



№ 4 (29) август 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., к. м. н.

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 №

Применение в клинической практике высокоинформативных лабораторных технологий во многих областях медицинской науки изменило представления о принципах лечения значительного числа заболеваний и обуславливает коренные изменения лечебно-профилактического процесса.

Такая высокая мера ответственности лабораторной службы с особой остротой ставит вопрос об этой сфере медицинской деятельности, которую можно отнести к высокотехнологичной, поскольку, как правило, лабораторные технологии используют достижения не только естественно-научных дисциплин, но и электроники и тонкого приборостроения в сочетании с современными подходами в области программирования.

Российская Федерация является членом ISO (международной организации по стандартизации), и в нашей стране поэтапно проводятся мероприятия, направленные, в конечном счете, на оптимальное удовлетворение потребителя качеством той или иной медицинской услуги, в данном случае — качеством лабораторной диагностики. С 2008 года в нашей стране уже принят блок документов системы ISO (ГОСТ Р ИСО) в области лабораторной медицины. В ближайшее время нужно грамотно сформулировать правила реализации ФЗ № 102 «Об обеспечении единства измерений», действие которого распространяется и на здравоохранение. Важным шагом на этом пути будет принятие государственного технического регламента о безопасности изделий медицинского назначения.

Эти актуальные проблемы стали предметом рассмотрения научно-практической конференции с международным участием «Оптимизация диалога клинициста и лаборатории. Метрологические аспекты качества», организованной Санкт-Петербургским государственным медицинским университетом имени академика И. П. Павлова, отделением Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики по Санкт-Петербургу и Ленинградской области и Всероссийским НИИ метрологии им. Д. И. Менделеева с участием Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития в Северо-Западном Федеральном округе и Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга.

Материалы конференции представлены на страницах журнала.

В это лето профессиональной общественности было трудно успеть на целый ряд встреч в различных частях мира.

Так, в Австрии проходил 18-й Конгресс Международной федерации клинической химии и лабораторной медицины «Лабораторная диагностика: уроки широкомасштабных клинических испытаний и эпидемиологических исследований», пресс-релиз которого (часть первая) также приведен на страницах журнала.

В июле в Чикаго прошел ежегодный конгресс Американской ассоциации клинической химии (ААСС). Наши коллеги были активными участниками этой встречи. Пресс-релиз о конгрессе представлен нашим читателям.

В начале осени (10–11 сентября) в Улан-Баторе (Монголия) проходит 10-й интернациональный конгресс Congress of the Asian Society of Clinical Pathology and Laboratory Medicine: New Horizons of Clinical Pathology in Asia. Информация об этом конгрессе и впечатления делегации от Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики будут представлены в следующем номере.

Редколлегия

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,
заведующий городским организационно-методическим
и контрольным отделом по лабораторной диагностике
и метрологии СПб ГУЗ МИАЦ Комитета
по здравоохранению Правительства СПб, д.м.н., профессор

Петришев Николай Николаевич,
профессор кафедры 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 с курсом молекулярной медицины
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 Андерс,
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

МАТЕРИАЛЫ МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ

«ОПТИМИЗАЦИЯ ДИАЛОГА КЛИНИЦИСТА И ЛАБОРАТОРИИ. МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КАЧЕСТВА»

ПРЕСС-РЕЛИЗ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «ОПТИМИЗАЦИЯ ДИАЛОГА КЛИНИЦИСТА И ЛАБОРАТОРИИ. МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КАЧЕСТВА». Санкт-Петербург, Россия, 15–16 июня 2009 года 4

Томас Брикман

КАК ПОВЫСИТЬ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛИНИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ И ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ? 7

Нэйдер Райфай

ПРИМЕНЕНИЕ С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА В ДИАГНОСТИКЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ:
РОЛЬ КЛИНИЧЕСКОГО ХИМИКА 10

Б.М. Голдсмит

ВНЕЛАБОРАТОРНОЕ («ПРИКРОВАТНОЕ») ТЕСТИРОВАНИЕ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ 12

Андерс Каллнер, О.В. Черничук, Л.А. Хоровская

СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ ГЛЮКОЗЫ КРОВИ С ПОМОЩЬЮ ИНТЕРАКТИВНОЙ
КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЙ ОЦЕНКИ И МЕТОДА РЕШЕТКИ ОШИБОК КЛАРКА 14

КОНСИЛИУМ У ПОСТЕЛИ БОЛЬНОГО

В.С. Сухоруков

КООРДИНАЦИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ 16

Н.П. Муравская

ВНЕДРЕНИЕ СТАНДАРТОВ ИСО В ОБЛАСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ 23

Л.А. Конопелько, В.И. Суворов

ПРОБЛЕМЫ И ЗАДАЧИ ИНТЕГРАЦИИ РОССИИ В МЕЖДУНАРОДНУЮ СИСТЕМУ ЕДИНСТВА ИЗМЕРЕНИЙ
В ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЕ 26

А.В. Эмануэль, О.А. Тарасенко, Ю.Ф. Шублина

ОРГАНИЗАЦИЯ СИСТЕМЫ МЕНЕДЖМЕНТА КАЧЕСТВА В ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЕ 32

Т.И. Долгих

ПРОБЛЕМНЫЕ ВОПРОСЫ МЕТРОЛОГИЧЕСКОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО И АНАЛИТИЧЕСКОГО
ПРОЦЕССОВ 38

И.А. Горбачева, В.А. Малоземова, Л.А. Шестакова, О.В. Михайлова

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ТИОЛОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ОЦЕНКЕ ТЕЧЕНИЯ И ПРОГНОЗА
ОСТРЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ 43

ШКОЛА ПО КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКИХ ВРАЧЕЙ

В.И. Один, В.Н. Цыган

ИММУНОПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА САХАРНОГО ДИАБЕТА
ТИП 1 45

С.Д. Зайко

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОГЕННЫХ АМИНОВ В ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКЕ 54

ПРЕСС-РЕЛИЗ 18-ГО КОНГРЕССА МЕЖДУНАРОДНОЙ ФЕДЕРАЦИИ КЛИНИЧЕСКОЙ ХИМИИ.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА: УРОКИ ШИРОКОМАСШТАБНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ
И ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. Инсбрук, Австрия, 7–11 июня 2009 года 61

ПРЕСС-РЕЛИЗ ЕЖЕГОДНОГО КОНГРЕССА АМЕРИКАНСКОЙ АССОЦИАЦИИ КЛИНИЧЕСКОЙ ХИМИИ,

Чикаго, штат Иллинойс (США), 19–23 июля 2009 67

ПРЕСС-РЕЛИЗ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
«ОПТИМИЗАЦИЯ ДИАЛОГА КЛИНИЦИСТА И ЛАБОРАТОРИИ.
МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КАЧЕСТВА»

Санкт-Петербург, Россия, 15–16 июня 2009 года,

организованной Санкт-Петербургским государственным медицинским университетом имени академика И.П. Павлова, отделением Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики по Санкт-Петербургу и Ленинградской области и Всероссийским НИИ метрологии им. Д.И. Менделеева с участием Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития в Северо-Западном Федеральном округе и Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга

В работе конференции приняли участие авторитетные представители международного профессионального сообщества:

- ✦ Барбара Голдсмит, президент Американской ассоциации клинической химии (ААСС), США с докладом «Методы диагностики возле пациента в клинической практике»;
- ✦ Джэймс Нихолс, профессор патолоджи Медицинской школы Университета Тафтс США, автор ИСО «Диагностика возле пациента» с докладом «Стандартизация методов диагностики возле пациента»;
- ✦ Томас Брикман, представитель клинико-диагностических компаний в IFCC, Швейцария с докладом «Пути повышения информативности клинической биохимии и лабораторной медицины»;
- ✦ Нэйдер Райфай, главный редактор журнала «Clinical Chemistry», профессор патолоджи Медицинской школы Гарвардского университета, США, с докладом «Применение СРБ в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний: роль клинического химика»;
- ✦ Андерс Каллнер (Каролинский госпиталь, Швеция) с докладом «Методы оценки преимущества методов исследования» (в соавторстве с представителем России в Международной федерации клинической химии и лабораторной медицины, профессором кафедры клинической лабораторной диагностики Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова Л.А. Хоровской).

В докладе профессора В.С. Сухорукова из Московского НИИ педиатрии и детской хирургии «Координация лабораторных исследований при диагностике наследственных болезней» были показаны широкие возможности современных лабораторных технологий в диагностике заболеваний, эффективность лечения которых, прежде всего, зависит от своевременности их верификации, прежде всего на доклинической стадии.

Ярким выступлением явился доклад Л.П. Зениной, В.П. Вахтель и М.А. Годкова из НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского «Опыт организации системы управления качеством в лаборатории экспресс-диагностики». Богатая практика наших коллег достойна повсеместного внедрения, поскольку в полной мере отражает круг мероприятий, необходимых для поддержания «чести мундира» специалиста лабораторной медицины.

А. Колесников, представитель ООО «Эксиджен Сервисис» в докладе «Автоматизация лаборатории — тенденции, современные подходы, технологии» продемонстрировал перспективность внедрения информационных систем в лабораторной практике, позволяющих провести интеграцию со справочниками и реестрами и эффективно решать повседневные рутинные задачи, высвобождая ресурсы для решения новых, перспективных, например, научно-исследовательских задач. Современные информационные системы развиваются в экспертном направлении, позволяющем внедрять научные

достижения в практику. Такие системы могут «консультировать» специалиста и становятся мощным инструментом лабораторной медицины.

И.В. Волчек, главный редактор Издательского дома «Тера Медика» в докладе «Скрининг лекарственных препаратов и персонализированная медицина» поделился опытом применения лабораторных технологий в определении индивидуальной программы лекарственной терапии. Интересно, что были использованы не генетические маркеры, а интегральные технологии, разработанные Санкт-Петербургскими учеными, отражающие индивидуальные особенности детоксикационных биохимических систем.

Особый интерес вызвал доклад заведующего кафедрой теоретической биохимии с курсом клинической биохимии Волгоградского государственного медицинского университета, профессора О.В. Островского «Клинико-экономический анализ внедрений в рутинную медицинскую практику лабораторных тестов с доказанной эффективностью». Автор изложил методологию сравнительной оценки качества методов профилактики, диагностики, лекарственного и нелекарственного лечения на основе взаимосвязанного комплексного учета результатов медицинского вмешательства и затрат на его выполнение.

Клинико-экономический анализ, представленный в докладе, позволяет специалистам лабораторной служ-

бы проводить аналитическую и диагностическую валидацию методов диагностики, моделировать на основе метаанализа клинические исследования и проводить экономические расчеты.

В докладе представителя компании ОМБ В.А. Крюковой «Лабораторная логистика: управление потоками в современной лаборатории» продемонстрированы современные возможности профессиональной организации преаналитического этапа, за качество которого, в конечном счете, отвечает лаборатория, выдающая в практику конечное диагностическое заключение.

Важнейшим блоком конференции явилось обсуждение вопросов метрологического обеспечения лабораторной диагностики. Такой вопрос поставлен научным комитетом конференции (председатель — проф. В.Л. Эмануэль) не только как дань тому, что 2009 год объявлен годом Д.И. Менделеева, но и в связи с выходом ФЗ «Об обеспечении единства измерения». Участие ведущих метрологов страны (Н.П. Муравская, к. т. н., зам. директора ФГУП ВНИИОФИ и В.И. Суворов — ученый секретарь ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева»), представителей производителей продукции для лабораторной диагностики, прошедших международную сертификацию (А.В. Эмануэль — ООО «Витал диагностикс СПб» и Д.В. Гейне — ООО «Диагностические системы»), а также членов профильной комиссии Экспертного совета Минздравсоцразвития по клинической лабораторной диагностике (А.Ж. Гильманов (Уфа), Т.В. Вавилова (СПб), О.В. Островский (Волгоград), В.Л. Эмануэль (СПб)) позволило провести обсуждение в формате «Метрологическая корректность лабораторных исследований как критерий их качества».

Наталья Павловна Муравская в докладе «Новые ГОСТы в области лабораторной медицины, о перечне подлежащих поверке средств измерений, применяемых в здравоохранении» убедительно показала необходимость поиска совместных решений по обеспечению международных правил метрологической корректности исследований и созданию отечественной системы использования государственных стандартных образцов для лабораторной диагностики.

В унисон этому в докладе Владимира Ивановича Суворова «О внедрении закона об обеспечении единства измерения» были приведены интересные примеры взаимодействия метрологов и лабораторных специалистов в Санкт-Петербурге, позитивно отразившиеся на качестве лабораторной диагностики по ряду параметров в учреждениях разного ведомственного подчинения.

Директор по качеству ООО «Витал Диагностикс СПб» А.В. Эмануэль в докладе «Система менеджмента качества — инструмент оптимизации диалога клинициста и лаборатории в обеспечении эффективности лабораторной диагностики» продемонстрировал эффективность внедрения ИСО ГОСТ Р 9001:2008 и ИСО ГОСТ Р 15189 при обеспечении качества конечной задачи совместной деятельности производителей и пользова-

телей средств лабораторной диагностики — достоверной диагностической информации.

Обобщающий в этой секции доклад Татьяны Ивановны Долгих, профессора Омского государственного медицинского университета: «Проблемы метрологической аттестации лабораторных анализаторов» прозвучал активным призывом к обсуждению высказанных позиций и необходимости создания скорейшего консенсуса между Ростехрегулированием и Ростехнадзором.

Обсуждение докладов было очень активным, поскольку в нем приняли участие представители компаний, поставляющих оборудование и реагенты ведущих мировых производителей (ООО «ОМБ», ООО «Бекман Култер», «ЭкоМедС», Олимпус рус, ООО «Эббот Лабораториз», ООО «Лабстори» и другие) и различных отечественных производителей средств лабораторной диагностики (ООО «Витал Диагностикс СПб», ООО «АМА», ООО «Медлакор С.П.», ЗАО Диакон и другие). В целом в работе конференции приняло участие около 200 человек из 16 регионов страны.

Участники конференции с удовлетворением констатировали, что техническое перевооружение, научные достижения в области лабораторной медицины за последние 10 лет привели к необходимости переосмысления места лабораторной медицины в практике здравоохранения.

Создание крупных, самостоятельных централизованных лабораторий с высокой технологичностью процесса и в то же время передача части функций клиницистам при диагностике «в месте лечения» обусловили многогранность отношений между клиницистами и специалистами лабораторной диагностики.

Самостоятельной задачей является оптимизация диалога между специалистами лабораторной диагностики, федеральными службами Ростехрегулирования и Росздравнадзора и производителями лабораторного оборудования изделий медицинского назначения.

Переосмыслению места лабораторной медицины, структуры лабораторных подразделений, требований к квалификации специалистов способствовали открытость российского общества, присоединение РФ к международным договорам и применение на территории страны международных стандартов.

Для дальнейшего развития российской лабораторной медицины участники конференции считают необходимым продолжение интеграции в мировую практику, гармонизацию российских нормативных документов и стандартов в соответствии с международными документами.

Исходя из вышеперечисленных реалий, необходимо:

1. Для обеспечения высокого качества лабораторных исследований рекомендовать повсеместное внедрение системы менеджмента качества и стандартов, принятых в России нормативов ГОСТ Р ИСО, эф-

фективность которых базируется на международном опыте, и сертификацию лабораторий по принятым требованиям.

2. Обеспечение метрологической корректности лабораторных исследований должно базироваться на положениях ФЗ «Об обеспечении единства измерений» с учетом специфики лабораторной медицины, предметом которой является биологический материал, обладающий присущей ему биологической вариативностью свойств и состава.
3. Отнесение сложного оборудования к СИ и СИМН базируется на наличии методик поверки и соответствующих эталонов с применением ГОСТов и ИСО Р, действующих на момент проведения работ по поверке оборудования.
4. Считать выполнение ОСТ МЗ РФ 91500.13.0001-2003 «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов» обязательным элементом обеспечения метрологической корректности лабораторных исследований в здравоохранении.
5. Считать целесообразным создание рабочей группы на базе ВНИИ метрологии им. Д.И. Менделеева и СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова для разработки предложений в Ростехрегулирования и Минздравсоцразвития РФ по решению проблем метрологической корректности лабораторных исследований в здравоохранении. Основными задачами рабочей группы считать подготовку предложений:
 - по системе аттестации стандартных образцов (ГСО) в межведомственном формате (лаборатории референтных измерений, уполномоченные Росздравнадзором и аккредитованные Ростехрегулированием) в соответствии с ГОСТ ИСО Р 15193-15195:2007, определяющих требования к референсным методикам выполнения измерений и стандартным образцам, также с использованием ГОСТ ИСО Р 17511: 2006, описывающего систему прослеживаемости.

- по применению лабораторных технологий по исследованию аналитов, не имеющих прослеживаемости до эталона и не имеющих международно признанного референтного метода верификации, выпускаемых в практическое здравоохранение производителем средств диагностики в соответствии с ГОСТ Р ИСО 13485.
- по нормированию характеристик ГСО, в том числе метод-зависимых значений, в соответствии с ГОСТ Р 53133.3:2008 в межведомственных референтных лабораториях, оснащенных дефинитивным оборудованием, использующих международные эталоны, в штате которых предусмотреть наличие специалистов в области клинической лабораторной диагностики и метрологии.
- по разработке требований по аттестации лабораторных методик.

В рамках конференции были организованы «Школы новаций в области лабораторной медицины: Диагностика возле пациента». В первой части «Диагностика ургентных состояний и мониторинг гликемии» профессор Л.А. Хоровская продемонстрировала новый программный продукт, позволяющий проводить межлабораторные сравнения при использовании средств «прикроватной диагностики» различных производителей.

Во второй части профессор Т.В. Вавилова познакомилась со средствами диагностики «в месте лечения» при оценке системы гемостаза.

В рамках конференции прошла выставка современных технологий в клинической лабораторной диагностике.

От оргкомитета материалы подготовлены *Денисом Владимировичем Чередниченко*, генеральным директором Отделения Ассоциации медицинской лабораторной диагностики, директором Центра лабораторной диагностики СПб ГМУ им. акад. И.П. Павлова, к. м. н.

КАК ПОВЫСИТЬ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛИНИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ И ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ?

ТОМАС БРИКМАН

Специалист по клинической биохимии (EurClinChem), руководитель Европейской группы научной поддержки (Европа, Ближний Восток, Африка и Индия) Евроцентра Beckman Coulter (Нион, Швейцария), адъюнкт-профессор клинической биохимии Медицинского факультета Университета Рура в Бохуме (Германия).

Представитель компании в исполнительном комитете (2009–2011) Международной федерации клинической биохимии и лабораторной медицины



Резюме. Значение лабораторной медицины для клиники и экономики недооценено как обществом, так и государственными структурами здравоохранения. Необходимы меры по расширению кругозора клиницистов в области лабораторной медицины, что приведет к масштабной модернизации системы здравоохранения. При этом необходима и реформа лабораторной системы, ориентированной на лимитированный бюджет при поддержке высокого уровня качества. Задачи лабораторий в решении следующих ключевых понятий: Продукция, Результаты, Информация, Знания, Обучение, Исследовательская работа, Безопасность пациента, Коммерция. Ключевую роль в реализации этого направления играет эффективное взаимодействие врача-патолога с врачом-клиницистом при формировании алгоритмов принятия клинических решений.

Ключевые слова: врач-клиницист, врач-патолог, лабораторная медицина, качество, эффективность лабораторной диагностики.

HOW TO MAKE MORE EFFECTIVE CLINICAL DIAGNOSIS AND LABORATORY MEDICINE

THOMAS BRICKMANN

Specialist for clinical biochemistry (EurClinChem), chief of European group of scientific support (Europe, Middle East, Africa, India) of Eurocenter Beckman Coulter (Nion, Switzerland), adjunct professor of clinical biochemistry of medical faculty of Ruhr University in Bochum (Germany), Representative of Company in executive committee (2009–2011) of International Federation of clinical biochemistry and laboratory medicine

Томас БРИКМАН, специалист
по клинической биохимии (EurClinChem)



Руководитель Европейской группы научной поддержки
Европа, Ближний Восток, Африка и Индия
Евроцентр Beckman Coulter
Нион, Швейцария



Адъюнкт-профессор клинической биохимии
Медицинский факультет
Университет Рура в Бохуме
Бохум, Германия



Представитель компании в исполнительном комитете (2009–2011)
Международной федерации клинической биохимии
и лабораторной медицины

Томас БРИКМАН

Summary. The significance of laboratory medicine for clinic and economics is underestimated both by society and state organizations of Health Care. The clinical specialists should be more informed about laboratory medicine, so measurements for promoting this information are needed. This will lead to general modernization of health care system. Laboratory service renovation will be included in this process, the main changes needed will be orientation on the limited budget and high quality support. The tasks of laboratories are to be targeted on following items: production, results, information, knowledge, education, research, patient safety, commerce. The key role in realization of this direction plays the effective interaction between pathologists and clinical specialists during the process of the clinical decision makings.

Key words: clinical specialist, pathologist, laboratory medicine, quality, efficacy of laboratory diagnosis.



Рис. 1

Глобальные проблемы лабораторной индустрии на сегодня представляются следующим образом — необходима максимальная производительность, что обеспечит сокращение рабочих ресурсов. Это позволяет выполнять очевидное правило — обеспечивать эффективность.

В практике это означает необходимость обеспечивать ориентацию на потребности пациентов, оптимизировать выбор и сокращать количество ошибок исследований. Необходима реформа системы, ориентированной на лимитированный бюджет при поддержке высокого уровня качества (рис. 3).

Стратегии выживания лабораторий: больше тестов, меньше персонала или менее квалифицированный персонал, консолидация лабораторий, приборов и больше автоматизации с обеспечением своевременности и доступности диагностической информации.

Задачи лабораторий в решении следующих ключевых понятий: Продукция, Результаты, Информация, Знания, Обучение, Исследовательская работа, Безопасность пациента, Коммерция.

Лаборатория как производственное предприятие оперирует следующими понятиями: «Сырье» — образцы; «Ресурсы» — люди, площади, оборудование, деньги;

«Продукт» — информация. В целом — это система, которая должна работать эффективно.

