0,534 нг/мл с чувствительностью 42,4% и специфичностью 88,8%, однако было обнаружено, что уровни СРБ были более чувствительны и специфичны. Авторы полагают, что *«ПКТ как диагностический маркер ожогового сепсиса не превосходит СРБ и показатель количества лейкоцитов. Измерение ПКТ не достаточно для диагностики послеожогового сепсиса у пациентов, поступивших в отделение интенсивной терапии»* [161].

ПКТ и СРБ при ожогах у детей. А какова картина динамики ПКТ и СРБ при ожогах у детей? Такая же, как у взрослых? Уровни СРБ измерялись у 57 детей, поступивших с ожогами площадью от 3 до 92% поверхности тела (ПКТ не измерялся). Подъем уровня СРБ полагался таковым при повышении концентрации СРБ до 30 мг/л или на 10 мг в день. Показано, что повышение уровней СРБ правильно предсказывает развитие сепсиса (эффективность 82%). У «несептических» пациентов уровень СРБ не повышался (специфичность 69%). Повышение СРБ всегда происходило за $2,3 \pm 0,5$ дня до развития клинически диагностируемого сепсиса [162]. В другом исследовании, при наблюдении 20 детей с ожогами найдено, что уровень ПКТ, равный или выше 5 нг/мл, — это индикатор сепсиса. Однако чувствительность при этом составляла 42%, специфичность — 67%, а эффективность — 57%. Весьма существенно, что даже в тех случаях, когда повышение ПКТ точно указывало на сепсис, соответствующее измерение ПКТ проводилось в среднем на 20 часов позже того момента, когда сепсис был или диагностирован хирургом, или определен на основании измерения СРБ и/или на основе подсчета количества тромбоцитов. Авторы полагают, что *«ПКТ не является таким же эффективным индикатором раннего сепсиса у детей с ожогами, как СРБ или как показатель количества тромбоцитов»* [162]. В целом, сочетанное измерение динамики уровней ПКТ и СРБ после ожогов — ценный индикатор ССВО и последующего присоединения инфекции.

ПКТ и СРБ при шоках

Является ли ПКТ специфическим индикатором септического шока, или на «несептический» шок ПКТ «реагирует» так же, как и на септический? У пациентов с септическим шоком (62 человека) и с кардиогенным шоком (13 лиц) при поступлении измеряли уровни ПКТ, СРБ и лактата. На первый день ПКТ был выше у пациентов с септическим шоком, чем у больных с кардиогенным шоком (медианное значение ПКТ — 14 нг/мл против 1 нг/мл). При пограничном уровне 1 нг/мл чув-

ствительность ПКТ в дифференциации пациентов с септическим шоком от пациентов с кардиогенным шоком составляла 95%, а чувствительность — 54%. СРБ такой дискриминирующей способностью не обладал. Уровни СРБ смертности не предсказывали. Уровни лактата были неспецифическим прогностическим фактором. У пациентов с септическим шоком и с более высокими уровнями ПКТ была более высокая вероятность летальности. В целом, пограничный уровень ПКТ в 6 нг/мл дифференцировал и прогнозировал выживших и умерших пациентов с септическим и несептическим шоком с чувствительностью в 87,5% и со специфичностью в 45% [163].

ПКТ и СРБ при травмах

Повышается ли уровень ПКТ при травмах, не сопровождающихся инфекцией? Если «да» — связаны ли уровни ПКТ с тяжестью «асептической травмы»? Наблюдался 21 пациент, поступивший с травмами. Показателями степени тяжести травмы служили активности в плазме общей креатинкиназы и лактатдегидрогеназы. Обнаружилось, что уровень ПКТ демонстрировал ранний (после травмы) транзиторный подъем, а подъем СРБ происходил с некоторой задержкой. При этом высоты пиков ПКТ и СРБ коррелировали с количеством поврежденных тканей и количеством жидкости, замененным в первый день. В течение первых трех дней у 90% пациентов развилось генерализованное системное воспаление, не связанное с инфекцией. Авторы полагают, что *«ранний транзиторный выход ПКТ в кровообращение, который наблюдается после тяжелых травм, еще не связанных с инфекциями, и количество циркулирующего ПКТ представляется пропорциональным тяжести повреждения тканей и тяжести потери жидкости»* [164]. Более детальные данные были получены, когда уровни ПКТ и СРБ у тех же пациентов были измерены на седьмой день после поступления. Оказалось, что в этот период уровни СРБ оставались повышенными у всех пациентов, уровни ПКТ повысились только у тех, у кого развился сепсис [165]. В сравнительно большом исследовании наблюдали 406 пациентов с тяжелыми травмами. Оказалось, что *«при механических травмах уровни ПКТ пропорциональны тяжести травмы (достигают пика между первым и третьим днями и затем снижаются)»*. У больных, у которых травмы не имели тяжелых последствий, уровни ПКТ составляли $1,1 \pm 0,2$ нг/мл. У пациентов с развившимся ССВО уровни ПКТ были выше. Самые высокие уровни ПКТ были у пациентов с сепсисом ($6,9 \pm 2,5$ нг/мл в первый день) и у пациентов с синдромом полиорганной недостаточности ($5,7 \pm 2,2$ нг/мл в первый день), у которых в течение 14 следующих дней концентрация ПКТ повышалась. В целом, уровни ПКТ, которые в первые три дня были равны или выше 5 нг/мл, предсказывали развитие тяжелого ССВО, сепсиса и полиорганной недостаточности. Авторы делают вывод, что *«рутинный анализ уровней ПКТ позволяет*

проводить раннее распознавание посттравматических осложнений» [166]. В другом исследовании было показано, что уровни ПКТ и СРБ у большинства из 90 пациентов, поступивших с различными травмами, возрастали умеренно, достигали максимальных значений на 1–2 день после поступления и затем быстро снижались. Однако динамика уровней СРБ была более медленной, чем динамика уровней ПКТ. Осложнения (инфекция, сепсис) более часто наблюдались у пациентов с уровнями ПКТ выше 1 нг/мл, повышение уровней СРБ развития осложнений не предсказывало. Авторы считают, что «быстрое по времени и умеренное (по уровню) повышение уровня ПКТ связано с травмами (при отсутствии осложнений происходит быстрое падение ПКТ); повышение уровней ПКТ является основанием для наиболее раннего (по сравнению с динамикой СРБ) прогноза развития сепсиса» [167].

ПКТ и СРБ при травмах мозга. Наблюдались 62 пациента, поступившие с серьезными травмами мозга. У больных без ССВО уровни ПКТ (в плазме) составляли $0,4 \pm 0,6$ нг/мл, с ССВО — $3,05 \pm 9,3$ нг/мл, с сепсисом — $5,5 \pm 12,5$ нг/мл. Сходная закономерность была обнаружена и у пациентов с небольшими травмами мозга, в этих случаях ПКТ был $0,06 \pm 0,9$ нг/мл, у пациентов с умеренными травмами — $0,8 \pm 0,7$ нг/мл и у пациентов с тяжелыми травмами мозга — $1,2 \pm 1,9$ нг/мл. Для СРБ (в плазме) подобных закономерностей не наблюдалось. Кроме того, была обнаружена связь между уровнями ПКТ и летальностью, для СРБ подобной картины также не отмечено [168]. У 22 детей, перенесших травмы мозга вследствие несчастных случаев, исходные медианные значения уровня ПКТ в СМЖ были повышены (по сравнению с контрольной группой) почти в 3 раза и составляли 0,41 (0,15–2,14) нг/мл против 0,12 (0,00–0,24). У детей, получивших травмы мозга из-за жестокого обращения, уровни ПКТ в СМЖ составляли 0,31 (0,29–0,50) нг/мл [169].

В целом, картины динамики ПКТ и СРБ после хирургических операций, ожогов и травм сходны. Сходной в этих случаях является и стратегия измерений уровней ПКТ и СРБ.

СРБ и ПКТ при ренальных заболеваниях

ПКТ и СРБ при гемодиализе. Вызывают ли ренальные патологии и гемодиализ «неинфекционное» повышение ПКТ? В двухлетнем проспективном наблюдении 61 пациента, находившегося на гемодиализе, измеряли уровни ПКТ, СРБ, ферритина, альбумина и преальбумина. В течение этого периода смертность составила 42% (24 пациента), основными причинами которой были ССЗ (71%) и инфекции (17%). Все пациенты были stratифицированы согласно уровням их СРБ, в частности, на «СРБ+», если его уровень был ≥ 5 мг/л (40 пациентов), и на «ПКТ+», если уровень ПКТ был $\geq 0,5$ нг/мл (25 больных). Найдено, что у гемодиализных пациентов смертность была большей в группе «СРБ+», но не

в группе «ПКТ+». При этом воспаление, определенное по исходно повышенному уровню СРБ (выше 5 мг/л), имело место на протяжении всего срока наблюдения. Авторы считают, что «при гемодиализе уровни СРБ выше 9,9 мг/л являются независимым предиктором смертности от ССЗ. Связь между высоким уровнем ПКТ и высокой концентрацией СРБ не имеет более сильного предиктивного значения по отношению к летальности, чем высокие уровни СРБ» [170]. В целом, полагается установленным, что при гемодиализе повышаются базовые уровни СРБ и что такое повышение связано не с инфекцией, а с индукцией хронического вялотекущего воспалительного процесса. Так, показано, что при гемодиализе у 35–65% пациентов наблюдается хроническое воспаление, которое характеризуется повышением уровней hsCRP и провоспалительных цитокинов. Причина этого не ясна, предполагается, что воспаление может происходить из-за: 1) образования комплемента при контакте белков плазмы с мембраной, 2) обратной фильтрации контаминированного диализата в кровоток, или 3) непосредственного контакта клеток крови с диализной мембраной. Однократное определение hsCRP до и после диализа — весьма эффективный предиктор смертности таких пациентов. При повышении СРБ более 10 мг/л риск смертности в течение 5 лет у «диализных» больных возрастает в 3,5 раза [171].

Можно ли с помощью измерения ПКТ и СРБ отличить острый пиелонефрит от инфекции нижних мочевых путей? Для изучения этого вопроса уровни ПКТ и СРБ измеряли у 80 детей (возрастом от 1 мес. до 16 лет), поступивших с подозрением на данную патологию. Как обнаружилось, при инфекциях нижних мочевых путей средние уровни ПКТ составляли $0,38 \pm 0,19$ мкг/л по сравнению с $5,37 \pm 1,9$ при пиелонефрите. Уровни СРБ были $30,3 \pm 7,6$ мг/л при инфекциях нижних мочевых путей и $120,8 \pm 8,9$ мг/л — при пиелонефрите. В целом, для предсказания при поступлении почечных патологий СРБ имел чувствительность 100% и специфичность 26,1%, ПКТ имел чувствительность 70,3% и специфичность 82,6% [172].

Следующий вопрос: можно ли с помощью ПКТ в течение первых шести недель после трансплантации почки отличить инвазивную инфекцию от острого отторжения? Наблюдали 57 пациентов. У 13 наблюдалось 16 эпизодов острого отторжения, подтвержденных биопсией. 17 пациентов имели инвазивные инфекции, 2 пациента — частичный некроз трансплантата. Как оказалось, уровни ПКТ у пациентов с отторжением не отличались от таковых у пациентов со здоровым трансплантатом, но были сильно повышены при инвазивных инфекциях. Уровни СРБ были повышены как у пациентов с отторжением, так и у пациентов с инфекциями. При этом специфичность ПКТ для диагностики инвазивных инфекций была 70%, а таковая для СРБ — только 43%. Чувствительность для ПКТ составляла 87%, а для СРБ — 100%. Авторы считают, что «острое оттор-

жение пересаженной почки не влияет на уровни ПКТ, повышение которых может быть специфическим индикатором системной бактериальной инфекции и может помочь в дифференциации этих двух типов воспаления» [173].

У больных как с острой, так и с хронической почечной недостаточностью (ОПН и ХПН) высокий уровень летальности связан с бактериальными инфекциями. Поскольку уровни СРБ повышаются у многих пациентов с ПН даже в отсутствие инфекций (как и при гемодиализе), измерение ПКТ может применяться для идентификации ренальных больных с бактериальными инфекциями. Действительно, измерение уровней ПКТ и СРБ у 85 ренальных пациентов показало, что сывороточные уровни ПКТ у пациентов с ХПН и у пациентов, находившихся на диализе непродолжительное время, находились в диапазоне нормальных значений (нормальными полагались уровни < 1 мкг/л), при ХПН ПКТ был 0,25 мкг/л, при гемодиализе — 0,61 мкг/л (медианные значения). Однако у пациентов с амбулаторным перитонеальным диализом медианные уровни ПКТ были повышены до 1,18 мкг/л. У пациентов с сепсисом концентрации ПКТ были сильно повышены независимо от наличия ОПН. Что касается СРБ, то его уровни были повышены < 5 мг/л у пациентов, находившихся как на краткосрочном диализе (14,5 мг/л), так и на длительном диализе (51,1 мг/л), но не у пациентов, находившихся на перитонеальном диализе. У пациентов с ХПН и с системными бактериальными инфекциями медианные уровни ПКТ и СРБ были значительно повышены: до 63 мкг/л и 130 мг/л соответственно. Однако значения уровней СРБ у пациентов с ХПН с инфекцией и с ХПН без инфекции перекрывались. У пациентов с сепсисом уровни ПКТ при гемофильтрации или при гемодиализе достоверно не снижались. Авторы полагают, что «за исключением пациентов с амбулаторным перитонеальным диализом, ренальные заболевания и процедуры, с ними связанные, уровней ПКТ заметно не изменяют, однако уровни ПКТ заметно возрастают при инфекциях. Поэтому ПКТ является важным маркером для ранней диагностики системных бактериальных инфекций у пациентов с ХПН или у больных, находящихся на гемодиализе». Повышенные уровни СРБ при ренальных патологиях указывают на воспалительный процесс, который может быть не связан с инфекциями [174].

ПКТ и СРБ при перитонитах

Перитониты — серьезное осложнение, часто случающееся при продолжительном перитонеальном диализе. Инфекции и сепсис — самые частые осложнения вторичных перитонитов. Проводилось международное многоцентровое исследование, в котором наблюдались 82 пациента с установленным вторичным перитонитом. Как оказалось, уровни ПКТ сильно коррелировали с развитием сразу после операции септического синдрома полиорганной недостаточности. Уровни СРБ та-

кими диагностическими характеристиками не обладали. Уровни ПКТ, составлявшие в течение двух послеоперационных дней 10 нг/мл или выше, в отношении развития септического синдрома полиорганной недостаточности имели чувствительность 65%, специфичность 92%, положительные и отрицательные предиктивные значения 83 и 81% соответственно. Уровни СРБ, равные или выше 210 мг/л, имели чувствительность и специфичность 67 и 58% соответственно, положительные и отрицательные предиктивные значения — 49 и 74% соответственно. Уровни ПКТ, державшиеся в течение недели выше 1,0 нг/мл, были сильным предиктором летальности. Авторы считают, что «у пациентов с вторичным перитонитом мониторинг ПКТ — это быстрый и надежный подход для определения септического синдрома полиорганной недостаточности и для построения общего прогноза» [175, 176]. В другом исследовании наблюдали 40 пациентов, также находившихся на перитонеальном диализе, у 20 из них были эпизоды перитонита, у 20 пациентов видимых клинических признаков перитонита не было. Как оказалось, у СРБ и СОЭ в отношении диагностики перитонита была наивысшая чувствительность (100% для одного и другого показателей), но низкая специфичность (55 и 10% соответственно). Уровни ПКТ, измеренные с помощью экспресс-теста, имели наивысшую специфичность и относительно низкую чувствительность (100 и 70% соответственно). Авторы полагают, что «при перитонеальном диализе экспресс-тест на ПКТ может быть полезным для дополнительного диагностического использования» [177].

СРБ и ПКТ при остром коронарном синдроме и при остром инфаркте миокарда

Согласно текущим представлениям, атеросклероз — это вялотекущее хроническое воспаление в эндотелии, связанное с повышением базовых уровней СРБ. В большом исследовании показано, что пациенты, поступившие с острым коронарным синдромом (ОКС) и имеющие hsСРБ > 7,44 мг/л, имеют повышенный риск летальности через 5 лет [178]. Некроз тканей при остром инфаркте миокарда (ОИМ) вызывает сильный острофазный ответ. При этом уровень СРБ прямо связан с обширностью зоны ИМ и с тяжестью его последствий. Как правило, на третий день после ОИМ СРБ достигает максимума (обычно в диапазоне 70–150 мг/л) и затем, при благоприятном течении болезни, снижается, параллельно с уровнями других кардиальных белков. Мониторинг СРБ после ОКС и ОИМ свидетельствует об обширности ИМ и о тяжести грядущих осложнений [179]. У пациентов с первым ОИМ, подвергшихся коронарной ангиопластике, уровень СРБ достигал максимума на второй день после ИМ, составлял $86,8 \pm 40,57$ мг/л и коррелировал с уровнями мозгового натрийуретического пептида [180]. Пациенты с более высокими уровнями СРБ имели более высокий риск ремоделирования левого желудочка [181].

Вот результаты исследований, заслуживающие особого внимания. У пациентов, перенесших ИМ и чрезкожные коронарные процедуры, СРБ, измеренный при поступлении, предсказывал летальность и позволял стратифицировать больных согласно степени коронарного риска. При СРБ $\geq 31,0$ мг/л риск летальности был наибольший [181]. В другом исследовании наблюдали 192 больных с ОКС (медианный возраст $64,97 \pm 11,08$ лет, 71,35% мужчин). У 138 из них (71,87%) был диагностирован ОИМ; при этом 28 больных имели ОИМ без Q-волны, а 54 были с нестабильной стенокардией (28,13%). У всех больных измеряли уровни СРБ, креатинкиназы (КК), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и тропонина I. Неблагоприятные исходы регистрировались в течение 6 мес. Через 6, 12 и 18 ч после поступления уровни СРБ у всех групп больных достоверно не различались. Однако через 36, 48 и 72 ч медианный уровень СРБ у пациентов с ИМ и с Q-волной был повышен по сравнению с таковым у пациентов с ИМ без Q-волны. Средний пиковый уровень СРБ у больных с ОИМ составлял $82,1 \pm 78,5$ мг/л против $27,5 \pm 33,3$ мг/л у больных с нестабильной стенокардией. У пациентов с ОИМ и с Q-волной наблюдалась корреляция между уровнями СРБ, КК, ЛДГ, но достоверной корреляции с пиком КК МБ не было. В период 30–96 ч после начала манифестации симптомов ИМ наблюдалась корреляция между уровнями СРБ и TnI. У пациентов с ОИМ, и с Q-волной и пиковыми значениями СРБ через 6 мес. были зарегистрированы неблагоприятные исходы. Авторы считают, что «у пациентов с ОИМ и с Q-волной по сравнению с таковыми без Q-волны разные кривые повышения СРБ в цитоплазме <...>. Повышение уровня СРБ при ОИМ с Q-волной скорее связано с расширением зоны повреждения миокарда, чем с предсуществовавшим воспалением» [182].

Но как при ОКС и ОИМ ведет себя ПКТ? У 58 пациентов, поступивших с ОКС, измеряли ПКТ и hsСРБ (высокочувствительное измерение), а также проводили ангиографию. Как оказалось, уровни ПКТ и СРБ у пациентов были достоверно повышены, но не коррелировали с тяжестью заболеваний коронарных артерий, определяемой ангиографически [183]. Насколько информативно измерение ПКТ при ИМ? Наблюдались 44 пациента с ОИМ, у которых измерялись уровни ПКТ и ИЛ-6. При поступлении уровни ПКТ и ИЛ-6 были нормальными. Затем уровни ИЛ-6 повышались, но уровни ПКТ оставались, в целом, в пределах нормы ($0,5$ нг/мл), несмотря на незначительное повышение, составившее $1 \pm 0,4$ нг/мл. Авторы полагают, что «в отличие от реактанта острой фазы ИЛ-6 концентрация ПКТ после ОИМ не повышается» [184]. В другом исследовании были получены похожие результаты. При отсутствии инфекционных осложнений уровни ПКТ у 54 пациентов с ОИМ были ниже $0,5$ нг/мл, однако у пациентов, страдавших также кардиогенным шоком, максимальные уровни ПКТ составляли $5,24$ нг/мл. Ре-

анимация после остановки сердца и/или сопутствующая бактериальная инфекция повышали ПКТ до 134 нг/мл. Уровни СРБ и СОЭ были повышены как при ОИМ, не связанных с осложнениями и инфекциями, так и при присоединении инфекции. Авторы полагают, что «ПКТ повышается у пациентов с ОИМ только в случаях, связанных с реанимацией после остановки сердца или в присутствии бактериальной инфекции» [185].

Особого упоминания заслуживает исследование, проведенное, чтобы установить связь между ОИМ и уровнями ПКТ, СРБ, ИЛ-6, TnI и ККМБ, результаты которого оказались неожиданными. Наблюдали 66 пациентов (возраст $63,2 \pm 14,8$ лет). Оказалось, что уровни ПКТ были повышены у всех пациентов с ОИМ. При поступлении медианные уровни ПКТ были $1,3$ нг/мл, затем они повышались, достигали плато через 12–24 ч и составляли (к 48 ч) $3,57$ нг/мл. На седьмой день ПКТ снижался до нормы $< 0,5$ нг/мл. При этом у 56 больных (93,3%) ПКТ повышался раньше, чем уровни ККМБ или TnI. Кинетика ПКТ была сходна с таковой у ККМБ и TnI. Максимальные уровни ПКТ положительно коррелировали с максимальными уровнями ИЛ-6 и СРБ. Максимальный уровень ИЛ-6 положительно коррелировал с таковым СРБ. В целом, полученная картина напоминала повышение ПКТ при ССВО, вызываемое хирургическими операциями, травмами, не осложненными инфекциями. Авторы полагают, что «ПКТ может рассматриваться как новый чувствительный миокардиальный показатель (индекс). Его выход при ОИМ, возможно, вызван воспалительным процессом, который происходит при ОИМ» [186].