За последние несколько десятилетий произошла значительная эволюция лабораторной службы: если раньше лаборатория была придатком в поиске риск-факторов, постановке диагноза, назначении соответствующего лечения, то сегодня лаборатория является

Лаборатории — неотъемлемый элемент здравоохранения



Рис. 2



Рис. 3

объединяющим механизмом на всех этапах взаимодействия врача и пациента (рис. 1, 2).

Сегодня финансирование лабораторных исследований происходит по остаточному принципу, хотя вклад лабораторной службы в диагностику поистине огромен (рис. 4).

Томас рассказывал о роли врача-патолога (в России — врача клинической лабораторной диагностики — КЛД) в лечебном процессе в странах Европы. Он отметил важность взаимодействия врача-патолога с врачом-клиницистом для наиболее точной и ранней диагностики заболеваний и правильности и адекватности лечения пациента.

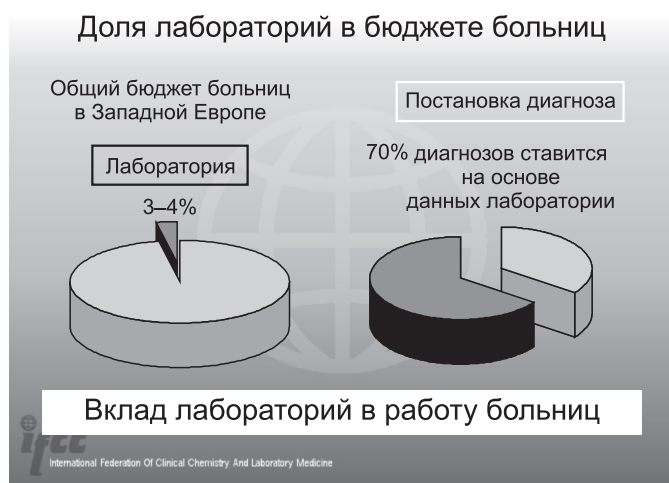


Рис. 4

К сожалению, сегодня не все правильно оценивают значимость «вышедшего из подполья» врача КДЛ, и степень использования данных лабораторного исследования врачом-клиницистом невелика. Поэтому и необходима консолидация лабораторной службы с лечащим врачом (рис. 5).

Особое внимание было уделено рассмотрению вопроса качества лабораторной службы (рис. 6).

Автор отметил, что «качество — это ответственность каждого», и подчеркнул важность стандарта ISO 15189.

Томас подчеркнул, что высокое качество лабораторной медицины ответственно за повышение качества клинических результатов. Профессионалы в сфере лабораторной медицины могут играть активную роль в:

- ускорении выздоровления пациентов;
- быстрой постановке диагноза;
- направлении пациента к соответствующему специалисту;
- сокращении количества ненужных обследований;
- обучении и завоевании уважения клиницистов;
- участии в междисциплинарных конференциях;
- повышении экономической эффективности.

Однако реализация указанного возможна только высококвалифицированным персоналом.

В докладе была также рассмотрена тематика алгоритмов принятия клинических решений.

Системы, поддерживающие принятие клинических решений, помогают клиницистам применять новую информацию о тестах путем анализа отклонений значений у данного пациента. Многие из этих систем используются для облегчения постановки диагноза и включают компьютерные программы, которые позволяют поставить широкий спектр диагнозов на основании данных, введенных врачом.

По мнению автора, лаборатория должна играть ведущую роль в предоставлении врачу-клиницисту алгоритмов принятия клинических решений.

Экспертные системы, помогающие осуществить правильный выбор обследования, назначения терапии и отслеживания результатов, повышают клиническую эффективность.

Сети коммерческих лабораторий в Европе, на Ближнем Востоке и в Африке (ЕМЕА) 2008

Лаборатория	Оборот	Кол-во лабор.	Страны	
DE - Limbach	360 М€	34	13	AZ, BG, DE, FI, GE, GR, IT, KW, ES, CH, TR, CH, AU
CH – Capio Diagnostics/Unilabs	330 М€	58	7	BE, FR, IT, PT, RU, ES, CH
DE – Synlab	186 М€	72	18	AT, BY, BG, DE, HR, CZ, HU, IR, SA, MK, PL, RO, SK, SI, ES, TR, AE, UA
FR - LMM	88 М€	3	3	AE, FR, IE
AT – Future Lab	97 М€	108	8	CZ, DE, HU, RO, SK, CH, AT, DE
US - QUEST	4,950 М€	185	2	UK, MX, BE, FR, US
AU – SONIC / Bioscientia	900 М€	82	19	CY, EG, ET, IR, JO, SA, KW, LY, NG, QA, SD, AE, YE, DE, UK

International Federation Of Clinical Chemistry And Laboratory Medicine

Рис. 5

Такой комплексный подход имеет следующие преимущества:

- Для лаборатории: лучше обслуживаются врачи и сокращаются расходы, сокращается время постановки диагноза, вводятся автоматизированные методы и расширяется ассортимент диагностики.
- Для врача-клинициста: лучше обеспечивается работа с пациентом, сокращается время постановки диагноза.
- Для пациента: сокращается время постановки диагноза, возрастает доверие к врачу и улучшается психологическое состояние, требуются меньшие дозы и количество лекарств.

Качество в лабораторной медицине



Рис. 6

ПРИМЕНЕНИЕ С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА В ДИАГНОСТИКЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: РОЛЬ КЛИНИЧЕСКОГО ХИМИКА

НЭЙДЕР РАЙФАЙ

Детский госпиталь и медицинская школа Гарварда
Бостон, Массачусетс, США

Существует ряд общепризнанных факторов риска развития коронарной болезни сердца (КБС), в том числе повышенный уровень холестерина, нарушения спектра липопротеинов (ЛП), артериальная гипертензия и сахарный диабет. При сочетании этих факторов риск КБС возрастает. С-реактивный белок (С-РБ), образующийся, в основном, в печени, является известным белком острой фазы воспаления. Современные эпидемиологические данные указывают на его значение в качестве независимого фактора риска КБС и сопутствующих клинических осложнений (инфаркта миокарда и др.) как среди мужчин, так и у женщин. С 1996 года опубликован ряд исследований с оценкой различных клинических исходов, которые однозначно указывают на роль повышенных уровней С-РБ как важного фактора риска сердечно-сосудистой патологии. Было установлено, что, по сравнению с другими биохимическими маркерами (ИЛ-6, ЛПНП-холестерин, общий холестерин, апопротеин В, sICAM-1, сывороточный амилоид А и др.), сочетание умеренного повышения С-РБ и соотношения общего холестерина : ЛП было связано с оценками максимального риска развития сердечно-сосудистой патологии в отдаленные сроки наблюдения. Низкие уровни С-РБ наряду с низкими значениями ЛПНП-холестерина коррелировали с минимальным риском, тогда как сочетание высокого С-РБ с высокими уровнями ЛПНП-холестерина были ассоциированы с наивысшей вероятностью развития сердечно-сосудистых осложнений. Обширные исследования показали, что применение метода высокочувствительного определения С-РБ (hs-CRP) при измерениях в диапазоне его «нормальных» концентраций дало дополнительную прогностиче-

скую информацию, кроме известных оценок риска по Фрамингемской шкале во всех обследованных выборках. На основании этого к существующей модели риска по метаболическим параметрам может быть добавлен С-РБ (высокочувствительный метод оценки) и его сочетания с известными факторами риска. Кроме того, повышенные уровни С-РБ в качестве маркера хронического воспаления оказались прогностически важными для определения характера ответа больных на лечение правастатином, где клинический эффект коррелировал со снижением концентрации С-РБ спустя 24 недели после начала терапии, тогда как препарат плацебо не вызывал ни клинического эффекта, ни снижения уровней С-РБ. Снижение уровней С-РБ показано при использовании различных препаратов статинов в других клинических исследованиях. Таким образом, С-РБ может быть предложен как метод планирования направленной терапии статинами в ситуациях первичной профилактики, как это было показано в исследовании практически здоровых лиц (программа AFCAPS/TexCAPS). Здесь также показана связь минимального сердечно-сосудистого риска и низких уровней С-РБ и ЛПНП, достигнутых после терапии статинами. Следовательно, сочетание определения С-РБ и ряда параметров липидов, при учете общепринятых факторов риска, может обеспечить более точную оценку риска у практически здоровых лиц и в ходе специфической терапии.

Ключевые слова: С-реактивный белок, холестерин, липопротеины низкой плотности, коронарная болезнь сердца, факторы риска, статины.

THE UTILITY OF CRP IN CARDIOVASCULAR DISEASE: THE ROLE OF THE CLINICAL CHEMIST

NADER RIFAI, Ph. D.

Children's Hospital & Harvard Medical School
Boston, MA, USA

There are well recognized common risk factors for coronary heart disease (CHD), including high cholesterol levels, arterial hypertension, and diabetes mellitus, with increasing CHD risk if these factors are combined. C-reactive protein (CRP) primarily synthesized in liver is a well-known acute-phase marker. Recent epidemiological data point to its significance as an independent risk factor for CHD and its clinical com-

plications (e.g., myocardial infarction), both in men and women. Since 1996, a lot of studies, using different clinical endpoints, did show high CRP levels to be an important cardiovascular risk factor. Among other biochemical markers (including IL-6, LDL cholesterol, total cholesterol, Apo B, sICAM-1, SAA, CRP, etc.), a hs-CRP + TC: LPC combination proved to be associated with highest cardiovascular risk. Low

CRP together with low LDL-cholesterol presented a minimal risk, whereas high CRP with high LDL were associated with highest probability of cardiovascular events. An extensive study has shown that highly sensitive CRP detection (hs-CRP), as adapted for near-normal levels provided prognostic information beyond the Framingham Risk Score in all major cohorts evaluated. On this basis, an existing metabolic risk model could be extended by hsCRP, and its combinations with known risk factors. Moreover, increased CRP levels, as a marker of chronic inflammation, proved to be predictive for distinct response of the patients to pravastatin, and a clinical response correlated with decreased hsCRP concentrations 24 weeks after starting the treatment, whereas placebo did not cause either clinical effect, or decrease in CRP levels. CRP-

lowering effect was shown for various statins employed in other clinical studies. Hence, CRP may be proposed as a method to target statin therapy in primary prevention settings, as it was shown in a study with apparently healthy persons (AFCAPS/TexCAPS study). Again, minimal cardiovascular risk was associated with low CRP-low LDL state that were achieved after statin treatment in certain cohorts under study. Hence, combined measurements of CRP and some lipid disturbances, together with common risk factors, may provide a more accurate risk assessment in apparently healthy persons and during specific therapy.

Keywords: C-reactive protein, cholesterol, low-density lipoproteins, coronary heart disease, risk factors, statins.



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.

ВНЕЛАБОРАТОРНОЕ («ПРИКРОВАТНОЕ») ТЕСТИРОВАНИЕ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Б.М. ГОЛДСМИТ

Президент Американской ассоциации клинической химии

В настоящее время лабораторное тестирование может проводиться централизованно (в больничных или коммерческих лабораториях, или в центральной лаборатории для группы клиник, или в отдельных лабораториях для тестов особого рода). Оно может быть и децентрализованным, в форме внелабораторного тестирования (ВЛТ) или исследований по местонахождению больного (в офисе врача или даже проводится самим больным). Поэтому, в широком смысле, ВЛТ представляет собой лабораторное тестирование, проводимое вне клинической лаборатории. По оценкам, темпы роста рынка ВЛТ в США выше, чем общего рынка диагностики *in vitro*. Наиболее часто ВЛТ применяется для экспресс-анализов мочи, оценки pH, проверок на беременность (тестирование мочи), выявления крови и гемоглобина (в т.ч. скрытой крови в стуле), микроальбуминурии и некоторых микробиологических тестов. Ряд других систем ВЛТ применяется для ионометрии, оценки гемокоагуляции и детекции белковых маркеров (тропонина). ВЛТ имеет существенные преимущества перед обычными анализами (быстрые сроки выполнения, малый объем образцов, минимальная пробоподготовка, возможность быстрого принятия решений). К недостаткам ВЛТ относятся высокая стоимость, проблемы с точностью определений, отсутствие корреляций с другими методами, проблемы методического опыта и обученности персонала, вопросы качества анализов, проблемы с документированием данных. Таким образом, внедрение ВЛТ требует следующих мероприятий: клинического обоснования, решения вопросов надзора, обучения персонала, гарантий качества и обеспечения документации по результатам.

Средства ВЛТ можно подразделить на электронные (носимые, портативные, ручные форматы) и бесприборные (качественные или полуколичественные индикаторы), а по методам — на электрохимические, фото-

метрические и иммунологические. Вопросы валидации устройств ВЛТ включают повышение точности определений, разработку референтных методов, повышение специфичности, в том числе в отношении примесных веществ, достижение линейности в пределах измеряемых значений. Эти задачи требуют дополнительных корреляционных исследований и сравнения с аналогичными данными, полученными в клинических лабораториях. Поскольку ВЛТ часто проводится нелабораторным персоналом, то хорошо организованные программы обучения могут улучшить выполнение методик ВЛТ. В настоящее время ВЛТ используется при экстренной диагностике, в целях мониторинга результатов лечения, в офисах врачей или как средство самопроверки или тестирования в домашних условиях. Рассматриваются некоторые примеры клинического применения ВЛТ, в частности — при легочных эмболиях (выявление Д-димера), при диабетическом кетоацидозе (pH-метрия, уровни глюкозы, калия), при острой почечной недостаточности (мочевинный азот крови, креатинин), при сердечной патологии (тропонин, BNP). Особое внимание уделяется системам ВЛТ для исследования гемокоагуляции (Д-димер, протромбиновое время, функция тромбоцитов и др.). Обсуждаются возможные ошибки выполнения и ограничения методик ВЛТ. В качестве источников информации рекомендованы некоторые тематические WEB-сайты для пациентов и врачей. В качестве надежного и современного источника информации по ВЛТ предлагается серия «Методических указаний по лабораторной медицинской практике», издаваемых Национальной академией клинической биохимии.

Ключевые слова: внелабораторное тестирование, области применения, исследование крови, преимущества, ограничения, обучение.

POINT-OF-CARE TESTING IN CLINICAL PRACTICE

BARBARA M. GOLDSMITH, Ph.D., FACB

President, AACC

Nowadays, laboratory testing may be performed either centralized (hospital, or commercial laboratories, or central laboratory for a group of hospitals, or referral laboratories for esoteric tests), or it may be decentralized, being performed as Point-of-Care testing (POCT), at a physician's office, or even by patient (self-testing). Therefore, in widest sense,

Point-of Care Testing (POCT) means a kind of laboratory testing performed outside of the clinical laboratory. Growth rates of the POC market in USA are better than the total *in vitro* diagnostics market's estimated. The most common POC tests include dipstick urinalysis, pH indicators, urine pregnancy tests, blood and hemoglobin indicators (including fecal occult

blood), microalbumin detection and some microbiological test systems. Other POC systems concern ionometrics, blood coagulation tests and troponin assays.

POCT exhibits certain advantages over routine approaches (faster turnaround time, small sample size, minimal preparation steps, faster decision making). POCT disadvantages include higher costs, concerns about inaccuracy, lack of connectivity, experience/education issues of testing personnel, quality issues, documentation problems. Hence considerations for implementing POCT include: clinical justification, supervision issues, education of staff, quality assurance, documentation forms. POCT tools may be classified into electronic (transportable, portable), or indicators (qualitative and semi-quantitative with reading and comparing to color chart), using methods of electrochemistry, or reflectance photometry, or immunological approaches.

Validation aspects of POCT devices include improved precision of assays, development of reference methods, higher specificity, including interfering substances, achievement of linearity in measurable ranges of values. These tasks need

additional correlation studies and comparisons with similar data obtained in clinical laboratories. Since POCT is often performed by non-laboratory staff, a well designed training programs may improve POCT performance. POCT is now used in emergency diagnosis, to the aims of treatment monitoring, at doctor's office, and as a tool of self- or home testing. The author considers some clinical examples of POCT application, e.g., in pulmonary embolism (d-dimer), in diabetic ketoacidosis (glucose, pH, potassium), in acute renal failure (BUN, creatinine), in heart diseases (troponin, BNP). Special attention is drawn to POC systems for testing crucial steps of blood clotting (d-dimer, prothrombin time, platelet function etc.). Potential errors and limitations of POCT are also discussed. As potential information sources, some WEB-based sources are referred. A series of Laboratory Medicine Practice Guidelines published by the National Academy of Clinical Biochemistry is recommended as the most reliable and updated source of information about POCT.

Keywords: point-of-care testing, applications, blood analysis, advantages, limitations, staff education.

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: vladimirem1@gmail.com

моб. тел. 8-905-229-60-22

Чередниченко Денис Владимирович

e-mail: cheredni1@gmail.com

тел./факс (812) 233-97-26

СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ ГЛЮКОЗЫ КРОВИ С ПОМОЩЬЮ ИНТЕРАКТИВНОЙ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЙ ОЦЕНКИ И МЕТОДА РЕШЕТКИ ОШИБОК КЛАРКА

АНДЕРС КАЛЛНЕР¹, О.В. ЧЕРНИЧУК², Л.А. ХОРОВСКАЯ³

¹ Каролинский госпиталь, г. Стокгольм, Швеция

² Окружная клиническая больница, учреждение Ханты-Мансийского автономного округа — Югры г. Ханты-Мансийска, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Актуальность. Новые процедуры измерения, используемые в современной клинической лабораторной диагностике, обычно сравниваются с существующими референтными методами для оценки точности и правильности получаемых результатов, что описано в протоколе Института клиничко-лабораторных стандартов 15 (CLSI EP15). В настоящей работе демонстрируется использование компьютерной программы, созданной в EXCEL, позволяющей изучить степень погрешностей результатов при работе методами диагностики возле пациента. Данный подход важен для оценки качества измерений при разбиении всего диапазона полученных результатов на диагностически важные зоны, которые активно используются клиницистами при интерпретации полученных данных. Такая диалоговая клиничко-лабораторная система оптимизирует диагностический процесс с учетом теории референтных интервалов. В США «Food and Drug Administration» (FDA) рекомендует тестировать лабораторное оборудование для диагностики возле пациента (РОСТ) с помощью метода решетки ошибок Кларка (EGC). Для данной процедуры необходимо проведение 360 измерений проб методом РОСТ в сравнении с референтным методом в соответствии с требованиями CLIA. Такой подход и компьютерная программа могут использоваться и для других исследуемых компонентов приборами РОСТ (CLSI EP27).

Программное обеспечение. Разработанная программа включает 4 рабочих листа. Лист ввода данных позволяет анализировать измерения в дубликатах, что особенно важно при оценке профиля неопределенности. Решетка ошибок Кларка находится на другом рабочем листе, содержащем информацию о допустимых погрешностях и пределах для ошибочных результатов (двенадцать линий), очерчивающих специальные зоны риска при интерпретации полученных данных. Для разбиения референтных интервалов на трети или тертили используется линейный регрессионный анализ, основанный на регрессии Деминга. Автоматически вычисляются коэффициенты корреляции и отображаются линии регрессии. Также вычисляются результаты, отличающиеся от референтного метода. Графики Блант–Альтмана отражают разбиение данных. Программа определяет пределы разбиения интервала измерений. При оценке работы

оборудования в различных уровнях референтных интервалов анализируются четыре ситуации, имеющие значение для клинической интерпретации. На каждом отрезке оцениваемого референтного интервала вычисляются чувствительность, специфичность, отношение правдоподобия и другие показатели информативности лабораторных тестов, такие как, например, пост-тестовая вероятность. На основной регрессионной функции показаны референтные интервалы и пределы их разбиения.

Результаты. В настоящем исследовании выполнялись единичные измерения на оборудовании РОСТ и референтном анализаторе. Тертили содержат одну треть из всех наблюдений — 90, 8,9 и 1,1% соответственно в низком, среднем и высоком уровнях, соответственно. Данный поток плановых пациентов позволил получить неравномерное распределение результатов, как это часто случается в повседневной практике. Поэтому для лучшей оценки гипер- и гипогликемии по сравнению с эугликемией были выбраны значения концентрации глюкозы до 5 ммоль/л и выше 6,5 ммоль/л, что составило по 168, 157 и 34 результата в каждой трети и было достаточным для проведения регрессионного анализа. Линейный регрессионный анализ позволил получить значения тангенса угла наклона (slope) и точки пересечения с осью Y (intercept): 0,95 (0,14), 0,93 (0,54), 0,94 (0,50), 0,64 (2,09) и 0,97 (0,21). Показатели регрессии Деминга составили 1,05 (0,0), 0,91 (0,64), 0,94 (0,07) и 0,99 (0,17) из общих данных, а также низкого, среднего и высокого отрезков разделений референтного интервала соответственно. График решетки ошибок Кларка выделил 7 результатов в зоне С. Для оптимизации оценки клинической точности при сравнении результатов 2 лабораторных методов в конкретном случае интервал значений концентрации глюкозы был изменен на 5,3–6,2 ммоль/л. Данное разбиение зависит от применяемых методов и нужд клинициста.

Заключение. Интерактивный регрессионный анализ с адаптацией к принципам решетки ошибок Кларка позволяет оптимизировать референтные интервалы и улучшить оценку работы лабораторного оборудования с учетом клинической оценки риска.

Ключевые слова: РОСТ, измерение глюкозы, решетка ошибок.

COMPARISON OF GLUCOSE MEASUREMENT PERFORMANCE USING AN INTERACTIVE CLINICO-LABORATORY PROCEDURE WITH APPLICATION OF CLARK AND CONSENSUS ERROR GRIDS

A. KALLNER¹, O.V. CHERNICHUK², L.A. KHOROVSKAYA³

¹ Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden,

² Khanty-Mansiysk Regional Clinical Hospital, Khanty-Mansiysk, Russian Federation,

³ Pavlov's State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Summary

Background. New measurement procedures are often compared with previous in verification procedures aiming at establishing the uncertainty in terms of precision and trueness (CLSI EP15). We describe an EXCEL application that allows establishing an error grid, continuous changes of partitioning for analysis of data, interactive difference plots and a novel procedure to optimize the diagnostic performance by adjusting reference values. The Clark Error grid (EG) and Consensus Error grid (CE) are applied to the verification of POCT glucose measurement procedures. The FDA requires error grids with 360 observations for CLIA waiver applications. Provided limits are defined, the program can be used for other analytes (CLSI EP27).