ПКТ и СРБ у новорожденных и детей

У новорожденных. Широкое применение измерения уровней ПКТ и СРБ в перинатальных и педиатрических отделениях неотложной терапии закономерно, как и закономерно большое количество исследований, посвященных изучению динамики уровней ПКТ и СРБ у новорожденных, младенцев и у детей, находящихся в критических состояниях. Весьма показательны результаты проспективного исследования динамики ПКТ и СРБ у 116 детей, поступивших в отделение неотложной помощи. Дети были разделены на 4 группы: 1) 20 новорожденных с сепсисом (возраст от 3 до 30 дней); 2) 26 новорожденных без сепсиса; 3) 32 ребенка (возрастом от 2 до 12 лет) с сепсисом, и 4) 38 детей без сепсиса. В сыроворотке измерялись ПКТ, СРБ и сывороточный амилоидный белок (САБ Б). Пограничный уровень, предсказывающий сепсис у новорожденных, для ПКТ был $> 6,1$ нг/мл (диагностическая эффективность — 93,8%), для СРБ $> 23,0$ мг/л (диагностическая эффективность — 89,7%), для САБ Б $> 41,3$ мг/л (диагностическая эффективность — 95,3%). Для детей пограничные уровни, предсказывающие сепсис, составляли: для ПКТ $> 8,1$ нг/мл (диагностическая эффективность — 100%), для СРБ $> 22,1$ мг/л (диагностическая эффективность — 89,8%),

для САБ > 67,2 мг/л (диагностическая эффективность — 94,4%). Авторы делают вывод: «У критически больных детей концентрация ПКТ является лучшим диагностическим маркером сепсиса, чем концентрации СРБ и САБ Б. Однако у критически больных новорожденных ПКТ, СРБ и САБ имеют сходные маркерные характеристики. Концентрация ПКТ выше, чем 8,1 нг/мл, диагностирует бактериальный сепсис у всех детей» [187]. В другом исследовании наблюдались 22 новорожденных с положительными гемокультурами, подтверждавшими клинический сепсис. 13 детей имели ранний сепсис, 14 — поздний, 29 здоровых новорожденных составляли контрольную группу. Уровни ПКТ, СРБ, ИЛ-6 и ФНО-альфа в септической группе (17 пациентов) исходно были значительно повышены и снижались на 3 и 7 дни при удачной антибиотикотерапии. У впоследствии скончавшихся пациентов уровни указанных маркеров повышались. Для неонатального сепсиса пограничный уровень ПКТ составлял $\geq 0,34$ нг/мл (чувствительность 100%, специфичность 96,5%), положительное предиктивное значение — 100% и диагностическая эффективность — 98,3%. Для ФНО-альфа пограничный уровень составлял $\geq 7,5$ пг/мл, чувствительность — 100%, положительное предиктивное значение — 96,6%, отрицательное предиктивное значение — 96,5%, диагностическая эффективность — 98,3%. ИЛ-6, СРБ и ИЛ-8 обладали слабыми диагностическими характеристиками [188]. В другом исследовании уровни СРБ и ПКТ измерялись в пуповинной крови у 46 новорожденных с инфекциями и у 20 новорожденных, инфекций не имевших. Пограничный уровень ПКТ, свидетельствовавший об инфекции, составлял 1,22 нг/мл, чувствительность — 80,43 %, специфичность — 71,67%, положительное предиктивное значение — 35,24%, отрицательное предиктивное значение — 95,03%. Пограничные уровни СРБ составляли 1,0 мг/л, чувствительность — 73,91%, специфичность — 77,92%, положительное предиктивное значение — 39,08%, отрицательное предиктивное значение — 93,97% [189].

Весьма показательны результаты ретроспективного исследования, проведенного в педиатрическом отделении интенсивной терапии, включавшего 73 недоношенных новорожденных с 78 эпизодами подозрения на нозокомиальный сепсис (опубликовано в 2008 г.). Медианные уровни ПКТ составляли: 1) в группе с асептическими гемокультурами (15 пациентов) — 0,56 (0,33–1,32) нг/мл; 2) в группе с грамположительными инфекциями (47 пациентов) — 2,69 (1,10–5,29) нг/мл, и 3) в группе с грамотрицательными инфекциями (16 пациентов) — 9,36 (3,11–39,35) нг/мл. Уровни СРБ во всех трех группах достоверно не отличались. При пограничном уровне ПКТ в 0,99 нг/мл положительные и отрицательные предиктивные характеристики сепсиса у новорожденных составляли 97,5 и 88,9% соответственно. При этом диагностическая эффективность была наивысшей при измерении ПКТ через 2 или более часов после появления

симптомов сепсиса. Авторы делают вывод: «Сывороточная концентрация ПКТ является значимым инструментом для раннего обнаружения нозокомиального сепсиса у новорожденных. Наиболее высокие уровни ПКТ наблюдались при грамотрицательных инфекциях» [190].

У детей. Уровни ПКТ, СРБ и количество лейкоцитов определяли у 175 детей (медианный возраст 16 мес.), поступивших в отделение интенсивной терапии. 63 пациента составляли «неинфекционную» контрольную группу, с вирусными инфекциями было 14 больных, с локализованными бактериальными инфекциями и без септического шока — 25 пациентов, с бактериальным менингитом/энцефалитом — 10 больных, с септическим шоком — 77 детей. Отдельно наблюдались 6 детей с «предполагаемым» септическим шоком (без очевидных свидетельств инфекции). При поступлении ПКТ был значительно повышен у детей с септическим шоком, медианный уровень — 94,6 (3,3–759,8) нг/мл. У детей с локализованными бактериальными инфекциями ПКТ был 2,9 (0–24,3) нг/мл, при вирусных инфекциях — 0,8 (0–4,4) нг/мл, в контроле — 0,5 (0–4,9) нг/мл. Дети с бактериальным менингитом имели медианный уровень ПКТ, составлявший 25,5 (7,2–118,4) нг/мл. *Пограничные уровни, оптимально предсказывавшие септический шок, у детей были: для ПКТ > 20 нг/мл, для СРБ > 50 мг/мл. Концентрация ПКТ > 2 нг/мл указывала на всех пациентов с бактериальным менингитом или с септическим шоком.* Авторы делают вывод: «У критически больных детей уровни ПКТ при поступлении — это диагностический маркер инфекции лучший, чем СРБ или чем показатель количества лейкоцитов. Концентрация ПКТ в 2 нг/мл может быть полезной для дифференциации тяжелых бактериальных заболеваний у младенцев и детей» [191]. В другом исследовании наблюдались 72 ребенка с ВБП. 10 детей имели положительные гемокультуры *Streptococcus pneumoniae*. 15 детей, согласно анализу мокроты, имели бактериальную пневмонию (у 15 обнаружен *S. pneumoniae*, в одном случае — дополнительно обнаружился *Haemophilus influenzae b*). У 10 детей была обнаружена инфекция, вызванная *Mycoplasma pneumoniae*, 37 детей были инфицированы вирусами, 8 из них имели вирусную и бактериальную инфекции одновременно. Как оказалось, у всех 10 детей с положительными гемокультурами (*S. pneumoniae*) средние уровни ПКТ были выше 2 мкг/л. У 8 из этих детей уровни СРБ были выше 60 мг/л. Уровни ПКТ выше 1 мкг/л были у 86% пациентов с бактериальными инфекциями, включая *Mycoplasma* и бактериальную суперинфекцию при вирусной пневмонии. При этом концентрация СРБ в 20 мг/л для дифференциации между бактериальными пневмониями имела чувствительность, сходную с таковой у ПКТ, но значительно меньшую специфичность, чем ПКТ (40 против 86%). Уровни ПКТ были выше при бактериальной пневмонии, характеризующейся положительными гемокультурами, тогда как для СРБ этого не наблюдалось. Самой низкой

диагностическая специфичность была у показателя количества лейкоцитов и ИЛ-6. Авторы делают вывод: «Для дифференциации бактериальной и вирусной пневмонии у детей, поступивших в больницу при неотложных обстоятельствах и еще не подвергавшихся терапии, пограничный уровень ПКТ в 1 мкг/л является чувствительным и специфичным и имеет большее положительное и отрицательное предиктивное значение, чем СРБ, ИЛ-6 или количество лейкоцитов» [192]. Вот результаты проспективного наблюдения 72 детей (возраст от 1 до 36 мес.). Из них: 1) 8 детей (11,1%) имели серьезные бактериальные инфекции (1 — пневмония, 2 — менингит, 4 — септицемия/скрытая бактериемия, 2 — пиелонефрит; 2) 19 детей (26,4%) имели возможные бактериальные инфекции и получали антибиотики, однако микроорганизмы у них обнаружены не были; 3) 45 детей (62,5%) имели вирусные инфекции. Показано, что уровни ПКТ > 2 нг/мл и СРБ > 50 мг/л как индикаторы инфекций имели чувствительность и специфичность для ПКТ — 50 и 85,9%, для СРБ — 75 и 68,7% соответственно. Авторы полагают, что «несмотря на то, что низкие уровни ПКТ не могут быть использованы для исключения пациентов с серьезными бактериальными инфекциями, сочетание измерения ПКТ, СРБ и подсчета лейкоцитов может использоваться для предсказания серьезных педиатрических бактериальных инфекций» [193]. Другое проспективное наблюдение показало, что у детей, поступивших в отделение интенсивной терапии, медианные уровни ПКТ составляли (нг/мл): 1) при ССВО без инфекции — 0,43; 2) при локальной инфекции — 0,79; 3) при сепсисе — 1,80; 4) при тяжелом сепсисе — 15,40; и 5) 19,13 — при септическом шоке. Медианные уровни СРБ при этом составляли (мг/л): 1) в контроле — при ССВО без инфекции — 38,0; 2) при локальной инфекции — 64,5; 3) при сепсисе — 57,0; 4) при тяжелом сепсисе — 76,0; и 5) 162,0 мг/л — при септическом шоке. Авторы считают, что «у критически больных детей ПКТ — наилучший диагностический маркер сепсиса. СРБ, и в особенности ПКТ, могут быть полезным инструментом для стратификации педиатрических пациентов с ССВО согласно тяжести заболевания» [194]. В другом проспективном исследовании наблюдали 408 детей (от 7 дней до 36 мес.), поступивших с лихорадкой неизвестной этиологии. Серьезная бактериальная инфекция (СБИ) была диагностирована у 94 детей (23,1%). Именно у этих детей были повышены ПКТ, СРБ, количество лейкоцитов и абсолютное количество нейтрофилов. Однако наилучшими диагностическими свойствами обладали ПКТ и СРБ. Авторы полагают, что «измерение ПКТ наиболее точно предсказывает у детей серьезные бактериальные инфекции в начале их развития, но измерение СРБ может быть более удобным маркером из-за его лучшей чувствительности и выполнимости» [195]. В недавнем исследовании (май 2008 г.) наблюдались 64 ребенка. У 25 был инфекционный ССВО, у 39 — ССВО небактериальной природы. Было найдено, что при погра-

ничной концентрации ПКТ $\geq 2,5$ нг/мл повышенные значения ПКТ повышали вероятность бактериальной инфекции от 39 до 92%. При пограничном уровне СРБ < 40 мг/л отрицательные значения СРБ снижали вероятность бактериальной инфекции с 39 до 2%. Авторы считают, что «для дифференциации у критически больных детей бактериального ССВО от небактериального измерение ПКТ лучше, чем СРБ, однако точность обоих тестов умеренная, но она может быть повышена в сочетании с клиническим обследованием» [196]. Заслуживает отдельного упоминания и исследование, в котором уровни ПКТ измеряли у 58 детей с симптомами и признаками патологий печени, среди которых были: инвазивные бактериальные инфекции, острые вирусные инфекции, токсические повреждения печени, аутоиммунные заболевания. Уровень ПКТ был повышен у всех детей с инвазивными бактериальными инфекциями печени, но был низким при вирусных инфекциях и при токсических нарушениях. У 50% детей с аутоиммунными заболеваниями уровни ПКТ были повышены умеренно [197].

Полуколичественное экспресс-определение ПКТ у детей. Можно ли доверять применению иммунохроматографических полуколичественных экспресс-тестов в педиатрии? В проспективном исследовании наблюдали 99 детей (возраст от 7 дней до 36 мес.), поступивших с лихорадкой, с температурой тела > 38°C и без признаков инфекции. Уровни ПКТ, СРБ и ИЛ-6 определяли с помощью экспресс-тестов и сопоставляли с СОЭ и с клинической картиной. У 29 детей была диагностирована тяжелая бактериальная инфекция. Показано, что при ПКТ < 0,5 нг/мл тяжелая бактериальная инфекция исключена у 54% пациентов. При ПКТ более 2 нг/мл вероятность тяжелой бактериальной инфекции повышается на 68%. Для СРБ при уровнях < 40 мг/л вероятность тяжелой инфекции составляла 9,7%, а при СРБ > 100 мг/л — 86,5%. Определение ИЛ-6 и СОЭ указанными закономерностями не обладало. Авторы считают, что «ПКТ и СРБ лучше, чем ИЛ-6 и СОЭ, предсказывают тяжелые бактериальные инфекции у детей; прикроватные тесты на ПКТ и СРБ могут использоваться в неотложных случаях и частнопрактикующими врачами в начале работы с детьми, имеющими лихорадку неизвестного происхождения» [198]. В другом исследовании проверяли эффективность полуколичественного теста на ПКТ и для диагностики менингококковых инфекций. При поступлении у 65 детей (средний возраст 2,4 года) определяли уровни ПКТ (иммунохроматографический полуколичественный тест), уровни СРБ и подсчитывали количество нейтрофилов. У 33 пациентов, поступивших с септическим шоком, развился синдром полиорганной дисфункции, 9 детей умерло. У 43 пациентов были очень высокие уровни ПКТ (≥ 10 нг/мл). У 12 детей уровни ПКТ находились в диапазоне от 2 до 9,9 нг/мл, у остальных 10 пациентов уровни ПКТ были < 2 нг/мл. Все дети с ПКТ < 10 нг/мл выжили, у детей,

у которых развился синдром полиорганной дисфункции, и у умерших уровни ПКТ составляли ≥ 10 нг/мл. По мнению авторов, «полуколичественный уровень ПКТ ниже 10 нг/мл предсказывает благоприятный исход у детей с менингококковой инфекцией. Этот метод является высокочувствительным для идентификации пациентов с высоким риском множественной органной дисфункции или летальности» [199].

В целом, согласно результатам мировой практики, высокая диагностическая и прогностическая эффективность количественного и полуколичественного измерений ПКТ и СРБ в отделениях неотложной и интенсивной терапии считается полностью доказанной. И если применение этих измерений для взрослых критически больных является необходимым, то *рутинное определение уровней ПКТ и СРБ в педиатрических отделениях неотложной и интенсивной терапии является крайне необходимым.*

Показания к назначению измерений уровней ПКТ и СРБ

А. Для ранней диагностики инфекционных осложнений:

- у хирургических пациентов;
- у пациентов в отделениях неотложной и интенсивной терапии;
- у реципиентов после трансплантации;
- у пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких;
- у пациентов с иммуносупрессией;
- у пациентов с нейтропенией;
- у пациентов с заболеваниями неясного генеза.

Б. Для диагностики:

- тяжелых бактериальных инфекций;
- сепсиса;
- септического шока.

В. Для дифференциальной диагностики:

- инфекционной и неинфекционной этиологии лихорадки неясного генеза;
- заболеваний инфекционной и неинфекционной этиологии (например, острый респираторный

дистресс-синдром взрослых — ОРДСВ, острый панкреатит);

- бактериальных и вирусных инфекционных заболеваний (например, острого менингита, сепсиса новорожденных);
- острых бактериальных инфекций и хронических воспалительных процессов (например, аутоиммунных заболеваний);
- реакций против трансплантата и инфекционных осложнений бактериальной и грибковой природы.

Г. Для мониторинга:

- состояния больных с сепсисом, шоком;
- эффективности проводимого лечения;
- прогнозирования динамики состояния больного.

Рекомендации по интерпретации результатов измерений ПКТ

1. Клиницист всегда должен интерпретировать уровни ПКТ в контексте клинического состояния пациента.
2. У здоровых индивидов уровни ПКТ очень низкие ($< 0,05$ нг/мл).
3. Небольшое повышение ($< 0,5$ нг/мл) наблюдается при локальных инфекциях и с низкой вероятностью при системных инфекциях (сепсис).
4. Умеренно повышенные уровни (0,5–2 нг/мл) указывают на возможность сепсиса с малым риском его прогрессирования в тяжелый сепсис.
5. Высокие уровни (2–10 нг/мл) указывают на большую вероятность сепсиса, имеющего высокий риск прогрессирования в тяжелый сепсис.
6. Очень высокие уровни (> 10 нг/мл) почти всегда вызваны исключительно тяжелым сепсисом или септическим шоком.

Список литературы находится в редакции.

ЛЕКЦИЯ. ЧАСТЬ 1

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ПРИ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

А.А. ЖЛОБА

Отдел биохимии НИЦ, кафедра клинической лабораторной диагностики
с курсом молекулярной медицины ГОУ ВПО «СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Росздрава»

Резюме. Результатом гипергомоцистеинемии (ГГЦ) и сопряженных нарушений метаболизма являются: прогрессирование атеросклероза и его осложнений, ранняя ишемическая болезнь сердца, периферические болезни сосудов, периодические венозные тромбозы, мозговые дисфункции, прогрессирование болезни Альцгеймера и в качестве неблагоприятных исходов — инфаркт и инсульт. В клинической лабораторной диагностике используется термин «общий гомоцистеин» плазмы крови, который обозначает сумму различных состояний вещества (oГци, tHcy). Очень важным в клинической химии является вопрос о причинах токсических эффектов гомоцистеина (Гци), поскольку известно, что другие серосодержащие молекулы, такие как цистеин или аминокислоты (глутатион, цистеинилглицин), циркулирующие в больших концентрациях, не оказывают повреждающего действия на эндотелий и другие клетки. В настоящее время продолжается изучение лабораторно-диагностического значения исследования Гци. Возможно, вместо oГци следует определять его фракцию в составе определенных белков плазмы, так как накопление Гци в клетках связано не только со скоростью его генерации, но и с рецепторным эндоцитозом из внеклеточной среды в состоянии лиганда определенных белков. При патологических состояниях наблюдается усиление связывания Гци не только альбумином, но и активированным альфа-2-макроглобулином. Это приводит к усилению накопления Гци в клетках, экспрессирующих **LRP**-рецептор.

Наряду с анализом oГци шире используются другие сопутствующие анализы, включая анализы, проявляющие состояние функции почек, поскольку именно в этом органе происходит утилизация основной части поступившего в кровоток Гци. Важное место в диагностике занимают также анализы, проявляющие внутриклеточный дефицит витамина B12 в повышении метилмалоновой кислоты. Поскольку ГГЦ часто сопровождается вазомоторной эндотелиальной дисфункцией за счет накопления метилированного аргинина — АДМА, то анализ последнего позволяет поделиться с вкладом местных метаболических факторов в развитие артериальной гипертензии.

Ключевые слова: гомоцистеин, гипергомоцистеинемия, метилмалоновая кислота (ММК), асимметричный диметиларгинин (АДМА), малоновый диальдегид (МДА).

LECTURE. PART 1

LABORATORY DIAGNOSIS IN HYPERHOMOCYSTEINEMIA

A.A. ZHLOBA

Biochemistry department of scientific research center, Clinical laboratory diagnostics department
with a course of molecular medicine
State educational institution of higher professional education "Saint-Petersburg Pavlov State Medical
University, Federal Agency for Health Care and Social Development"

Summary. Hyperhomocysteinemia and related metabolic disorders lead to the following pathological conditions: progression of atherosclerosis and its complications, early ischemic heart disease, peripheral vessels disease, periodic venous thromboses, cerebral dysfunctions, progression of Alzheimer disease. Among the unfavourable outcomes of these conditions are myocardial infarction and stroke. In clinical laboratory diagnosis the term "total homocysteine" in plasma is used, this term identifies the total amount of different conditions of substance (tHcy). The most important question in clinical chemistry concerns toxic effects of homocysteine; it is known that other sulfur-containing molecules like cysteine and aminoacids (glutathione, cysteinylglycine) circulating in high concentrations in blood, do not have any toxic effect on endothelium and other cells. Currently the significance of homocysteine measurement in clinical laboratory is under the investigation. It is proposed, that instead of total homocysteine its fraction in concrete plasma protein should be used because accumulation of homocysteine in cells is related not only with the rate of its generation but also with receptor-based endocytosis from extracellular medium as a ligand of certain proteins. In pathological conditions the increase of homocysteine binding by not only albumin but also activated alpha-2-macroglobulin is observed. This leads to increase of homocysteine accumulation in cells expressing **LRP**-receptor.

In combination with homocysteine other associated analyses including those related to renal function are often used because the kidney is the organ in which the main part of homocysteine is utilized from the blood flow. The main role in the diagnosis belongs to the analyses revealing the intracellular B12 deficiency and elevation of methylmalonic acid. Due to the fact that homocysteine elevation is often accompanied by vasomotor endothelial dysfunction due to methylated arginine accumulation, analysis of the least can give possibility to determine the impact of local metabolic factors to development of arterial hypertension.

Key words: homocysteine, hyperhomocysteinemia, methylmalonic acid, asymmetric dimethylarginin, malonic dialdehyde.

За последние три десятилетия развились представления и накоплен практический опыт в области изучения развития атеросклероза и других патологических состояний при нарушении реметилирования гомоцистеина в метионин или превращения гомоцистеина в аминокислоту цистеин. Установлено, что в результате этого развивается эндотелиальная дисфункция и прогрессируют сердечно-сосудистые заболевания. Гипергомоцистеинемия — это патологическое состояние, при котором резко повышается содержание окисленных и восстановленной форм гомоцистеина в крови. Результатом гипергомоцистеинемии и сопряженных нарушений метаболизма являются: ранняя ишемическая болезнь сердца, периферические болезни сосудов, периодические венозные тромбозы, мозговые дисфункции и в качестве неблагоприятных исходов — инфаркт и инсульт. Многочисленные кликоэпидемиологические исследования показали, что с гипергомоцистеинемией связано повышение риска развития атеросклеротических процессов различных локализаций и усиления тромбообразования. Гипергомоцистеинемия является одной из причин сокращения продолжительности жизни людей во всем мире. Известно, что дислипотеинемия является важнейшим фактором прогрессирования атеросклероза, и открытие еще одного важнейшего фактора прогрессирования этого патологического процесса является важным шагом на пути достижения новых рубежей в диагностике и лечении атеросклероза.

Источником аминокислоты гомоцистеина является незаменимая кодируемая аминокислота метионин, в ходе метаболизма которой постоянно происходит потребление метильных групп. Процессы метилирования в организме активируются при репарации, регенерации и росте тканей и являются очень важными в поддержании жизнедеятельности организма в целом. Промежуточным продуктом этих процессов и является гомоцистеин, который в норме накапливается в крови лишь в небольших количествах (<10 мкмоль/л), примерно в 20 раз меньше другой необходимой в крови аминокислоты цистеина. После образования из метионина гомоцистеин реметилируется за счет извлечения одноуглеродного фрагмента из аминокислоты серина с образованием метионина или вступает в реакции транссульфирования с превращением в нетоксичную аминокислоту цистеин. В силу генетических дефектов энзимов (ферментов), катализирующих эти метаболические пути или недостаточности витаминов (B9, B6, B12), указан-

ные выше превращения гомоцистеина могут быть затруднены. Это приводит к явлению, обозначенному в современной литературе как гипергомоцистеинемия (ГГЦ). В клинической лабораторной диагностике используется термин «**общий гомоцистеин**» плазмы крови, который обозначает сумму различных состояний вещества (**oГци, tHcy**). Очень интересным в клинической химии является вопрос о причинах токсических эффектов гомоцистеина, поскольку известно, что другие серосодержащие аминокислоты, такие как цистеин и другие аминотиолы (глутатион, цистеинилглицин), циркулирующие в больших концентрациях, не оказывают повреждающего действия на эндотелий и другие клетки. В связи с большим значением коррекции гипергомоцистеинемии для предотвращения тяжелых осложнений атеросклероза различных локализаций и увеличения продолжительности жизни населения в различных регионах мира проведены клинические исследования терапии гипергомоцистеинемии различной степени выраженности усиленными дозами фолиевой кислоты, пиридоксина и кобаламина. Рекомендованы дозы, длительность терапии и сочетания этих трех витаминов для снижения гомоцистеина в крови. Обнаружено, что проведение этой терапии позволяет существенно улучшить состояние пациентов с атеросклерозом коронарных, мозговых и почечных артерий, а также лиц с повышенной активацией свертывающей системы. В настоящее время во всех регионах мира продолжается сбор сведений и разработка схем лечения при ГГЦ на основе лабораторного контроля уровня oГци.