Software. The EXCEL workbook contains four worksheets. The input sheet allows duplicates, useful in estimating an uncertainty profile. The error grid is defined in another worksheet; the Allowable Total Error and the Limits for Erroneous Results and up to twelve lines delineating special areas. For each tier, third or tertile of data the ordinal linear regression, principal and Deming regressions. The correlation coefficients are calculated and regression lines optionally displayed. Deviating results from the equal line or regression lines can be counted. The Bland–Altman graph mirrors the partitioning of the data. The tolerance limits are calculated. Four situations are identified in the evaluation of reference intervals. In each case the sensitivity and specificity and likelihood ratio are calculated and prevalence-sensitive indicators e.g. post-test probability. The “Goal seeking” function facilitates appraisal of the reference interval.

Results. In this study only single measurements were made. The tertiles contain a third each of the observations and the thirds the results in each third of the measuring interval, in this case 90, 8.9 and 1.1% in the low, mid and high thirds, respectively. This is an unfavorable distribution of results and the tertiles would cut off the dataset at 4.8 and 5.3 mmol/L, also unfavorable. Therefore the tiers up 5 mmol/L and from 6.5 mmol/L were chosen to better represent hypo- and hyper- and normo-glycemia which gives 168, 157 and 34 results in each tier, sufficient for a regression analysis. The OLR gives the slopes and (intercepts) 0.95 (0.14), 0.93 (0.54), 0.94 (0.50), 0.64 (2.09) and 0.97 (0.21); with $\lambda = 10$ the Deming characteristics were 1.05 (0.0), 0.91 (0.64), 0.94 (0.07) and 0.99 (0.17) of the total, low, mid and high partitions, respectively. If the ATE is defined as a 20% deviation from the equal line it includes 94% and if 10%, 71% of the observations. In the EG, seven results were in the observation Zone C whereas in the CG only one result was found in the corresponding zone. To optimize the diagnostic agreement between methods the reference interval was changed to 5.3–6.2 mmol/L. This may also depend on the use of the new procedure and diagnostic needs.

Conclusion. An interactive regression analysis adopting the principles of the error grid and a feature to optimize reference intervals improves the evaluation and understanding of the performance of new instruments also for clinical risk assessment.

Keyword: POCT; glucose measurement; Error Grids.

КОНСИЛИУМ У ПОСТЕЛИ БОЛЬНОГО



КООРДИНАЦИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

В.С. СУХОРУКОВ

Московский НИИ педиатрии и детской хирургии

Резюме. Разработка подходов к диагностике наследственных болезней представляет собой одну из самых сложных и, одновременно, самых актуальных областей лабораторной медицины. Современные аналитические технологии позволяют часто добиваться серьезных успехов, а еще чаще предполагать возможность успеха на этом пути. Сказанное, в свою очередь, ко многому обязывает практическое здравоохранение — необходимо постоянно отслеживать новейшие достижения и обеспечивать возможность их эффективного внедрения. В этой статье мы рас-

смотрим некоторые проблемы государственной координации лабораторного развития на примере недавно внедренной системы скринингового выявления наследственных болезней у новорожденных.

Ключевые слова: наследственные заболевания, лабораторная медицина, координация исследований.

CONSILIUM AT PATIENT'S WARD

COORDINATION OF LABORATORY INVESTIGATIONS IN DIAGNOSIS OF HEREDITARY DISEASES

V.S. SUKHORUKOV

Moscow Scientific Research Institute of Pediatrics and Pediatric Surgery

Summary. Development of the approaches to diagnostics of the hereditary diseases is one of the most difficult and actual spheres of laboratory medicine which needs the use of the new expensive technologies. Due to this fact the coordination between the clinical specialists and different branches of laboratory medicine specialists becomes very important. Also close interaction with the state organizations including the Ministry of Health Care is needed. As an example of the effective organization of diagnostic process the clinical case of rare hereditary disease — hereditary structural myopathy with disproportion of the muscle fibers type (first description of this disease in Russia) is given.

Key words: diagnostics of the hereditary diseases, mitochondrial disease, diagnostic process coordination, laboratory diagnostics.

Учитывая высокую сложность и дороговизну подавляющего большинства новых лабораторных технологий, эффективность внедрения невозможна без грамотной координации всех процессов и усилий на данном направлении.

Представляется, что такая координация должна включать в себя, по крайней мере, три компонента: координируемое государством развитие соответствующих лабораторий, активное двустороннее взаимодействие специалистов (часто достаточно узких) клинической и лабораторной медицины и, наконец, внутрилабораторную координацию различных технологий.

На государственном уровне такая координация должна, как нам кажется, идти в двух направлениях:

во-первых, в развитии многопрофильных клиничко-лабораторных центров, в том числе на базе крупных больниц, медико-генетических и перинатальных центров, научных институтов; при этом развитие технологической базы в таких центрах должно координироваться Минздравом РФ (в частности, в вопросах использования наиболее эффективных методов исследования; актуальный пример в этом отношении — отсутствие должной координации в области лабораторного оснащения сети перинатальных центров, организуемой в настоящее время, и, как следствие, ставка на малоперспективное оборудование, неэффективное распыление средств и вполне обозримая в уже самом ближайшем будущем необходимость замены

Таблица 1

Некоторые наследственные болезни обмена веществ, актуальные в отношении обязательного скрининга

Нарушения обмена аминокислот
• Фенилкетонурия • Лейциноз (болезнь «кленового сиропа») • Тирозинемия • Гомоцистинурия (дефицит β-цистатионинсинтетазы) • Цитруллинемия (дефицит аргининсукцинатсинтетазы) • Аргинин-янтарная ацидурия (дефицит аргининсукцинатлиазы) • Аргининемия (дефицит аргиназы)
Нарушения обмена органических кислот
• Пропионовая ацидемия • Метилмалоновая ацидемия • Дефицит изобутирил-КоА-дегидрогеназы • Изовалериановая ацидемия • Дефицит 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-лиазы • Глутаровая ацидемия, тип 1 • Дефицит 2-метилбутирил-КоА-дегидрогеназы • Дефицит 3-метилкротонил-КоА-карбоксилазы • Дефицит β-кетотилазы
Нарушения окисления жирных кислот
• Дефицит ацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот: – с короткой цепью – со средней цепью – с длинной цепью • Дефицит 3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы с длинной цепью и трифункционального белка • Дефицит карнитинпальмитилтрансферазы, тип 1 и 2 • Дефицит карнитинацилкарнитинтранслоказы • Дефицит транспортера карнитина • Глутаровая ацидемия, тип 2
Нарушения обмена пуринов и пиримидинов
• Недостаточность аденинфосфорибозилтрансферазы • Недостаточность дигидропиримидиназы • Дефицит дигидропиримидиндегидрогеназы • Дефицит аденозиндезаминазы • Оротовая ацидурия • Дефицит β-уреидопропионазы • Дефицит аденилсукцинатлиазы • Дефицит пуриннуклеозидфосфорилазы • Дефицит ксантиндегидрогеназы • Дефицит гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы (синдром Леша–Найхана) • Дефицит молибденового кофактора (ксантинурия 3) • Недостаточность тимидинфосфорилазы

основных элементов лабораторной базы). Во-вторых, государством должен развиваться доступ медицинских учреждений всех, в том числе самых «низовых» уровней к возможностям современной лабораторной медицины: через технологии «у постели», через системы скрининга, через возможности максимально облегченной связи с клиничко-лабораторными центрами. Технологии и проблемы государственной координации в области лабораторной диагностики наследственных болезней представляют собой огромный комплекс системных вопросов, каждый из которых требует своего обсуждения в отдельной публикации.

В настоящее время система скринингового выявления наследственных болезней у новорожденных включает в себя обязательное обследование всех новорожденных на наличие пяти заболеваний: фенилкетонурии, муковисцидоза, гипотиреоза, адреногенитального синдрома и галактоземии. В то же время современные представления об этиопатогенетических особенностях наследственных нарушений обмена, о технологических возможностях их выявления и, все чаще, эффективной коррекции заставляют многие страны идти по пути расширения круга заболеваний, на выявление которых должен быть направлен обязательный скрининг (табл. 1).

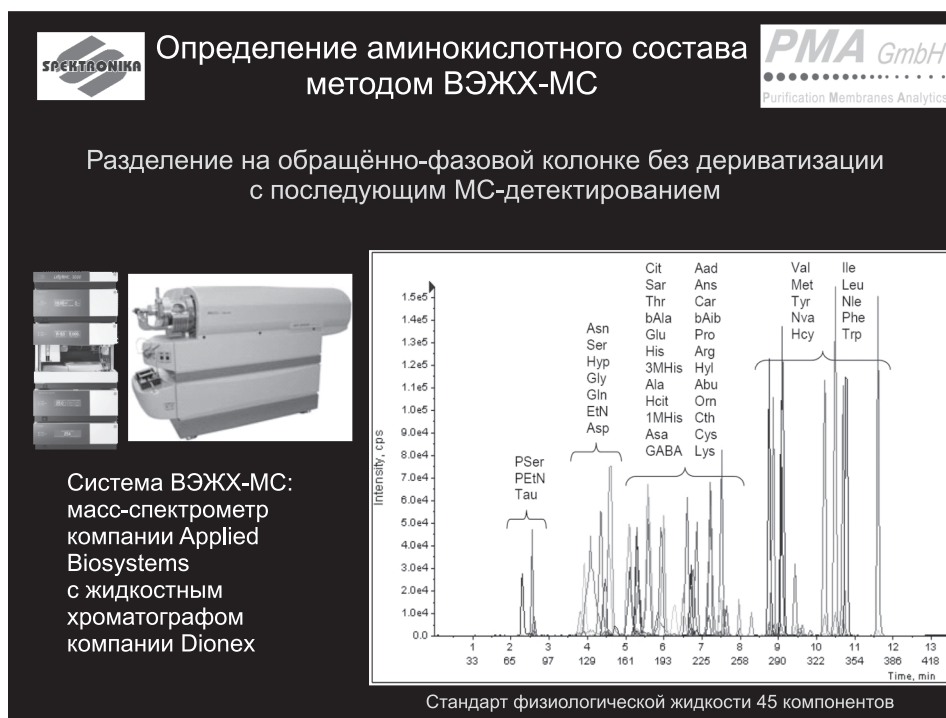


Рис. 1

В этом отношении оснащение более современными технологиями (такими, как масс-спектрометры с гибридной геометрией) позволяет не только проводить обязательный в настоящее время скрининг с максимальной чувствительностью и минимальной себестоимостью, но и расширять спектр анализируемых метаболитов в случае актуализации такой задачи на государственном уровне.

Огромное количество наследственных болезней дебютирует на фоне, как правило, неотягощенного перинатального анамнеза крайне ограниченным спектром клинических симптомокомплексов: задержкой психомоторного развития, мышечной гипотонией или дистонией, эпилептическими приступами у детей первого года жизни. Чем активнее взаимодействуют клиницисты и патологи в процессе дифференциально-диагностического поиска, чем более они информированы, и чем выше технологические возможности лаборатории, тем эффективнее и быстрее может быть поставлен правильный диагноз. Естественно, что крупные клиничко-лабораторные центры наиболее приспособлены для проведения сложных аналитических процедур. Во многом последние могут перекрываться с таковыми, необходимыми для неонатального скрининга. Так, уже упоминавшиеся масс-спектрометрические технологии с гибридной геометрией, способные осуществлять в ходе одного масс-спектрометрического анализа как количественное, так и качественное исследование, могут сразу определить наличие маркеров более сорока наследственных заболеваний обмена веществ (рис. 1).

Естественно, на пути подобного сложного поиска наибольшего успеха могут добиться наиболее хорошо оснащенные многофункциональные лаборатории, в которых хорошо налажена как внутрилабораторная координация исследований, так и постоянное взаимодействие со специалистами клинических подразделений, в первую очередь с клиническими генетиками. В диагностическом поиске при этом могут участвовать самые разнообразные технологии, причем появление нового результата с помощью одних методов часто критически определяет дальнейший аналитический путь с помощью других. Таким образом, концентрация в рамках единого центра различных технологических возможностей (современных биохимических анализаторов, способных выявлять маркеры редких заболеваний, хромато-масс-спектрометрических технологий, методов молекулярной генетики и цитогенетики, современных возможностей иммунологического и цитологического анализа, методов комплексного морфологического обследования прижизненного биопсийного материала с использованием гистохимии, морфометрии и электронной микроскопии и др.) значительно ускоряет возможность постановки правильного диагноза, что, особенно в случае наследственных нарушений обмена веществ, подчас бывает критично в отношении успеха лечения. В качестве примера можно привести возможную последовательность диагностического поиска при органических ацидуриях (табл. 2).

Научная литература полна описаний клинических случаев, диагностический поиск при которых велся го-

дами. Отсутствие правильного диагноза, длительное неправильное лечение слишком часто сказываются на судьбе пациента роковым образом. Такие наследственные нарушения обмена веществ как тирозинемия I типа, мионейрогастроинтестинальная энцефалопатия и многие другие могут дебютировать с таких разнообразных клинических масок, что только комплексное и скоординированное использование разнообразных высокотехнологических исследовательских подходов может относительно быстро привести к диагностическому успеху.

Таблица 2

**Органические ацидурии (ацидемии) —
последовательность диагностики**

1	Острое начало (провокации), приступы, рвота, вялость, гипотония, нарушения дыхания, судороги
2	Необычный запах мочи
3	Лейкопения
4	Тромбоцитопения
5	Анемия
6	Повышение уровня трансаминаз
7	Метаболический ацидоз
8	Кетоз
9	Гипогликемия
10	Гиперлактат- и гиперпируватемия
11	Хроматографические показатели
12	Молекулярно-генетический анализ

Особо следует подчеркнуть значимость использования в многопрофильных лабораторных центрах вы-

шеупомянутых методов морфологического анализа. Широко бытующее представление о них как об исключительно онкологических средствах диагностики в корне неправильно. Морфологический анализ оказывается незаменим при многих наследственных заболеваниях, когда легко доступный для биопсии материал (кожа, слизистые, конъюнктивы, мышцы, периферические нервы и др.) при специальных методах исследования предоставляет высокоспецифичные доказательства нарушений обмена веществ. Ярким примером этого служит диагностика обширной группы миопатий, многие из которых носят врожденный характер (рис. 2). Биопсия мышц при этом позволяет в большинстве случаев не только выявить специфические признаки нервно-мышечных заболеваний, такие как немалиновые тельца или феномен «центрального стержня» при одноименных врожденных миопатиях, но и определить наличие некоторых полисистемных метаболических нарушений в тех случаях, когда миопатический симптомокомплекс есть лишь одна из клинических масок болезни обмена веществ.

Приведем в качестве иллюстрации клинический случай, описанный в клинике нашего института.

Больная Ж., 4 лет, поступила в отделение психоневрологии ФГУ МНИИ педиатрии и детской хирургии Росздрава с жалобами на мышечную слабость, задержку моторного и психоречевого развития. Диагноз направляющего учреждения: синдром Элерса—Данлоса.

Anamnesis vitae. Ребенок от молодых здоровых родителей, не состоящих в близкородственном браке. Наследственность



Рис. 2

по нервно-мышечным заболеваниям неотягощена. Экологических и профессиональных вредностей у родителей нет. Девочка от I беременности, протекавшей благоприятно. Девочка родилась недоношенной на 36 неделе, роды стремительные (продолжительность 2,5–3 часа). Родилась с массой тела 2200 г, длиной 48 см, оценка по шкале Апгар 5/7 баллов. До 5 месяцев находилась на грудном вскармливании. Раннее двигательное развитие протекало с задержкой: голову стала держать с 1 года, сидеть с 1,5 лет, ходит с поддержкой с 3,5 лет. Фразовая речь с 2 лет. Начало прорезывания зубов с 13 месяцев.

Anamnesis morbi. После рождения девочка была переведена в отделение реанимации с диагнозом: перинатальное поражение ЦНС гипоксически-ишемического характера, синдромом вегетативно-висцеральной недостаточности. Синдром дыхательных расстройств 1 степени. Недоношенность 35–36 недель. Через месяц ребенок был переведен в отделение патологии новорожденных, где находился в течение 4 месяцев с диагнозом: родовая травма шейного, поясничного отделов позвоночника. Синдром диффузной мышечной гипотонии. Итак, симптомокомплекс «вялого ребенка» отмечается у ребенка с рождения. Проводилось лечение: массаж, физиотерапия, витаминотерапия, антибактериальная терапия. Отмечалась положительная динамика — появились движения в конечностях, научилась есть с ложки. Респираторными заболеваниями не болела. В 1,5 года ребенку определена инвалидность. С этого возраста появился и начал прогрессировать сколиоз, в связи с чем стали использовать корсет для коррекции осанки. С 2 лет девочка стала ходить в ходунках. В то же время девочка консультирована генетиком по месту жительства. Для уточнения диагноза ребенок направлен был в Медико-генетический центр РАМН. Проведена молекулярно-генетическая диагностика на спинальную мышечную атрофию (результат отрицательный). Диагноз: синдром Элерса—Данлоса поставлен в возрасте 3 лет.

Данные объективного исследования. Масса тела 10 кг, рост 86 см. Состояние ребенка по основному заболеванию тяжелое. У ребенка отмечаются килевидная деформация грудной клетки, кифо-сколиотическое искривление позвоночника 3–4 степени, «крыловидные» лопатки, переразгибание во всех группах суставов, гиперэластичность кожных покровов.

Неврологический статус. Сознание ясное. Обращенную речь понимает. Инструкции выполняет частично. Общемозговые и менингеальные симптомы отсутствуют. Окружность черепа 48 см. Форма черепа ближе к долихоцефалической, звук при перкуссии обычный.

Исследование черепно-мозговых нервов. Запахи чувствует. Зрение не нарушено. Форма зрачков округлая, реакция зрачков на свет живая. Движения глазных яблок в полном объеме. Косоглазие отсутствует. Точки ветвей V нерва при пальпации безболезненны. Корнеальный рефлекс живой. Конъюнктивный рефлекс живой. Жевание не нарушено. Глазные щели D=S; носогубные складки симметричны, сглажены. Оскал симметричный. Вкусоощущение не нарушено. Слух не нарушен. Нистагм отсутствует. Глотание не нарушено. Небный рефлекс вялый, небная занавеска провисает. Uvula по средней линии. Плохо удерживает голову; повороты головы, поднятие плеч ограничены из-за деформации позвоночника. Язык по средней линии, фибрилляции на языке отсутствуют. У ребенка отмечаются диффузная гипотрофия мышц, миопатические приемы при вставании, быстрая физическая утомляемость при физической нагрузке, мышечная слабость, девочка ходит с поддержкой. Пассивные и активные движения в полном объеме.

Мышечная сила снижена диффузно: в руках на 2 балла, в ногах на 2 балла (измерено по MRS Scale). Тонус мышц резко снижен. Сухожильные рефлексы — вызываются с трудом. Брюшные рефлексы — вызываются. Координаторные пробы не выполняются. Гиперкинезы отсутствуют. Патологические рефлексы не вызываются. Нарушения чувствительности не выявлены. Функции тазовых органов не нарушены. Психоречевое развитие — задержка психоречевого развития.

Данные дополнительных исследований. Биохимический анализ крови — активность креатинфосфокиназы (КФК) 107 Е/л (в пределах физиологической нормы), повышение лактатдегидрогеназы (ЛДГ) до 460 Е/л (при норме до 450 Е/л); соотношение лактат-пируват в пределах возрастной нормы. При цитохимическом исследовании активности митохондриальных ферментов в лимфоцитах периферической крови обнаружено резкое снижение активности сукцинатдегидрогеназы (3,1 условных единиц при норме: 15,0–20,0), альфаглицерофосфатдегидрогеназы (1,3 условных единиц при норме: 7,5–11,5) и глутаматдегидрогеназы (3,1 условных единиц при норме: 7,2–11,2). Активность лактатдегидрогеназы составила 11,4 условных единиц при норме: 9,6–16,6.

При проведении электронейромиограммы при накожном отведении с мышц конечностей (больше с рук) отмечается снижение амплитуды, интерференционный тип кривой.

На электрокардиограмме выявлена умеренная тахикардия с частотой сердечных сокращений 120–128 ударов в минуту, нормальное положение электрической оси сердца, изменение реполяризации миокарда (II, III, avF, V5, V6 отведения). Эхокардиограмма выявила пролапс митрального клапана и дилатацию левого желудочка. Ультразвуковое исследование внутренних органов: реактивные изменения сосудов печени, аномалия формы и увеличение желчного пузыря, спленомегалия. Девочка консультирована специалистами клиники. Консультация кардиолога: кардиомиопатия у больного структурной миопатией. Консультация логопеда: задержка психоречевого развития. Консультация отоларинголога: гипертрофия небных миндалин 2 степени.

Заключение. Учитывая дебют заболевания с рождения, течение заболевания с положительной динамикой, на основании анамнеза, данных проведенных обследований и клинической картины заболевания, ребенку клинически поставлен диагноз: **Структурная миопатия?**

Девочке с диагностической целью была проведена биопсия мышечной ткани.