1. Распространенность, причины и последствия гипергомоцистеинемии

Гипергомоцистеинемия в различных регионах мира и Санкт-Петербурге

Самыми частыми причинами повышения уровня гомоцистеина в крови могут являться витаминдефицитные состояния и некоторые наследственные энзимопатии. Особенно чувствителен организм к недостатку фолиевой кислоты и витаминов B9, B12 и B6. Предполагается, что повышенную склонность к гипергомоцистеинемии имеют курящие. Потребление большого количества кофе является одним из самых мощных факторов, способствующих повышению уровня гомоцистеина в крови. У лиц, выпивающих более 6 чашек кофе в день, уровень гомоцистеина на 2–3 мкмоль/л

выше, чем у не пьющих кофе. Уровень гомоцистеина часто повышается при сидячем образе жизни. Умеренные физические нагрузки способствуют снижению уровня гомоцистеина. Потребление небольших количеств алкоголя может снижать уровень гомоцистеина, а большое количество спиртного способствует росту гомоцистеина в крови. На уровень гомоцистеина влияет прием целого ряда лекарств. Особенное значение имеют метотрексат (антагонист фолиевой кислоты, часто применяется для лечения псориаза), противосудорожные препараты (фенитоин и др., опустошают запасы фолиевой кислоты в печени), закись азота (препарат, используемый при наркозе и при обезболивании родов, инактивирует витамин В12), метформин (препарат, используемый для лечения сахарного диабета и синдрома поликистозных яичников) и антагонисты Н2-рецепторов (влияют на всасывание витамина В12), эуфиллин (подавляет активность витамина В6, часто применяется в акушерских стационарах для лечения гестозов). На уровень гомоцистеина может неблагоприятно влиять прием гормональных контрацептивов, но это бывает не всегда. Еще одним фактором, способствующим повышению уровня гомоцистеина, являются некоторые сопутствующие заболевания. Самые важные из них: витаминдефицитные состояния и почечная недостаточность. Заболевания щитовидной железы, сахарный диабет, псориаз и лейкозы могут способствовать значительному росту уровня гомоцистеина в крови. Одной из главных причин витаминдефицитных состояний, приводящих к гипергомоцистеинемии, являются заболевания желудочно-кишечного тракта, сопровождающиеся нарушением всасывания витаминов (синдром мальабсорбции). Это объясняет более высокую частоту сосудистых осложнений при наличии хронических заболеваний ЖКТ, а также то, что при В12-витаминдефиците частой причиной смерти служит не анемия, а инсульты и инфаркты.

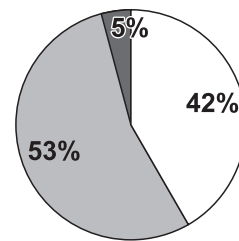
По данным собственного исследования, проведенного в Отделе биохимии НИЦ СПбГМУ им. И. П. Павлова Росздрава, уровни гомоцистеина у 1461 обследованного пациента С.-Петербурга, обратившегося в 2004–2006 гг. по поводу различных нарушений кровообращения при артериальной гипертензии выше 90/140 мм, заметно выше, чем в других развитых регионах Европы.

Умеренная гипергомоцистеинемия 12–30 мкмоль/л встречается у наших пациентов слишком часто — в 53% случаев. Эта цифра зависит преимущественно от нехватки фолата, то есть витамина В9.

Причем в группе обследованных мужчин до 55 лет умеренная гипергомоцистеинемия встречается в 58%, т.е. чаще, чем у женщин, почти в 2 раза.

В подгруппе старше 55 лет у пациентов мужчин и женщин нашего региона умеренная гипергомоцистеинемия обнаружена еще чаще — у 2/3 мужчин и женщин. При этом более выраженная гипергомоцистеинемия обнаружена у мужчин значительно чаще, чем у женщин.

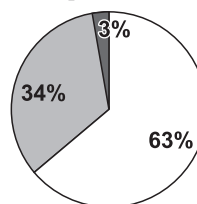
Общее число обследованных, N = 1461



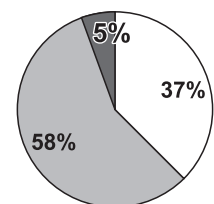
□ Без ГГци ■ Умеренная ГГци ■ Промежуточная ГГци

В настоящее время стала очевидной необходимость осуществления мероприятий по улучшению выявления гипергомоцистеинемии и применения фолатов, витаминов В12 и В6 в лечебных дозах. В профессиональной

Группа женщин в возрасте до 55 лет

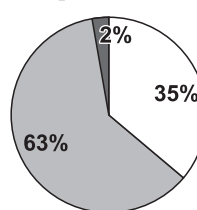


Группа мужчин в возрасте до 55 лет

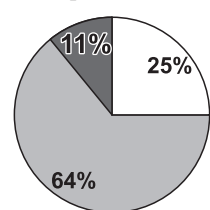


□ Без ГГци ■ Умеренная ГГци ■ Промежуточная ГГци

Группа женщин старше 55 лет



Группа мужчин старше 55 лет



□ Без ГГци ■ Умеренная ГГци ■ Промежуточная ГГци

среде следует пересмотреть дозировки фолатов (витамина В9) в пользу их увеличения в старших возрастных группах. Для выявления гипергомоцистеинемий следует шире внедрить методики лабораторной диагностики оГци.

У одного и того же индивида в норме уровень гомоцистеина в плазме крови может колебаться в пределах 24–34%, тогда как при анализе утром натощак после легкого ужина остается весьма стабильным. Отмечены колебания в сторону снижения уровня гомоцистеина на 5–10% спустя 30 мин после принятия горизонтального положения, что следует учитывать при заборе крови у обследуемых. В норме у человека в плазме крови циркулирует около 10 мкМ гомоцистеина (оГци) в виде различных смешанных дисульфидов и небольшое количество в виде свободного гомоцистеина. По сравнению с другими аминокислотами общий гомоцистеин циркулирует примерно в десять раз меньшей концентрации. При патологических состояниях наблюдается значи-

Таблица 1

Частые причины различных степеней гипергомоцистеинемии

Градация гипергомоцистеинемий	Частота	Вероятные причины гипергомоцистеинемий
Умеренное (промежуточное) повышение концентрации гомоцистеина (15–30 мкмоль/л)	<10%	Плохое всасывание витаминов в ЖКТ Недостаток фолиевой кислоты Умеренный дефицит витамина B12 Полиморфизм MTHFR в сочетании с низким фолатным статусом (S-фолат на нижней границе нормы) Почечная недостаточность Гиперпролиферативные нарушения Нездоровый образ жизни, включая плохое и несбалансированное питание
Повышение средней степени (30–100 мкмоль/л)	<1%	Полиморфизм MTHFR в сочетании с дефицитом фолиевой кислоты Умеренный дефицит витамина B12 Тяжелый дефицит фолиевой кислоты Тяжелая почечная недостаточность
Максимальная степень повышения (> 100 мкмоль/л)	<0,02%	Выраженный дефицит витамина B12 Дефицит цистатионин-β-синтазы (гомозиготная форма)

Данные получены группами исследователей под руководством McCully K.S., Nygard O., Clarke R., Selhub J., Tucker K.L., Gerhard G.T., Jacobsen D.W., De Laet C., Vilaseca M.A. в период 1993–1999 гг.

тельное превышение нормального уровня оГци, верхней границей нормы для лиц обоего пола по различным данным считается величина 12–15 мкмоль/л для плазмы крови (табл. 1).

Согласно современным представлениям гипергомоцистеинемии являются независимым фактором риска развития сосудистых заболеваний наряду с такими известными показателями, как холестерин ЛПНП и ЛПВП, уровень общего холестерина, высокое артериальное давление, нарушение функций почек.

Таблица 2

Уровень гомоцистеина плазмы крови в зависимости от возраста, включая детей и старший возраст

Возраст	Средний уровень гомоцистеина (мкмоль/л)
Женщины	
до 40 лет	6–10
40–42	9,1
67–95	11,9
80–95	14,3
Мужчины	
до 40 лет	8–12
40–42	10,8
67–95	11,9
80–95	14,3
Дети	
2 мес.–10 лет	5,8
5–9 лет	6,21
10–14 лет	7,8
15–19 лет	8,84

Очень высокий уровень гомоцистеина является маркером раннего развития атеросклероза каротидных артерий на второй декаде жизни. Высокий уровень оГци около 400 мкМ наблюдается при наследственной энзимопатии с нарушением функции образования и утилизации цистатионина. При хронических заболеваниях почек, в том числе у больных на гемодиализе, оГци также достигает концентраций в плазме крови более 100 мкМ. В старшей возрастной группе более 55 лет уровень гомоцистеина обычно выше 10 мкМ у большинства мужчин и женщин, не находящихся на корригирующей терапии. В группах населения более молодого возраста гипергомоцистеинемии чаще встречаются у мужчин.

Наряду с генетическими и пищевыми причинами повышения гомоцистеина в крови существуют и другие, такие как неумеренное потребление кофе и табакокурение.

Значительное самостоятельное влияние на повышение содержания гомоцистеина в организме оказывает нарушение функции почек, с соответствующим нарушением цистатионинового пути утилизации гомоцистеина. При болезнях почек, даже в отсутствие генетических дефектов энзимов, задействованных в метаболизме гомоцистеина, почти всегда возникает гипергомоцистеинемия. Это состояние является следствием нарушения метаболизма почечной ткани и, в частности, экспрессии энзимов цистатионин-бета-синтазы и цистатионин-бета-лиазы. Гипергомоцистеинемия усугубляется в случае наличия генетических дефектов указанных энзимов и энзимов путей реметилирования гомоцистеина.

Показано также, что имеется разница в уровне гомоцистеина плазмы крови для разных возрастных групп и

полов. Так, у женщин после полового созревания и в среднем возрасте уровень оГци ниже, чем у мужчин (табл. 2).

Алиментарная нехватка фолата, пиридоксина и кобаламина может быть усилена, например, паразитированием *Helicobacter pylori*. В связи с этим в случае слабой эффективности пероральной терапии большими дозами фолата и кобаламина следует проводить парентеральное введение препарата. Необходимо также определить, присутствует ли генетический дефект МТГФ (при промежуточной и средней гипергомоцистеинемии) и имеется ли микробное паразитирование, затрудняющее усвоение витаминного препарата.

Низкое содержание гомоцистеина в плазме крови (ниже 4 мкмоль/л) может встречаться при обедненном содержании метионина в рационе. Метионин содержится в больших количествах в твороге, а из растительных продуктов можно отметить в качестве источника этой незаменимой аминокислоты кукурузу. Такие состояния на практике встречаются крайне редко. Женщины, употребляющие гормональные контрацептивы, и пациентки в постменопаузе, получающие лечение эстрогенами, часто имеют пониженные уровни гомоцистеина.

Источники и утилизация гомоцистеина в организме

Гомоцистеин возникает вследствие деметилирования пищевого L-метионина в ходе биосинтеза карнитина, холина, метилирования белков и других метаболических путей. L-Гомоцистеин (Гци) и продукты его окисления, накапливающиеся в плазме крови в концентрациях выше 15 мкМ в пересчете на собственно гомоцистеин (оГци), токсичны для тканей. При этом наблюдаются значительные морфологические и функциональные отклонения в эндотелиальных клетках, возникает существенная активизация процессов свертывания крови. При длительном воздействии повышенных концентраций этого метаболита усиливается атерогенез. Гци циркулирует преимущественно в окисленном состоянии в виде смешанных дисульфидов, в частности дисульфидов альбумина. Общая связывающая способность белков плазмы в отношении гомоцистеина в основном ограничена концентрацией доступных тиоловых групп и дисульфидных группировок белков, что не превышает примерно 1500 мкМ. Значительная часть гомоцистеина переносится альбумином плазмы за счет образования смешанных дисульфидов с цистеиновыми остатками, имеющих положение в первичной структуре альбумина — Cys34. Как показано в исследованиях, проведенных в отделе биохимии НИЦ СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, другие белки плазмы крови, например, альфа-2-макроглобулин, также образуют смешанные дисульфиды гомоцистеина. В норме не весь гомоцистеин реметилируется (печень) и транссульфируется (почки). В норме из-за связывания только очень небольшая часть гомоцистеина плазмы фильтруется в первичную мочу и выводится с мочой в конечной кон-

центрации ниже, чем в плазме крови. По сравнению с цистеином гомоцистеин выделяется примерно в 10–30 раз меньшем количестве почками, из-за связывания белками крови и значительной реабсорбции при экскреции. Уровень суточной экскреции гомоцистеина — всего лишь 3,5–9,8 мкмоль, что составляет около 0,05% от образующегося гомоцистеина, тогда как уровень экскреции метионина выше — достигает 22–41 мкмоль.

Схематично метаболические процессы, связанные с продукцией гомоцистеина, можно представить в виде нескольких реакций, катализируемых энзимами, использующими производные витаминов B9, B12, B6 и некоторые микроэлементы в качестве существенных компонентов каталитических центров энзимов (рис. 1). Важнейшими непосредственными источниками гомоцистеина в крови могут выступать пролиферирующие клетки и печень. В печени гомоцистеин образуется и в нее же поступает за счет захвата из кровотока альбумина, образующего дисульфиды с гомоцистеином. Следует отметить, что роль почек в метаболизме гомоцистеина существенно возрастает в патологических условиях при сочетании протеинурии и гипергомоцистеинемии. Из пищевых источников в кровь гомоцистеин не поступает. Почти 100% гомоцистеина в организме образуется за счет потребления метионина. Всего три серосодержащих L-аминокислоты связаны метаболическими превращениями, две из которых — метионин и цистеин, являясь кодируемыми, используются для биосинтеза белков.

В клетках идет потребление метильных групп метионина, который активируется превращением в **S-аденозилметионин** (метионин-аденозилтрансфераза). Непосредственный предшественник гомоцистеина S-аденозилгомоцистеин образуется в реакциях, катализируемых различными гомоцистеин-метилтрансферазами. S-аденозилгомоцистеин теряет аденозин в результате гидролазной реакции. После чего свободный гомоцистеин быстро утилизируется двумя основными путями:

- 1) путем реакций реметилирования (в норме преимущественно в печени) с образованием метионина в реакциях потребления одноуглеродных фрагментов из аминокислоты **серина** или метильных групп различных **бетаинов**;
- 2) путем превращения в цистеин в реакциях транссульфирования, в норме преимущественно в почках.

Для поддержания низких концентраций гомоцистеина в клетках наиболее важными энзимами, занятыми в реметилировании, являются N5, N10-метилентетрагидрофолатредуктаза, метионин синтаза, бетаин-гомоцистеин-метилтрансфераза. Транссульфирование протекает с участием цистатионин-бета-синтазы и цистатионин-гамма-лиазы, которые в качестве небелковой части используют производное витамина B6 — фос-



Рис. 1. Образование, транспорт в крови и пути утилизации эндогенного гомоцистеина

фопиридоксаль. Малобелковое питание ведет к усилению путей реметилирования гомоцистеина и торможению реакций транссульфирования. Путь транссульфирования в норме служит для выведения из метаболизма избытка незаменимой аминокислоты метионина и пополнения аминокислоты цистеина. Возможно дальнейшее окисление цистеина вплоть до конечных продуктов в виде сульфат-аниона аммиака, воды и углекислого газа.

Увеличение скорости транссульфирования в тканях связано с повышением поступления экзогенного метионина и образования в клетке S-аденозилметионина. Другой путь утилизации гомоцистеина, его метилирование при этом тормозится. Кроме того, повышенный уровень цистеина, полученного, например, с питанием, также существенно тормозит утилизацию гомоцистеина через транссульфирование (цистатиониновый путь). Выведение гомоцистеина из метаболизма в норме существенно не зависит от экскреции этой аминокислоты через почки или печень, так как в достаточной мере регулируется указанными реакциями реметилирования и транссульфирования.

Транссульфирование протекает в печени, почках, тонком кишечнике, поджелудочной железе, где обнаружена активность ферментов этой цепи реакций. Ферменты реметилирования экспрессированы в сердце, мозге, скелетных мышцах, плаценте и поджелудочной железе. По-видимому, реметилирование происходит в большей степени в печени, так как именно в этот орган поступа-

ет связанный альбумином гомоцистеин (в условиях гипергомоцистеинемии в связанной с альфа-2-макроглобулином форме в макрофаги). Транссульфирование с промежуточным образованием цистатионина активнее протекает в почках. Ферменты, задействованные в элиминации гомоцистеина, для проявления активности требуют метилтетрагидрофолат (B9), метилкобаламин (B12), фосфопиридоксаль (B6). Недостаток витамина B12 наряду с гипергомоцистеинемией проявляется в повышении содержания метил-малоновой кислоты в плазме или сыворотке крови. Бетаин-зависимое реметилирование локализовано преимущественно в печени и почках и не требует участия указанных витаминов. Протекает этот процесс с участием фермента бетаин-гомоцистеин-метилтрансферазы. Бетаины могут образовываться в организме из холина или поступать с пищей.

Нарушения функции этих ферментов ведет к повышению уровня гомоцистеина в клетках и плазме крови. К снижению ферментативной активности приводят как наследственные дефекты, проявляющиеся заменами аминокислот в белковой части молекулы, так и дефицит небелковых частей вследствие недостаточного поступления в клетку фолатов, кобаламина, пиридоксина.

Генетически обусловленные дефекты ферментов путей утилизации гомоцистеина

Давно известные в клинической практике гомоцистеинурии связаны с дефектами в молекулах циста-

тионин-бета-синтазы и метилентетрагидрофолатредуктазы, при которых в крови и моче обнаруживаются очень высокие концентрации гомоцистеина (простыми лабораторными тестами при помощи качественной реакции). Обнаружено более 60 видов различных мутаций цистатионин-бета-синтазы, из которых наиболее часто встречается замена изолейцина триптофаном в позиции 278 и глицина серином в позиции 307. В результате в плазме крови наряду с гомоцистеином возрастает концентрация метионина и снижается концентрация цистеина. При этом у больных наблюдается развитие деформации скелета, тромбоэмболических состояний, торможение умственного развития и прогрессирование атеросклероза в детском возрасте.

Болезни почек в более зрелом возрасте почти всегда сопровождаются гипергомоцистеинемией и могут быть не связаны с дефектом цистатионин-бета-синтазы, так как ослабление цистатионинового пути в почках может быть связано с нарушением экспрессии энзимов цистатионинового пути и не вполне компенсируется путями реметилирования. Повышение способности организма к реметилированию снижает потребности в цистатиониновом пути утилизации гомоцистеина в почках. Восстановление метаболической функций почки (канальцев и собирательных трубок) сопровождается увеличением мощности цистатионинового пути.

Дефекты N5, N10-метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР, МТНФР) в зрелом возрасте приводят к гипергомоцистеинемиям промежуточного и среднего уровня (больше 15 мкМ) вследствие нарушения реметилирования. При сохранении пути транссульфирования очень часто может не наблюдаться повышения гомоцистеина при любых дефектах МТГФР. В гене этого энзима часто наблюдается точечная мутация замены С-нуклеотида на Т-нуклеотид в положении 677, что приводит к замене в апобелке этого энзима аланина на валин. Гомозиготы по С677Т аллелю или гетерозиготы по С677Т и А1298G аллелям находятся в ситуации высокого риска развития гипергомоцистеинемии. В особенности это проявляется при дефиците фолатов в организме. Показано, что указанные мутации МТГФР могут не сопровождаться гипергомоцистеинемией. В этих случаях не проявляется никакой связи наличия мутации и риска возникновения сосудистого события. Локализация нарушений помимо эндотелиоцитов при гипергомоцистеинемиях отмечается в различных тканях. Но именно процессы, затрагивающие эндотелий, ведут к венозным тромбозам, стимуляции пролиферации и трансформации гладкомышечных клеток медиального слоя.

Нарушения обмена веществ и эндотоксикоз при гипергомоцистеинемии

В условиях гипергомоцистеинемии в организме усиливаются метаболические пути, ведущие к оксидативному стрессу за счет увеличения продуцирования супероксиданиона.

Гци в жидкостях организма обнаруживается в окисленном состоянии, в том числе в виде гомоцистина, смешанных дисульфидов с цистеином, глутатионом и альбумином (рис. 2), а также в виде специфичной для этого соединения формы — в виде тиолактона гомоцистеина. Примерно 1% этого соединения в крови находится в виде свободного тиола. Доля восстановленных форм, т.е. собственно гомоцистеина, при нарушении проницаемости клеточных мембран может возрастать в 10 раз.

Восстановленные формы	Содержание, %
Hcy-SH $\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}\text{-COOH}$	$\approx 1-15$
Окисленные формы других аминокислот Hcy-S-S-Hcy Hcy-S-S-Cys Hcy-S-S-Rx Hcy-S-S-Glu	До 85–99
Смешанные дисульфиды белка Альбумин-S-S-Альбумин $\text{Hcy-S-S-}\alpha\text{-2-макроглобулин}$	

Рис. 2. Молекулярные состояния гомоцистеина в крови

Гомоцистеин образуется при использовании в тканях метильных групп незаменимой аминокислоты метионина в нескольких основных биосинтетических направлениях:

- 1) при синтезе и постсинтетической модификации ДНК, РНК, белков (метилтрансферазы);
- 2) при синтезе фосфатидилхолина, креатина;
- 3) при синтезе нейротрансмиттеров.

Гипергомоцистеинемия развивается вследствие влияния трех главных факторов:

- 1) генетических нарушений в энзимах обмена метионина-гомоцистеина-цистеина;
- 2) пищевых дефицитов витаминов, в том числе в старших возрастных группах из-за нарушения их усвоения в желудочно-кишечном тракте;
- 3) нарушений регуляции экспрессии энзимов утилизации гомоцистеина, в первую очередь цистатионинового пути.

В конце 1960 года д-р Мак-Кали, профессор Гарвардского университета, показал наличие атеросклеротического процесса при развитии детской гомоцистеинурии (генетический дефект синтеза цистатионина). Наследственная гомоцистеинурия сопровождается развитием инфаркта или инсульта в возрасте до 20 лет. В 1999 году опубликовано более 300 статей, отражающих связь между гомоцистеинемией и развитием различных форм атеросклероза, в том числе коронарных и мозговых ар-

терий. В отношении старшей возрастной группы проведены клинические исследования, в результате которых обнаружены корреляции между развитием болезни Альцгеймера, когнитивных расстройств и повышенным уровнем гомоцистеина в крови. К 2007 году выполнено большое количество международных многоцентровых рандомизированных исследований, показывающих эффективность больших доз фолиевой кислоты, витаминов В6 и В12 при гипергомоцистеинемиях. Различные факторы, вызывающие гипергомоцистеинемию, рассматриваются в качестве вероятной причины развития тромбоэмболических осложнений. Изучена природа метаболических влияний, объясняющих токсические эффекты данного аминотиола.

Токсичность гомоцистеина объясняется:

- 1) образованием свободных радикалов при окислении гомоцистеина в дисульфидные формы. В особенности это происходит в присутствии свободных ионов меди и железа. При гипергомоцистеинемиях наблюдается усиление перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот в ядрах липопротеидов и мембранных структурах;
- 2) связыванием больших количеств оксида азота при гипергомоцистеинемии, что влияет на регуляцию просвета сосудов. В присутствии больших концентраций гомоцистеина возникает торможение эндотелий-зависимой релаксации артерий;
- 3) блокированием существенных тиолов энзимов и транспортных белков. При образовании различных смешанных дисульфидов гомоцистеин почти полностью окисляется в средах организма, образуя дисульфидные формы. При этом равновесие реакции резко сдвинуто в сторону образования смешанного дисульфида гомоцистеина;
- 4) взаимодействием гомоцистеинтиолактона с аминокислотными остатками лизина в белках.

Интенсивность токсического воздействия гомоцистеина зависит от образования смешанных дисульфидов с существенными сульфидрильными группировками различных белков, включая транспортные белки, белки — трансмембранные переносчики, и от вклада в развитие оксидативного стресса. Последнее зависит от текущей концентрации восстановленной формы, т. е. собственно гомоцистеина. Гомоцистин (окисленная форма) или смешанные дисульфиды Гци, вступая во взаимодействие с эндогенными тиолами, восстанавливаются в гомоцистеин, который опять быстро переносит электрон кислороду, превращая его в супероксиданион. Супероксиданион, в свою очередь, непосредственно участвует в реакциях перекисного окисления липидов и образования пероксинитрита в случае конъюгации с оксидом азота (NO). В результате происходит усиленное образование продуктов свободнорадикального метаболизма (оксидативный стресс) и уменьшение свободных тиолов цистеина и глутатиона, выполняющих

другие важные антиоксидантные функции в плазме крови и клетках. Считается более важным образование смешанных дисульфидов Гци за счет цистеиновых остатков в белках, участвующих в качестве энзимов в мембранных транспортных процессах. Собственно гомоцистеин может пополняться как за счет метаболизма метионина, так и за счет восстановления дисульфидных форм. В связи с этим анализ общего гомоцистеина, а не только восстановленной его формы, полнее и надежнее отражает уровень эндотоксикоза, обеспечиваемый повышенным образованием Гци в тканях. Однако современную лабораторную диагностику не вполне удовлетворяет прогностическая ценность показателя оГци, т. к. при разработке данного показателя не было ясно, с какой формой (или формами) Гци в большей степени связаны патохимические процессы. По нашему мнению, в развитие тромбоэмболических осложнений и задержку связывания гомоцистеина не с альбумином, а с активированным протеиназами α -2-макроглобулином и другими крупномолекулярными белками крови.

Выявлены и другие механизмы отрицательного действия повышенных концентраций Гци. Блокирование сайтов связывания в переносчике основных аминокислот, включая переносчик аргинина в эндотелиоциты. Известно также, что связывание оксида азота с превращением в нитрозотиол Гци начинает конкурировать с естественным путем переноса оксида азота в виде нитрозотиилов альбумина. Это снижает возможность обратимого образования и сохранения оксида азота в форме нитрозотиила альбумина. Нитрозотиилы гомоцистеина способны эффективнее экскретироваться в первичную мочу, вызывая последующее цитотоксическое действие в проксимальных отделах нефрона. Блокирование тиоловых групп альфа-2-макроглобулина гомоцистеином нарушает ингибирование протеиназ и транспорт цитокинов. Очень важным фактором токсичности гомоцистеина является образование внутреннего тиоэфира гомоцистеина — гомоцистеинтиолактона в результате дегидратации восстановленной формы Гци. Гци-тиолактон способен образовывать гомоцистеинилированные производные аминокислот, например, по лизиновым остаткам в белках. Таким образом, может происходить атерогенная модификация апобелков в липопротеидах.

В крови и внеклеточной среде пути реализации токсических эффектов Гци отличаются от молекулярных механизмов его цитотоксического воздействия. Это связано с тем, что в клетке гомоцистеин находится преимущественно в форме гомоцистеинтиолактона и в меньшей степени — в форме простых и смешанных дисульфидов или в форме свободного аминотиола. В связи с тем, что в клетке в отличие от плазмы существуют метаболические условия для восстановления всех аминотиолов, включая глутатион, цистеин и гомоцистеин, почти все эндогенные аминотиолы в клетке существуют

в восстановленной свободной форме. Гомоцистеин в отличие от других аминокислот очень быстро переходит в свою активированную форму S-аденозилгомоцистеин (САГ, SAH). В клетке наблюдается повышение количества САГ пропорционально попадающему или образующемуся гомоцистеину.

Эндотелиальная дисфункция, сопряженная с нарушением продукции и биодоступности оксида азота, является одним из начальных нарушений метаболизма в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Одной из мишеней гомоцистеина на клеточном уровне являются эндотелиальные клетки. При этом нарушается объем выработки и регуляция образования эндотелиального фактора релаксации сосудистой стенки — оксида азота. Дефицит сигнального пути, связанного с продукцией и транспортом оксида азота, постепенно приводит к развитию артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца и сердечной недостаточности (рис. 3). Снижение эндотелий-зависимой вазодилатации, связанной с этим сигнальным путем, отмечается при прогрессировании атеросклероза.

Среди низкомолекулярных метаболитов цитозоля эндотелиоцита, рассматриваемых в качестве сильного конкурентного ингибитора эндотелиальной NO-синтазы (eNOS или NOS3), приобрел широкую известность асимметричный диметиларгинин (NG,NG'-диметил-L-аргинин — АДМА). В клетках, в частности эндотелиоцитах, наблюдается угнетение синтеза оксида азота из-за блокирования фермента, называемого диметиларгинин-диметиламино-гидролазой (ДДАГ), за счет накопления САГ. САГ является ингибитором фермента ДДАГ, катализирующего гидролиз эндогенного ингибитора eNOS —

АДМА. Кроме того, при высоком содержании САГ в клетке обнаруживается т. н. эффект гипометилирования. Этот эффект связан с угнетением группы ферментов, участвующих в процессах постсинтетической модификации белков и нуклеиновых кислот. Накопление САГ и АДМА при эндотелиальной дисфункции рассматривается в качестве основного метаболического фактора патогенеза артериальной гипертензии.

АДМА образуется в результате предшествующего протеолиза метилированных белков (реакции 1 и 2 на рис. 3). Метилированные белки выполняют важные функции в регуляции, в том числе гормональной активности клеток, включая эндотелиоциты. Метилирование белков — это постсинтетический процесс их модификации, который постоянно происходит за счет активированной формы метионина (S-аденозил-метионина, САМ) и нужен для важнейших реакций гормональной регуляции, репарации генома, в ходе транскрипции и трансляции. Для этого преимущественно в ядре клетки имеются ферменты — протеин-метилтрансферазы (ПМРТ, реакция 1 на рис. 3). Разрушение метилированных регуляторных белков путем протеолиза приводит к высвобождению различных аминокислот и АДМА (реакция 2 на рис. 3). Усиление этого процесса в ходе обновления белков в норме не ведет к повышению концентрации АДМА, т. к. происходит гидролиз АДМА до цитруллина и диметиламина в реакции, контролируемой ДДАГ. Можно попытаться устранить негативное влияние АДМА и снижение сродства субстрата к ферменту введением в организм повышенных доз препарата L-аргинина.

Уровень АДМА в плазме крови обычно невелик и составляет не более 0,6 мкмоль/л. У пациентов со ста-

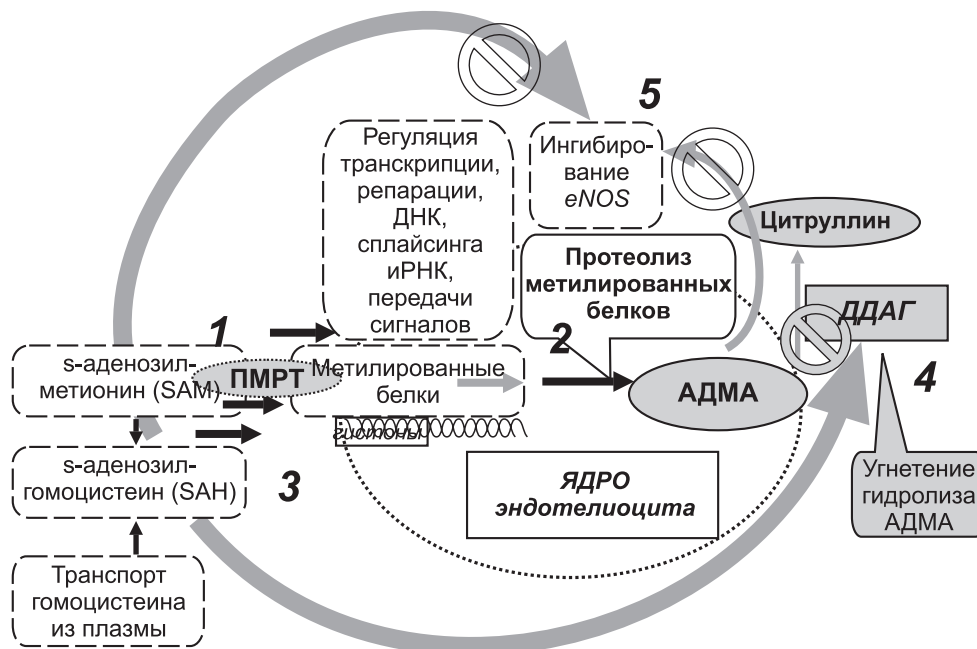


Рис. 3. Ингибирующие эффекты метаболитов гомоцистеина и аргинина (АДМА) в эндотелиоците приводят к торможению активности эндотелиальной NOS и возникновению артериальной гипертензии

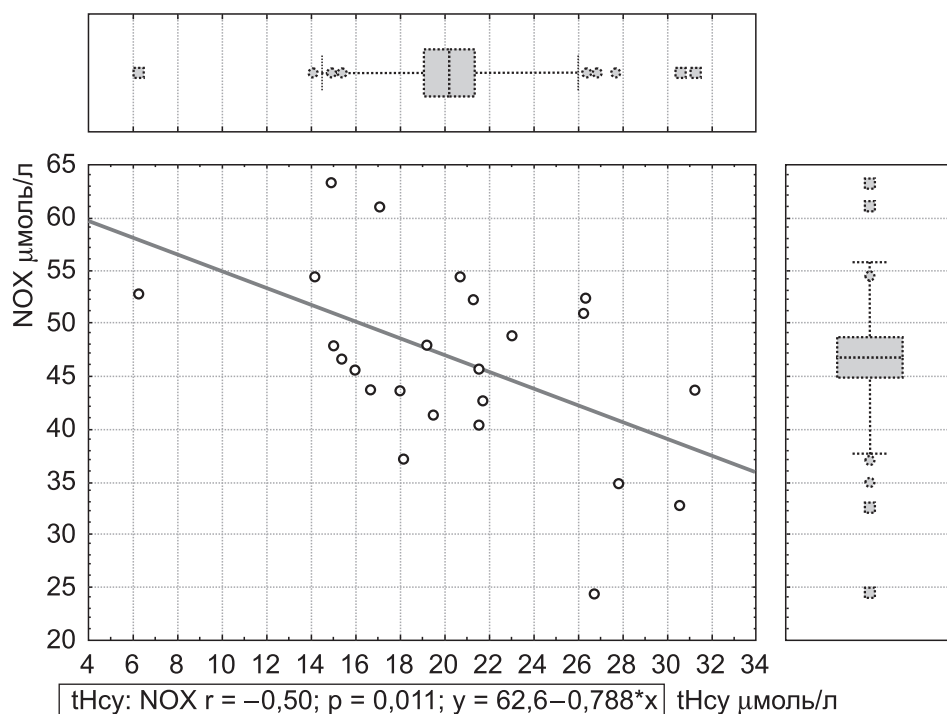


Рис. 4. Снижение уровня NOX при возрастании содержания tHcy в плазме крови пациентов с перенесенным 3 месяца назад инфарктом, в возрасте от 45 до 59 лет, $49,5 \pm 6,4$ (N = 25)

бильной стенокардией этот показатель может превышать 0,61 мкмоль/л, а у больных с тяжелой почечной недостаточностью, которые получают лечение гемодиализом, содержание АДМА в крови достигает 3,85 мкмоль/л и более. В практике диагностических лабораторий определение АДМА пока не используется. Это связано с тем, что его колебания при сердечно-сосудистых заболеваниях в плазме крови невелики, хотя на месте развития эндотелиальной дисфункции возрастание концентрации АДМА может достигать десятки мкМ. Из-за эффекта разведения уровень АДМА растет в общем кровотоке незначительно и не превышает 1 мкмоль/л, что снижает диагностическую надежность этого показателя, за исключением случаев, когда имеется почечная недостаточность с существенным ухудшением метаболической функции канальцев. В канальцах почек, в особенности проксимальных, имеется метаболический путь утилизации N-метилированных аминокислот, таких как N-метилгистидин, N-метиллизин и метилированный по азоту гуанидиновой группировки аргинин, включая АДМА. При нарушении функции канальцев в начальных стадиях наблюдается ослабление мембранного транспорта в так называемой базо-латеральной области эпителия. Транспорт основных аминокислот и их производных может нарушаться и при гипергомоцистеинемии из-за возрастания концентрации окисленного гомоцистеина и его смешанных дисульфидов, которые по структуре напоминают двухосновные аминокислоты. Известно, что дисульфиды серосодержащих аминокислот конкурируют за места связывания в специфическом трансмембранном механизме переноса, носящем назва-

ние Y^{+} -транспорт. Нарушение функции канальцев почек само по себе и в особенности при гипергомоцистеинемии ведет к значительному увеличению АДМА в системном кровотоке. Это ведет к развитию системной эндотелиальной дисфункции и артериальной гипертензии, не связанной с другой почечной формой гипертензии, а именно « клубочковой ». Из-за нарушения метаболизма АДМА в канальцах почки может возникать вариант не клубочкового генеза почечной формы гипертензии, которая, согласно нашим представлениям, патогенетически чаще опережает в развитии « клубочковую » форму.

В том случае, если в эндотелиоците накапливается большое количество гомоцистеина за счет внутренних источников и плазмы крови, наблюдается увеличение количества САГ (реакция 3 на рис. 3), который является ингибитором ДДАГ (реакция 4 на рис. 3). Ингибирование ДДАГ ведет к повышению концентрации АДМА и торможению eNOS (реакция 5 на рис. 3). Снижение активности ДДАГ может наблюдаться при наследственных дефектах данного фермента. Кроме того, при повышении в клетке уровня гомоцистеина, он также может оказывать прямое и косвенное угнетающее действие на NO-синтазную реакцию и доступность продукта в виде оксида азота гуанилатциклазам гладкомышечных клеток. Это происходит путем образования прочных смешанных дисульфидов Гци с различными тиолами, что препятствует образованию других нитрозотиолов, помимо нитрозотиолов гомоцистеина.

Таким образом, токсическое воздействие Гци по различным направлениям, включая окислительный

стресс, блокирование тиоловых групп белков и др., связано именно с общим количеством остатков вещества в тканях и, соответственно, в плазме крови. Токсические эффекты гомоцистеина благодаря развитию вышеупомянутых молекулярных нарушений проявляются в увеличении свертываемости крови и усилении атеросклеротических процессов.

Например, у больных, перенесших инфаркт, прослеживается снижение образования окислов азота (NOX — сумма нитратов, нитритов и нитрозотиолов) при выявлении в образцах плазмы крови больших количеств оГци, по-видимому, вследствие угнетения *in vivo* до забора образца крови активности эндотелиальной NO-синтазы (рис. 4) и уменьшения накопления окислов азота.

Транспорт гомоцистеина в норме и патологических состояниях в основном зависит от переноса связывающего этот аминокислоты белка. Как описано выше, связывание гомоцистеина с белками объясняется в основном образованием смешанных дисульфидов.

В патологических условиях нефропатий при гипергомоцистеинемиях наблюдается повышенное выделение гомоцистеина из организма с мочой. Это наблюдается, в частности, у больных с почечной недостаточностью, сопровождающейся протеинурией, в том числе альбуминурией. Только после восстановления в тиоловую форму, т.е. собственно гомоцистеин, существенные количества этого аминокислоты могут транспортироваться в свободном от белка состоянии.

В отношении некоторых белков крови установлена их способность связывать существенные количества гомоцистеина посредством образования дисульфидной связи. Это альбумин, альфа-2-макроглобулин, фибронектин, трансферритин. Наряду с этим, но в меньшей степени, Гци образует N-гомоцистеинилированные производные лизиновых остатков в белках. В такой связанной форме вместе с белками гомоцистеин поступает для утилизации в клетки почек и печени, другие ткани, в которых и протекают пути утилизации гомоцистеина. У больных с высоким уровнем Гци резко повышено содержание Гци, связанного с крупномолекулярными фракциями белков плазмы крови, и составляет примерно 1,2 мкмоль/г белка, что почти в 10 раз больше, чем в плазме крови здоровых доноров. Количество транспортируемого этими фракциями Гци при промежуточных и средних гипергомоцистеинемиях коррелирует с уровнем активированного МГ плазмы крови. Известно, что при активации, т.е. связывании протеиназ и некоторых других молекул, в активном центре этого поливалентного ингибитора экспрессируются свободные тиоловые группировки. В опытах с очищенными препаратами МГ продемонстрирована способность этого препарата связывать Гци. По-видимому, при патологических состояниях, сопровождающихся активацией протеолитических систем, происходит увеличение доли гомоцистеина, транспортируемого в составе активиро-

ванного МГ. Известно, что активированный МГ быстро извлекается из кровотока макрофагами, экспрессирующими рецептор LRP (Lipoprotein-Related-Protein-receptor). Макрофаги являются носителями этого регулятора и в большом количестве обнаруживаются при развитии атеросклероза в субэндотелиальном пространстве. В связи с этим нами предложена лабораторно-диагностическая технология анализа не общего гомоцистеина, а его фракции, связанной с крупномолекулярными белками и, в частности, с α -2-макроглобулином плазмы крови. Данная методика в настоящее время проходит период испытаний. Эта разработка актуальна в связи с тем, что имеются данные о том, что промежуточные и умеренные гипергомоцистеинемии, встречающиеся часто в старших возрастных группах, не обнаруживают прогностической значимости при развитии неблагоприятных исходов в большинстве случаев. Следует ожидать, что большее прогностическое значение будет выявлено при гипергомоцистеинемии у части пациентов с особенно выраженным связыванием гомоцистеина не альбумином плазмы крови, а крупномолекулярными белками, в первую очередь альфа-2-макроглобулином.

Литература

1. Жлоба А.А. Диагностика, патогенез и интерпретация лабораторного исследования при гипергомоцистеинемии // В кн.: Клиническая и экспериментальная кардиология / Под ред. чл.-корр. РАМН проф. Е.В. Шляхто. — СПб.: Академический медицинский центр, 2005. — С. 198–208.
2. Жлоба А.А., Никитина В.В. Выявление и лечение гипергомоцистеинемии: Пособие для врачей. — М.: Дружба народов, 2004. — 40 с.
3. Иванова С.Ю., Жлоба А.А., Неворотин А.И., Шляхто Е.В. Рецепторный эндоцитоз нативных и модифицированных липопротеидов как один из ключевых факторов атерогенеза // Ученые записки С.-Петербургского государственного университета им. акад. И.П. Павлова. — 1999. — Т. 4. — № 4. — С. 123–133.
4. Черкас Ю.В. Гипергомоцистеинемия как фактор риска развития ишемической болезни сердца: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — СПб., 2001. — С. 5–6.
5. Черкас Ю.В., Денисенко А.Д. Определение содержания гомоцистеина в плазме крови человека методом изократической обращенно-фазовой жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) // Клин. лаб. диагн., 2001. — № 5. — С. 35–37.
6. Dayal S., Lentz S.R. ADMA and hyperhomocysteinemia // Vascular Medicine, 2005. — V. 10. — P. S27–33.
7. Durand P. et al. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease // Lab. Invest., 2001. — V. 81. — P. 645–672.
8. Magera M.J., Lacey J.M., Casetta B., Rinaldo P. Method for the determination of total homocysteine in plasma and urine by stable isotope dilution and electrospray tandem mass spectrometry // Clin. Chem., 1999. — V. 45. — P. 1517–22.
9. Nexø E., Engbaek F., Ueland P.M., Westby C. et al. Evaluation of novel assays in clinical chemistry: quantification of plasma total homocysteine // Clin. Chem., 2000. — V. 46. — P. 1150–1166.
10. Pasas S.A., Lacher N.A., Davies M.I., Lunte S.M. Detection of homocysteine by conventional and microchip capillary electrophoresis/electrochemistry // Electrophoresis, 2002. — 23. — P. 759–766.

11. Rasmussen K., Müller J., Lyngbak M. Within-Person Variation of Plasma Homocysteine and Effects of Posture and Tourniquet Application // Clinical Chemistry, 1999. — V. 45. — N 10. — P. 1850–1855.

12. Rasmussen K., Müller J. Total homocysteine measurement in clinical practice // Ann. Clin. Chem, 2000. — V. 37. — N 5. — P. 627–648.

13. Refsum H., Smith A.D., Ueland P.M. et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion // Clin. Chem., 2004. — Vol. 50, N 1. — P. 3–32.

14. Stabler S.P., Lindenbaum J., Savage D.G., Allen R.H. Elevation of serum cystathionine levels in patients with cobalamin and folate deficiency // Blood, 1993. — V. 81. — P. 3404–3413.

15. Zhloba A.A., Blashko E.L. Liquid chromatographic determination of total homocysteine in blood plasma with photometric detection // J. Chromatogr. & Analyt. Technol. Biomed. Life Sci., 2004. — Vol. 800, N 1–2. — P. 275–280.



10 лет успешной работы на службе современной лаборатории

ЗАО "Медицинский сервис" осуществляет поставки оборудования по различным разделам лабораторной диагностики.

Предлагает широкий выбор реагентов и расходных материалов для клинических, биохимических, иммунологических, микробиологических исследований.

Располагает собственной производственной базой по изготовлению медицинской, лабораторной, офисной и домашней мебели.

Мы располагаем собственными складами, укомплектованными расходными материалами и реагентами, условия хранения которых соответствуют всем санитарным нормам и требованиям.

За последние годы ЗАО "Медицинский сервис" признано лучшей фирмой на территории России и стран СНГ по продажам и внедрению систем вакуумного забора крови фирмы "GREINER bio-one" (Австрия).

Мы гарантируем качество, четкость поставок и корректность в деловых отношениях.

тел./факс: (812) 365-60-20, 322-56-52

e-mail: info@med-serv.ru

www.med-serv.ru

Комплексное оснащение
лабораторий ЛПУ и
научных центров мебелью,
медицинским оборудованием,
расходными материалами
и технологиями



КОНСИЛИУМ У ПОСТЕЛИ БОЛЬНОГО

ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЯ — ЗНАЧИМЫЙ ПРЕДИКТОР РАЗВИТИЯ И НЕБЛАГОПРИЯТНОГО КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ ВЕНОЗНЫХ ТРОМБОЗОВ

В.М. ШМЕЛЕВА, С.И. КАПУСТИН, М.Н. БЛИНОВ, Л.П. ПАПАЯН

Российский Научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии, Санкт-Петербург

Резюме. Обследовано 247 больных с наличием венозного тромбоза (ВТ) в анамнезе и 230 человек контрольной группы. Уровень гомоцистеина (ГЦ) определяли методом жидкостной хроматографии на колонке под высоким давлением. Уровень ГЦ в плазме выше 13,5 мкмоль/л (90-я перцентиль в контроле) расценивали как гипергомоцистеинемию (ГГЦ). Показано, что гипергомоцистеинемия (ГГЦ) является частым и независимым фактором риска развития и рецидивирования венозных тромбозов. По нашим данным, при уровне ГЦ плазмы выше 13,5 мкмоль/л риск развития венозного тромбоза возрастает в 14 раз ($OR = 14,1$; 95% $CI: 5,2-37,4$). О неблагоприятном клиническом прогнозе при ГГЦ свидетельствует высокая частота повторных тромботических эпизодов у больных с повышенным уровнем ГЦ. У больных с ГГЦ выявлены более выраженные прокоагулянтные изменения в сравнении с пациентами без ГГЦ. Сочетание ГГЦ с мутацией в гене протромбина выявлено у 3% больных, а ГГЦ с мутацией FV Leiden — у 8% больных. В контрольной группе таких сочетаний не было. Расчетная величина относительного риска ВТ при сочетании ГГЦ и мутации FV Leiden многократно превышает показатели для изолированного носительства указанных факторов риска и свидетельствует об их синергичном эффекте в индукции ВТ. ГГЦ эффективно устраняется при приеме фолиевой кислоты в лечебных дозах. Определение уровня ГЦ рекомендовано при обследовании больных с тромботическими осложнениями.

Ключевые слова: гомоцистеин, гипергомоцистеинемия, венозный тромбоз, тромбофилия.