Патоморфологические изменения скелетных мышц

С диагностической целью ребенку проведена биопсия скелетно-мышечной ткани из области передней группы мышц бедра. Для приготовления гистологических препаратов биоптат был разделен на три фрагмента, фиксированные с помощью глубокой заморозки, формалином (для светомикроскопического исследования) и глутаральдегидом (с последующей дофиксацией четырехокисью осмия, для электронной микроскопии). Дальнейшая гистологическая обработка проводилась стандартным для миологических исследований комплексом методов, включавшим в себя: 1) обзорное гистологическое исследование (окраска гематоксилином и эозином); 2) гистохимическое исследование (окраска по модифицированному методу Гомори и фосфорно-вольфрамовой кислотой-гематоксилином, выявление гликогена по методу Шабадша, солей кальция по методу Косса и липидов); 3) гистоферментохимические методы (выявление активности сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы, двойное окрашивание на сукцинатдегид-

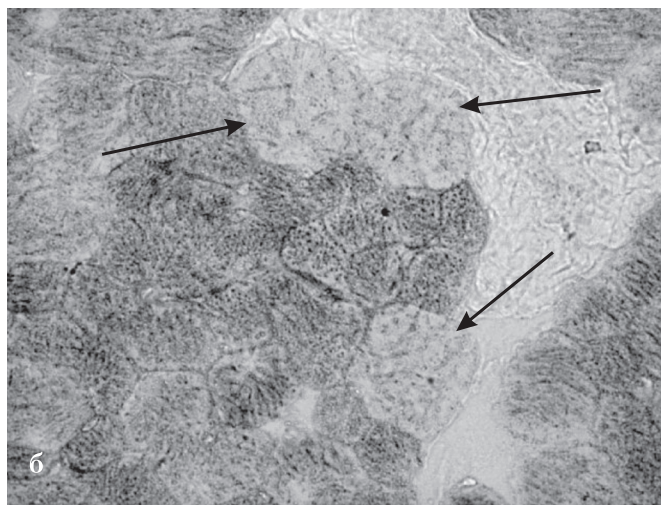
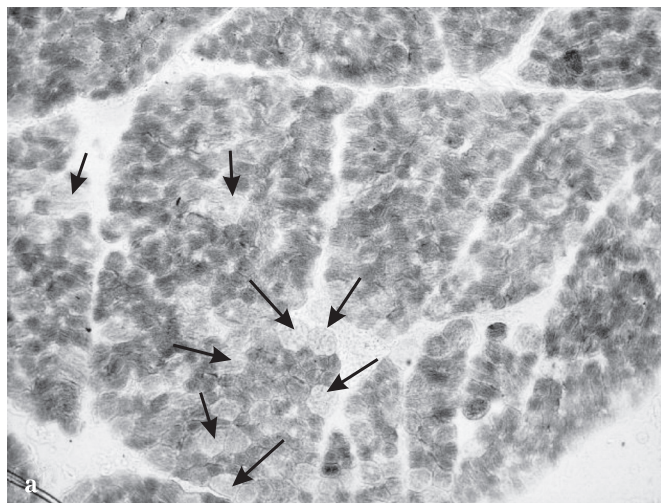


Рис. 3 а, б. Морфологические признаки врожденной структурной миопатии с диспропорцией типов мышечных волокон. Биоптат скелетной мышечной ткани из передней области бедра больной Ж. Гистохимическое выявление активности сукцинатдегидрогеназы по Нахласу. Увеличение $\times 100$ (а) и $\times 400$ (б). На фоне многочисленных скоплений мелких «красных» мышечных волокон определяются крупные и относительно редкие мышечные волокна II типа (стрелки)

рогеназу и цитохромоксидазу); 4) электронно-микроскопическое исследование.

При морфологическом исследовании было показано, что общий план строения скелетно-мышечной ткани на светооптическом уровне не изменен. Патологических изменений со стороны соединительнотканной оболочки не выявлено. Форма мионов, размеры и распределение мышечных ядер, характер исчерченности соответствовали норме. Некротизированных мышечных волокон не было. Патологических включений не обнаружено. При оценке распределения типов мышечных волокон были обнаружены грубые нарушения: количество волокон I типа было увеличено по сравнению с миомами II типа, причем размеры последних существенно превосходили размер «красных» волокон (рис. 3).

В то же время, при электронномикроскопическом исследовании обнаружены существенные нарушения ультраструктуры части мышечных волокон (предположительно I типа).

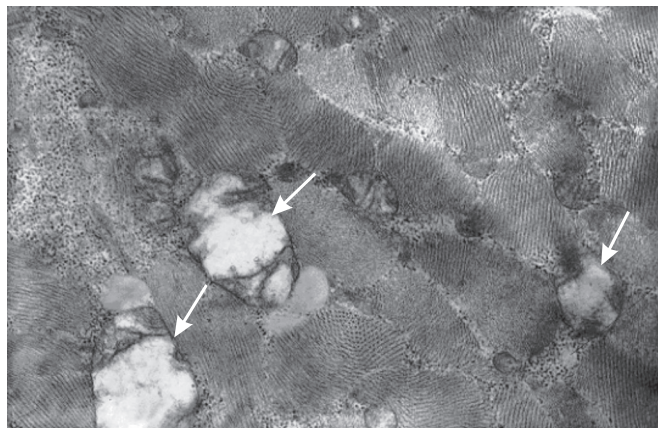


Рис. 4. Ультраструктурные изменения в скелетной мышце больной Ж. Электронная микроскопия. Увеличение $\times 20\,000$. В мышечном волокне определяются грубая дезориентация саркомеров, деструкция митохондрий (стрелки)

Эти нарушения выражались в грубой дезориентации миофибрилл (при относительно сохранной упорядоченности Z-полосок), расширении цистерн саркоплазматического ретикулума, деструкции митохондрий (рис. 4).

Таким образом, нами было диагностировано редкое наследственное заболевание — врожденная структурная миопатия с диспропорцией типов мышечных волокон, по-видимому, впервые описанное в нашей стране. Кроме этого, нами были выявлены изменения митохондрий, как при цитохимическом анализе активности митохондриальных ферментов в лимфоцитах периферической крови, так и при изучении ультраструктуры митохондрий в скелетных мышцах. При этом нам не удалось найти в зарубежной литературе данных о проведении электронномикроскопических исследований мышц при этом заболевании. В связи с этим ребенку был назначен курс энерготропной терапии, включающий препараты L-карнитина, Коэнзима Q10, витамины группы В. Последующие наблюдения в течение уже полутора лет свидетельствуют о выраженной положительной динамике у пациентки в виде увеличения двигательной активности. В настоящее время главной проблемой у нее остаются скелетные деформации, которых, видимо, можно было избежать в случае более раннего выявления митохондриальных нарушений и активного применения энерготропной терапии.

Так как большой фрагмент работ в нашем институте посвящен изучению наследственных нарушений энергообмена, проиллюстрируем вышеприведенные положения описанием комплексного лабораторного подхода к диагностике полисистемных митохондриальных нарушений.

Основным залогом диагностического успеха является именно координация клинического и лабораторного подходов, последний из которых включает в себя биохимическую, цитологическую (цитохимическую), морфологическую и молекулярно-генетическую диагностику. Так как на страницах нашего журнала мы уже представляли данный материал, позволим себе повторить основные положения вкратце.

Таблица 3

Лабораторное выявление митохондриальной недостаточности. II этап — подтверждение

Лактат и пируват	Повышение уровня
Лактат/пируват	> 20
Аминокислоты	Повышение уровня аланина, аминоацидурия
Органические кислоты	Повышение уровня продуктов цикла Кребса или 3-метилглутаконовой кислоты
Карнитин	Снижение уровня в крови или в моче
Кетоны	Кетоз после еды
Ацилкарнитины	Изменения при нарушениях β-окисления

Таблица 4

Лабораторное выявление митохондриальной недостаточности. III этап — доказательство

Предшествующие тесты	Повтор результата, особенно при меняющейся клинике
Провокационные тесты	Подтверждение результата
Цитохимический анализ	Изменение активности митохондриальных ферментов в клетках крови
Гистологический анализ мышц, кожи и др.	Гистохимия активности митохондриальных ферментов; электронная микроскопия
Молекулярно-генетический анализ	Southern blotting, long-range PCR, real-time PCR, PCR-RFLP, sequencing

В первую очередь, подозрение на наличие полисистемной митохондриальной недостаточности появляется при сопоставлении клинических данных (на специфике которых в настоящей статье мы останавливаться не будем) и результатов общих лабораторных анализов (табл. 3). Впоследствии это подозрение может получить свое подтверждение благодаря ряду более сложных биохимических исследований (табл. 4). Наконец, окон-

чательно доказывают митохондриальную природу заболевания морфологические (в первую очередь, гистохимическое выявление активности митохондриальных ферментов и электронная микроскопия) и молекулярно-генетические методы (табл. 5).

Примером эффективности координированного подхода к выбору диагностического метода может служить также внедренное нами для диагностики митохондриальных болезней цитохимическое изучение активности ферментов энергообмена в лимфоцитах периферической крови по методу Р.П. Нарциссова. Эта малоинвазивная и диагностически эффективная процедура позволила в несколько раз сократить поток больных, которым приходилось для доказательства наличия митохондриального заболевания проводить биопсию мышцы (табл. 6). Наконец, переход на неинвазивные методы оценки с возможностью частого мониторинга состояния тканевого дыхания возможен, по нашему мнению, с использованием чрескожного монитoрирования содержания кислорода и углекислого газа, особенно на фоне применения энерготропных препаратов.

Можно приводить еще много примеров, доказывающих необходимость разноуровневой координации в области лабораторной медицины. Однако вытекающие из них и кажущиеся очевидными постулаты редко находят достойный отклик среди организаторов здравоохранения. Во многом это связано со значительной дороговизной содержания крупных лабораторий с широкой линейкой применяемых аналитических процедур при небольшом потоке больных с каждым отдельно взятым видом заболевания (в связи с чем приходит в негодность большая часть неизрасходованных реактивов). Но все-таки немногочисленные в нашей стране примеры, одним из которых является клинико-лабораторная база Московского НИИ педиатрии и детской хирургии, все более убеждают, что без существенных организационных усилий в этом направлении трудно добиться какого бы то ни было успеха в диагностике наследственных болезней.

Таблица 5

Сравнительная характеристика методов диагностики нарушений клеточного энергообмена

Показатель	Визуальный анализ клеток крови	Компьютерный анализ клеток крови	Световая микроскопия мышц	Электронная микроскопия мышц
Чувствительность, %	86	97,8	79,3	93,1
Специфичность, %	86,2	90,5	100	100
Время выполнения	4 часа	4 часа	1 нед.	3–4 нед.
Сложность	Низкая	Средняя	Высокая	Очень высокая
Возможность повтора	+	+	—	—
Стоимость	Низкая	Средняя	Высокая	Очень высокая

ВНЕДРЕНИЕ СТАНДАРТОВ ИСО В ОБЛАСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ

Н.П. МУРАВСКАЯ

Зам. директора Федерального государственного унитарного предприятия
«Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений»,
академик Метрологической академии

INTRODUCTION OF ISO STANDARDS IN LABORATORY MEDICINE

N.P. MURAVSKAYA

Russian Scientific Research Institute of Optical and Physical Measurement,
vice-director, academician of Metrological Academy

Метрологическое обеспечение любого процесса и в том числе проведения лабораторных анализов включает в себя не только проведение измерений, но и наличие нормативных документов, регламентирующих проведение всех работ, и легитимизации того или иного процесса. Все это невозможно было бы провести без наличия национальных стандартов в этой области. Стандартизация в настоящее время неотделима от гармонизации национальных стандартов с международными.

В Международной организации по стандартизации (ИСО) существуют два технических комитета, имеющие отношение к лабораторной медицине непосредственно.

ТК 194 — Биологическая оценка медицинских приборов.

ТК 212 — Клинические испытательные лаборатории и *in vitro* диагностические системы.

На сегодняшний день в ИСО в данной области действуют 17 стандартов:

1. **ИСО 10993-12:2002** Биологическая оценка медицинских приборов. — Часть 12: Подготовка проб и стандартных образцов.
2. **ИСО 17593:2007** Клинические испытательные лаборатории и *in vitro* медицинские приборы. — Требования для систем *in vitro* мониторинга для самотестирования оральной антикоагулянтной терапии (в настоящее время находится в стадии принятия как ГОСТ Р).
3. **ГОСТ Р ИСО 15189:2007** Медицинские лаборатории. — Частные требования по качеству и компетентности.
4. **ИСО 15190:2003** Медицинские лаборатории. — Требования для безопасности.
5. **ГОСТ Р ИСО 15193:2007** Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Измерение величин в пробах биологической природы. Представление референсных методик выполнения измерений.
6. **ГОСТ Р ИСО 15194:2007** Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Измерение величин в пробах биологической природы. — Описание стандартных образцов.
7. **ГОСТ Р ИСО 15195:2003** Лабораторная медицина. Требования к лабораториям референсных измерений.
8. **ИСО 15197:2003** *In vitro* диагностические испытательные системы. — Требования для систем контроля глюкозы крови для самотестирования для корректировки диабетического состояния (находится в стадии принятия как ГОСТ Р).
9. **ИСО 15198:2004** Клиническая лабораторная медицина. — *In vitro* диагностические медицинские приборы. — Подтверждение процедур проверки качества для пользователя изготовителем.
10. **ГОСТ Р ИСО 17511:2003** Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Измерение величин в биологических пробах. Метрологическая прослеживаемость значений, приписанных калибраторам и контрольным материалам.
11. **ИСО 18112:2006** Клинические испытательные лаборатории и *in vitro* медицинские приборы. *In vitro* диагностические медицинские приборы для профессионального использования. — Общие обязательные требования по предоставляемой изготовителем информации.
12. **ГОСТ Р ИСО 18153:2003** Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Измерение величин в биологических пробах. Метрологическая прослеживаемость значений каталитической концентрации ферментов, приписанных калибраторам и контрольным материалам.
13. **ИСО 19001:2002** Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Представляемая изготовителем информация об окрашивании реагентов для *in vitro* диагностики в биологии.
14. **ИСО 20776-1:2006** Клинические испытательные лаборатории и *in vitro* диагностические тест-системы. — Испытания восприимчивости к инфекционным объектам и оценки антибактериальной вос-

приимчивости испытываемых приборов. — Часть 1: Референсный метод испытаний *in vitro* активности антибактериальных объектов против быстрого роста аэробных бактерий, присутствующих в инфекционных болезнях.

15. **ИСО 20776-2:2007** Клинические испытательные лаборатории и *in vitro* диагностические тест-системы. — Испытание восприимчивости инфекционных объектов и оценки антибактериальной восприимчивости испытываемых приборов. — Часть 2: Оценка антибактериальной восприимчивости испытываемых приборов.
16. **ИСО 22869:2005** Медицинские лаборатории. — Руководство для лабораторий по применению ИСО 15189:2003.
17. **ИСО 22870:2006** Передвижной пост. Требования к качеству и компетентности.

Очень важной и своевременной оказалась проведенная Академией им. Сеченова работа по гармонизации шести стандартов в области лабораторной медицины (ГОСТ Р ИСО 15195, 15193, 15194, 17511, 18153, 15189). Комплекс этих стандартов позволит не только упорядочить процесс проведения лабораторных исследований, но и создать достаточный объем приборов и эталонов различного уровня для метрологического обеспечения лабораторной медицины.

Как видно из перечня принятых стандартов, все они имеют метрологическую составляющую.

Одним из основных аспектов практически во всех стандартах является обеспечение прослеживаемости результатов измерений.

ГОСТ Р ИСО 15189

Настоящий стандарт, включающий в себя основные нормативные положения ИСО/МЭК 17025 и ИСО 9001, содержит требования к компетентности и качеству, которые должны быть присущи медицинским лабораториям. Допускается установление специальных правил или требований по отношению к некоторым дипломированным специалистам применительно к виду их деятельности и ответственности в данной области.

ГОСТ Р ИСО 15193

Стандарт содержит требования к описанию методик референтных измерений, соответствие которым обеспечивает получение с помощью этих методик результатов с требуемой низкой степенью неопределенности. Методики референтных измерений должны быть высокого метрологического порядка, и их аналитические принципы измерений должны допускать адекватно низкую неопределенность. Результаты референтных измерений должны быть прослеживаемы до стандартных образцов или до референтных методик измерений более высокого порядка. Методики референтных измерений играют решающую роль в обеспечении единства измерений

в лабораторной медицине, потому что они могут быть использованы:

- в оценке характеристик способности измерительных систем, включающих измерительные приборы, дополнительное оборудование и реагенты,
- в демонстрации функциональной взаимозаменяемости различных рутинных методик измерения, имеющих целью измерение одной и той же величины,
- в приписывании значений стандартным образцам, которые используются для целей калибровки или контроля рутинных методик измерения,
- в установлении аналитически влияющих величин в пробах пациентов.

Применение методик референтных измерений составляет содержание деятельности лабораторий референтных измерений.

ГОСТ Р ИСО 15194

Стандарт содержит основные требования к описанию стандартных образцов.

Стандартные образцы используются для одной из трех основных целей:

- а) калибровки значений, выдаваемых измерительной системой или приписанных другому стандартному образцу;
- б) подтверждения правильности значений, измеренных в данной лаборатории или в группе лабораторий;
- в) оценки эксплуатационных качеств новой методики измерения.

ГОСТ Р ИСО 15195

ИСО/МЭК 17025:2005 установлены общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий. Настоящий стандарт рассматривает специфические аспекты компетентности калибровочных лабораторий в области лабораторной медицины, в которой такие «калибровочные лаборатории» обычно обозначаются как «лаборатории референтных измерений».

Результаты, полученные в медицинских лабораториях, должны иметь прослеживаемость по отношению к стандартным образцам [1] и/или к методикам референтных измерений более высокого уровня.

[1] *Принятый в отечественной метрологической литературе термин «стандартный образец» соответствует использованному в оригинальном тексте международного стандарта термину “reference material”.*

Это необходимо, чтобы обеспечить прослеживаемость результатов измерений величин в пробах пациентов безотносительно к месту и времени их проведения.

Для достижения этой цели первым и существенным шагом является определение величины, которая должна быть измерена. Как только величина определена, должна быть установлена система референтных измерений, состоящая из следующего:

- стандартные образцы;

- методики референтных измерений;
- лаборатории референтных измерений.

ГОСТ Р ИСО 18153

Настоящий стандарт устанавливает правила обеспечения метрологической прослеживаемости значений, приписанных калибраторам и контрольным материалам, предназначенным для установления или подтверждения правильности измерения каталитической концентрации ферментов. Калибраторы и контрольные материалы предоставляются производителями как составная часть медицинских изделий для диагностики *in vitro* или для применения с ними.

ГОСТ Р ИСО 17511

Настоящий стандарт устанавливает правила обеспечения метрологической прослеживаемости значений, приписанных калибраторам и контрольным материалам, предназначенным для установления или подтверждения правильности измерений. Калибраторы и контрольные материалы предоставляются производителями как составная часть медицинских изделий для диагностики *in vitro* или для применения вместе с ними.

Для внедрения данных стандартов необходимо создание в стране цепочки прослеживаемости в лабораторной медицине. Для этого можно использовать методические материалы, разработанные Объединенным комитетом по прослеживаемости в лабораторной медицине МБМВ. Этот комитет был создан в 2003 году Международным бюро по мерам и весам, Международной федерацией по клинической химии и лабораторной медицине и ИЛАК. Один из последних документов, выпущенных этим комитетом, направлен на создание

четкой измерительной и калибровочной иерархии в лабораторной медицине. В соответствии с этим документом основная роль в обеспечении прослеживаемости результатов измерений отводится национальным метрологическим институтам, которые не только обеспечивают единство измерений в стране, но и осуществляют обслуживание референтных лабораторий в части обеспечения прослеживаемости результатов измерений.

Как видно из списка стандартов ИСО, существуют также стандарты по отдельным видам приборов для лабораторной медицины (например, индивидуальные глюкометры). Для многих приборов лабораторной медицины осуществить их поверку можно только с помощью стандартных образцов. На сегодняшний день отечественная база стандартных образцов для лабораторной медицины практически отсутствует. Проблему следует решать с помощью импортных проб и материалов, но необходимо придать им статус аттестованных стандартных образцов. К сожалению, проблема создания строгой структуры их признания еще не решена и отсутствует эталонная база. Эта проблема также в настоящее время обозначилась и в метрологических кругах Западной Европы, Америки и Японии. Многие страны (США, Германия, Япония, Китай, Нидерланды) на сегодняшний день ввели в СМС-таблицы (Таблицы калибровочных способностей) большое количество сертифицированных референсных материалов в области лабораторной медицины (более 100 типов).

Решение проблемы возможно при консолидации усилий всех метрологических институтов, научных медицинских центров и клинико-диагностических лабораторий как по созданию ГСО, аттестации ГСО, так и по созданию нормативных документов и др.



ПРОБЛЕМЫ И ЗАДАЧИ ИНТЕГРАЦИИ РОССИИ В МЕЖДУНАРОДНУЮ СИСТЕМУ ЕДИНСТВА ИЗМЕРЕНИЙ В ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЕ

Л.А. КОНОПЕЛЬКО¹, В.И. СУВОРОВ²

¹ ФГУП «ВНИИМ» имени Д.И. Менделеева. Руководитель отдела государственных эталонов в области физико-химических измерений.

Главный метролог комитета по здравоохранению при администрации СПб

² ФГУП «ВНИИМ» имени Д.И. Менделеева. Ученый секретарь, руководитель лаборатории электрохимических измерений

Резюме. Современное развитие лабораторной медицины как высокотехнологической отрасли медицинской науки требует адекватного обеспечения метрологической корректности выполняемых измерений. Авторы знакомят читателей с международной системой сопоставимости результатов аналитических измерений и приводят неоспоримые аргументы необходимости совместных усилий специалистов лабораторной медицины и метрологов для создания в России такой системы.

Ключевые слова: единство измерений, неопределенность, стандарт, стандартный образец, измерение.

PROBLEMS AND GOALS OF INTEGRATION OF RUSSIAN FEDERATION INTO THE INTERNATIONAL SYSTEM OF UNIFICATION OF MEASUREMENT IN LABORATORY MEDICINE

L.A. KONOPELKO¹, V.I. SUVOROV²

¹ Federal state company "All-Russia D.I. Mendeleev Scientific Research Institute of Metrology", Chief of the Department of the state standards in physical and chemical measurement.

Chief metrologist of the Health Care Department of administration of Saint-Petersburg

² Federal state company "All-Russia D.I. Mendeleev Scientific Research Institute of Metrology", scientific secretary, Chief of the Laboratory of electrochemical measurements

Summary. Modern development of laboratory medicine as the high technological branch of medical science needs the adequate and precise metrological control of the measurements performed. The authors introduce the international system of compatibility of the results of analytic measurements and prove the necessity of joint collaboration between the laboratory medicine specialists and metrologists and building of the same system in Russia.

Key words: unification of measurements, uncertainty, standard, standard sample, measurement.

Каждое столетие в России начинается реформой в метрологии: XX началось реформой Д.И. Менделеевым российских мер (сажени, пяди, чарки и т.д.), а XXI — введением новой редакции закона «Об обеспечении единства измерений». Главное отличие новой версии закона от версии 1993 г. — его соответствие всем международным нормам, с одной стороны, и четкая сфера государственной ответственности, с другой. Здравоохранение, безусловно, осталось в сфере государственного контроля и надзора.