CONSILIUM AT PATIENT'S WARD

HYPERHOMOCYSTEINEMIA AS A SIGNIFICANT PREDICTOR OF DEVELOPMENT AND UNFAVOURABLE CLINICAL COURSE OF VENOUS THROMBOSIS

V.M. SHMELEVA, S.I. KAPUSTIN, M.N. BLINOV, L.P. PAPAYAN

Russian scientific research institute of hematology and transfusiology, Saint-Petersburg

Summary. We studied 247 unrelated patients and 230 age and sex matched controls in order to evaluate the significance of HHcy in venous thrombosis (VT) in the population of North Western Russia. 44% of cases were idiopathic. Fasting total homocysteine (tHcy) was measured by HPLC, and hyperhomocysteinemia (HHcy) defined as tHcy levels $>13.5 \mu\text{mol/l}$ (90th percentile of control group). Our study demonstrates HHcy to be a frequent and independent risk factor for thrombotic complications. Odds ratios (OR) and their 95% confidence intervals (CI) were used to estimate the risk for thrombosis. OR attributed to isolated HHcy is 14 in our population. Risk of thrombosis significantly increases due to segregation of thrombophilic disorders. Prothrombin 20210G/A mutation combined with HHcy was detected in 3% of patients and none in controls, giving a 18-fold risk of developing VT. Combination of HHcy and factor V Leiden mutation was found in 8% of patients and none of controls giving $OR=41$. Our results suggest factor V Leiden and HHcy to act synergistically. Importantly HHcy is easily reversible in the majority of cases by vitamin supplementation. We recommend that patients would benefit from tHcy determinations in diagnostic thrombophilia screening strategies.

Key words: homocysteine, hyperhomocysteinemia, venous thrombosis, thrombophilia.

Введение. Тромбозы и их осложнения являются в настоящее время основной причиной смертности и инвалидизации населения в цивилизованных странах. Частота венозных тромбозов составляет 149–192 на 100 000 населения. При этом у 30% больных в течение 10 лет развивается повторный тромбоз, у 25–40% развивается посттромботический синдром. Такое осложнение,

как тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА), в 18 раз увеличивает риск смертности [15]. Для снижения риска тромбообразования, предотвращения рецидивирования и развития осложнений, улучшения выживаемости и качества жизни пациентов необходимым условием является углубление представлений о причинах развития тромбозов. Установление факторов риска тромботиче-

ских заболеваний и механизмов тромбообразования способствует совершенствованию диагностики, а также правильному лечению больных с тромбоэмболическими осложнениями и назначению необходимой при этих состояниях неспецифической и специфической профилактики. Показано, что более чем в половине случаев причиной тромбозов является тромбофилия, т. е. нарушения гемостаза, обуславливающие повышенную склонность к развитию тромбозов кровеносных сосудов различного калибра и локализации [2]. Достаточно хорошо изучены механизмы развития тромбоза при дефиците естественных антикоагулянтов, при мутации G1691A в гене фактора FV (Leiden) и 20210G/A в гене протромбина [3]. В последние годы отмечен значительный рост числа исследований, посвященных гипергомоцистемии (ГГЦ) как одной из причин, обуславливающих развитие тромбофилии. Роль ГГЦ как фактора риска венозных тромбозов менее доказана в сравнении с артериальными тромбозами и подвергается большим сомнениям. Отечественные исследования по проблеме ГГЦ в подавляющем большинстве сосредоточены на проблеме атеросклероза и тромботических осложнений в артериальном русле. Первая работа, посвященная роли ГГЦ в развитии венозных тромбозов, была опубликована в 1991 году, и ее авторы не выявили зависимости между уровнем ГЦ в плазме и риском развития венозных тромбозов [4]. В последующие годы был выполнен целый ряд ретроспективных и проспективных исследований, результаты которых оказались достаточно противоречивыми [6, 9, 11, 13, 24]. Далеко не во всех ретроспективных работах получены статистически значимые результаты [16]. Из трех проспективных исследований два дали отрицательный результат, лишь в одном выявлялась положительная и близкая к статистической значимости взаимосвязь между повышением уровня ГЦ и развитием венозных тромбозов [7]. В большинстве доступных публикаций ГГЦ трактуется как независимый фактор риска. В то же время в целом ряде работ постулируется, что ГГЦ является не самостоятельным, а дополнительным фактором риска развития венозных тромбозов [8, 12, 17]. В обширном исследовании P. Ridker et al., охватившем 22071 человека, была впервые показана роль ГГЦ в увеличении риска тромбообразования у лиц с наличием известных протромботических мутаций [22]. Взаимодействие между ГГЦ и мутацией в гене FV Leiden стало предметом пристального внимания многих исследователей, однако полученные результаты неоднозначны и, более того, противоречат друг другу. Так, в Лейденском исследовании авторы не выявили увеличения риска первичного венозного тромбоза при сочетании ГГЦ и фактора V Leiden [12]. К аналогичному выводу пришли A. D'Angelo et al., M. Keijzer et al. [9, 18]. Напротив, V. De Stefano et al. и ряд других авторов предполагают синергичный эффект ГГЦ и мутации фактора V Leiden [8, 10, 17]. Исследования, проведенные у больных с гомоцистеинурией, показали, что мутация фактора V

Leiden не является необходимым условием для реализации тромбоза при тяжелой ГГЦ, но в то же время она существенно повышает риск манифестации тромбофилии в раннем возрасте [25]. Данные проспективного Physicians Health Study поддерживают постулат о синергизме [5]. Замена гуанина на аденин в положении 20210 на 3'-конце нетранслируемой области гена протромбина предположительно приводит к увеличению стабильности мРНК протромбина и (или) повышению эффективности ее трансляции. По данным разных авторов, риск развития тромбозов у носителей данной мутации повышен в 2–5 раз [3]. В доступной литературе данные о значении сочетанного носительства ГГЦ и мутации G20210A в гене протромбина в развитии венозных тромбозов крайне ограничены. В России исследований, посвященных анализу взаимодействий ГГЦ и мутаций FV Leiden и 20210G/A в гене протромбина, ранее не проводилось. В то же время реальный прогресс в снижении заболеваемости может быть достигнут только при адекватной оценке всей совокупности факторов риска. Успешная профилактика тромбообразования и минимизация опасности тромбоэмболических осложнений при провоцирующих моментах облегчается, когда в распоряжении клинициста имеется индивидуальный профиль риска. Экстраполировать данные, полученные в других популяционных группах, не представляется возможным, поскольку удельный вес ГГЦ в структуре причин тромбообразования в значительной степени зависит от «популяционного фактора». Частота встречаемости ГГЦ и факторов (наследственных и/или приобретенных), способных усилить или ослабить патологический эффект повышения уровня ГЦ, варьирует в различных группах [5].

Материалы и методы исследования. В ходе данной работы было обследовано 230 больных с венозным тромбозом в анамнезе (тромбофлебитом поверхностных вен нижних конечностей, посттромботической болезнью, тромбозом глубоких вен (ТГВ) нижних конечностей и ТЭЛА). Возраст пациентов колебался от 15 до 65 лет, средний возраст по группе составил $44,6 \pm 14,8$ лет. У 80% первый тромботический эпизод имел место в возрасте до 55 лет, в том числе у 64% — в возрасте до 45 лет, у 35% — до 35 лет. В 40% случаев семейный анамнез указывал на наличие тромботического эпизода в возрасте до 55 лет у прямых родственников. Среди обследованных было 45% женщин и 55% мужчин. Средний возраст женщин составил $48,1 \pm 14,1$ лет, мужчин — $41,8 \pm 13,8$ лет. У 56% больных прослеживалась связь тромботического эпизода с провоцирующими факторами: 15% пациентов связывали начало заболевания с травмой и последующей иммобилизацией, 13% — с оперативными вмешательствами, 10% — с интенсивной физической нагрузкой. У женщин провоцирующим фактором тромбообразования достаточно часто выступали прием оральных контрацептивов, а также беременность и роды (4 и 5% случаев соответственно). По 3% приходилось на

такие факторы, как онкологические заболевания и химиотерапия, ожирение, перенесенное инфекционное заболевание, менее 1% — на стресс и переохлаждение. В остальных 44% наблюдений выявить фактор, спровоцировавший развитие тромбоза, не удалось. Во время исследования 57% пациентов получали антикоагулянтную и/или антиагрегантную терапию. Контрольную группу составили 228 человек в возрасте от 16 до 65 лет, не имеющих в анамнезе указаний на тромботические заболевания.

Материалом для исследования служила венозная кровь, взятая из локтевой вены локтевого сгиба. Выделение ДНК и последующие молекулярно-генетические исследования (определение мутации G1691A гена фактора V и G20210A в гене протромбина) проводились методом ПЦР, как описано ранее [1]. Уровень ГЦ определяли методом жидкостной хроматографии на колонке под высоким давлением [14]. Уровень ГЦ в плазме выше 13,5 мкмоль/л (90-я перцентиль в контрольной группе) расценивали как ГЦ. По степени тяжести ГЦ условно делили на легкую — 13,5–25 мкмоль/л; умеренную — 25–50 мкмоль/л и тяжелую — более 50 мкмоль/л.

Коагулологические параметры определялись на автоматическом коагулометре ACL-200 производства “Instrumentation Laboratories” (США). Скрининговое исследование включало определение активированного парциального тромбопластинового времени, тромбинового времени, концентрации фибриногена, протромбиновый тест по Квику. Кроме того, проводилось определение ристоцетин-кофакторной активности и антигена фактора Виллебранда, активности фактора VIII и антипротромбина. Тромбоцитарное звено гемостаза изучалось путем определения внутрисосудистой активации тромбоцитов морфофункциональным методом с использованием фазово-контрастного микроскопа [2].

Статистический анализ проводился при помощи пакетов Stat Pad Prism (версия 2) и Statistica 6.0 в среде Windows. Исследуемые показатели были подвергнуты тесту на нормальность распределения. Показатели с нормальным распределением представлены как среднее значение (М) и стандартное отклонение (SD), достоверность различий между группами оценивалась с помощью теста Стьюдента. Дополнительный риск (OR) и 95% доверительные интервалы (CI) были использованы для установления степени риска развития тромбоза. Дополнительный риск рассматривался как статистически значимый при нижней границе доверительного интервала > 1,0.

Результаты исследования и их обсуждение. Во всех подгруппах больных как частота встречаемости ГЦ, так и средний уровень ГЦ статистически значимо превысили соответствующие показатели в контрольной группе (табл. 1). Среди больных ГЦ обнаруживалась в 54% случаев, т.е. в 6 раз чаще, чем в контрольной группе. У значительной части больных была диагностирована легкая форма ГЦ. В подгруппах больных с тромбоэмболией легочной артерии и тромбозом глубоких вен отмечалась явная тенденция к более высокой частоте встречаемости как тяжелой ГЦ, так и ГЦ в целом.

Полученные данные в целом не противоречат результатам исследований в других популяционных группах. В опубликованных зарубежных работах частота встречаемости ГЦ в контрольных группах колеблется от 0 до 11,5%, у больных с венозными тромбозами — от 5,7 до 30,4% [5, 9, 11]. Хотелось бы подчеркнуть, что значительную долю больных с ГЦ в целом, и особенно с выраженной ГЦ, составили пациенты с клинически тяжелым течением заболевания, что свидетельствует о наличии ассоциации между повышением уровня ГЦ и неблагоприятным прогнозом. Как правило, оценка роли

Таблица 1

Основные характеристики исследуемых групп

Группы Показатель	Контроль N = 230	Пациенты с ТФ N = 32	Пациенты с ТГВ N = 70	Пациенты с ТЭЛА N = 47	Пациенты с ПТБ N = 98
Пол М/Ж, %	40/60	43/57	60/40	52/48	50/50
Возраст, М ± SD	40,2 ± 14,8	44,8 ± 14,5	41,3 ± 13,7	48,5 ± 13,5	47,5 ± 14,4
Уровень ГЦ, мкмоль/л, М ± SD	9,8 ± 2,7	18,4 ± 14,5	16,4 ± 7,5	19,5 ± 12,5	16,3 ± 13,7
ГЦ, %	8,6	55	27	54	29
Легкая ГЦ, %	8,6	43	8	36	23
Умеренная ГЦ, %	—	8	18	12	4
Тяжелая ГЦ, %	—	4	1	6	2

ТФ — тромбоз глубоких вен; ТГВ — тромбоз глубоких вен; ТЭЛА — тромбоэмболия легочной артерии; ПТБ — посттромботическая болезнь.

того или иного фактора в индуцировании патологического процесса или степени его прогрессии выносятся на основании проспективных исследований и выражается в понятии «относительный риск». Поскольку наша работа была ретроспективной, для решения поставленной задачи мы использовали критерий “odds ratio” (OR) — «дополнительный риск», используемый в современной медицинской статистике для анализа результатов ретроспективных исследований. Согласно полученным данным, при уровне ГЦ плазмы выше 13,5 мкмоль/л, риск развития венозного тромбоза возрастает в 14 раз (OR = 14,1; 95% CI: 5,2–37,4). Поскольку существует точка зрения, согласно которой ГЦ не является самостоятельным фактором риска развития тромбоза, а реализует свой патогенный эффект только в сочетании с другими наследственными и/или приобретенными факторами, мы провели соответствующий анализ собственных данных. Из статистической обработки были исключены носители волчаночного антикоагулянта (4 случая) и мутаций G1691A в гене фактора V и G20210A в гене протромбина (64 больных). Величина OR не только не снизилась, но, напротив, несколько повысилась (OR = 15,4; 95% CI: 8,7–26,9). Что же касается провоцирующих факторов (травмы, операции, иммобилизации и т. д.), то анализ полученных данных показал их большую значимость для манифестации тромбофилии, ассоциированной с ГЦ, у больных мужского пола. При наличии провоцирующих факторов ГЦ выявлена у 65% мужчин и 26% женщин. При идиопатических тромбозах ГЦ выявлена в 45% случаев у женщин и 44% случаев у мужчин, что свидетельствует в пользу самостоятельной роли ГЦ в развитии тромбоза. О прогностически неблагоприятном влиянии ГЦ на течение заболевания свидетельствует высокая частота повторных тромботических эпизодов и ТЭЛА у больных с повышенным уровнем ГЦ. Повторные эпизоды тромбозов у больных с повышенным уровнем ГЦ в плазме отмечались в 46% наблюдений, в то время как среди больных без ГЦ — в 18% наблюдений (OR = 3,5; 95% CI: 1,9–11,4). Средний уровень ГЦ в группе больных с ретромбозами был статистически значимо выше, чем у больных с первым эпизодом тромбоза ($20,9 \pm 5,7$ мкмоль/л против $14,2 \pm 4,0$ мкмоль/л, $p < 0,001$). Полученные нами величины дополнительного риска развития и повторного тромбообразования в венозном русле несколько выше опубликованных зарубежных данных [13, 16]. Высокая частота ГЦ у обследованных нами больных, возможно, связана с более строгим ограничением пределов нормальных колебаний (13,5 мкмоль/л против 15 мкмоль/л и даже 18,5 мкмоль/л в некоторых зарубежных работах) [12, 21]. Кроме того, российскую популяцию нельзя отнести к благополучным, если принять во внимание спектр причин, предрасполагающих к повышению уровня ГЦ. Уровень плазменного ГЦ в значительной степени обусловлен активностью ферментов, участвующих в транспортировке и обмене фолиевой кислоты и мети-

олина. Самой распространенной генетической предпосылкой ГЦ является полиморфизм C677T в гене метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР). Данный полиморфизм в популяции Северо-Западного региона России встречается у 10% индивидов в гомозиготной, и у 40% — в гетерозиготной форме. В фенотипической экспрессии наследственных дефектов ведущую роль играют плазменные концентрации фолиевой кислоты, витаминов B6 и B12. В отличие от США и ряда других стран в России не существует программ обогащения продуктов фолиевой кислотой, а структура питания также не способствует нивелированию генетического потенциала, как это предположительно происходит в странах Средиземноморского региона. Доступные публикации позволяют предположить, что практически 40% населения России не потребляют фолат в количестве, позволяющем поддерживать низкие концентрации ГЦ в плазме, до 60% индивидов в популяции курят, до 20% потребляют кофе и алкоголь в количестве, способном влиять на уровень ГЦ. Целый ряд заболеваний, а также многие лекарственные препараты, широко используемые в клинической практике, могут индуцировать ГЦ [5, 7].

Молекулярно-генетическое обследование не может заменить определение уровня ГЦ при диагностике данной формы тромбофилии. Из всех выявленных нами случаев ГЦ СС генотип гена МТГФР выявлен у 35% больных, ТТ генотип — у 18% больных, СТ — у 47% больных. В то же время генотипирование способствует формированию групп высокого риска развития ГЦ, поскольку ТТ генотип гена МТГФР предрасполагает к повышенному уровню ГЦ, особенно при недостаточном содержании в организме фолата, а также в сочетании с такими факторами риска, как курение и высокое потребление кофе. Так, у обследованных нами больных с ТТ генотипом средний уровень ГЦ составил $42,1 \pm 12,5$ мкмоль/л при сочетании с привычно высоким потреблением кофе и курением, $21,0 \pm 8,7$ мкмоль/л — в сочетании с одним из этих факторов против $12,1 \pm 5,2$ мкмоль/л при отсутствии этих факторов.

Сравнительная оценка состояния гемостаза у больных с нормальным и с повышенным уровнями ГЦ в плазме выявила отчетливую тенденцию к большей выраженности прокоагулянтных нарушений при ГЦ. Скрининговые показатели коагулограммы (АПТВ, протромбиновый индекс, тромбиновое время, уровень фибриногена) практически у всех больных были в пределах нормальных колебаний вне зависимости от уровня ГЦ. В то же время активность фактора VIII, активность и содержание фактора Виллебранда, а также показатели внутрисосудистой активации тромбоцитов у больных достоверно превышали соответствующие значения в контроле. При этом у пациентов с ГЦ наблюдались более значимые отклонения и по величине средних значений, и, особенно, по частоте превышения пределов нормальных колебаний отдельных показателей

гемостаза (табл. 2). У больных с повышенным уровнем ГЦ в плазме отмечено угнетение активности фибринолиза и снижение активности антитромбина, что может

быть связано с токсическим воздействием избытка ГЦ на эндотелий, проявляющимся, в частности, в снижении экспрессии гепаран-сульфата.

Таблица 2

Показатели системы гемостаза у пациентов в зависимости от уровня ГЦ

Показатель	Контроль, М ± SD (пределы нормальных колебаний)	Пациенты без ГЦ, М ± SD (частота отклонений в сторону гиперкоагуляции)	Пациенты с ГЦ, М ± SD (частота отклонений в сторону гиперкоагуляции)
Сумма активных форм тромбоцитов, %	19,5 ± 5,4	28,1 ± 6,2*	32,6 ± 9,0* **
	(13,7–25,3)	(80%)	(100%)
Кол-во тромбоцитов в агрегатах, %	6,7 ± 2,1	8,9 ± 4,4*	10,9 ± 4,8*
	(4,9–8,5)	(52%)	(100%) **
Активность фактора VIII, %	119 ± 30,5	152,8 ± 63,4*	167,1 ± 62,2*
	(58–180)	(20%)	(36%)**
Активность фактора Виллебранда, %	99,7 ± 21,9	146,5 ± 57,3*	175,1 ± 75,0*
	(54–153)	(15%)	(34%) **
Содержание фактора Виллебранда, %	98,3 ± 7,3	140 ± 13,9*	170 ± 25,4*
	(55–165)	(18%)	(49%) **
Активность антитромбина, %	100 ± 10,0	115,7 ± 20,7	79,8 ± 24,4* **
	(80–120)	(4%)	(10%) **
Хагеман-зависимый лизис эуглобулиновой фракции, с	367,2 ± 124,8	504,6 ± 150,5*	583,2 ± 226,3*
	(240–600)	(5%)	(9%)

* — достоверное различие с контрольной группой, $p < 0,05$;

** — достоверное отличие от показателей, полученных у пациентов с нормальным уровнем ГЦ, $p < 0,05$.

Общепризнанно, что тромбоз является мультифакторным заболеванием. Когда факторы риска действуют одновременно, их патологические эффекты могут не просто суммироваться, а взаимно усиливать друг друга, особенно при условии вмешательства в одно и то же звено гемостаза. В собранной нами базе данных отсутствуют пациенты с дефицитом естественных антикоагулянтов (антитромбина, протеинов С и S), что не позволило нам оценить влияние ГЦ на манифестацию и/или течение заболевания при этих формах тромбофилии. Для венозных тромбозов значимыми генетическими предикторами являются мутация в гене FV Leiden и мутация 20210G/A в гене протромбина. Частота встречаемости мутации 20210G/A в гене протромбина достоверно различалась у пациентов и в контроле (7 и 2,6% соответственно), что увеличивало риск развития тромбоза в 2,9 раза. Гетерозиготная мутация FV Leiden вы-

явлена у 19% больных и 4,8% в контроле (OR = 4,8; 95% CI: 2,4–9,4; $p < 0,0001$). Сочетание ГЦ с мутацией в гене протромбина выявлено у 3% больных, а ГЦ с мутацией FV Leiden — у 8% больных. В контрольной группе таких сочетаний не было. Расчетная величина дополнительного риска ВТ при сочетании ГЦ и мутации FV Leiden составила 41 ($p < 0,0001$), а при сочетании ГЦ и мутации в гене протромбина — 18 ($p < 0,0001$). Риск, приписываемый гетерозиготным носительством мутации 20210G/A в гене протромбина, становился высокозначимым в комбинации с ГЦ (табл. 3). Сочетание ГЦ с мутацией FV Leiden у пациентов мужского пола отмечалось чаще (12 против 6% у женщин), что увеличивало расчетную величину дополнительного риска у мужчин (OR = 44,3; 95% CI: 16,2–314,2). У женщин риск был ниже, чем в среднем по группе (OR = 35,9; 95% CI: 9,7–209,7).

Таблица 3

Частота встречаемости предикторов тромбообразования

Частота встречаемости фактора риска, n (%)	Больные N = 247	Контроль N = 230	OR (95% CI)
ГГЦ	133 (54%)	20 (8,6%)	14,1 (5,2–37,4)
Мутация 20210GA в гене протромбина	18 (7%)	6 (2,6%)	2,9 (1,1–7,4)
Мутация 20210GA в гене протромбина + ГГЦ	9 (3%)	—	18,2 (1,0–314,8)
Фактор V Leiden	48 (19%)	11 (4,8%)	4,8 (2,4–9,4)
Фактор V Leiden + ГГЦ	20 (8%)	—	41,2 (2,4–685,4)

Высокая частота встречаемости ГГЦ и фактора V Leiden у обследованных нами пациентов закономерна для выборки, в которой почти половину составляют больные с идиопатическими тромбозами. Наши данные согласуются с проспективным наблюдением M. Cattaneo et al., в котором сочетание этих форм тромбофилии в большей степени увеличивало риск развития именно идиопатического тромбоза [8]. Дополнительный риск при сочетании ГГЦ и мутации FV Leiden многократно превышает показатели для изолированного носительства указанных факторов риска и свидетельствует не просто о суммации, но о взаимном их усилении при индукции венозного тромбоза. Система протеина С является одним из важнейших ограничителей процесса тромбообразования. Циркулирующий в плазме белок С после активации тромбомодулин-связанным тромбином взаимодействует с активными факторами V и VIII, инактивируя их. Замена гуанина на аденин в позиции 1691 приводит к замене аргинина в положении 506 на глутамин, что, в свою очередь, ведет к нарушению протеолиза, осуществляемого активированным протеином С, в тяжелой цепи FV_a. Замедленная деградация измененного фактора V ведет к стабилизации протромбинового комплекса и увеличению генерации тромбина, который, в свою очередь, активизирует факторы VIII и V, и скорость коагуляционного каскада возрастает. Кроме того, прокоагулянтный эффект FV Leiden может усугубляться и тем, что мутированный белок обладает очень низкой кофакторной активностью при деградации активированного фактора VIII. Наконец, прокоагулянтное действие мутированного белка фактора V может опосредоваться через стимуляцию активированного тромбином ингибитора фибринолиза (TAFI), что приводит в конечном итоге к повышенной устойчивости фибринового сгустка к фибринолизу [3]. Модификация белка в реакции с тиолактоном ГГЦ модулирует создание протромботического фенотипа, идентичного тому, что формируется при мутации фактора V Leiden. ГГЦ in vitro

тормозит активацию протеина С. После 1 часа экспозиции при достаточно высоких концентрациях ГЦ (600–1250 мкмоль/л) активность протеина С снижается на 12–33%. Снижение активности протеина С сопровождается снижением аффинности тромбомодулина к тромбину [5]. Существуют также данные о том, что ГЦ блокирует активацию протеина С, непосредственно действуя на дисульфидные связи внутри доменов тромбомодулина и протеина С [20]. Снижение продукции тромбомодулина при ГГЦ продемонстрировано в эксперименте. Помимо способности ГЦ ингибировать активацию протеина С, ГГЦ может снижать способность активированного протеина С инактивировать субстрат — активный фактор V [23]. Наши результаты полностью согласуются с теми зарубежными исследованиями, в которых делается вывод о синергичном влиянии рассматриваемых факторов риска на индукцию венозных тромбозов. Так, в работе V. De Stefano et al. комбинация ГГЦ с гетерозиготной мутацией FV Leiden отмечалась у 3,7%, а ГГЦ с мутацией в гене протромбина — у 2,7% больных, что повышало вероятность тромбоза в 50 и 30 раз соответственно [10].

Существенным моментом, отличающим тромбофилию на фоне ГГЦ, является наличие патогенетических и в то же время доступных и безопасных подходов к лечению. Фолиевая кислота и B12 ускоряют утилизацию ГГЦ по пути реметилирования, а активная форма пиридоксина — пиридоксаль-фосфат повышает утилизацию ГГЦ по пути транссульфирования. Для оценки влияния терапии фолиевой кислотой и витаминами B6 и B12 на уровень ГЦ в плазме нами в динамике наблюдалось 175 лиц с исходно различными значениями ГЦ. Все обследуемые в течение первого месяца наблюдения получали лечебные дозировки фолиевой кислоты в сочетании с витаминами B6 и B12: 75% лиц с тяжелой и умеренной ГГЦ получали ежедневно в течение 1–2 месяцев фолиевую кислоту по 2 мг, а также витамины B6 (5 мг) и B12 (50 мкг), 25% лиц с тяжелой и умеренной

ГЦ получали ежедневно по 5 мг фолиевой кислоты. Пациенты с легкой ГЦ и с пограничными значениями ГЦ плазмы получали фолиевую кислоту по 1 мг/сут. Уровень ГЦ на фоне ежедневного приема фолиевой кислоты и витаминов В6 и В12 достоверно снижался у всех пациентов. При этом снижение уровня ГЦ как в абсолютных, так и в относительных значениях было тем существеннее, чем выше был исходный уровень ГЦ. У пациентов с тяжелой ГЦ за первый месяц терапии удавалось снизить уровень ГЦ в среднем по группе на 46%, за 6 месяцев — еще на 52%. Нормальные показатели уровня ГЦ при пролонгации приема лечебных доз фолиевой кислоты и витаминов В6 и В12 до 1 года и более достигались в 96% случаев. При использовании более высоких доз фолиевой кислоты — 5 мг/сут в подгруппе из 40 человек с умеренной и тяжелой ГЦ отмечалась тенденция к более быстрому достижению нормальных значений ГЦ. Принимая во внимание тот факт, что фермент МТГФР является ключевым ферментом фолатного цикла в организме, представлялось интересным рассмотреть эффективность лечения фолиевой кислотой в зависимости от генотипа. Пациенты с ТТ генотипом были более восприимчивы к проведенной витаминотерапии — уровень ГЦ снизился у них в среднем на 36% в сравнении с 25% при СТ генотипе и 22% при СС генотипе. Важно отметить, что отказ от регулярного приема витаминов, либо попытки перехода с лечебных дозировок фолиевой кислоты (1–5 мг/сут) на профилактические (0,2–0,8 мг/сут) у значительного числа больных, особенно при наличии индукторов ГЦ, приводили к нарастанию уровня ГЦ, в ряде случаев практически до исходных показателей. Оценка влияния витаминотерапии на показатели гемостаза была затруднена, так как не представлялось возможным и целесообразным отменять получаемые больными антикоагулянтные и/или антиагрегантные препараты. При сравнительном анализе показателей гемостаза до и после проведенной терапии удалось выявить достоверное нарастание активности АТ III после устранения ГЦ ($p < 0,0001$ в парном тесте).

Клинический пример

Больной К-й Н., 47 лет.

Диагноз: посттромботическая болезнь правой нижней конечности. Хроническая венозная недостаточность правой нижней конечности. Варикозная болезнь левой нижней конечности. Гипертоническая болезнь II стадии. Ожирение II ст.

Считает себя больным с 1990 года, когда впервые перенес тромбоз глубоких вен правой нижней конечности. В 1996 году — ТЭЛА мелких ветвей правого легкого. В 1998–2000 гг. перенес 3 рецидива ТЭЛА. В 2000 году впервые диагностирована тромбофилия, ассоциированная с ГЦ (уровень ГЦ в плазме — 38,6 мкмоль/л). При генотипировании выявлен ТТ677 полиморфизм в гене МТГФР. С указанного времени к стандартной проти-

ворецидивной терапии подключается патогенетическая терапия ГЦ. Уровень ГЦ через 2 недели приема 2 мг фолиевой кислоты в сутки — 32 мкмоль/л, через 6 месяцев — 11 мкмоль/л. В 2003 году при контрольном обследовании на фоне поддерживающей терапии фолиевой кислотой в дозе 1 мг/сут уровень ГЦ — 11,5 мкмоль/л. В 2006 году поступил в клинику РосНИИГТ с клиническим ухудшением. При обследовании выявлена тяжелая ГЦ (90,3 мкмоль/л). При опросе удалось выяснить, что пациент в течение последних двух месяцев получал избыточное количество метионина с пищей (соблюдал так называемую «кремлевскую диету» для снижения веса), фолиевую кислоту не принимал. Назначен препарат «Ангиовит» по 1 таб/сут (фолиевая кислота — 5 мг, 4 мг витамина В6 и 6 мкг витамина В12, производства ЗАО «Алтайвитамины», Россия, рег. № 033699/01). Уровень ГЦ через 6 месяцев — 13,1 мкмоль/л, в 2008 году — 11,5 мкмоль/л. Рецидивов тромбоза с 2000 года нет.

Заключение. ГЦ является частым и независимым фактором риска развития и рецидивирования венозных тромбозов. Для тромбофилии, ассоциированной с ГЦ, характерна активация плазменно-коагуляционного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, сопровождающаяся снижением активности естественных антикоагулянтов. Наличие других наследственных и/или приобретенных детерминант тромбоза, равно как и провоцирующих факторов, дополнительно повышает вероятность тромбообразования у конкретного пациента. Поскольку именно комбинация нескольких факторов риска приводит к развитию тромбоза, то устранение одного или нескольких предикторов тромбообразования может существенно снизить вероятность тромботического эпизода. Появление коммерческих иммуноферментных наборов сделало определение уровня ГЦ широко доступным в практическом здравоохранении. ГЦ эффективно устраняется назначением недорогих, доступных и безопасных витаминных препаратов. Устранение ГЦ, возможно, снизит и вероятность фенотипического проявления протромботического потенциала мутаций фактора Лейден и гена протромбина. В связи с этим мы считаем определение уровня ГЦ целесообразным в комплексном обследовании больных с тромботическими осложнениями.

Литература

1. Блинов М.Н., Капустин С.И., Кобилянская В.А., Папаян Л.П. Молекулярная диагностика тромбофилий. В кн.: Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / Под ред. З.С. Баркаган и А.П. Момота. — М.: Ньюдиамед, 2001. — 296 с.
2. Папаян Л.П., Кобилянская В.А., Папаян К.А. Патогенез и проблемы диагностики тромбофилии. Лабораторные аспекты диагностики нарушений гемостаза / Под ред. Н.Н. Петрищевой, Л. П. Папаяна). — СПб.: Издательство СПбГМУ, 1998. — С. 3–12.
3. Bick R., Kaplan H. Syndromes of thrombosis and hypercoagulability: congenital and acquired thrombophilias // Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis, 1998. — Vol. 4. — P. 25–50.

4. Brattstrom I., Tengborn L., Lagerstedt C. et al. Plasma homocysteine in venous thromboembolism // *Haemostasis*, 1991. — Vol. 21. — P. 51–57.
5. Carmel R., Jacobsen D.W. Homocysteine in Health and Disease. — Cambridge University Press, 2001. — 500 p.
6. Cattaneo M., Martinelli I., Mannucci P.M. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis // *N. Engl. J. Med.*, 1996. — Vol. 334. — P. 759–762.
7. Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia, atherosclerosis and thrombosis // *Thromb. Haemost.*, 1999. — Vol. 81. — P. 65–76.
8. Cattaneo M., Monsani M., Martinelli A. et al. Interrelation of hyperhomocysteinemia, factor V Leiden and risk of future venous thromboembolism // *Circulation*, 1997. — Vol. 95. — P. 1777–1782.
9. D'Angelo A., Mazzola G., Grippa L. et al. Hyperhomocysteinemia and venous thromboembolic disease // *Haematologica*, 1997. — Vol. 82. — P. 211–219.
10. De Stefano V., Zappacosta B., Persichilli S. et al. Prevalence of mild hyperhomocysteinemia and association with thrombophilic genotypes (factor V Leiden and prothrombin G20210A) in Italian patients with venous thromboembolic disease // *Br. J. Haematology*, 1999. — Vol. 106 (2). — P. 564–568.
11. Den Heijer M., Koster T., Blom H.J. et al. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep vein thrombosis // *N. Engl. J. Med.*, 1996. — V. 334. — P. 759–762.
12. Den Heijer M., Rosendaal F.R., Blom H.J., Gerrits W.B.J., Bos G.M.J. Hyperhomocysteinemia and venous thrombosis: a meta-analysis // *Thromb. Haemost.*, 1998. — Vol. 80. — P. 874–877.
13. Eichinger S., Stumpflen A., Hirschl M., Bialonczyk C., Herkner K., Stain M., Schneider B., Pabinger I., Lechner K., Kyrle P.A. Hyperhomocysteinemia is a risk factor of recurrent venous thromboembolism // *Thromb. Haemost.*, 1998. — Vol. 80. — P. 566–569.
14. Fiskerstrand Y., Refsum H., Kvalheim G., Ueland P. Homocysteine and other thiols in plasma and urine: automated determination and sample stability // *Clinical Chemistry*, 1993. — Vol. 39. — P. 263–271.
15. Heit J. Venous thromboembolism: disease burden, outcomes and risk factors // *J. of Thrombosis and Haemostasis*, 2005. — Vol. 3. — P. 1611–1617.
16. Heijer M., Lewington S., Clarke R. Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies // *J. of Thromb. and Haemost.*, 2005. — Vol. 3. — P. 292–299.
17. Keijzer M., Heijer M., Blom H. et al. Interaction between Hyperhomocysteinemia, mutated MTHFR and inherited thrombophilic factors in recurrent venous thrombosis // *Thromb. Haemost.*, 2002. — Vol. 88. — P. 723–728.
18. Keijzer M., Borm G., Blom H., Bos G., Rosendaal F., Heijer M. No interaction between factor V Leiden and Hyperhomocysteinemia or MTHFR 677TT genotype in venous thrombosis // *Thromb. Haemost.*, 2007. — Vol. 97. — P. 32–37.
19. Kluijtmans L.A., Boers G.H., Verbruggen B., Trijbels F.L., Novakova I.R., Blom H.J. Homozygous cystathionine β -synthase deficiency, combined with factor V Leiden or thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in the risk of venous thrombosis // *Blood*, 1998. — Vol. 91 (60). — P. 2015–8.
20. Lentz S.R., Sadler J. Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine // *J. Clin. Invest.*, 1991. — Vol. 88. — P. 1906–1914.
21. Ray J.G. Meta-analysis of hyperhomocysteinemia as a risk factor for venous thromboembolic disease // *Arch. Intern. Med.*, 1998. — Vol. 158. — P. 2101–2106.
22. Ridker P., Hennekens C., Selhub J. et al. Interrelation of hyperhomocysteinemia Factor V Leiden and risk of future venous thromboembolism // *Circulation*, 1997. — Vol. 95. — P. 1777–1782.
23. Rodgers G., Kane W. Activation of endogenous factor V by a homocysteine-induced vascular endothelial cell activator // *J. Clin. Invest.*, 1986. — Vol. 77. — P. 1909–1916.
24. Simioni P., Prandoni P., Burlina A., Tormene D., Sardella G., Ferrari V., Benedetti L., Girolami A. Hyperhomocysteinemia and Deep-Vein thrombosis // *Thromb. Haemost.*, 1996. — Vol. 76. — P. 883–886.
25. Yap S., O'Donnell K., O'Neil C. et al. Factor V Leiden (Arg506Gln), a confounding genetic risk factor but not mandatory for the occurrence of venous thromboembolism in homozygotes and obligate heterozygotes for cystathionine β -synthase deficiency // *Thromb. Haemost.*, 1999. — Vol. 81. — P. 502–505.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА: НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ

С.В. ЛАПИН, А.А. МАСЛЯНСКИЙ

Лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний, Научно-методический центр по молекулярной медицине, ГОУ ВПО «СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Росздрава»

Резюме. Основными серологическими маркерами ревматоидного артрита (РА) являются два основных семейства аутоантител: ревматоидный фактор (РФ) и антицитруллиновые антитела (АЦА). В статье обсуждается диагностическое использование основных разновидностей АЦА при раннем РА. Дано сравнение диагностической ценности антител к циклическому цитруллиновому пептиду и антител к модифицированному цитруллинированному виментину. В качестве резервных маркеров обсуждаются также антиядерные антитела и их разновидности, антитела к RA33. Представлен комплексный алгоритм диагностики РА с помощью серологических маркеров.

Перспективной областью лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний является определение биомаркеров. Нами показано, что выявление матриксной металлопротеиназы-3 в сыворотке крови указывает на протекание локальных воспалительных процессов в хрящевой ткани при РА, что дает возможность оценить риск развития деструкций при этом заболевании.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, иммунологическая диагностика, аутоантитела, ревматоидный фактор, антицитруллиновые антитела, антитела к циклическому цитруллиновому пептиду, антитела к RA33, антиядерный фактор, биомаркеры, матриксная металлопротеиназа-3.

LABORATORY DIAGNOSIS OF RHEUMATOID ARTHRITIS: NEW PERSPECTIVES

S.V. LAPIN, A.L. MASLYANSKY

Laboratory of autoimmune diseases diagnosis, Scientific methodic center for molecular medicine
"Saint-Petersburg Pavlov State Medical University,
Federal Agency for Health Care and Social Development"

Summary. Main serological markers of rheumatoid arthritis belong to two main groups of antibodies — rheumatoid factor and anticitrulline antibodies. The article discusses the diagnostic significance and use of main types of anticitrulline antibodies in early rheumatoid arthritis. Comparison between diagnostic informativity of antibodies to cyclic citrulline peptide and to modified citrullinated vimentine is made. Antinuclear antibodies are known to be the second line (reserve) markers; their subtypes, including RA33 antibodies, are discussed. Complex algorithm of rheumatoid arthritis diagnosis with the use of serological markers is given.

Biological markers are known to be the perspective direction of laboratory diagnosis of autoimmune diseases. Serum level of matrix metalloproteinase-3 (MMP-3) was shown to reflect the local inflammatory process in the cartilage in patients with rheumatoid arthritis, so risk of bony destruction in these patients can be evaluated.

Key words: rheumatoid arthritis, immunological diagnosis, autoantibodies, rheumatoid factor, anticitrulline antibodies, antibodies to cyclic citrulline peptide, antibodies to RA33, antinuclear factor, biomarkers, metalloproteinase-3 (MMP-3).

Ревматоидный артрит (РА) представляет собой наиболее частое воспалительное заболевание суставов, которое в большинстве случаев ведет к необратимой инвалидизации заболевших. Среди европейцев его встречаемость достигает более 1% всей популяции. Это заболевание характеризуется неумолимым прогрессирующим течением, хотя периоды ярких клинических проявлений чередуются с периодами относительного улучшения. Последствиями РА является дегенерация суставного хряща с последующей эрозией кости, приводящая к значительному разрушению сустава и потере его функции. Хотя диагноз РА устанавливается, прежде всего, на основании клинических данных, иммунологические тесты включены в качестве одного из семи пунк-

тов клинических критериев РА Американского колледжа ревматологов 1987 года.

Развитие деструкций и инвалидизация больных зависят от своевременности и адекватности применяемых базисных препаратов, спектр которых варьирует от моноклональных антител к воспалительным цитокинам (ремикейд) до сульфазалазина и солей золота. Все препараты для патогенетической терапии РА обладают рядом тяжелых побочных эффектов, в связи с чем могут быть назначены только при установленном диагнозе.

В то же время ранняя диагностика РА представляет значительную проблему. Еще до развития характерных костных изменений при РА развивается острый синовит, который многие авторы выделяют как своеобразную

клинико-патогенетическую стадию заболевания. Эту стадию болезни с длительностью активного синовита не более 1 года, до развития морфологических проявлений заболевания называют «ранним РА» [6]. Клиническая картина раннего РА также очень полиморфна, так, по нашим данным, у больных ранним РА она характеризовалась наличием олигоартрита крупных суставов (38% пациентов), симметричным артритом мелких суставов стоп (12% больных), симметричным артритом мелких суставов кистей (25% обследованных), утренней скованностью более 30 мин (30% пациентов) [7].

Именно на этапе раннего РА иммунологическая диагностика имеет наибольшую ценность, поскольку указывает на природу воспалительных изменений. При РА серодиагностика используется уже более 60 лет. В качестве специфических серологических маркеров при РА рассматриваются два основных семейства аутоантител — ревматоидный фактор (РФ) и антицитруллиновые антитела (АЦА). Высокая встречаемость при РА антинуклеарных антител и их разновидности, антител к RA33, позволяет использовать их в качестве резервных параметров активности заболевания. И, наконец, новой областью лабораторной диагностики, которая уже нашла свое применение при РА, стало выявление биомаркеров, характеризующих воспалительный процесс при этом заболевании.

Ревматоидный фактор

Ревматоидный фактор (РФ) представляет собой семейство аутоантител, направленных против Fc фрагмента молекулы иммуноглобулина IgG. Чаще всего выявляется РФ класса IgM. Благодаря своей высокой встречаемости в норме и при ряде ревматических заболеваний РФ относят к наиболее часто встречающимся аутоантителам.

В состав этого семейства входят РФ, представленные основными классами иммуноглобулинов — IgG, IgM и IgA. Существующие стандарты сыворотки учитывают только РФ класса IgM, таким образом, в международных единицах (МЕ/мл) может быть получен ответ только по РФ класса IgM. Определение других классов иммуноглобулинов имеет вспомогательное значение и может использоваться при прогнозировании течения РА. Рекомендуемая ВОЗ норма составляет до 25 МЕ/мл, в то время как обнаружение значительных концентраций (> 40 МЕ/мл) характерно для серопозитивного РА с большим риском деструктивного артрита.

При классическом ревматоидном артрите можно обнаружить РФ у 70–80% больных, что позволяет классифицировать РА на серопозитивную и серонегативную формы. Очевидно, что серонегативный ревматоидный артрит протекает мягче и реже приводит к тяжелым формам деструкции суставов. Однако такое деление не абсолютно, так как нередко случаи сероконверсии из серонегативной в серопозитивную форму. При эффективном лечении титры РФ могут снижаться ниже детек-

тируемых. С практической точки зрения, выявление РФ позволяет выделить форму серонегативных спондилоартропатий, к которым относят болезнь Бехтерева и реактивные артриты, при которых РФ отсутствует.

Необходимо отметить, что специфичность выявления РФ при РА невысока и в лабораторной практике составляет 60–70%. Это означает, что каждый 3–4 положительный тест обнаруживается у больного без РА. Так, частота выявления концентраций РФ, превышающих 20 МЕ/мл, у здоровых людей среднего возраста составляет около 3% и увеличивается до 10–15% у пожилых старше 65 лет. Отмечаются диагностические концентрации РФ при системных заболеваниях соединительной ткани, инфекционных и гемато-онкологических заболеваниях. При синдроме Шегрена ревматоидный фактор выявляется у 90–95% больных, что делает его важным лабораторным маркером этого заболевания. РФ отмечается у подавляющего большинства больных с эссенциальной смешанной криоглобулинемией, обычно обусловленной инфекцией, вирусом гепатита С.

На этапе раннего РА РФ обнаруживается приблизительно у 30–40% больных, что значительно снижает его диагностическое значение в начале заболевания. У больных РА возможна сероконверсия как в одну, так и в другую сторону в зависимости от активности и длительности заболевания, а также от проводимого лечения. Сероконверсия из серопозитивной в серонегативную группу встречается редко и обычно сопутствует полной клинической ремиссии заболевания. Однако надо подчеркнуть, что значение повторных определений содержания РФ для контроля за течением заболевания имеет несравненно меньшее значение, чем мониторинг острофазового ответа. Снижение титра РФ в плазме крови при успешной терапии может отчасти объясняться цитостатическим эффектом применяемых препаратов.

Антитела к цитруллинированным антигенам

Антицитруллиновые антитела (АЦА) направлены против антигенных эпитопов, содержащих аминокислоту цитруллин, которые возникают в белках синовиальной оболочки под действием воспалительных ферментов нейтрофилов, прежде всего пептидил-аргининдеамины. Семейство АЦА насчитывает 5 разновидностей, причем в последнее время оно пополняется новыми представителями. Среди АЦА исторически выделяют «антифилагриновые антитела», к которым относят антиперинуклеарный фактор и антикератиновые антитела, — методы основаны на реакции непрямой иммунофлюоресценции (ИРИФ). Основной антигенной мишенью антифилагриновых антител является белок эпителиоцитов филаггрина, который подвергается цитруллинированию в физиологических условиях.

Первым описанным аутоантителом, относящимся к этому семейству, был антиперинуклеарный фактор (АПФ). При РА впервые АПФ был описан голландскими исследователями Nienhuis и Mandema (1964). Эта

разновидность аутоантител получила свое название за счет способности к связыванию с кератогиалиновыми гранулами в цитоплазме клеток эпителия щеки человека, расположенными вокруг ядра — перинуклеарно.

Другим представителем семейства АЦА являются антикератиновые антитела (АКА), описанные B.J. Young в 1979 году. Они также выявляются с помощью непрямой иммунофлюоресценции и реагируют с роговым слоем многослойного плоского ороговевающего эпителия средней трети пищевода крысы. При использовании пищевода крысы в реакции непрямой иммунофлюоресценции выявляется линейный тип окрашивания ороговевающих слоев эпителия.

Непопулярность этих тестов в практических лабораториях обусловлена их низкой чувствительностью, а также использованием реакции непрямой иммунофлюоресценции, доступной в ограниченном числе практических лабораторий. Встречаемость АКА в сыворотке крови больных РА, по данным разных авторов, составляет около 45% при серопозитивной и 30% — при серонегативной форме, при специфичности, близкой к 90% [8].

Другими представителями АЦА, которые к данному моменту имеют исторический интерес, являются антитела к очищенному филаггину и Sa-антигену (виментину) из ткани плаценты. Тесты с использованием животного или человеческого филаггина и виментина не прижились в клинической практике, так как содержание цитруллина в очищенных препаратах белков значительно варьирует.