1. При обосновании введения в России метрической системы Д.И. Менделеев писал: «...основную задачу мер Палаты мер и весов должно составлять точное объединение мер, применяемых в торговле и промышленности Империи, и укрепление во всем мире доверия к постановке метрологических задач в России». Проблема доверия является центральной во всей цепочке обеспечения единства измерений. Но прежде чем нашим

лабораторным исследованиям будут доверять в иностранных клиниках, мы должны добиться того, чтобы наша система обеспечения единства измерений в лабораторной медицине соответствовала международным документам, т.е. в полной мере отвечала требованиям нового закона. И не только в области квалификации специалистов и технического оснащения лабораторий, но соответствовала требованиям к обеспечению метрологической прослеживаемости. А эта задача, как показывает международный опыт, упирается в совместную деятельность клиницистов, метрологов и стандартизаторов, началом которой должен послужить равноправный диалог клиницистов и метрологов.

Таким образом, с нашей точки зрения, доверие — основная проблема, включающая полноценное взаимодействие лаборатории и метрологов в решении проблемы достоверности результатов исследований.

Но прежде чем такое доверие станет возможным, специалисты лабораторной службы должны четко по-

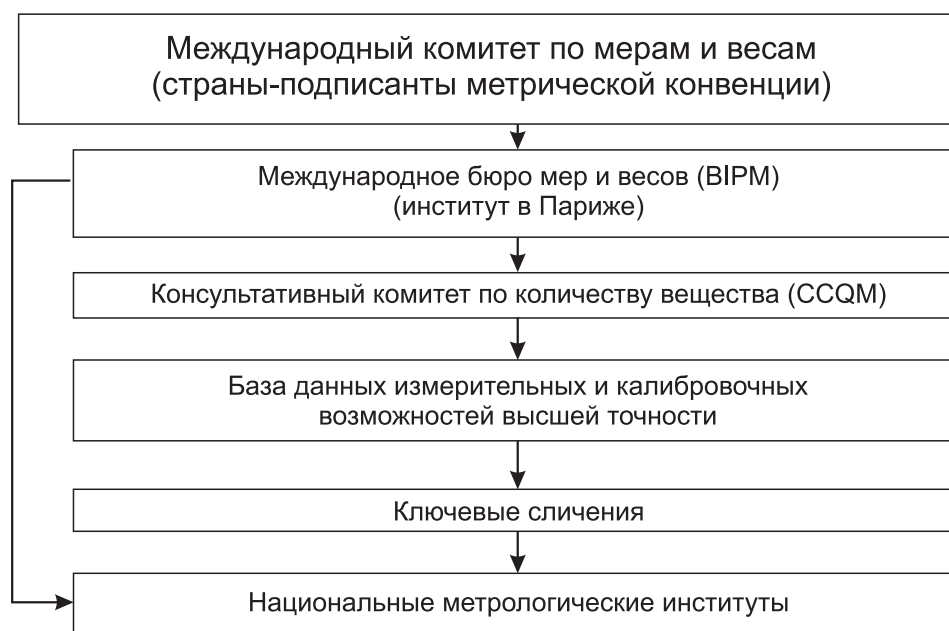


Рис. 1. Международная система сопоставимости результатов аналитических измерений

нимать роль и место метрологов в процессе их борьбы за правильность своих исследований.

2. Постараемся на простом примере ответить на вопрос: «Зачем нужен метролог в КДЛ?» С той работой, которой он сейчас занимается, — ведением графиков проверок — метролог не нужен: прекрасно справляется, например, старшая медсестра.

Но вмешательство метрологов, как это и ни покажется для клиницистов странным (а зачастую и неприятным), помогает решить один из центральных вопросов лабораторной медицины: истинность и сопоставимость получаемых результатов. Следующий пример подтверждает это мнение авторов.

По программе Комитета по здравоохранению СПб некоторое время назад в межлабораторных исследованиях «Измерения глюкозы в крови» приняли участие 22 КДЛ СПб. В лабораториях использовались методы глюкозооксидазный, гексокиназный, потенциометрический, а также контрольные материалы различных производителей. На 1-м этапе (до вмешательства метрологов) расхождения результатов между участниками составили $\pm 18\%$. Однако на 2-м этапе, после выполнения рекомендаций метрологической службы Комитета, расхождение результатов не вышло за границы $\pm 5,5\%$.

Казалось бы, что этот первый опыт убедительно доказывает всю плодотворность такого взаимодействия. Но прошло уже более пяти лет, а мы по-прежнему говорим ещё только о возможности диалога, всё ещё сомневаемся в его целесообразности, блюдем чистоту своих рядов: «и без вас, технарей, как-нибудь справимся». Проблема взаимодействия может остаться вечной нашей

проблемой, если считать: раз нет на сегодняшний день стандартных образцов (биоматериала), то и нечего к нам лезть с советами и рекомендациями. Эта позиция контрпродуктивна, но есть другой подход — международные организации его прекрасно реализуют: работают вместе и последовательно.

3. Клиницисты развитых стран уже десять лет как поняли, что без взаимодействия с метрологами решить задачу оценки неопределенности измерений всего процесса количественной оценки аналитов в пробах без привязки к исходным эталонам не получится.

На рисунке 1 приведена общая схема Международной системы сопоставимости результатов аналитических измерений (метрология в здравоохранении).

Центральное звено, обеспечивающее взаимодействие метрологов и клиницистов, — Международный комитет по прослеживаемости в лабораторной диагностике. В конце 90-х годов международное метрологическое сообщество осознало, что лабораторная практика развивается при отсутствии адекватной метрологической базы. Вследствие этого 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;
- EN 12287 :1999; ISO 15194 In vitro diagnostic medical devices — Measurement of quantities in samples of biological origin — Description of reference materials;
- prEN ISO/FDIS 15195 Laboratory Medicine — Requirements for reference measurement laboratories. Management system requirements. Technical requirements;
- ISO Guide 30 : 1992;
- ISO 17025:2005 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories;
- ISO 17511 In vitro diagnostic medical devices — Measurement of Quantities In biological samples — Metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials;
- ISO 18153 In vitro diagnostic medical devices — Measurement of Quantities In biological samples — Metrological traceability of values for catalytic concentration of enzymes.

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.bipm.org>.

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

Рабочая группа WG1 опубликовала на указанном сайте:

List 1 — (компоненты, значения которых прослеживаемы к SI, напр., электролиты, ферменты), в том числе для:

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

List 2 — (компоненты, значения которых не прослеживаемы к SI; напр., нуклеиновые кислоты, факторы свертываемости и т.п.):

- 7 SRM для протеинов,
- 10 SRM для факторов свертываемости (в табл. 1 приведен пример из компьютерной базы JCTLM “Laboratory medicine and *in vitro* diagnostics”).

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.

4. Международный опыт решения проблемы взаимодействия — единственно правильный путь. Вопрос в том, можем ли мы им воспользоваться?

Чтобы ответить на этот вопрос, необходимо представлять себе: во-первых, соответствует ли наша нормативная база требованиям международных стандартов, во-вторых, уровень эталонной базы в здравоохранении и уровень наших измерений в лабораторной медицине.

Технической основой метрологического обеспечения измерений является система стандартных образцов (эталонов), обеспечивающая воспроизведение единиц величин, характеризующих состав и свойства биологических материалов. Кроме этого, необходима система передачи размера величин от эталонов всем средствам измерений.

Основной целью метрологического обеспечения является обеспечение получения результатов измерений состава компонентов с заданной точностью.

Для реализации этой цели необходимо:

- передать каждой лаборатории размер единицы измеряемой физической величины (молярной концентрации, ферментативной активности и др.) с указанием его неопределенности.

Для обеспечения достижения основной цели необходимы:

- воспроизведение моля как базовой физической величины в любых физико-химических измерениях;
- передача каждому потребителю размера единицы измеряемой физической величины, например, молярной концентрации аналита;

Таблица 1

JCTLM “Laboratory medicine and in vitro diagnostics”
List 1. Glucose

Тип	Матрица	Содержание компонента	Производитель
1. Glucose blood serum	blood plasma	от 1 до 25 ммоль/л 1,5%	UGent, Belgium
2. SRM 965a	frozen human serum	от 1,918 до 16,24 ммоль/л от 0,02 до 0,19 ммоль/л	NIST
3. Glucose whole blood	blood serum plasma, urine	от 0,5 до 20 ммоль/л 1%	DGKL, Germany
4. Glucose whole blood	blood serum plasma	от 0 до 8000 мг/л 1,7%	NIST
5. Glucose	frozen human serum	4,6 ммоль/л 0,13 ммоль/л	CENAM, DMR
6. Glucose	crystalline	99,01%, 0,14%	CENAM
7. SRM 917b	D-glucose	99,7%, 0,2%	NIST
8. JCCRM521	human serum	от 73,9 до 239 мг/л от 0,5 до 1,7 мг/л	HECTEF, Japan
9. SRM 965a	frozen human serum	от 1,918 до 16,24 ммоль/л от 0,02 до 0,19 ммоль/л	NIST

- обеспечение всех потребителей аттестованными методиками выполнения измерений, обработки результатов измерений и оценки неопределенности.

Особенностью физико-химических измерений состава веществ является отсутствие единого эталона базовой физической величины — моля либо в качестве артефакта (как эталона килограмма), либо в качестве точно определенных процедур на точно определенных приборах (как меры длины и времени). В соответствии с этим, реализация основных функций системы метрологического обеспечения физико-химических измерений — воспроизведения единицы моля и передачи потребителю его размера — осуществляется через создание и использование химических мер — стандартных образцов веществ и материалов. При этом необходимым атрибутом стандартных образцов является их прослеживаемость к единицам системы СИ (возможность соотношения их значений с принятыми реперами — национальными и международными эталонами — посредством неразрывной цепи сличений с установленными неопределенностями).

Решение этой задачи осуществляется через участие НМИ в Соглашении о взаимном признании национальных эталонов и сертификатов калибровки и измерений (MRA), выдаваемых национальными метрологическими институтами. Механизм Соглашения, заключенного в 1999 г., включает проведение международных сличений (пилотных, ключевых, дополнительных), взаимную экспертизу высших измерительных и калибровочных возможностей, а также проверку систем менеджмента

качества в национальных метрологических центрах, заявивших эти возможности. Соглашение реализуется под эгидой Международного бюро мер и весов (МБМВ), а химическое направление курирует Консультативный комитет по количеству вещества (КККВ). Работа КККВ ведется через рабочие группы, организованные по приоритетным задачам анализа.

Создание прослеживаемых стандартных образцов высшего метрологического уровня является одной из основных задач национальных метрологических институтов (НМИ) в области МО медтехники.

В РФ функционирует система разработки и выпуска стандартных образцов и материалов, включающая более 200 производителей (научно-исследовательских институтов и промышленных предприятий). Их деятельность опирается на развитую нормативную базу (35 документов) и координируется Государственной службой стандартных образцов.

Для биохимических и гематологических СО прослеживаемость результатов измерений к единицам системы СИ может обеспечиваться двумя путями.

Для СО свойств биологических жидкостей (например, pH, удельная электропроводность, оптическая плотность и т. д.) требование прослеживаемости выполняется через их аттестацию с помощью соответствующих эталонов и образцовых средств измерений.

Для СО состава, в связи с отсутствием эталона количества вещества, прослеживаемость к СИ осуществляется с использованием *первичных методов* с помощью переходных коэффициентов, например, молярных масс, постоянной Фарадея или постоянной Авогадро (все они имеют оцененные неопределенности), а также косвенным способом:

- через другие методы, имеющие оцененные неопределенности;
- с помощью стандартных образцов, имеющих значения с оцененными неопределенностями.

Первичный метод — метод, имеющий наивысшие метрологические характеристики, операции которого могут быть полностью описаны и поняты, который не предусматривает получение результатов измерений на основе соотношения с эталоном измеряемой величины, с установленной полной неопределенностью, выраженной в единицах системы СИ. В соответствии с рекомендациями КККВ устанавливаются следующие первичные методы:

- гравиметрия;
- титриметрия;
- кулонометрия;

- масс-спектрометрия с изотопным разбавлением;
- дифференциальная сканирующая калориметрия;
- внутрИрезонансная лазерная спектрометрия;
- нейтронно-активационный анализ.

Стандартные образцы, аттестованные первичными методами, считаются «первичными СО», имеющими наивысшие метрологические характеристики.

Все остальные методы (например, атомно-абсорбционная спектрофотометрия, спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой, хроматография, полярография и т. д.) относятся к «методам сравнения» и их использование возможно только с применением СО. Прослеживаемость СО, аттестованных с применением «методов сравнения», может быть реализована только при условии использования первичных СО либо аттестованных смесей, приготовленных на их основе.

Определение состава биологической жидкости в качестве объекта измерения имеет свои характерные особенности:

- разнообразие аналитических задач, методов и вариантов их аппаратурного оформления, а также применение аналитических приборов универсального назначения;
- определяющее влияние процессов пробоотбора и пробоподготовки на результат измерения;
- необходимость идентификации определяемого компонента пробы;
- использование для градуировки и контроля точности расходуемых образцов;
- влияние матричных эффектов на результат измерения;
- существенная зависимость качества аналитической информации от квалификации персонала и организации работ в КДЛ.

Состояние эталонной базы в области физико-химических измерений

В настоящее время в России в области физико-химических измерений действуют следующие государственные эталоны:

- ГЭТ 154-01. Государственный первичный эталон единиц молярной доли и массовой концентрации компонентов в газовых средах;
- ГСЭ 164-2003. Государственный специальный эталон единицы массовой концентрации частиц для аэродисперсных сред с заданными параметрами;
- Исходная установка для воспроизведения и передачи размера единицы массовой доли органических супертоксикантов;
- Исходная эталонная установка для аттестации высочоточных стандартных образцов на базе масс-спектрометра с индуктивно-связанной плазмой;
- ВЭТ 162-1-2002. Вторичный эталон для атомных спектральных измерений;

- ГЭТ 138-2003. ГПЭ единицы показателя преломления;
- ГЭТ 54-98. ГПЭ шкалы рН;
- ГЭТ 132-99. ГПЭ единицы удельной электрической проводимости растворов.

Существующий комплекс исходных эталонов позволяет решить проблему прослеживаемости в области физико-химии для большинства используемых методов, в том числе:

- хромато-масс-спектрометрического,
- газовой хроматографии,
- жидкостной хроматографии,
- масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой,
- атомно-абсорбционной спектрофотометрии,
- атомно-эмиссионной спектрометрии,
- рентгено-флуоресцентной спектрометрии,
- колориметрии и титриметрии,
- ИК и УФ спектрофотометрии,
- электрохимии.

Несмотря на существующее в стране единое эталонное обеспечение, существует значительное различие между разными отраслями физико-химических измерений. Такое различие хорошо демонстрирует сравнительный анализ калибровочных и измерительных возможностей России, приведенный на официальном сайте МБМВ (рис. 2). Столь малая доля измерительных возможностей в здравоохранении объясняется, прежде всего, недоступностью отечественным лабораториям многих прогрессивных методов количественного анализа вещества со сложной матрицей, такого как кровь. Ключевые сличения по измерению аналитов в сыворотке крови, в которых участвовала Россия, показали, что для того, чтобы попасть в заданные нормы неопределенности, недостаточно оснастить лаборатории новыми биохимическими и гематологическими анализаторами. Необходима система медицинских лабораторий «высокого уровня», которые только и в состоянии обеспечить внедрение современных измерительных технологий, таких как хромато-масс-спектрометрия с изотопным разбавлением и римановская спектрометрия. Внедрение этих технологий обеспечит не только требуемый уровень измерений аналитов, но и выпуск ГСО сыворотки крови, без которых невозможно метрологическое сопровождение изготовления.

Состояние нормативной базы

Правовые основы обеспечения единства измерений в Российской Федерации устанавливаются законами «О техническом регулировании» и «Об обеспечении единства измерений». В законах определены сферы государственного регулирования, формы регулирования и оценки соответствия, место государственных и отраслевых нормативных документов. Специальные требования к средствам измерений медицинского назначения должны указываться в соответствующем техническом регла-

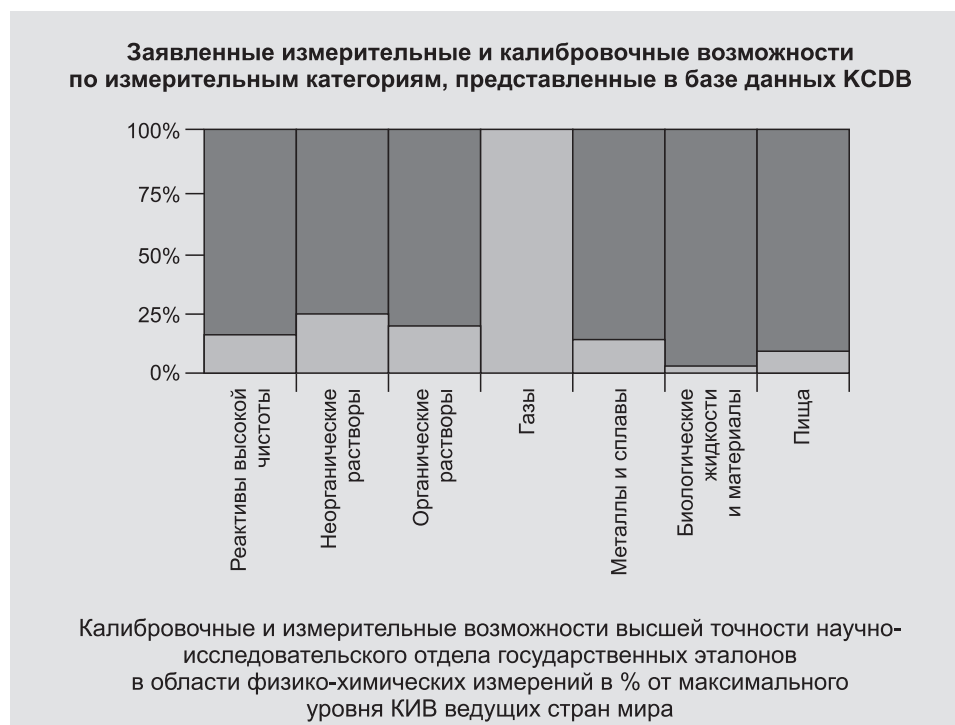


Рис. 2. Сравнительный анализ калибровочных и измерительных возможностей России в области физико-химических измерений

менте (проект закона «О медицинских изделиях» размещен на сайте Ростехрегулирования).

В нашей стране принято и распространено на все диагностические лаборатории, обеспечивающие обслуживание населения, большинство стандартов ИСО. Подробно новые стандарты ГОСТ Р ИСО рассматриваются в докладе Н.П. Муравской (ВНИИОФИ, Москва). Проекты новых стандартов, напрямую касающиеся метрологической прослеживаемости, активно внедряются заведующим Лабораторией проблем клинко-лабораторной диагностики, лидером отечественной лабораторной медицины, профессором В.В. Меншиковым (приведены в справочнике «Лабораторная диагностика России» 2008/2009).

Создалась парадоксальная ситуация. С одной стороны, в стране действуют нормы и стандарты прослеживаемости в лабораторной диагностике, полностью отвечающие требованиям европейских директив и стандартов ИСО, а с другой стороны — наблюдается полное непонимание и бездействие большинства (если не ска-

зать значительного большинства) в части их реализации. Да, конечно, есть организационные и финансовые трудности в реализации первичных методов, но полное неприятие естественного желания метрологов помочь в получении правильных результатов вызывает, скромно скажем, недоумение.

Хочется думать, что здравый смысл победит, тем более что есть четкое понимание конкретных задач и путей их решения: освоение современных измерительных технологий, разработка номенклатуры ГСО на основе сыворотки крови, создание сети референтных лабораторий международного уровня. А главное, руководителям КДЛ и главным врачам необходимо понять, что метрология не сводится к ведению графиков поверки, а является ключом в обеспечении диагностики правильными результатами.

Примечание. Авторы благодарят всех участников обсуждения доклада и надеются ответить на все заданные в устной и письменной форме вопросы в одном из ближайших номеров журнала.

ОРГАНИЗАЦИЯ СИСТЕМЫ МЕНЕДЖМЕНТА КАЧЕСТВА В ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЕ

А.В. ЭМАНУЭЛЬ¹, О.А. ТАРАСЕНКО², Ю.Ф. ШУБЛИНА³

¹ Ведущий консультант по качеству «Схоль Хауз Корпорэйшн», директор по качеству «Витал Диагностикс СПб», консультант РАМЛАД по СМК в лабораторной медицине

² Заведующий центральной лабораторией СПК Москвы

³ Специалист медицинской лаборатории, РГМУ им. Н.И. Пирогова

Резюме. В статье описаны основные преимущества внедрения в работу медицинских лабораторий системы управления на основе стандартов ИСО 9001:2008 и ИСО 15189:2007. Дан краткий обзор стандарта ИСО 9001:2008. Кратко изложена система надзора за медицинскими изделиями в Европе, с акцентом на роль профессионального сообщества. Статья является продолжением цикла статей о системах менеджмента качества в медицинской сфере¹.

Ключевые слова: медицинские лаборатории, система управления, стандарты, ИСО 9001:2008, 15189:2007.

ORGANIZATION OF QUALITY MANAGEMENT SYSTEM IN LABORATORY MEDICINE

A.V. EMANUEL, O.A. TARASENKO, JU.F. SHUBLINA

¹ Chief consultant in QMS design and implementation "Scholl House Corporation", Quality Director "Vital Diagnostics Spb", Consultant in laboratory medicine QMS "RAMLD"

² Chief of medical laboratory, central hemotransfusion station, Moscow health department

³ Doctor of medical laboratory, Russian State Medical University named after N.I. Pirogov

Summary. The article concerns benefits of the use of management system basing on ISO 9001:2008 and ISO 15189:2007 standards in the work of medical laboratories. Short review of ISO 9001:2008 is given. Also the system of control of medical production in Europe is discussed briefly with the accent on the role of professional community. The article continues the cycle of publications concerning quality management in medicine.