В образовании АЦА, по всей видимости, лежит единый иммунопатогенез. В качестве аутоантигена АЦА выступают цитруллиновые белки синовиальной оболочки, образование которых особенно характерно для воспалительно-измененной синовиальной оболочки при РА. В качестве основного индуктора АЦА рассматривают альфа- и бета-цепи дезаминированного фибрина, которые в большом количестве накапливаются в воспаленной синовиальной оболочке и ко-локализуются с отложениями цитруллинированных белков.

Недостатки ранних тестов для определения антител к цитруллиновым антигенам несколько ограничили их использование в клинической практике и заставили искать более совершенные методы.

Антитела к циклическому цитруллиновому пептиду (АЦЦП)

Исследования молекулярных мишеней АЦА привели к выявлению линейных иммунодоминантных пептидов филаггина, содержащих цитруллин. За счет замены серина на цистеин был создан модельный цитруллинированный пептид, содержащий цистеиновый мостик, или циклический цитруллинированный пептид (cyclic citrullinated peptide — ССР), более точно отражающий конформационную структуру нативного белка, что увеличило сродство АЦА к этому антигену и позволило использовать этот «неоантиген» для выявления АЦА.

Этот случай стал одним из первых примеров разработки диагностических антигенов для серодиагностики. В действительности, циклический цитруллиновый пептид в организме больного РА отсутствует, однако аутоантитела из сыворотки больного связываются с ним *in vitro*. Вторая генерация тест-систем была создана в 2003 году с использованием случайных пептидных библиотек, которые облегчили отбор цитруллинированного антигена с улучшенными свойствами.

Иммуноферментные тест-системы второго поколения стали золотым стандартом выявления АЦА в клинических лабораториях. Особенностью всех тест-систем для выявления АЦЦП является то, что патент на аминокислотную последовательность принадлежит голландской фирме Euro-Diagnostica, и антиген доступен коммерчески. Это в значительной мере стандартизирует выявление АЦЦП во всем мире. Действительно, результаты международных программ внешнего контроля качества, а также исследования, посвященные сопоставлению тест-систем АЦЦП разных производителей, указывают на высокую сходимость клинико-диагностических параметров. До настоящего времени основным методом определения АЦЦП являлся планшетный ИФА, однако постепенно появляются реактивы для иммунохимических анализаторов.

Метод второй генерации для выявления АЦЦП практически не уступает по чувствительности РФ и позволяет обнаружить антитела у 70–75% пациентов РА. Таким образом, по чувствительности этот метод сопоставим с выявлением РФ, однако он значительно превосходит последний благодаря специфичности, составляющей около 95%. Специфичность АЦЦП крайне высока, так как при других воспалительных артропатиях и ревматических заболеваниях АЦЦП встречается не чаще чем в 2–3% случаев. Среднее содержание у здоровых доноров крови — в 10 раз меньше, чем рекомендуемая производителем граница нормы в 5 U/ml.

Большим преимуществом АЦА является их появление до клинических проявлений заболевания. Популяционные исследования, посвященные времени появления аутоантител АЦЦП в ходе РА, показали, что АЦЦП могут быть обнаружены задолго до развития клинических симптомов заболевания. Этот феномен был впервые отмечен для АКА, и позже подтвержден для АЦЦП. Встречаемость АЦА за 1 год до начала заболевания составляет 40% и достигает 70% перед началом РА. Таким образом, уже на этапе раннего РА исследование АЦЦП позволяет уточнить диагноз артрита.

Важно подчеркнуть, что АЦЦП не только обнаруживаются на ранних стадиях РА, но и отмечаются у больных РА с быстрым рентгенологическим прогрессированием. Результаты метанализа литературных данных показывают, что антитела к ССР позволяют предсказать развитие деструкций приблизительно у 80% пациентов с РА и в сочетании с РФ представляют важный инструмент для раннего распознавания больных РА с неблаго-

приятным прогнозом заболевания уже на этапе установления диагноза [4].

Антитела к модифицированному цитруллинированному виментину

Основным конкурентом АЦЦП в лабораторной диагностике РА является другой представитель семейства АЦА — антитела к модифицированному цитруллинированному виментину (АМЦВ), или *anti-MCV*. Тесты основаны на рекомбинантном белке виментине — одном из промежуточных цитофиламентов клетки. Цитруллинирование виментина *in vitro* приводит к появлению большого количества иммунодоминантных эпитопов, число которых, теоретически, обеспечивает лучшее связывание аутоантител и бoльшую чувствительность тест-системы.

Тест-системы для выявления АМЦВ появились на рынке в 2004 году, и производителем была заявлена чувствительность в 85%, что несколько превосходит чувствительность выявления АЦЦП при сопоставимо высокой специфичности обследования. Однако последующие исследования различных групп ревматических больных с использованием АМЦВ обнаружили, что эти антитела встречаются у 15–25% больных с системными заболеваниями, отмечаются у 5–10% больных псориатическим артритом, могут встречаться у 20% пожилых лиц без признаков РА. Таким образом, реальная специфичность при исследовании смешанных популяций для АМЦВ составляет не более 85–90%. Проблему с низкой специфичностью можно отчасти решить при увеличении границы нормы тест-системы до 25–30 U/ml, при заявленной производителем норме в 20 U/ml. При таком изменении специфичность обследования возрастает до 90–92%, однако чувствительность снижается до 60–70%.

Таким образом, по основным клинико-лабораторным параметрам анти-MCV близки АЦЦП, однако менее специфичны и чаще встречаются при других формах артрита.

Антинуклеарные антитела и антитела к RA-33 антигену

При РА диагностические титры отмечаются у 20–45% больных, причем встречаемость аутоантител несколько нарастает по мере увеличения длительности заболевания. При использовании стандартного теста для обнаружения антинуклеарного фактора (АНФ) на перевиваемой клеточной линии HEp-2 при РА выявляются умеренные титры (1/160–1/640) с мелкогранулярным или гомогенным типами свечения ядра. Клинического значения выявление антинуклеарных антител при РА не несет, титры не коррелируют с активностью и экстраартикулярными проявлениями заболевания [5].

Антитела к антигену Ro/SS-A 52 кДа преобладают при выявлении АНФ на фоне РА. Другой разновидностью антинуклеарных антител являются антитела к RA-33, который представлен белками гетерогенных

ядерных рибонуклеопротеинов (hnRNP). Данные белки входят в состав сплайсосом наряду с антигенами других антинуклеарных антител, в частности Sm-антигена и рибонуклеопротеина (RNP).

Антитела к RA-33 встречаются при РА в 30–50% случаев, кроме того, они отмечаются при СКВ и СЗСТ с частотой около 50%. При других ревматических заболеваниях антитела к RA-33 практически не выявляются. Они присутствуют в сыворотке крови приблизительно у 40% больных с серонегативным РА вне зависимости от других серологических маркеров. Существует ряд литературных данных, что у больных с RA-33 заболевание течет менее агрессивно и характеризуется лучшим прогнозом, что позволяет использовать эти антитела в прогнозировании исхода РА.

Практическая серодиагностика РА

Дешевизна и доступность определения РФ по-прежнему делают его первым серологическим тестом в обследовании пациентов с заболеваниями суставов. Выявление РФ в клинических лабораториях основано на использовании методов латекс-агглютинации и турбидиметрии. Хотя турбидиметрия представляет более чувствительный метод, однако ее сравнительно высокая чувствительность снижает специфичность обследования. Считаем целесообразным использовать в качестве скрининга латексный метод определения РФ, что значительно удешевляет обследование больных. При этом чувствительность латексного теста должна составлять не более 20–25 МЕ/мл. Таким параметром обладают, например, хорошо зарекомендовавшие себя на практике латексные РФ тесты немецкой фирмы HUMAN. Положительные результаты латексных тестов необходимо подтверждать количественными методами определения РФ — турбидиметрическими или ИФА.

Отсутствие РФ при первом обследовании не исключает диагноза серонегативного РА. Однократное определение РФ на ранней стадии РА, принесшее отрицательный результат, недостаточно для того, чтобы исключить ранний РА. Если диагноз РА подозревается или даже клинически подтвержден при отрицательном результате теста по определению РФ, требуется повторное определение его титра через 12 месяцев для определения серопозитивной формы этого заболевания. Этот срок приблизительно соответствует времени обновления пула плазматических клеток, способных синтезировать аутоантитела. Если же будет получен положительный результат, то нет реальных предпосылок повторять определение РФ с течением времени.

В диагностике раннего РА необходимо всегда дополнять выявление РФ определением АЦА. Для оценки вклада различных аутоантител в диагностику раннего РА нами было проведено исследование по выявлению аутоантител в группах серопозитивного и серонегативного РА, а также в группе контроля. Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1

Ауто-антитело	Фирма-производитель	Метод	РФ+ РА ранний	РФ– РА ранний	Ревматические заболевания*	Здоровые доноры (n = 10)	Чувствительность	Специфичность	Фактор риска**
АКА	EUROIMMUN	нРИФ	11 (68%)	4 (25%)	3/58 (5%)	0 (0%)	46%	95%	9
АЦЦП	EUROIMMUN	ИФА	15 (94%)	6 (37%)	4/82 (5%)	0 (0%)	65%	95%	13
АМЦВ	Orgentec	ИФА	15 (94%)	10 (62%)	7/58 (12%)	1 (10%)	78%	88%	6,5
РА33	HUMAN / IMTEC	ИФА	11 (68%)	9 (56%)	10/54 (18%)***	0 (0%)	62%	82%	3,4 (6,8)
АНФ(Нер2)	EUROIMMUN	нРИФ	8 (50%)	5 (31%)	24/82 (29%)	1 (10%)	40%	71%	1,3

Примечание (сокращения — смотри текст):

* — группа сравнения состояла из 4 больных анкилозирующим спондилитом, 12 — псориатическим артритом; 8 — деструктивным остеоартрозом, 8 — реактивным артритом, 8 — подагрой, 8 — красной волчанкой;

** — фактор риска = чувствительность/1 — специфичность, отражает вероятность болезни при выявлении аутоантител;

*** — из 8 больных СКВ РА33 обнаружен у 5 (62%).

При сравнении клинико-диагностического значения аутоантител особое внимание имеет такой интегральный параметр, как *фактор риска*. Он определяет вероятность заболевания при положительном результате обследования и, в значительной мере, зависит от специфичности определяемых аутоантител. Благодаря высокой специфичности наилучшими параметрами для ранней диагностики обладают АЦЦП, так как их выявление повышает вероятность заболевания в 13 раз (см. табл. 1). В то же время для скрининга РА также могут быть рекомендованы АМЦВ, обладающие высокой чувствительностью, однако этот тест необходимо подтверждать выявлением АЦЦП.

На отечественном рынке лабораторной продукции представлены тест-системы для выявления АЦЦП ряда производителей, однако в отношении цены и удобства может быть рекомендован ИФА-тест фирмы EUROIMMUN. Он отличается пятиточечной калибровкой, использованием в качестве субстрата тетраметилбензида, что позволяет использовать стандартные фильтры фотометра, и характеризуется хорошей воспроизводимостью.

Хотя данные о применении РА33 в прогнозировании мягкого течения РА требуют дальнейшего подтверждения, по нашему мнению, антитела к РА33 могут быть использованы для диагностики серонегативного РА. Полученные нами данные указывают на то, что совместное использование антител РА33 и АМЦВ при серонегативном РА позволяют добиться чувствительности 81%.

Для оценки прогноза мы используем выявление АКА. Ряд исследований, проведенных в нашей лаборатории, указывает на то, что АКА предсказывают развитие деструктивного процесса в суставах, и пациенты с высокими титрами АКА требуют более активной иммуносупрессивной терапии [1]. Среди других методов оценки прогноза РА можно упомянуть выявление РФ

класса IgA методом иммуноферментного анализа. Надо отметить, что большое время полужизни сывороточного иммуноглобулина, а также постоянство иммунных ответов не позволяют использовать серологические маркеры для мониторинга течения заболевания.

Биомаркеры и перспективы лабораторной диагностики заболеваний суставов

Несмотря на все возможности современной серологической диагностики РА, которая может обеспечить 90% раннего диагноза при 95% специфичности, мониторинг активности заболевания остается одной из нерешенных проблем. Для оценки активности РА обычно используется определение показателей острофазового ответа, таких как С-реактивный белок, СОЭ, а также альфа- и гамма-глобулины. Эти лабораторные параметры отражают системное воспаление, но не оценивают местное воспаление, за счет которого возникают деструкции у части больных РА с низким уровнем системного воспаления.

Одним из подходов к решению вопроса о выраженности локального воспаления является использование биомаркеров. Биомаркером называют вещество, обычно белковой природы, синтез которого индуцируется при воздействии на ткань. В отличие от других лабораторных показателей биомаркеры характеризуются большим диапазоном концентраций, что делает удобным их применение в диагностике воспалительных, ишемических, онкологических и других патологических процессов.

В качестве такого маркера при РА может выступать матриксная металлопротеиназа-3 (ММР-3). Воспалительная реакция синовиальной ткани при РА характеризуется выраженной перестройкой соединительнотканного матрикса хряща и кости под действием металлопротеиназ, которые синтезируются в воспалительном синовии под действием медиаторов воспалительных клеток, прежде всего нейтрофилов. При РА

значительные количества ММР-3 можно обнаружить в периферической крови, что может представлять собой неинвазивный метод оценки процессов деструкции суставов.

Для исследования нами были отобраны больные РА с хорошим эффектом и с плохим эффектом на одной дозе метотрексата (>15 мг/неделю). Группу сравнения составили другие воспалительные заболевания суставов, включая анкилозирующий спондилит, псориатический артрит, деструктивный остеоартроз. Также было обследовано 16 клинически здоровых доноров крови.

Мы обнаружили, что концентрация ММР-3 более 30 нг/мл была обнаружена у 40% больных РА (13/32), только у 6% (3/45) группы сравнения, и не была отмечена у здоровых доноров. У больных с повышенным уровнем ММР-3 число припухших суставов было 17 ± 7 против 10 ± 4 при ММР-3 < 30 нг/мл ($p < 0,01$), также достоверно выше СОЭ и СРБ. Обнаруженная взаимосвязь между сывороточной концентрацией ММР3 и воспалительной реакцией указывает на то, что ММР3 можно рассматривать в качестве биомаркера разрушения суставов при РА.

Полученные нами данные позволяют рекомендовать внедрение в клиническую практику сочетания серологических и иммунологических биомаркеров тканевой активности для улучшения ранней диагностики и мониторинг терапии у больных РА и другими аутоиммунными заболеваниями.

Литература

1. Маслянский А.Л., Лапин С.В., Иливанова Е.П., Тотолян А.А., Мазуров В.И. Антикератиновые антитела являются маркером агрессивного течения ревматоидного артрита // Медицинская иммунология, 2003. — Т. 5. — № 5–6. — С. 599–608.
2. Лапин С.В., Маслянский А.Л., Иливанова Е.П., Мазуров В.И., Тотолян А.А. Клиническое значение антител к циклическому цитруллинированному пептиду (ССР) при раннем ревматоидном артрите // Медицинская иммунология, 2004. — Т. 6. — № 1–2. — С. 57–66.
3. Лапин С.В., Тотолян А.А. Значение антифилаггриновых антител в серологической диагностике ревматоидного артрита // Клини. лаб. диаг., 2004. — № 11. — С. 3–11.
4. Лапин С.В., Маслянский А.Л., Мазуров В.И., Тотолян А.А. Сравнительные характеристики специфических аутоантител при ревматоидном артрите // Тер. архив, 2005. — Т. 77. — № 12. — С. 53–59.
5. Созина А.В., Лапин С.В., Тотолян А.А. Подходы к иммунологической диагностике диффузных болезней соединительной ткани // Медицинская иммунология, 2006. — Т. 8. — № 2–3. — С. 233.
6. Беляева И.Б., Лапин С.В., Созина А.В., Мазуров В.И., Тотолян А.А. Антитела к цитруллин-содержащим антигенам в диагностике и прогнозировании течения раннего ревматоидного артрита // Медицинская иммунология, 2007. — Т. 9. — № 1. — С. 77–84.
7. Соколова В.В., Лапин С.В., Москалев А.В., Мазуров В.И. Клинико-иммунологические взаимосвязи при раннем ревматоидном артрите // Медицинская иммунология, 2007. — Т. 9. — № 6. — С. 601–610.
8. Лапин С.В., Тотолян А.А. Иммунологическая лабораторная диагностика ревматологических заболеваний // Человек, 2006. — СПб. — 128 с.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ СА125 КАК МАРКЕРА РАКА ЯИЧНИКОВ

Е.О. КОМЛЕВА, А.С. ЛИСЯНСКАЯ, Г.М. МАНИХАС

Городской клинический онкологический диспансер, Санкт-Петербург

Резюме. Рак яичников — одно из наиболее распространенных онкологических заболеваний женского населения Санкт-Петербурга. Количественное определение уровня СА125 в сыворотке крови является важным элементом скрининга указанной неоплазмы. В статье обсуждается диагностическая значимость соответствующего теста как в аспекте раннего выявления рака яичников, так и с позиций динамической оценки состояния пациентов.

Ключевые слова: рак яичников, диагностика, скрининг, онкомаркёр, опухоль-ассоциированные антигены (СА125, СА19-9, СА72-4).

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF CA125 AS A MARKER OF THE OVARY CANCER

Е.О. KOMLEVA, А.С. LISYANSKAYA, G.M. MANIKHAS

State Clinical Oncology Dispensary, Saint-Petersburg

Summary. Ovary cancer is one of the most common malignant neoplasm in female population of Saint-Petersburg. Quantitative determination of CA125 level in blood serum is the important element of screening of above-mentioned neoplasm. Diagnostic significance of the test both for early diagnosis and treatment control is discussed.

Key words: ovary cancer, diagnosis, screening, oncomarkers, tumor-associated antigens (CA125, CA19-9, CA72-4).

Рак яичников (РЯ) стабильно занимает пятое место среди причин онкологической смертности российских женщин [8], являясь одной из наиболее распространенных опухолей половых органов. Пик заболеваемости регистрируется после 65 лет, а до 10% случаев РЯ

наследуется (семейный РЯ). Важно подчеркнуть, что в Петербурге период 1990–2007 гг. характеризует существенное — более чем в 1,6 раза — увеличение заболеваемости РЯ [4] (табл. 1).

Таблица 1

Динамика численности больных раком яичника
в Санкт-Петербурге (на 100 000 населения)

Годы наблюдения	1990	1995	2000	2005	2006	2007
Численность больных	50,9	61,1	70,4	79,7	80,1	83,2

Согласно данным Городского клинического онкологического диспансера (ГКОД) Санкт-Петербурга, РЯ принадлежит третье место среди злокачественных опухолей (табл. 2). Одновременно эта неоплазия лидирует по уровню распространенности в структуре общей онкологической патологии.

Высокая встречаемость и смертность сочетается при РЯ с поздней, как правило, выявляемостью опухоли, а также — с отсутствием до конца идентифицированных факторов риска ее развития. Это требует внедрения скрининговых тестов.

В последнее время перспективы ранней диагностики*, а также мониторинга лечения РЯ лабораторная

медицина оправданно связывает с поиском специфических для данного новообразования биологических соединений. Особое внимание здесь привлекают к себе онкомаркёры (ОМ), в частности опухоль-ассоциированные антигены (СА125, СА19-9, СА72-4 и другие).

Открытый в 1981 г. R. Bast СА125 представляет собой онкофетальный белок, рассматриваемый как высокомолекулярный гликопротеин. Период его биологической полужизни составляет 4–5 суток.

Установлено, что СА125 имеет две формы — свободную и мембранносвязанную. Последняя из них локализована на поверхности эпителия некоторых органов — бронхов, молочных и потовых желез, матки (шейка), маточных труб, яичников, а также — ткани эндометрия.

Свободную форму СА125 содержит ряд биологических жидкостей — бронхо-альвеолярная, внутрибрюшинная, плевральная, слюнная. Кроме того, ее обнаружили в грудном молоке и влагалищном секрете.

* Общеизвестно, что под ранней диагностикой в клинической онкологии следует понимать обнаружение опухоли на стадии T1NOMO. Благодаря этому, при условии адекватно проведенной терапии, удастся обеспечить стойкое выздоровление явного большинства пациентов [7].

Таблица 2

Распределение больных злокачественными новообразованиями по отдельным локализациям
(данные Городского клинического онкологического диспансера СПб)

Локализация опухоли	Годы наблюдения					
	2005		2006		2007	
	Абсолютное количество	%	Абсолютное количество	%	Абсолютное количество	%
Молочная железа	3337	17,3	3853	18,2	3987	17,5
Бронхи, легкое	2165	11,2	2638	12,5	2763	12,1
Яичник	2796	14,5	2589	12,3	2543	11,2
Ободочная кишка	1005	5,2	1159	5,5	1588	7,0
Тело матки	1543	8,0	1511	7,2	1386	6,1
Шейка матки	984	5,1	1036	4,9	967	4,2
Желудок	661	3,4	856	4,1	1036	4,5
Общее количество пролеченных больных	19316		21 127		22 776	

Таблица 3

Диагностическая шкала уровней СА125 в сыворотке крови

Квалификационный вариант уровня		
Референсный	Пограничный (серая зона)	Патологический
Аналитический вариант уровня (Ед/мл)		
≤35	> 35–65	> 65

Клиническая интерпретация результатов исследования уровня СА125 осуществляется с использованием специальной шкалы (табл. 3).

Уровень СА125 ≤ 35 Ед/мл принято считать референсным, или дискриминационным (ДУ), поскольку он регистрируется в сыворотке крови 95% здоровых женщин*.

Максимальное значение диапазона концентраций, определяемых у последних и при доброкачественных новообразованиях яичников, равно 65 Ед/мл. Таким образом, интервал > 35–65 Ед/мл должен рассматриваться в качестве серой зоны (cut-off) ОМ, которая непосредственно граничит с патологическим (> 65 Ед/мл) уровнем.

Выраженная гетерогенность концентрирования СА125 в тканях организма объясняет природу повышения его уровня не только при РЯ, но и на фоне достаточно широкого круга других заболеваний, а также патологических состояний:

- воспалительная патология органов брюшной полости (асцит различной этиологии, перитонит, острый панкреатит, почечная недостаточность,

рак тела и шейки матки, гепатит и цирроз печени, эндометриоз II и III стадии);

- злокачественные негинекологические опухоли железистого генеза (легких и плевры, молочной железы, мочеточников, желудочно-кишечного тракта).

У женщин репродуктивного возраста основным поставщиком СА125 являются клетки эндометрия, что объясняет наличие зависимых от фазы менструального цикла колебаний ОМ. Нормальный диапазон последних может достигать 100–300 Ед/мл. С этих же позиций логично интерпретировать прирост уровня СА125 в сыворотке крови беременных (для I триместра в среднем до 85 Ед/мл).

Что касается патологических состояний, подъем (элевация) ОМ может быть связан с проявлением СА125 некоторых свойств положительного белка острой фазы. Применительно к коллагенозам справедливость данного предположения, разумеется, наиболее очевидна.

Клинико-диагностическая лаборатория ГКОД за период 2005–2007 гг. выполнила определение СА125 у 2934 женщин (5833 анализа). Полученные данные представлены в таблице 4.

Для выявления зависимости уровня СА125 от клинического течения РЯ исследование сыворотки крови проводилось в следующем режиме:

* Для радикально оперированных по поводу РЯ больных ДУ снижается до 5 Ед/мл (эффект удаления матки).

Таблица 4

Уровень СА125 в сыворотке крови больных различными новообразованиями яичников
(данные Городского клинического онкологического диспансера СПб)

Уровень СА125, Ед/мл	Годы наблюдения					
	2005		2006		2007	
	Абсолютное количество	%	Абсолютное количество	%	Абсолютное количество	%
0–35	507	50,5	541	57,5	533	53,9
>35–65	124	12,4	70	7,4	89	9,0
>65–100	60	6,0	45	4,8	81	8,2
>100–250	112	11,1	99	10,5	105	10,6
>250–500	62	6,2	63	6,7	60	6,1
>500–750	11	1,1	11	1,2	20	2,0
>750–1000	19	1,9	22	2,3	21	2,1
>1000–5000	86	8,5	78	8,3	64	6,5
>5000	23	2,3	12	1,3	16	1,6
Всего	1004		941		989	

Таблица 5

Уровень СА125, СА19-9 в сыворотке крови больных различными новообразованиями яичников [5]

Клинический диагноз	Уровень онкомаркёров, Ед/мл	
	СА125 Р < 0,01	СА 19-9 Р < 0,05
Здоровые женщины (контроль)	8,9 ± 2,2	5,4 ± 1,2
Злокачественная опухоль I–II стадии III–IV стадии	88,2 ± 22,1 409,2 ± 30,1	85,9 ± 31,4 199,3 ± 55,5
Пограничная опухоль	68,7 ± 19,7	57,5 ± 14,5
Доброкачественная опухоль	20,3 ± 2,8*	16,7 ± 3,8

Примечание: * — данные статистически недостоверны.

- до начала курса химиотерапии и/или хирургического лечения;
- после завершения указанных лечебных мероприятий;
- каждые 3 мес. в течение 2-х лет после химиотерапии и/или оперативного вмешательства;
- каждые 6 мес. в течение следующего года.

Для больных РЯ факт монотонного роста уровня ОМ является доказательством прогрессирования заболевания (табл. 5).

Уровень изученных ОМ достоверно повышается уже на ранней стадии РЯ (2–6-кратное увеличение по сравнению с контролем). В дальнейшем динамика СА125 определяется тяжестью заболевания. Ее характеризует прирост ОМ от 82,6 (I–II стадии РЯ) до 96,1% (III–IV стадии).

При серозном РЯ, для которого СА125 является наиболее информативным по сравнению с другими гисто-

логическими типами опухолей маркёром, его уровень повышен примерно у 50% или практически у 100% больных (I–II или III–IV стадии РЯ соответственно). Вовлечение в патологический процесс мезотелия брюшины сопряжено с возможностью диагностировать при асцитных формах РЯ уровни СА125, составляющие до 20 000 Ед/мл [2].

Известно, что программа дополнительной диспансеризации работающего населения Российской Федерации включает определение уровня СА125 крови женщин старше 40 лет. Его диагностическая чувствительность колеблется от 42 до 99% в зависимости от стадии.

Ограничения использования СА125 при ранней диагностике РЯ — его недостаточная чувствительность (50%) для первой стадии болезни и низкая специфичность у молодых женщин.

Результаты крупномасштабных рандомизированных исследований позволяют предположить целесообраз-

ность скрининга, основанного на оценке СА125, в целях раннего выявления РЯ прежде всего среди женщин, находящихся в состоянии менопаузы и с отягощенным семейным анамнезом.

РЯ представляет собой патологию с высокой социальной значимостью, тем более важно, что использование рассматриваемого теста закономерно способствует:

- выявлению групп высокого риска в отношении РЯ;
- проведению первичной дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных неоплазий органов малого таза;
- своевременному диагностированию РЯ (согласно данным В.И. Чиссова и С.Л. Дарьяловой [6], уровень СА125 начинает увеличиваться за 1,5–2,5 года до клинического проявления РЯ);
- прогнозированию течения заболевания с момента формулирования окончательного диагноза и длительности периода выживаемости пациентов;

- оценке адекватности проводимой терапии (эффективное лечение РЯ положительно коррелирует с достоверным снижением уровня СА125).

В порядке детализации сформулированного выше положения адресуемся к одной из рекомендаций Международного противоракового союза по гинекологическому раку. В ней обозначен критериальный показатель адекватности ответа организма пациента на химиотерапию РЯ.

Уровень СА125 по сравнению с исходным (до начала лечения) должен снижаться в 2 и более раз. Оптимально, чтобы подобный эффект продолжал регистрироваться на протяжении 28 дней.

Рационально построенная программа терапии РЯ неизменно предусматривает мониторинг состояния прошедших лечение больных. Одним из элементов подобного мониторинга является контроль уровня ОМ.

Диагностирование его роста принято трактовать как настораживающий фактор в плане вероятности рецидивирования опухоли (табл. 6).

Таблица 6

Уровень СА125, СА19-9 в сыворотке крови при различном течении пограничных опухолей яичников [5]

Опухолевый маркер, Ед/мл	Гистотип опухоли			
	Серозный		Муцинозный	
	ремиссия	рецидив	ремиссия	рецидив
СА125	15,9 ± 2,6	310 ± 25,9	8,4 ± 1,6	45,6 ± 12,7
СА19-9	11,9 ± 2,3	110,5 ± 27,8	5,5 ± 1,5	63,5 ± 22,6

Клинические наблюдения свидетельствуют: возобновление элевации уровня С125 и реальное подтверждение наличия рецидива РЯ дистанцирует промежутки времени, равный в среднем $3,5 \pm 0,5$ мес.

Принципиально значимым является используемый метод количественного определения ОМ. Требование теории ошибок, предъявляемое к его базовым параметрам, — сочетание высокой чувствительности, специфичности при одновременно хорошей воспроизводимости получаемых результатов, сохраняет свой универсализм. Что касается коэффициента вариации (CV), то в связи с необходимостью четко контролировать динамику уровня аналита, максимальная величина CV должна составлять 5%.

Объективная оценка полученных данных предполагает также, что пробы на СА125 исследуют в одной и той же КДЛ, с применением идентичных диагностических тест-систем, метрологически поверенного оборудования.

Специфика развития заболевания при РЯ повышает роль правильной организации процесса архивирования результатов определения ОМ. Технологично вести эту работу с применением лабораторного паспорта соответствующих исследований. Рекомендуемая его форма представлена нами в приложении.

В заключение подчеркнем: современный этап развития онкогинекологии настоятельно требует дальнейших усилий, связанных с внедрением скрининга на РЯ [1]. Не менее очевидно, что одно из условий эффективности его проведения сводится к исследованию уровня СА125 в сыворотке крови. Объективное изучение литературы вопроса и собственные наблюдения формируют понимание данного теста как существенного элемента системы комплексной профилактики развития инкурабельной стадии РЯ. Естественно, что указанный анализ должен быть органически включен в традиционный алгоритм диагностического поиска.

Литература

1. Бохман Я.В., Максимов С.Я., Бахидзе Е.В. Выявление солидарных и первично-множественных опухолей в женской репродуктивной системе на основании селективного скрининга: Новая медицинская технология. — СПб.: Издательство Н-Л, 2008. — 40 с.
2. Винокуров В.Л. Рак яичников: закономерности метастазирования и выбор адекватного лечения больных. — СПб.: Фолиант, 2004. — 336 с.
3. Клиническая онкогинекология: Руководство для врачей / Под ред. В.П. Козаченко. — М.: Медицина, 2005. — 376 с.
4. Мерабишвили В.М. Онкологическая служба в Санкт-Петербурге, в районах города в 2007 году. Ежегодник Популяционного ракового регистра. — СПб., 2008. — 256 с.

5. Новикова Е.Г., Батталова Г.Ю. Пограничные опухоли яичников. — М.: Медицинское информационное агентство, 2007. — 152 с.

6. Онкология: Учебник с компакт-диск / Под ред. В.И. Чиссова, С.Л. Дарьяловой. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. — 560 с.

7. Ошибки в клинической онкологии: Руководство для врачей / Под ред. В.И. Чиссова, А.Х. Трахтенберга. — М.: Медицина, 2001. — 544 с.

8. Справочник по онкологии / Под ред. В.М. Моисеенко. — СПб.: Центр Томм, 2008. — 258 с.

Форма рекомендуемая

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПАСПОРТ ИССЛЕДОВАНИЙ НА МАРКЁРЫ РАКА ЯИЧНИКОВ

1. Лечебное учреждение _____
2. Фамилия _____ Имя _____ Отчество _____ больного
3. Возраст _____ лет
4. Диагноз _____ стадия I, II, III, IV (нужное подчеркнуть), гистологический тип опухоли _____
5. Проведенное лечение _____

Таблица 1

Динамика уровня онкомаркёров

Дата исследования	Название ОМ, уровни (Ед/мл)							
	CA125		CA19-9		CA72-4		РЭА	
	РВ	ЛВ	РВ	ЛВ	РВ	ЛВ	РВ	ЛВ

Условные обозначения: ОМ — онкомаркёр
РВ — референсная величина
ЛВ — лабораторная величина

Таблица 2

Лабораторный отчет о проведенных исследованиях

Название ОМ	Дата тестирования	Метод определения	Основное оборудование	Тест-система	Подпись врача КЛД
CA125					
CA19-9					
CA72-4					
РЭА					

Примечания

АНАЛИЗАТОР ГЛЮКОЗЫ АВТОМАТИЧЕСКИЙ «ЭНЗИСКАН УЛЬТРА» (РОССИЯ)

ТУ 9443-002-76255079-2008

Производитель: НПФ «Лабовэй», Россия



ПРИМЕНЕНИЕ

Анализатор глюкозы автоматический мембранного типа предназначен для количественного определения концентрации глюкозы в пробах крови, сыворотки, мочи и других биологических жидкостей в диапазоне от 2 до 30 ммоль/л глюкозооксидазным методом. Анализатор может быть использован в экспресс-лабораториях и клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений (больниц, поликлиник, диспансеров, санаториев, родильных домов, служб крови).

ТЕХНИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ

Принцип действия анализатора основан на определении амперометрическим способом концентрации перекиси водорода, образующейся в результате расщепления глюкозы ферментом глюкозооксидазой. В результате реакции образуется электрический сигнал, который в дальнейшем преобразуется в постоянное напряжение и измеряется аналогово-цифровым преобразователем. Дозирование проб осуществляется с помощью дозатора, имеющего встроенный синхронизирующий датчик. Синхронизирующий датчик дозатора запускает цикл измерения, а выпускная система дозатора обеспечивает синхронный впрыск пробы в измерительную ячейку при нажатии кнопки «Старт» на корпусе дозатора. Микропроцессорная система обеспечивает измерение температуры в измерительной ячейке, автоматическое изменение длительности промывки в зависимости от концентрации глюкозы в пробе. Анализатор имеет бесшумную перистальтическую систему промывки. Наличие блока памяти на 2000 анализов позволяет просмотреть эти данные через систему «Меню» анализатора, а также перенести данные в компьютер. Для внесения в блок памяти анализатора данных о пациенте (Ф.И.О. пациента, возраст) предусмотрено подключение клавиатуры.

ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Модель	автомат
Система	открытая система
1. Диапазон определения концентрации глюкозы, ммоль/л	2–30
2. Пределы допускаемого СКО составляющей погрешности, %	3
3. Систематическая составляющая относительной погрешности, %	6
4. Объем исследуемой пробы, мкл	50
5. Производительность*, анализ/час	90–120
6. Время одного измерения*, сек	5–10
7. Время одного цикла (измерение–промывка)*, сек	37–70
8. Расход буферного раствора на одно измерение*, мл	10–17
9. Диапазон рабочих температур, °С	+15 ... +35
10. Сетевое питание, В, Гц	220, 50
11. Потребляемая мощность, ВольтАмпер, не более	30
12. Габаритные размеры (без дозатора), мм	325 × 307 × 143
13. Вес, кг	5

* Зависит от концентрации глюкозы в исследуемой пробе.

ОБЩИЕ ОТЛИЧИЯ ОТ АНАЛИЗАТОРА ГЛЮКОЗЫ «Эксан-ГМ»

1. Современный авторский дизайн “Laboway “BioTech”.
2. Максимальная производительность* — 120 анализов в час.
3. Бесшумная перистальтическая система промывки.
4. Большой графический дисплей с неоновой подсветкой.
5. Сервисное меню.
6. Динамическая 8-ступенчатая индикация активности мембраны на дисплее.
7. Два языка меню (английский, русский).
8. Память на 2000 анализов.
9. Цифровое дискретное управление магнитной мешалкой.
10. Разъем USB для подключения к компьютеру.
11. Разъем PS/2 для подключения клавиатуры (ввод данных о пациенте).
12. Цветовая маркировка силиконовых трубок системы трубопровода.
13. Закрытая измерительная ячейка.
14. Трубопровод промывающей системы расположен внутри корпуса и защищен от пыли.
15. Перистальтические трубки насосов выполнены из сантопрена, с повышенным ресурсом работы.
16. Корпус изготовлен из ударопрочного пластика ABS, устойчивого к загрязнениям.
17. Удобство разборки-сборки корпуса.
18. Гидрозащищенный разъем дозатора.
19. Заменяемый разъем дозатора.
20. Канистры для рабочих растворов на 2 и более литров.
21. Наличие гидро-разъемов внешнего трубопровода.
22. Ресурс работы прибора — 5 лет.

* При наличии концентрации глюкозы в пробе 2 ммоль/л.

ДЛЯ РАБОТЫ АНАЛИЗАТОРА НЕОБХОДИМ СЛЕДУЮЩИЙ КОМПЛЕКТ РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ:

1. Мембрана глюкозооксидазная МФГО, ТУ 9398-001-83975615-2006 (этикетка с красной полосой, производство ИП Новикова А.Н. с использованием материалов НПФ «Лабовэй»).
2. Фосфатный буфер 0,01 М рН 7,3 ± 0,1 (сухой или жидкий), производство «Эко-Сервис».
3. Калибровочный раствор глюкозы 10 ммоль/л, производство «Эко-Сервис».

Себестоимость 1-го анализа* — всего 50 копеек!

(* — при использовании рекомендованных расходных материалов)

Товарный знак «Энзискан»/“Enziscan” принадлежит ООО «НПФ “Лабовэй”».
Анализатор и элементы его конструкции запатентованы ООО «НПФ “Лабовэй”».

ООО «НПФ “Лабовэй”»
193318, Санкт-Петербург, а/я 80
Тел. (812) 325-9503. Факс (812) 331-8686
office@laboway.ru, www.enziscan.ru



Компания ООО НПФ «Биотехнологии» существует с 2003 года. Основной сферой деятельности компании является комплексное оснащение научных и медицинских лабораторий. Мы поставляем в лаборатории оборудование, на котором работаем сами, и поэтому можем быть уверены в его качестве и надежности.

СЕГОДНЯ мы предлагаем:

- Являясь официальными дистрибьюторами компаний-производителей, мы поставляем оборудование по самым низким ценам и предлагаем гибкие условия оплаты;
- Имея логистический отдел и договоры с перевозчиками по всему миру, мы контролируем поставку, начиная с забора с завода-производителя;
- Лизинг поставляемого оборудования;
- Экономическое сопровождение обоснованными расчетами;
- Методическая поддержка опытными, энергичными и высококвалифицированными сотрудниками;
- Оперативная доставка в любые точки РФ и стран СНГ;
- Инсталляция и обучение персонала на рабочем месте;
- Гарантийное и послегарантийное обслуживание;
- Расходные материалы и высококачественные реагенты.

Системы искусственного оплодотворения любой сложности



Являясь эксклюзивными дистрибьюторами компаний-лидеров в производстве систем точного позиционирования, инъекции и приготовления стеклянных пипеток, таких как **DTI nanotech**, **Sutter instruments**, **Heka elektronik**, **Narishige**, мы предлагаем системы экстракорпорального оплодотворения любой сложности. В отличие от подобных систем производства Eppendorf и других компаний мы предлагаем неограниченную линейку систем и компонентов различных ценовых диапазонов, поскольку мы собираем их из компонентов сами.

Новейший автоматический биохимический анализатор



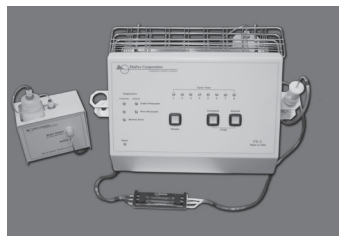
«**AUTOLYZER 600**», производительностью 600 тестов/час (720 при использовании ИСБ). Полностью открытая система. Возможно заведение трехреактивных методов. 72 охлаждаемые позиции для реактивов, 2 карусели реакционных кювет (по 80 кювет в каждой) со станцией промывки на каждой. 95 позиций для образцов. Минимальный объем пробы – 180 мкл. Два дозатора. Возможность заведения до 10 стандартов. Потребление воды – не более 4 мл/анализ. Достоинства: подходит для оснащения диагностической или научно-исследовательской лаборатории любого профиля. Отличается высокой точностью исследования, надежностью, экономичностью в расходе реагентов и энергии. При подключении к ПК или лабораторной сети этот «малыш» очень перспективен в своих возможностях.

Новейшие гематологические анализаторы «Mythic-18» и «Mythic-22» с частичной или полной дифференциацией лейкоцитов.



Достоинства: подходят для оснащения диагностической или научно-исследовательской лаборатории любого профиля. Отличаются высокой точностью исследования, надежностью, компактностью, бесшумностью в работе, непревзойденной экономичностью в расходе реагентов и энергии. Удобное русифицированное меню. При подключении к ПК или лабораторной сети они очень перспективны в своих возможностях.

Оборудование для исследований образцов мочи и кала



Полуавтоматические рабочие станции, оснащенные оптическими кюветами. «**RS-2003**» — для потока образцов при микроскопии мочи и «**FE-2**» — для исследования кала с помощью концентраторов паразитов «**PARASEP**».

Достоинства: оптимизация и стандартизация работы лаборанта, исключение контакта персонала с материалом, исключение из процесса работы предметных стекол и пипеток, существенное увеличение точности анализа и выявляемости в связи с улучшением качества визуализации.

Мы готовы к стабильному и взаимовыгодному сотрудничеству!
194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44

МММ — МЕМОРАНДУМ МЕДИЦИНЫ И МЕТРОЛОГИИ.
МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКТНОСТЬ ЛАБОРАТОРНОГО АНАЛИЗА —
ОСНОВА ОБЪЕКТИВНОГО КОМПОНЕНТА ЛЕЧЕБНО-ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

ФГУП “ВНИИМ им. Д.И. Менделеева”
д.т.н., академик РМА, проф. Л.А. Конопелько,
к.т.н., академик РМА В.И. Суворов,
член-корреспондент РМА И.Я. Пешкова

В конце 1990-х годов международное метрологическое сообщество осознало, что лабораторная практика развивается в отсутствии адекватной метрологической базы. Вследствие чего в августе 2002 года при Международном комитете по мерам и весам (BIPM) по инициативе ряда общественных медицинских организаций (в том числе CIPM, IFCC, ILAC) был создан объединенный комитет по прослеживаемости в лабораторной медицине (JCTLM).

Задачи, поставленные перед Комитетом, — это создание международной инфраструктуры в области клинических лабораторных исследований с акцентом на следующие вопросы:

- сравнимость, достоверность и эквивалентность результатов измерений в лабораторной медицине путем обеспечения концепции прослеживаемости, связи между Референтными лабораториями и национальными метрологическими институтами (НМИ);
- создание и координация Системы референтных измерений;
- идентификация приоритетных видов измерений;
- подготовка к аккредитации Референтных лабораторий.

Конечная цель при создании Комитета сформулирована в принятой Декларации о сотрудничестве *«Создание всемирной основы для обеспечения продвижения и руководства над международно признанными и принятыми эквивалентами мер в лабораторной медицине, а также прослеживаемостью к соответствующим измерительным стандартам»*.

В своей деятельности Комитет руководствуется следующими документами:

- EN 12286:1998 + 12286/A1:2000; ISO 15193 In vitro diagnostic medical devices — Measurement of quantities in samples of biological origin — Presentation of reference measurement procedures (ГОСТ Р ИСО 15193. Изделия медицинские для диагностики in vitro. Измерение величин в пробах биологического происхождения. Описание референтных методик выполнения измерений);

- EN 12287:1999; ISO 15194 In vitro diagnostic medical devices — Measurement of quantities in samples of biological origin — Description of reference materials (ГОСТ Р ИСО 15194. Изделия медицинские для диагностики in vitro. Измерение величин в пробах биологического происхождения. Описание стандартных образцов);
- prEN ISO/FDIS 15195 Laboratory Medicine — Requirements for reference measurement laboratories. Management system requirements. Technical requirements (ГОСТ Р ИСО 15195. Лабораторная медицина. Требования к лабораториям референтных измерений);
- ISO Guide 30:1992 Terms and definitions used in connection with reference materials;
- ISO 17025:2005 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. (ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий);
- ISO 17511 In vitro diagnostic medical devices — Measurement of quantities in biological samples — Metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials (ГОСТ Р ИСО 17511. Изделия медицинские для диагностики in vitro. Измерение величин в биологических пробах. Метрологическая прослеживаемость значений, приписанных калибраторам и контрольным материалам);
- ISO 18153 In vitro diagnostic medical devices — Measurement of quantities in biological samples — Metrological traceability of values for catalytic concentration of enzymes (ГОСТ Р ИСО 18153. Изделия медицинские для диагностики in vitro. Измерение величин в биологических пробах. Метрологическая прослеживаемость значений каталитической концентрации ферментов, приписанных калибраторам и контрольным материалам).

Все последующие документы в области лабораторной медицины разрабатываются при непосредственном участии Комитета.

Непосредственная деятельность Комитета проводится в двух рабочих группах:

- WG1 Reference Materials and Reference Measurement Procedures;
- WG2 Reference Measurement Services.

Общее руководство Комитетом осуществляет Исполнительный совет, включающий:

- Руководителя (от IFCC), Секретариат (от BIPM) и Председателей Рабочих групп.

В настоящее время Рабочие группы возглавляют:

- WG1: NIST (W. May), IRMN (H. Schimmel);
- WG2: IFCC (L. Siekmann, L. Thienpont).

Официальный сайт JCTLM: <http://www.bimp.org>.

К 2009 году Рабочими группами принят ряд рекомендуемых документов, первичных методик и референтных образцов.

Рабочая группа WG1 опубликовала на указанном сайте:

List 1 — аналиты, значения которых прослеживаемы к SI: напр., электролиты, ферменты, в том числе:

- 100 референтных методик для 60 аналитов;
- 150 референтных материалов (SRM) для 95 аналитов, а также

List 2 — аналиты, значения которых не прослеживаемые к SI: напр., нуклеиновые кислоты, факторы свертываемости и т. п.:

- 7 SRM для протеинов;
- 10 SRM для факторов свертываемости.

Рабочая группа WG2 опубликовала Руководящий документ "Process for requesting and processing nominations for JCTLM listing of reference measurement laboratory services", а также ряд дополнительных документов по процедурам аттестации лабораторий в качестве референтных.

В следующих номерах журнала мы постараемся подробнее ознакомить читателей с конкретными рекомендуемыми JCTLM материалами.



Издательско-полиграфическая компания "КОСТА"
(812) 445-1002 www.kostaprint.ru

Издательско-полиграфический отдел фирмы "КОСТА" с 1993 года занимается подготовкой и изданием книг.

За эти годы мы приобрели большой опыт подготовки специальной и, в частности, медицинской литературы.

Среди подготовленных нами книг — работы в области кардиологии, неврологии, хирургии, генетики и других областях медицины.

Мы будем рады помочь Вам подготовить к печати юбилейный сборник, монографию, брошюру, методические рекомендации, автореферат.

Собственная полиграфическая база позволяет оперативно отпечатать любую полиграфическую продукцию.

Кроме того, наши дизайнеры разработают для Вас визитки, наклейки, рекламные листовки, обложки книг.

Не тратьте драгоценное время Ваших специалистов — приходите к нам.

Сделать Вашу рукопись книгой — наша специальность.