Key words: medical laboratories, management system, standards, ISO 9001:2008, 15189:2007.

¹ См. журнал «Клинико-лабораторный консилиум» № 6 (25) 2008, № 2 (27) 2009, журнал «Менеджмент качества в сфере здравоохранения и социального развития» № 3, 4 за 2008 г., № 5 за 2009 г.

В этой статье мы хотим начать обсуждение инструментов повышения эффективности работы лабораторий, предложить методы, которые, на наш взгляд, помогут решить следующие проблемы:

- обеспечение метрологической корректности лабораторных исследований,
- создание системы взаимодействия с поставщиками реагентов, расходных материалов, оборудования для лабораторий, лабораторной мебели и т. п., позволяющей жестко контролировать поставщика, требовать от него соответствующего качества, своевременности поставок продукции и т. п.,
- создание системы управления пре- и постаналитическими этапами работы лабораторий,
- изменение статуса лаборатории во взаимодействии с клиницистами: например, консультирование клинициста при выборе ассортимента назначаемых исследований конкретному больному. Сейчас ситуацию с назначением анализов скорее можно охарактеризовать как «лечение болезни, а не больного», т. к. врач назначает перечень исследований исходя из общих нормативных рекомендаций (стандарты ме-

дицинской помощи — приказы МЗиС РФ). Сотрудники лаборатории могут существенно оптимизировать этот процесс путем уменьшения малоинформативных или излишних для конкретного клинического случая исследований и выполнения дополнительных, но важных для пациента исследований за счет вышеописанной экономии средств. Более того, применение высокоинформативных исследований, даже выходящих за рамки выделенного бюджета на диагностику, может повысить эффективность медицинской помощи путем более удачного проведения диагностического этапа.

Для решения описанных выше задач рассмотрим институты, с которыми лаборатории взаимодействуют в процессе работы:

1. Внешние контролирующие структуры: Минздравсоцразвития, Росздравнадзор, Роспотребнадзор, МЧС (пожарная служба), Ростехрегулирования, в том числе в области метрологии, ФАС и т. п.
2. Медицинское учреждение: врачи-клиницисты, пациенты, службы закупок реагентов, расходных

материалов, оборудования и т. п., главный врач, АХЧ, метрологическая служба, вспомогательный персонал и т. д.

3. Поставщики и производители оборудования, реагентов и т. п.

Внешние контролирующие организации предъявляют лабораториям законодательные требования и проверяют их соблюдение.

Медицинское учреждение, с которым лаборатория² работает или находится в его составе, также предъявляет лаборатории требования, подчас плохо формализованные.

Поставщики и производители снабжают лабораторию необходимыми материалами и оборудованием для обеспечения деятельности лаборатории.

Если же посмотреть на деятельность самой лаборатории, то принято выделять три этапа работы: преаналитический, аналитический и постаналитический.

То есть лаборатория, как и любая организация, с одной стороны является системой, в которой выполняется достаточно большой набор процессов, а с другой стороны, она встроена в большую систему и является ее элементом.

Все описанные выше проблемы носят именно системный характер, то есть характер взаимодействия элементов между собой.

В международной практике для решения подобных проблем были разработаны специальные стандарты ИСО. В приложении можно найти перечень основных стандартов ИСО, касающихся управления и решения системных проблем, использующихся в медицине.

В рамках данной статьи мы хотим акцентировать внимание на тех плюсах, которые получает лаборатория, внедрив у себя систему менеджмента качества (СМК) на основе стандартов ИСО. Также мы постараемся рассказать о взаимосвязи производителя медицинских изделий и лаборатории и о том, как внедрение СМК у производителя отражается на лаборатории.

В первую очередь хочется сказать несколько слов о самой разработке и внедрении системы менеджмента качества. Этот процесс можно сравнить с подготовкой спортсменов к участию в соревнованиях.



² В данном случае неважно, входит ли лаборатория в состав лечебного учреждения или является отдельной организацией, оказывающей лабораторные услуги по договору.

Рассмотрим такой распространенный спорт как бег. Цель тут простая — добежать до финиша быстрее соперников. Но для достижения этой цели спортсмен должен потратить годы усиленных тренировок, затрагивающих как физические, так и психические сферы человека. То есть эти тренировки носят комплексный характер. И если спортсмен пренебрегает какими-либо элементами программы подготовки, вероятность выигрыша на соревнованиях очень и очень мала.

Так и система менеджмента качества. Она носит комплексный характер и охватывает всю деятельность организации.

Рассмотрим рисунок 1. На нем схематично представлено взаимодействие производителя медицинских изделий (прямоугольники 1 и 2), лаборатории (прямоугольник 3), врача-клинициста (прямоугольник 4) и пациента (прямоугольник 5).

Рассмотрим первую часть рисунка 1, «бизнес-процессы».

Как уже было сказано выше, СМК затрагивает все процессы в организации. Но что эта СМК может организации дать?

В первую очередь, после внедрения СМК меняется система взаимодействия внутри компании. Повышается управляемость. Причем это заметно как на уровне высшего руководства, так и на уровне руководителей структурных подразделений. СМК дает руководителям всех уровней инструменты оценки и повышения результативности и эффективности работы. Появляется прозрачность в деятельности подразделений и сотрудников. У персонала появляется единое видение целей организации, понимание личного вклада в достижение этих целей и вклада своих коллег. Повышается ответственность за работу. Помимо этого, стандарты ИСО позволяют более детально описать ответственность и полномочия сотрудников, что также положительно сказывается на работе. Снижается уровень конфликтов и появляется командная работа.

Что немаловажно, в результате внедрения СМК через 2–3 года работы происходит снижение издержек производства.

Повышение эффективности и результативности бизнес-процессов естественно отражается на качестве услуг и выпускаемой продукции (прямоугольник 2). В данной схеме использован опыт внедрения СМК в ООО «Витал Диагностика СПб», производителе наборов реагентов для клинической биохимии. Поэтому в схеме приведены примеры, характерные для производителя реагентику. В целом, внедрение СМК позволяет производителю повысить качественные характеристики своей продукции.

После внедрения СМК изменяется взаимодействие производителя медицинских изделий и лаборатории. Причем это касается не только таких простых вещей, как ассортиментная политика и логистика, которые становятся более удобными для лаборатории, но лаборатория по-

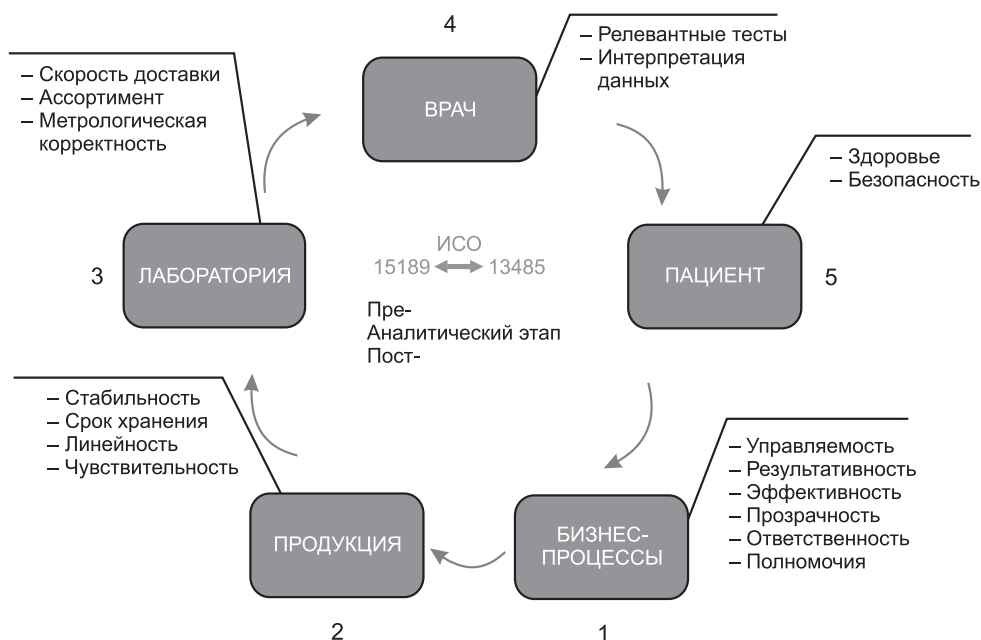


Рис. 1. Цели внедрения СМК на базе ИСО для лабораторий и производителей медицинских изделий

лучает возможность значительно облегчить свою работу по метрологической корректности результатов исследований. Ситуация улучшается, когда не только производитель внедряет СМК на базе ИСО 13485, но и лаборатория внедряет у себя СМК на базе ИСО 15189. В этом случае результативность и эффективность преаналитического, аналитического и постаналитического этапов работы лаборатории значительно улучшаются.

Помимо этого, изменяются отношения между лабораторией и врачом-клиницистом. Если на данный момент врачи воспринимают лабораторию в большей степени как технический инструмент и заказывают анализы пациентам на основе нормативных рекомендаций, то после внедрения СМК в лаборатории появляется диалог. Лаборатория получает возможность выступить консультантом врача-клинициста при выборе перечня необходимых ДЛЯ ДАННОГО ПАЦИЕНТА анализов и при интерпретации данных этих анализов. По сути, с помощью лаборатории врач получает возможность лечить не болезнь, а больного. И во многих случаях за счет корректировки перечня анализов снижается себестоимость диагностики и лечения.

Естественно, все вышеописанное оказывает положительное влияние на здоровье пациентов.

Подведем промежуточный итог.

Использование в работе стандарта ИСО 9001, в работе производителей медицинских изделий стандарта ИСО 13485, в работе лабораторий – ИСО 15189 позволяет улучшить работу этих организаций, что оказывает положительное влияние на качество медицинской помощи, предоставляемой пациентам.

Обратимся теперь непосредственно к лабораториям. Рассмотрим рисунок 2, где кратко показана взаимосвязь

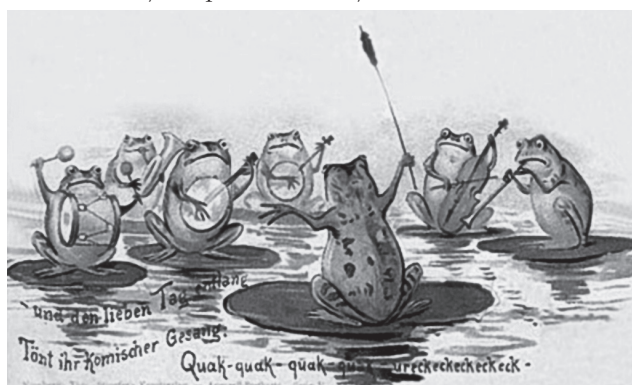
стандартов ИСО, применимых прямо или косвенно для лабораторий.

ИСО 9001 позволяет лаборатории оптимизировать общие организационные процессы, что отражается на пре-, пост- и аналитическом этапах работы. В частности, лаборатория получает возможность повысить контроль на пост- и преаналитических этапах. Использование элементов ИСО 17025 влияет на метрологическую корректность исследований и прослеживаемость к эталонам.

Контролировать поставщиков для лаборатории становится существенно проще, если производитель медицинских изделий работает на основе требования ИСО 13485, включая требования ИСО 14971 (управление рисками).

Подведем еще один итог. **Все описанные выше стандарты основаны на ИСО 9001. И по сути, основа СМК строится именно на этом стандарте. Что же дает внедрение СМК на базе ИСО 9001?**

1. Дает руководству инструменты, позволяющие эффективно и результативно управлять организацией/подразделением/отделом.



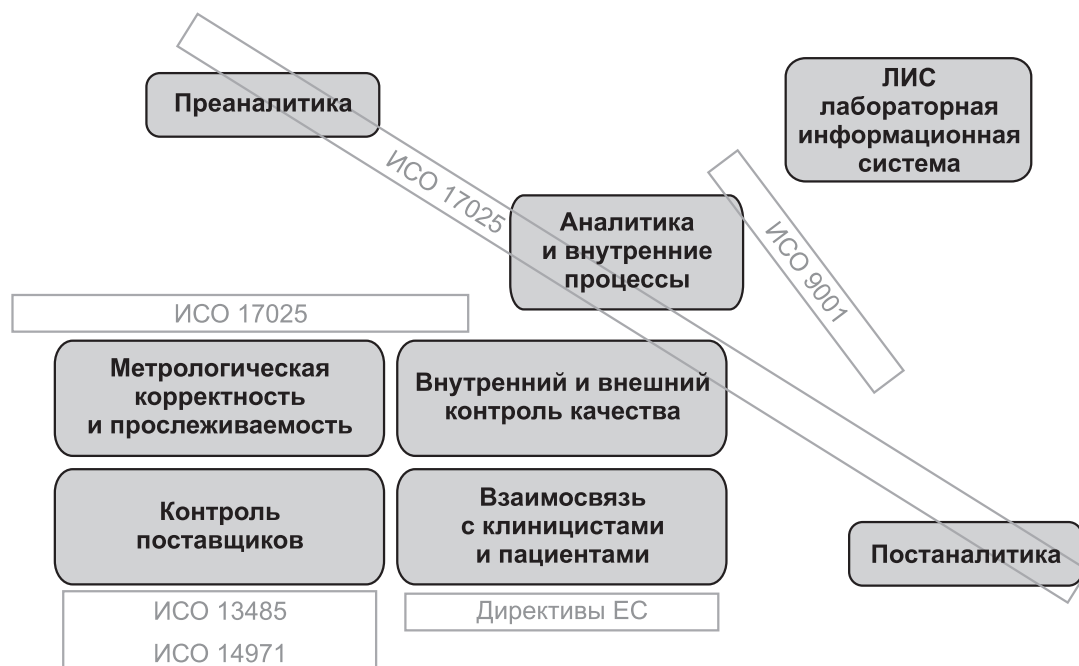
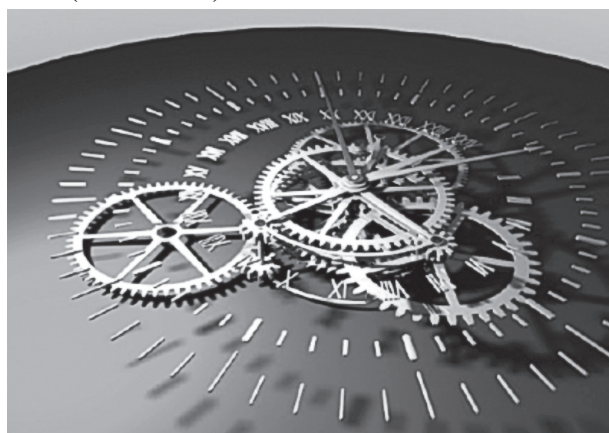
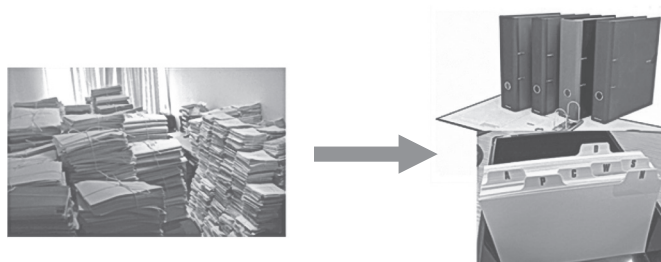


Рис. 2

2. Обеспечивает согласованность действий отделов/подразделений/сотрудников, т.е. организация начинает работать как единый механизм («как часы»).



3. Создает порядок и единообразие документов, т.е. удобный и прозрачный документооборот.



4. Руководитель получает инструменты, позволяющие управлять организацией как единым целым,

т.е. увидеть картину происходящего внутри и снаружи организации в целом, а не фрагментарные ее части.



5. Способствует возможности «вести» сотрудников за собой ради достижения поставленных целей.

Скажем несколько слов о самом стандарте ИСО 9001 и о требованиях, которые он предъявляет к организациям.

ИСО 9001:2008

- Основной международный стандарт менеджмента качества.



Рис. 3. Цели внедрения СМК в медицине

- Предъявляет общие требования к управлению организациями.
- Большинство отраслевых стандартов основаны на ИСО 9001.
- Применим к ЛЮБОЙ организации любой сферы деятельности.

Требования стандарта (в интерпретации авторов):

- Установить общие для организации цели и задачи.
- Четко обозначить ответственность и полномочия сотрудников.
- Управлять ВСЕЙ документацией.
- Управлять взаимодействием с поставщиками сырья и материалов.
- Управлять подготовкой и повышением квалификации персонала.
- Определить и управлять всеми ключевыми процессами.
- Управлять несоответствующей продукцией.
- Планировать и проводить постоянный анализ деятельности отделов, процессов.
- Постоянно улучшать результаты деятельности организации.

Как видно из приведенного списка требований, практически любая организация, успешно работающая в своей области, примерно на 60–70% (по опыту авторов) соответствует требованиям стандарта ИСО 9001.

По нашему опыту, если две организации, сотрудничающие друг с другом, внедряют у себя систему менеджмента качества на основе ИСО 9001, им становится намного легче взаимодействовать.

Организации, внедрившие требования ИСО, будут всегда говорить на одном языке.



На наш взгляд, система менеджмента качества в медицинской сфере, построенная на основе стандартов ИСО, позволит настроить работу и производителей медицинских изделий, и лаборатории, и лечебных учреждений на единый лад — ради достижения здоровья наших пациентов (см. рис. 3).

Интересно, что во многих странах, в том числе в Европе, работа в соответствии со стандартами ИСО считается нормой и негласным правилом. Хотя формально внедрение СМК является добровольным, на практике это не так. Рассмотрим реально действующую систему надзора за медицинскими изделиями, принятую в Европе³, и сравним ее с российской (см. табл. 1).

³ Для более глубокого изучения этой проблемы смотрите директивы Европейского сообщества, посвященные медицинским изделиям (директива 98/79 для ин витро диагностики и директивы 93/42 по медицинским изделиям).

Таблица 1

Сравнение системы надзора за медицинскими изделиями в Европе и в России

Европейская система	Аналоги в России
Сертификационный орган	Органы по сертификации по ГОСТ Р Слабое внедрение в России
Нотифицирующий орган	Нет (проекты законов об уполномоченных лабораториях — аналогах референсных лабораторий в Европе)
Профессиональное сообщество	Нет полномочий и нет реальных механизмов воздействия на ситуацию
Официальный представитель иностранного производителя медицинских изделий	Нет
Компетентный орган	Росздравнадзор

Сертификационный орган проверяет соответствие производителя медицинских изделий и других участников медицинского рынка требованиям стандартов ИСО.

В России эта функция возложена на органы по сертификации в рамках системы ГОСТ Р.

Нотифицирующий орган проверяет качественные характеристики продукции (оборудования, реагентов и т. д.). В России эта система на данный момент, на наш взгляд, работает очень слабо.

Профессиональное сообщество: в Европе, по сути, это законодатель всего и вся. В России, как известно, это не так. Не имея реальных механизмов воздействия на ситуацию, профессиональное сообщество остается очень пассивным. Хотя на наш взгляд, пока мы не будем предпринимать активные попытки вмешаться в происходящее, никаких положительных изменений ждать не нужно.

Авторизованный представитель иностранного производителя: в Европе очень грамотно, на наш взгляд, решен вопрос контроля иностранных производителей. Каждая иностранная компания, желающая продавать свою продукцию на территории Европейского сообщества, обязана назначить представителя, который участвует во взаимодействии этой компании с надзорными органами ЕС. Как известно, подобной практики в России нет.

Компетентный орган: по функциям это некий аналог Росздравнадзора.

На наш взгляд, система ЕС достаточно проста и эффективна. Специальные документы, типа стандартов ИСО, директив, NB MED, MED DEV⁴, создаются с активным участием профессионального сообщества, что гарантирует их реальную пользу и применимость.

⁴ Более подробно о структуре действующих в ЕС нормативных документах см. в предыдущих статьях.

В заключение данной статьи позвольте предложить лабораторному сообществу следующее.

Системы менеджмента качества, разработанные и внедренные на базе стандартов ИСО, могут существенно помочь в работе лабораторной службы в целом, поскольку помимо пользы для конкретно взятой лаборатории, применение ИСО в России может перейти на совершенно другой уровень. Используя стандарты ИСО в работе медицинских учреждений, лабораторий, производителей и поставщиков медицинских изделий *in vitro*, мы можем создать систему грамотного управления и надзора в новой для России сфере деятельности — в лабораторной медицине (см. рис. 4).



Рис. 4. Система управления и надзора в лабораторной медицине

Глоссарий:

Результативность — любая деятельность имеет некую цель. Одной из целей лаборатории является задача правильного результата анализа. Под результативностью в этом случае будет пониматься, что лаборатория выдает действительно правильный анализ. То есть результативность — это соответствие результата деятельности тем технологическим требованиям, которые к этому результату предъявляются.

Эффективность — это расширение понятия результативности. Здесь, помимо простого соответствия результата деятельности технологическим требованиям к этому результату, учитываются ресурсы, которые необходимо затратить на достижение результата.

Приложение

Стандарты ИСО для медицинской сферы:

ИСО 9001 (базовый стандарт системы менеджмента качества).

ИСО 15189 (стандарт для медицинских лабораторий, предъявляет комплексные требования к преаналитическому, аналитическому и постаналитическому этапам работы лабораторий, основан на ИСО 9001 и ИСО 17025).

ИСО 17025 (калибровочные и испытательные лаборатории).

ИСО 13485 (стандарт для производителей медицинских изделий).

ИСО 14971 (стандарт управления рисками для производителей медицинских изделий).

ПРОБЛЕМНЫЕ ВОПРОСЫ МЕТРОЛОГИЧЕСКОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО И АНАЛИТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССОВ

Т.И. ДОЛГИХ

Центральная научно-исследовательская лаборатория, Центр лабораторной диагностики
Омской государственной медицинской академии

Резюме. Рассматриваются проблемные вопросы метрологического обеспечения в современных лабораториях в свете новых требований, регламентированных Федеральным законом «Об обеспечении единства измерений» (от 26 июня 2008 г. № 102-ФЗ). Предлагается усовершенствовать нормативно-правовую основу для его исполнения в здравоохранении, повысить ответственность фирм-производителей лабораторного оборудования за определение его типа и рассмотреть вопрос о введении нового типа приборов для современного технически сложного лабораторного оборудования, а также определить порядок взаимодействия заинтересованных служб и ведомств в плане реализации данного закона.

Ключевые слова: метрологическое обеспечение, современная лаборатория, Федеральный закон, типы приборов.

PROBLEMS OF METROLOGICAL SUPPORT OF DIAGNOSTIC AND ANALYTIC PROCESSES

T.I. DOLGIKCH

Central scientific research laboratory, Center of laboratory diagnosis
Omsk State Medical Academy

Summary. Problems of metrological support in modern laboratories are analyzed, the new guidelines and demands stated in Federal law «About unification of measurements» (dated 26 of June 2008 N 102-ФЗ) are taken into attention. It is proposed, that the improvement of legal base will give the possibility for more effective fulfillment of this law in health care as well as to make the companies producing the laboratory equipment more responsible for determination of the type of this equipment. Also proposal for introduction of the new type of the devices used for modern laboratory equipment is made. The order of the interaction of all the participating services and organizations also should be made more effective.

Key words: metrological equipment, modern laboratory, Federal law, types of devices.

В России взят курс на стратегическое развитие лабораторной медицины и оказание высокотехнологичной медицинской помощи. Без автоматизации научного и диагностического процесса добиться поставленной цели невозможно. Современная лаборатория — это высокий уровень технической оснащенности и автоматизация, обеспечивающие соответствующий профиль лабораторных исследований, гибкость лабораторной системы (возможность быстро перестраиваться для решения новых задач), оперативность действий. Медицинская деятельность учреждений системы здравоохранения разрешена при наличии соответствующей лицензии, в том числе по видам: клиническая лабораторная диагностика, лабораторная микология, бактериология, высокие технологии. Основные критерии лицензирования медицинской деятельности:

- материально-техническая база;
- **оснащенность лабораторий;**
- **метрологический контроль;**
- кадры;
- контроль качества (ФСВОК и внутренний контроль);

- биологическая безопасность.

Приборный парк современной лаборатории представлен разнообразным оборудованием:

- *в клинико-диагностической лаборатории:* гематологические и биохимические анализаторы, анализаторы белков, селективные коагулометры-автоматы, агрегометры, микроскопы с системами визуализации и программным обеспечением и др.;
- *в ПЦР-лаборатории:* станции пробоподготовки, термоциклеры, амплификаторы, твердотельные термостаты, высокоскоростные центрифуги, ДНК-секвенаторы;
- *в иммунологических лабораториях:* иммунохимические и иммуноферментные анализаторы, проточные цитометры со станциями пробоподготовки;
- *в лабораториях микробиологии:* баканализаторы, СО₂-инкубаторы, МАСС-спектрометры.

Только автоматизация лабораторий обеспечивает выполнение трех основных принципов медицины: *безопасность пациента, безопасность медицинского персонала и безопасность окружающей среды.*

Одним из основополагающих элементов деятельности лабораторной службы, независимо от формы

собственности и ведомственной принадлежности, является медицинское обеспечение диагностического и аналитического процессов, что в значительной мере определяет готовность учреждения к оказанию высокотехнологичной и стандартной медицинской помощи (услуг) в сфере здравоохранения.

В настоящее время необходим пересмотр устоявшихся в лабораторной практике принципов его реализации в свете новых требований со стороны органов технического регулирования, предъявляемых ко всему медицинскому оборудованию, в том числе поставленному и по национальным проектам. До настоящего времени говорили о необходимости поверки следующего лабораторного оборудования: спектрофотометров (в том числе планшетных, применяемых для проведения иммуноферментного анализа), пипеточных дозаторов, электронных весов и др. средств измерения, а также об аттестации термостатов и иной относящейся к данному типу медицинской техники. Вместе с тем, в отношении системы поверки (аттестации) новых (технически сложных) приборов и комплекса анализаторов, соединенных в единое целое, обеспечивающего полный цикл лабораторных (аналитических) исследований, в том числе станций пробоподготовки, термоциклеров и автоматов-анализаторов, много неясностей, что принимает особое значение в плане исполнения Федерального закона «Об обеспечении единства измерений» (от 26 июня 2008 г. № 102-ФЗ). Следует также отметить необходимость включения в смету учреждения значительных финансовых затрат, связанных с обеспечением метрологического контроля за позиций новых и более жестких требований.

В настоящее время наиболее уязвимым местом в деятельности современных лабораторий системы здравоохранения, которые должны быть оснащены автоматическими анализаторами (гематологическим, биохимическими, анализаторами белков и электролитов, автоматами-коагулометрами, лазерным анализатором агрегации и др.), стратегически развивающихся за счет инноваций и внедрения высоких технологий, является метрологическое обеспечение. Закон № 102-ФЗ применяется в следующих сферах: *в области здравоохранения; в области охраны окружающей среды; при выполнении работ по обеспечению безопасных условий и охраны труда и др.* Деятельность всех лабораторий (в том числе диагностических, научных и учебных), находящихся в ведении медицинских учреждений, вузов, научно-исследовательских институтов (лабораторий), попадает под юрисдикцию данного Закона.

Ст. 17, п. 4 № 102-ФЗ гласит: «При выявлении нарушений должностное лицо обязано: **запрещать** применение стандартных образцов и средств измерений неутвержденных типов или стандартных образцов и средств измерения, не соответствующих обязательным требованиям, а также неуполномоченных средств измерений при выполнении измерений, относящихся к сфере государственного регулирования обеспечения единства из-

мерений». Последствия для медицинских учреждений исполнения данного предписания в отношении вывода автоматов и анализаторов из эксплуатации весьма существенны, поскольку приводят как к снижению объема и качества медицинских услуг, в т. ч. неотложной и высокотехнологичной помощи, так и к снижению уровня биологической безопасности, что в свою очередь может привести и к отзыву лицензии на медицинскую деятельность или лицензии на работу с микроорганизмами 3–4 групп патогенности. И это должны осознать руководители учреждений, которые в отдельных случаях не совсем ответственно относятся к систематической поверке и аттестации лабораторного оборудования, объясняя ситуацию недостаточным финансированием. В современных экономических условиях, в условиях кризиса, вывод из диагностического и аналитического процессов автоматизированных систем анализа и иных автоматов приведет к дополнительным финансовым затратам, порой неподъемным для государственных медицинских учреждений, и в данном случае следует стратифицировать риск последствий. В сложившейся в России ситуации вся ответственность за невыполнение требований нового закона возложена на медицинские учреждения, а фирмы-производители оборудования (основные участники процесса) наблюдают за происходящим, оттягивая время активных действий со своей стороны.

В связи с этим остро встает вопрос о необходимости систематизации и приведения в порядок информации об имеющемся в лабораториях оборудовании с определением его типа в учреждении системы здравоохранения.

В соответствии со ст. 2 ФЗ-102 «Об обеспечении единства измерений» лабораторное оборудование может быть отнесено:

- к средству измерений (это техническое средство, предназначенное для измерений);
- к техническим системам и устройствам с измерительными функциями (это технические системы и устройства, которые наряду с основными характеристиками выполняют измерительные функции).

Наряду с этим, приборы могут быть отнесены и к *испытательному оборудованию* и подвергнуты аттестации. Однако на данную градацию изделий медицинской техники в лабораториях специалисты в области клинической лабораторной диагностики особого внимания не обращали, ориентируясь на прежние стереотипы. Поскольку в Государственном реестре средств измерения новые приборы практически отсутствуют, то вопрос об утверждении их типа имеет **принципиальное** значение.

На основании вышеизложенного полагаем, что в ближайшее время следует решить совместно со специалистами в области метрологического контроля и службы Ростехрегулирования (прежде всего на федеральном уровне) следующие вопросы.

1) К какому типу относится современное оборудование, в том числе: автоматы-анализаторы (биохимические, иммунохимические, гематологические, микробиологические, коагулометры), автоматические анализаторы белков, лабораторные автоматизированные системы с сортерами, проточный цитометр, термоциклеры, секвенаторы, автоматические станции пробоподготовки, МАСС-спектрометры, твердотельные термостаты и др., не внесенные в Государственный реестр средств измерения. Перечень используемого в России лабораторного оборудования, прежде всего разрешенного к применению и имеющего регистрационные удостоверения и сертификаты соответствия, в том числе проблемного в плане определения типа приборов, составить несложно; эту работу можно провести весьма оперативно, создавая информационную базу и используя электронный ресурс.

2) В настоящее время в соответствии со ст. 12, п. 6. «сведения об утвержденных типах стандартных образцов и типах средств измерений вносятся в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений». Вместе с тем, вновь встает вопрос о тех приборах, которые не будут внесены в этот фонд, поскольку не определен их статус как средства измерения. Они могут быть запрещены к применению. На наш взгляд, следует рассмотреть целесообразность создания Федерального информационного фонда лабораторной техники, применяемой в сфере здравоохранения, где четко определить тип приборов.

3) Следует составить алгоритм и порядок действий руководителей учреждений или подразделений (лабораторий) по сбору необходимой информации в отношении как имеющихся приборов (в том числе поставленных в централизованном порядке и по национальным программам), так и планируемых к закупке. Вместе с тем, насколько правомочным будет требование государственного учреждения к участникам конкурсов (аукционов) при поставке оборудования дополнительно предоставлять сертификат об утверждении типа средств измерений или справку, что изделие не относится к средствам измерения, с уточнением, к какой категории его отнесли? Возможно ли получение такой справки из ВНИИС (ВНИИМС) и центра стандартизации и метрологии (ЦСМ)? Не вступим ли мы при закупках в противоречие с ФЗ-94 по завышению требований, что контролируется ФАС? Опыт работы последних месяцев показывает, что фирмы-производители медицинского оборудования, в том числе и отечественные, даже на приборы, которые безусловно являются средствами измерения (например, агрегометр), не имеют сертификата об утверждении типа и пока не предпринимают необходимых действий для их регистрации.

4) Следует уточнить исполнение ст. 9, п. 1: «В состав обязательных требований к средствам измерений в необходимых случаях включаются также требования к их составным частям, программному обеспечению

и условиям эксплуатации средств измерения»; в частности, возникает вопрос по уточнению «необходимых случаев» с учетом разъяснений в ст. 9, п. 2: «Конструкция средств измерения должна обеспечивать ограничение доступа к определенным частям средств измерений (включая программное обеспечение) в целях предотвращения несанкционированных настройки и вмешательства, которые могут привести к искажению результатов».

5) Как закрепить ответственность службы метрологического контроля и иных юридических и физических лиц, имеющих лицензию на данный вид деятельности, перед учреждением за возможный ущерб вследствие некорректно выполненной поверки или аттестации дорогостоящего оборудования (автоматов), кто сможет провести экспертизу и оценить ущерб? Возникают и иные вопросы правового характера.

6) Из ФЗ-102 следует, что «порядок отнесения технических средств к средствам измерений устанавливается федеральным органом исполнительной власти», а ст. 12, п. 2 уточняет, что «решение об утверждении типа средств измерения принимается органом исполнительной власти», но не инспектором, который при проверке требует предоставления на автоматы-анализаторы и станции пробоподготовки Сертификатов об утверждении типа средств измерений и внесении в Гос. реестр средств измерений. Если информация отсутствует в реестре, то делается заключение об использовании средств неутвержденного типа. Необходимо исключить порочную практику запрещения использования приборов нового поколения, основанную на мнении инспектора и не подтвержденную документально, с учетом того срока (в течение 2 лет с момента вступления ФЗ-102 в силу), который был определен данным законом для создания нормативно-правовой базы.

7) Возможно, следует выступить с инициативой специальной подготовки инспекторов Ростехрегулирования, осуществляющих метрологический надзор в сфере здравоохранения.

В связи с вышеизложенным, во-первых, необходима координация действий Министерства здравоохранения и Ростехрегулирования в плане создания нормативно-правовой базы и совершенствования системы метрологического обеспечения, контроля и надзора; во-вторых, необходимы активные действия со стороны специалистов лабораторной службы для решения проблемы; в-третьих, необходимы нормативные акты, возлагающие ответственность на фирмы-производители (или фирмы-поставщики, если речь идет об анализаторах, станциях пробоподготовки, секвенаторах, термоциклерах зарубежного производства, не имеющих аналогов в России) по определению типа приборов, поставляемых на российский рынок, с уточнением его технических и метрологических (при их наличии) характеристик, наличия стандартных (контрольных) образцов, утвержденной методики поверки или аттестации.

В настоящее время требуют уточнения следующие моменты.

1) Возможность исполнения ст. 13, п. 1 следующего содержания: «Средства измерений, предназначенные для применения в сфере гос. регулирования обеспечения единства измерений, до ввода в эксплуатацию, а также после ремонта подлежат первичной поверке, а в процессе эксплуатации — периодической поверке». Средства измерения утвержденных типов (*типовые дозаторы, спектрофотометры, некоторые биохимические анализаторы, планшетные ИФА-анализаторы*) из числа внесенных в Гос. реестр средств измерений имеют утвержденные методики поверки, но в территориальном Центре стандартизации и метрологии их может не быть! Предписание о нарушении будет выдано в адрес медицинского учреждения. Предложение инспекторов государственного надзора самостоятельно делать запросы в межрегиональные и федеральные органы метрологической службы и организовывать метрологический контроль (оплачивать проезд специалистов или отправлять прибор) вряд ли следует считать разумным. Целесообразно, с одной стороны, ставить вопрос об оснащении Центров стандартизации и метрологии современными техническими средствами и подготовке кадров, а с другой стороны, дать на соответствующих сайтах информацию о возможностях всех ЦСМ или иных имеющих лицензии юридических и физических лицах на территории России, способных проводить поверку (аттестацию) лабораторного оборудования, в том числе уникального, порядок его проведения, сроки исполнения и стоимость услуг, распределить функции и определить ответственность со стороны участников данного процесса.

2) Порядок обеспечения аттестации технических средств и устройств с измерительными функциями, а также испытательного оборудования (*например, термоциклеры и твердотельные термостаты, используемые для ПЦР, станции пробоподготовки*), которые должны быть аттестованы, при этом в техническом паспорте необходима отметка о первичной аттестации (или о поверке), которая делается не всегда. Аттестация проводится с использованием программы и методики аттестации, которые должны быть предоставлены производителем (или фирмой-поставщиком). На наше предложение передать на платной основе эти документы руководитель одной из отечественных фирм-производителей отказал и предложил отправлять приборы для аттестации к ним. Если программы и методики поверки нет (в т. ч. в территориальном Центре стандартизации и метрологии), то они должны быть разработаны и утверждены юридическим лицом, имеющим соответствующую лицензию. Однако этот вопрос требует централизованного решения.

3) Как выполнять требование, предъявляемое к стандартным образцам (в т. ч. используемым при самотестировании анализаторов), которые должны быть отнесены

к ГСО (государственным стандартным образцам) и внесены в Гос. Реестр?

Применяемые стандартные образцы и контрольные материалы для гематологических и др. анализаторов должны иметь сертификат (свидетельство). Стандартные образцы должны быть утверждены или согласованы с Федеральной государственной службой Ростехрегулирования (ВНИИМС).

4) Следует конкретизировать перечень и форму документов, которые должны быть предоставлены:

- а) при первичной поверке: — *Акт сдачи-приемки* (финансовый документ);
— *Акт запуска* (должна быть отметка о результатах первичной поверки или аттестации с указанием соответствия метрологическим, если прибор является средством измерения, и техническим характеристикам и использования стандартных образцов; или отметка в сопроводительных документах с нанесением знака утверждения их типа — ст. 12, п. 4);
- б) при аттестации приборов по их категориям с указанием программ аттестации и методик;
- в) на стандартные образцы, контрольные материалы;
- г) на программы (ЛИС, программное обеспечение микроскопов).

5) ФЗ-102 регламентирует и аттестацию методик. Необходимо уточнить, на какие методики распространяются требования, порядок их аттестации и проверки, наличие подтверждающих документов и информирование потребителей.

Полагаю, что к ключевым моментам метрологического обеспечения на современном этапе следует отнести следующее:

- 1. Решить на межведомственном уровне проблемные вопросы, препятствующие развитию лабораторной службы;
- 2. Разработать программу действий в отношении определения типа приборов, уже используемых в системе здравоохранения и приобретенных до вступления в силу ФЗ-102;
- 3. Решить вопрос о типе и порядке его определения в отношении *приборов нового поколения* (открытого либо закрытого типа), относящихся **к категории технически сложных**, зарегистрированных в РФ и используемых как в сфере здравоохранения, так и в сфере науки (*ДНК-секвенаторы, МАСС-спектрометры, роботизированные системы, анализаторы, лабораторные системы и линии со встроенными средствами измерения*), имеющих технические и метрологические характеристики, выходящие за общепринятые в РФ форматы типов приборов;
- 4. Рассмотреть вопрос о целесообразности выделения технически сложных приборов нового класса в **отдельный тип** (например, отнести их

в разряд: «Лабораторные автоматы», «Автоматизированные системы анализа», «Аппаратура медицинская для оценки: ...системы гемостаза, ...иммунной системы, ...молекулярно-генетических исследований» и т. д.) и определить порядок оценки их технического контроля состояния и поверки с использованием иных, кроме физических, методов поверки (стандартные образцы и контрольные материалы);

5. Принять документы нормативно-правового характера, регламентирующие действия фирм-производителей и/или поставщиков в отношении определения типа приборов нового поколения.

В связи с вышеизложенным, считаю целесообразным предложить следующее.

- 1) В медицинских учреждениях работу проводить в двух параллельных направлениях:

- в отношении медицинского (лабораторного) оборудования, уже имеющегося в медицинских учреждениях, в том числе полученного по национальным проектам, с активным привлечением компаний-производителей оборудования и контрольных материалов и их поставщиков к исправлению сложившейся ситуации;
- в отношении нового оборудования, которое предполагается закупить учреждениям или которое будет поставлено по национальным проектам.

- 2) Производителям и фирмам-поставщикам оборудования и реагентов оптимизировать свою работу в соответствии с требованиями ФЗ-102, в том числе:

- при регистрации определять тип прибора в установленном порядке, согласовав его со службой Ростехрегулирования, вносить эту информацию в сопроводительную документацию (технический паспорт);
- предоставить учреждениям, закупающим или имеющим оборудование, возможность приоб-

реть программу и методику аттестации или методику поверки с указанием периодичности (приложить усилия к ее разработке и утверждению);

- при последующем отнесении изделия медицинского назначения к средствам измерения доводить до сведения партнеров и потребителей информацию о получении сертификата об утверждении типа, методике поверки, а также о получении сертификатов соответствия на новый срок действия;
- определить перечень стандартных образцов и контрольных материалов, используемых в лабораториях как для рутинных анализов, так и для автоматов-анализаторов, которые могут быть отнесены к стандартным образцам, провести их согласование в установленном порядке и предоставлять их пользователям.

Таким образом, назрела необходимость в модернизации метрологической системы в сфере здравоохранения, в конкретизации порядка осуществления, сопровождения и контроля метрологического обеспечения с учетом требований новых законов о техническом регулировании. С этой целью необходимо разработать совместный проект с привлечением заинтересованных сторон и административного ресурса, выбрать в качестве модели для отработки и реализации предложений несколько территорий РФ (из различных округов), в течение 1 года приступить к его реализации, имея в запасе резерв времени (6 мес.) для анализа, оценки эффективности и корректировки, и разработать стратегию развития данного направления в здравоохранении.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ТИОЛОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ОЦЕНКЕ ТЕЧЕНИЯ И ПРОГНОЗА ОСТРЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

И.А. ГОРБАЧЕВА, В.А. МАЛОЗЕМОВА, Л.А. ШЕСТАКОВА, О.В. МИХАЙЛОВА
ГОУ ВПО «СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Росздрава»

Резюме. В настоящее время становится все более очевидной ведущая роль тиоловых соединений в механизме антиоксидантной защиты. Соотношение между восстановленными и окисленными формами биоантиоксидантов, среди которых тиолы занимают важнейшее место, определяет общую буферную емкость антиоксидантной системы (АОС), которая тем выше, чем больше смещение в сторону восстановленных эквивалентов, т.е. SH-групп. Нарушение тиолдисульфидного равновесия, характеризующего баланс в окислительно-восстановительном метаболизме белков, сопровождается окислительным стрессом и играет патогенетическую роль в общей дезадаптации организма и в развитии патологических процессов.

Ключевые слова: тиол-дисульфидное равновесие, антиоксидантная система.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF THIOLS IN EVALUATION OF COURSE AND PROGNOSIS OF ACUTE INFLAMMATORY DISEASES OF RESPIRATORY SYSTEM

I.A. GORBACHEVA, V.A. MALOZEMOVA, L.A. SHESTAKOVA, O.V. MIKHAILOVA
State Educational Institution of Higher Professional Education "Saint-Petersburg State Pavlov Medical University, Federal Agency for Health Care and Social Development"

Summary. Nowadays the leading role of blood protein substances in antioxidant mechanisms becomes more evident. Equilibrium between oxydated and reduced forms of bioantioxidants determines total buffer capacity of the antioxidant system, which is higher in case of increase of the reduced forms, i. e. SH-groups. Thiols are known as one of the most important components of the antioxidant system.

Thiol-disulfid equilibrium is characterizing the balance in oxidation-reduction metabolism of proteins. The impairment of this equilibrium is accompanied by stress and plays pathogenetic role in organisms's disadaptation and pathological processes starting.

Key words: thiol-disulfid balance, antioxidant system.

Цель исследования

Изучение содержания тиоловых соединений в белковом субстрате крови у практически здоровых людей разных возрастных групп с определением диапазона нормальных колебаний и у больных с острыми воспалительными заболеваниями органов дыхания.

Материалы и методы

Исследованы 4 возрастные группы практически здоровых людей (доноров крови) по 30 человек в каждой: 1 группа — 15–20 лет, 2 группа — 21–30 лет, 3 группа — 31–50 лет, 4 группа — старше 50 лет. Пациентам определяли уровни SH-, SS-групп, тиолдисульфидного отношения (ТДО = SH : SS), общей серы в плазме крови методом амперометрического титрования по В.В. Соколовскому.

Дополнительно обследовано 66 пациентов с острыми воспалительными заболеваниями органов дыхания (ОВЗОД): 31 пациент с острым бронхитом и 35 пациентов с внебольничной очаговой пневмонией. Пациенты были разделены на 3 группы, и в дополнение к стандартной терапии, включавшей бронхолитики и антибиотики, в 1-й группе больные получали тиосульфат натрия

(NaTc) по 10,0 мл 30% раствора внутривенно капельно 1 раз в день в течение 10 дней, во 2-й группе — АЦЦ 200 мг 3 раза в сутки в течение 10 дней; пациентам 3-й группы проводилась терапия без серосодержащих препаратов. Пациентам определяли уровни SH-, SS-групп, тиолдисульфидного отношения (ТДО = SH : SS), общей серы в плазме крови методом амперометрического титрования по В.В. Соколовскому до и после лечения.

По материалам исследования оценивалась клиническая эффективность восполнения дефицита серы серосодержащими препаратами в сопоставлении с динамикой тиоловых показателей. Остроту воспалительной реакции оценивали определением С-реактивного белка в крови.

Результаты

Обследование практически здоровых людей позволило определить пределы колебания нормальных показателей тиолдисульфидного равновесия: уровень SH-групп белков составил в 1-й группе $9,6 \pm 0,38$ ммоль/л, во 2-й группе — $9,2 \pm 0,26$ ммоль/л, в 3-й группе — $8,8 \pm 0,39$ ммоль/л, в 4-й группе — $8,2 \pm 0,27$ ммоль/л; уровень SS-групп составил в 1-й груп-

пе — $3,2 \pm 0,12$ ммоль/л, во 2-й группе — $3,5 \pm 0,36$ ммоль/л, в 3-й группе — $3,8 \pm 0,22$ ммоль/л, в 4-й группе — $4,1 \pm 0,40$ ммоль/л; ТДО в 1-й группе — $3,0 \pm 0,06$; во 2-й группе — $2,6 \pm 0,09$; в 3-й группе — $2,3 \pm 0,14$; в 4-й группе — $2,0 \pm 0,12$; уровень общей серы в 1-й группе — $12,8 \pm 1,01$ ммоль/л, во 2-й группе — $12,7 \pm 0,05$ ммоль/л, в 3-й группе — $12,6 \pm 0,66$ ммоль/л, в 4-й группе $12,3 \pm 0,86$ ммоль/л.

При анализе полученных данных были выявлены тенденции к повышению уровня окисленной серы (SS-) и снижению уровня восстановленной серы (SH-), снижение ее общего количества и ТДО с увеличением возраста, что свидетельствует о накоплении с годами жизни окисленных продуктов в организме человека и усилении процессов свободнорадикального окисления. Наибольшая активность окисления серы была установлена в 4-й возрастной группе условно здоровых людей пожилого возраста.

У всех больных при первичном обследовании было выявлено снижение уровня восстановленной серы и повышение уровня окисленной серы, что показывает высокую активность процессов окисления в организме. Была установлена закономерность между тяжестью состояния больного и показателями тиолдисульфидного отношения: чем тяжелее было состояние больного, тем больше было смещено равновесие в сторону окисленных эквивалентов со снижением ТДО. Данная закономерность подтверждается и реакцией С-реактивного белка, концентрация которого напрямую была связана с тяжестью состояния пациента. При присоединении к стандартной терапии серосодержащих препаратов (тиосульфата натрия или ацетилцистеина) было отмечено эффективное восполнение дефицита серы за счет ее восстановленной фракции в отличие от показателей у больных, в терапию которых не были включены препараты серы. Было отмечено также более быстрое клиническое улучшение состояния больных, получавших серосодержащие препараты: в более короткие сроки исчезали явления интоксикации, улучшалось общее самочувствие, уменьшались клинические симптомы пневмонии, бронхита, исчезали острофазовые изменения клинического анализа крови (снижались СОЭ, лейкоцитоз, исчезал сдвиг лейкоцитарной формулы влево), достигалась быстрая динамика регресса инфиль-

тративных изменений в рентгенологической картине легких у больных с пневмонией. Этому соответствовало снижение уровня СРБ от $175 \pm 3,70$ мг/л до $26 \pm 1,40$ мг/л ($p < 0,01$) по сравнению с динамикой СРБ от $144 \pm 4,55$ до $62 \pm 8,92$ мг/л. Было выявлено, что у пожилых больных чаще, чем в других возрастных группах, отмечалось затяжное течение пневмонии с удлинением сроков рассасывания инфильтрации.

Выводы

1. Смещение тиолдисульфидного отношения в сторону окисленных эквивалентов в старших возрастных группах практически здоровых людей отражает возрастную риск окислительного стресса и связанной с ним заболеваемости.
2. Острота воспалительного процесса при ОВЗОД сопровождается достоверным снижением величины ТДО, степень которого коррелирует с тяжестью патологического процесса.
3. Тиолдисульфидный тест является информативным, прогностически значимым показателем, позволяющим оценивать течение ОВЗОД и эффективность проводимого лечения.
4. Добавление серосодержащих препаратов (NaTc, АЦЦ) к терапии больных с ОВЗОД эффективно восполняет антиоксидантный ресурс SH-групп белков, что сопровождается значительным клиническим улучшением состояния пациентов.

Литература

1. Соколовский В.В. Тиолдисульфидная система в реакции организма на факторы окружающей среды. — СПб., 2008. — С. 11–27.
2. Соколовский В.В. Тиолдисульфидное соотношение крови как показатель состояния неспецифической резистентности организма. — СПб.: МАПО, 1996. — С. 30.
3. Александров М.В. Тиоловые соединения в биохимических механизмах патологических процессов — Л., 1979. — С. 66–72.
4. Daynes R., Enioutina E., Jones D. Role of redox imbalance in the molecular mechanisms responsible for immunosenescence // Antioxid. and Redox Signal, 2003. — V. 5, N 5. — P. 537–548.
5. Ghezzi A., Bonnetto V., Fratelli M. Thiol-disulfide balance: from oxidative stress to that of redox regulation // Antioxid. and Redox Signal, 2005. — V. 7, N 7–8. — P. 964–972.

ШКОЛА ПО КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКИХ ВРАЧЕЙ

ИММУНОПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА САХАРНОГО ДИАБЕТА ТИП 1

В.И. ОДИН, В.Н. ЦЫГАН

ФГОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург

Резюме. Аутоиммунный сахарный диабет является основной формой сахарного диабета тип 1. Кроме метаболических расстройств, присущих диабетическому синдрому, данная форма диабета имеет ряд специфических иммунопатологических особенностей. В статье обсуждаются патофизиологическая роль и диагностическая значимость иммунологических маркеров болезни, характеризующих феномен аутоагрессии, направленной к островковым клеткам, и прежде всего к β -клеткам поджелудочной железы. Представлен алгоритм диагностики аутоиммунного сахарного диабета тип 1 на ранних доклинических стадиях.

Ключевые слова: аутоиммунный сахарный диабет, сахарный диабет тип 1, антитела к глютаматдекарбоксилазе, антитела к инсулину, антитела к клеткам островков Лангерганса.

IMMUNOPATHOPHYSIOLOGICAL FEATURES AND LABORATORY DIAGNOSTICS OF DIABETES TYPE 1

V.I. ODIN, V.N. TSYGAN

Military Medical Academy, St. Petersburg

Summary. Autoimmune diabetes mellitus is the main form of diabetes type 1. This autoimmune form of diabetes includes as the metabolic impairments and a lot of specific immunopathophysiological features. Pathophysiological role and diagnostic validity of immunologic markers of diabetes type 1 that is characteristics of autoimmune process towards to islet cells are discussed. Diagnostic algorithm of autoimmune diabetes mellitus type 1 at the doclinical stages is given.

Key words. Autoimmune diabetes mellitus, diabetes mellitus type 1, antibodies to glutamatedecarboxylase, antibodies to insulin, antibodies to islet cells.

Введение

Сахарный диабет, по классическим представлениям, является заболеванием, проявляющимся сахарным мочеизнурением вследствие хронической гипергликемии, обусловленной недостаточной функцией инсулина или его дефицитом, а также гормонально-метаболическими нарушениями, приводящими к специфическим поражениям органов-мишеней диабета, прежде всего сосудов, почек, нервной ткани и сетчатки глаза. Существенно, что характерный для диабета патофизиологический гормонально-метаболический каскад может наблюдаться и в отсутствие глюкозурии, потому основным критерием диабета сегодня считается наличие гипергликемии. В отношении же пороговых значений последней ведутся нескончаемые дискуссии, так как очередной определенный уровень гликемии, принимаемый экспертами за диагностически значимый, является компромиссом между эпидемиологическими данными, связывающими уровень гликемии с клиническими последствиями диабета (вероятностью развития специфических диабетических осложнений), и готовностью страховых медицинских компаний и органов здравоохранения обеспечить новый массив хронических больных всем комплексом

дорогостоящих услуг (секрет Полишинеля то, что в современных условиях фарминдустрия получает гигантские сверхдоходы, сравнимые только с торговлей наркотиками и оружием).

При аутоиммунном сахарном диабете (АИСД) дефицит инсулина или нарушение его функции обусловлены развитием аутоиммунных реакций к аутоантигенам островковых клеток, прежде всего β -клеток, или к тканевым рецепторам инсулина. Таким образом, определение АИСД включает в себя такие клинические формы как сахарный диабет тип 1 (инсулинзависимый сахарный диабет), проявляющийся феноменом инсулита и специфическими серологическими реакциями к антигенам островковых клеток, варианты диабета с образованием антител к рецепторам инсулина и инсулин-аутоиммунный синдром. Мы основное внимание хотели бы уделить собственно сахарному диабету тип 1 как преобладающей клинической форме АИСД. Согласно последней классификации ВОЗ (1999), сахарный диабет тип 1 (СД1) — это диабет, вызванный деструкцией β -клеток, приводящей к абсолютному дефициту инсулина. Предложено разделять два подтипа: А — аутоиммунный, и В — идиопатический (термин «инсулинзави-

симый» исключен как некорректный, поскольку любой вариант диабета может потребовать инсулинотерапии на определенной стадии заболевания). В то же время, по данной классификации оказались разнесены в различные подразделы этиологически различные варианты диабета, но имеющие общее аутоиммунное поражение островковой ткани. Данное обстоятельство, на наш взгляд, существенно затрудняет расшифровку иммунопатофизиологических механизмов болезни, и потому мы используем следующую рабочую классификацию СД1, по классификации ВОЗ (1999) [1]:

А. Аутоиммунный сахарный диабет тип 1

I. Вирусиндуцированный аутоиммунный СД1 — аутоиммунный вариант с доказанной вирусной этиологией (врожденная краснуха, манифестация СД1 на фоне острой CMV, Коксаки и др. островково-тропной вирусной инфекции).

II. Эссенциальный аутоиммунный СД1 — вариант с аутоиммунной агрессией к β -клеткам неясной природы (спонтанного характера, как спорадический, так и семейный варианты).

III. Неспецифический аутоиммунный СД1 — вариант аутоиммунного диабета в составе аутоиммунного синдрома комплекса (аутоиммунный полигландулярный синдром — АПГС тип 1 и 2, синдром «ригидного человека», синдром перекреста с ревматическими аутоиммунными заболеваниями и др.).

IV. Латентный аутоиммунный СД1 — вариант эссенциального аутоиммунного СД1 с медленно прогрессирующим течением, маскирующегося под СД тип 2 (s. LADA).

V. Химический аутоиммунный СД1 — вариант аутоиммунного СД1, возникающего вследствие воздействия химических или лекарственных агентов (стрептоптоцин, IFN- α , вакцина гепатита В и др.).

В. Идиопатический сахарный диабет тип 1

I. Индолентный идиопатический СД1 — снижение функции β -клеток с развитием симптомов инсулинопении, в том числе кетоза, в отсутствие иммунологических маркеров специфической аутоиммунности, протекающий как «кетогенный СД2».

II. Фульминантный идиопатический СД1 — вариант идиопатического диабета с острым течением и кетоацидозом, а также с высоким уровнем панкреатических ферментов в сыворотке крови.

В дальнейшем тексте мы обозначаем аутоиммунный сахарный диабет тип 1 как СД1, включающий в себя преимущественно эссенциальные подтипы СД1А, которому соответствуют животные модели диабета — линии NOD мышей и линии BB крыс.

Стадирование СД1А

Традиционно выделяют 6 стадий в развитии сахарного диабета тип 1 [4], что соответствуют этиопатогене-

зу аутоиммунного сахарного диабета тип 1А по классификации ВОЗ (1999).

1 стадия — генетическая предрасположенность.

Данная предрасположенность рассматривается как полиморфизм генов:

- а) ответственных за транспорт, процессинг и презентацию антигена (HLA класс II и III, TAP2),
- б) контролирующей продукцию цитокинов (IL-1, IL-1R1, IL-1RN, TNF),
- с) молекулы инсулина,
- д) включающих механизмы деструкции, защиты и репарации β -клеток (MnSOD; HSP70; iNOS).

2 стадия — пусковое событие вследствие воздействия диабетогенного фактора (вирус, психоэмоциональный стресс, химические агенты, пищевые диабетогены).

3 стадия — стадия иммунологических аномалий.

Сохраняется нормальная секреция инсулина. Определяются положительные результаты тестов гуморального и клеточного аутоиммунитета против антигенов островковых клеток и инсулина. Морфологически определяется инсулит. Длительность стадии от 2 месяцев до 3 лет.

4 стадия — латентный диабет.

На фоне выраженных аутоиммунных нарушений прогрессирует снижение секреции инсулина вследствие развивающегося инсулита. Гликемические нарушения выявляются в нагрузочных тестах.

5 стадия — явный диабет.

Развивается после гибели 80–90% β -клеток. Сохраняется остаточная секреция С-пептида и инсулина.

6 стадия — терминальный диабет.

Полная деструкция β -клеток с жизненно необходимой потребностью в инсулинотерапии и отсутствие С-пептида. Тесты на аутоиммунитет ослабевают или не определяются.

В данной парадигме пропущена весьма важная, хорошо известная клиницистам, фаза «медового месяца» (honeymoon), т.е. ремиссия СД1 на фоне лечения со значительным снижением потребности в инсулине вплоть до его полной отмены. Вероятность развития и длительность ремиссии негативно коррелирует с возрастом дебюта (моложе 5 лет), длительностью до-диагностического периода диабета и наличием кетоацидоза в начале заболевания. По некоторым данным длительность парциальной ремиссии может продолжаться до 2 лет. Данный клинический феномен предполагает существование мощных саногенных механизмов в биологии СД1, что, с одной стороны, нацеливает на поиск регуляции этих механизмов с точки зрения излечения болезни, а с другой стороны, требует изучения вопроса о причине срыва этого компенсаторного механизма. Данный баланс между регенерацией и апоптозом β -клеток требует своего научного и практического решения. В этом контексте нам представляется важным понимание различий видов апоптоза β -клеток [1].

- а) спонтанный апоптоз — заключается в снижении экспрессии антиапоптозных генов (*bcl-2?*) и проч.,
- б) индуцированный апоптоз — запуск процесса апоптоза под действием цитокинов, свободных радикалов и проч.,
- в) диабетический апоптоз — индукция апоптоза под действием диабетических факторов, в т. ч. гипергликемии, окислительного стресса, гиперлипидемии, нарушения соотношения гормон роста/IGF-1 и проч.

Так в практике строгий метаболический контроль, прежде всего по критерию «нормогликемия», значительно нивелирует вероятность индукции диабетического апоптоза β -клеток и продлевает ремиссию диабета.

Диагностика на 1 стадии — генетической предрасположенности

Генетические факторы играют решающую роль в возникновении СД1, так как генетические характеристики предрасполагают к заболеванию СД1 до 50% пробандов, но реализация заболевания под действием пусковых факторов происходит при наличии предрасполагающих аллелей и, напротив, тормозится при наличии протективного генотипа.

Так, в большом когортном исследовании финских близнецов генетическая предрасположенность составила 70–75%, в то время как факторы внешней среды — только оставшиеся 25%. С другой стороны, приходится считаться с фактом, что 85–90% случаев СД1 наблюдаются в семьях без первичной истории СД1 среди родственников 1-й линии родства. В целом заболеваемость sibсов больных СД1 в возрасте до 30 лет в 15 раз превышает заболеваемость в общей популяции, составляя соответственно 6% и 0,4%. Таким образом, СД1 является полиэтиологическим и монопатогенетическим заболеванием.

Различные подходы к идентификации СД1-ассоциированных генетических локусов включают контролируемые исследования генов-кандидатов (гены системы HLA, регуляторный регион гена инсулина, ген рецептора IL-1 тип 1, ген CTLA4 — рецептора активированных Т-лимфоцитов) и систематический тотальный геномный поиск индивидуальных хромосомных регионов.

Наиболее важной детерминантой СД1 является главный комплекс гистосовместимости, расположенный на 6 хромосоме, и особенно полиморфизм генов, кодирующих антигены II класса (DR и DQ гены). Ген, расположенный на 6 хромосоме 6p21, сцепленный с локусом II класса HLA, носит название IDDM1, данный ген объясняет до 60% генетического риска заболеваемости СД1. В целом, полиморфизм генов II класса объясняет от 20 до 50% случаев семейного диабета тип 1.

В последние годы наблюдается значительный прогресс в исследованиях по генетике, что связано с внедрением метода ПЦР взамен серологического HLA-ти-

пирования. Эти исследования проводятся по схеме: открытие новых полиморфных генов с последующим сравнительным анализом частоты встречаемости у больных СД1 в сравнении с контрольной группой. У представителей белой расы гаплотип HLA-DQ8 (DQB1*0302/A1*0301) является преобладающим, немного уступающая по частоте встречаемости гаплотипу DQ2 (DQB1*0201/A1*0501).

Ген IDDM2 располагается в хромосомном локусе 11p15 в непосредственной близости от инсулинового гена и также имеет выраженную связь с болезнью. Ген IDDM2 был выявлен в эпидемиологическом исследовании неравновесного сцепления полиморфных локусов, расположенных рядом с геном инсулина у больных СД1. Он картирован в локусе инсулина (INS), расположенном на хромосоме 11p15.5 между геном тирозингидролазы (TH) и генами инсулина и IGF-2. Гены IDDM1 и IDDM2 объясняют большую часть случаев семейного СД1. Другие гены-кандидаты изучаются с целью объяснения существования значительного числа больных, не имеющих родственников 1 линии родства, больных СД1. Комбинация генов HLA-системы с генами-кандидатами может рассматриваться как облигатная модель болезни. Наличие предрасполагающих аллелей HLA-генов обязательно, но недостаточно. Локус IDDM3, расположенный рядом с маркером D15S107 на хромосоме 15q26, ассоциированный с СД1, был найден в датском исследовании сцепления и внутрисемейных ассоциаций, но в последующем исследовании американских и итальянских семей не подтвердили факт сцепленного наследования СД1 с геном IDDM3. Локус IDDM4 расположен на хромосоме 11q13 рядом с геном фактора роста фибробластов 3 (FGF-3).

Локус IDDM5 располагается на хромосоме 6q25 рядом с локусом эстрогенового рецептора (ESR). Другой ген-кандидат — IDDM8 — расположен более теломерно, чем ESR, рядом с маркерами D6S264-D6S446 в локусе 6q27. Маркер D6S281 гена IDDM8 имеет выраженную ассоциацию с семейным СД1 при многофакторном картировании. Маркером гена IDDM12, который картирован в локусе 2q33, является CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte associated-4). Ген CTLA-4 играет важную роль в процессе апоптоза Т-лимфоцитов. Так, в исследовании на «нокаутированных» мышах по гену CTLA-4 определялся инсулит и 100-кратное повышение уровня иммуноглобулинов сыворотки.

Другие изучаемые гены расположены таким образом: IDDM6 расположен в локусе 18q21, IDDM7 — в локусе 2q31, IDDM9 — в локусе 3q21-q25, IDDM10 — в локусе 10q11.2, IDDM11 — в локусе 14q24.3-q31, IDDM13 — в локусе 2q34, ген глюкокиназы GCK3 — на хромосоме 7p.

Таким образом, сегодня имеется достаточно обширная информация о генетических маркерах СД1 (табл. 1). Эти данные используются в исследованиях по превенции СД1: так, критерием исключения в Североамери-

Таблица 1

Высокого риска и протективные HLA-гаплотипы [7]

Высокий риск:			
DR3-	DRB1*0301	DQA1*0501	DQB1*0201
DR4-	DRB1*0401	DQA1*0302	DQB1*0302
DR4-	DRB1*0402	DQA1*0301	DQB1*0302
Умеренный риск:			
DR8-	DRB1*0801	DQA1*0401	DQB1*0402
DR2-	DRB1*1501	DQA1*0102	DQB1*0502
Протективные:			
Выраженная протекция:			
DR2-	DRB1*1501	DQA1*0102	DQB1*0602
Слабая протекция:			
DR4-	DRB1*0401	DQA1*0301	DQB1*0301
DR4-	DRB1*0403	DQA1*0301	DQB1*0302

канском исследовании Diabetes Prevention Trial-1 (DPT-1) являлось наличие высокопротективных гаплотипов HLA DQA1*0102/DQB1*0602.

Диагностика на 2 стадии — действие триггерных факторов

На второй стадии происходит воздействие на организм диабетогенных факторов, в том числе химических (нитрозамины, нитраты, нитриты и др.), пищевых (вскармливание младенцев коровьим молоком), стрессорных психосоциальных, вирусов, прежде всего островково-тропных (краснуха, цитомегаловирус, Коксаки и др.). В большинстве случаев воздействие триггерных факторов проходит клинически незаметно; так, например, манифестация СД1 наблюдается через 3–4 года после перенесенного эпидемического паротита. В некоторых случаях, таких как врожденная краснуха, дебют СД1 тесно связан по времени с вирусной инфекцией и, как правило, сопровождается аутоиммунным поражением щитовидной железы и надпочечников. Психосоциальные стрессы могут проявлять свой пусковой эффект в период от нескольких дней до года. Таким образом, обнаружение и достоверное нарастание титра анти-островковых антител после воздействия данных факторов позволяет делать заключение об инициации диабета.

Диагностика на 3 стадии — иммунологических аномалий

На третьей стадии определяются иммунологические изменения аутореактивного характера, которые состоят из серологических (определение аутореактивных антител) и клеточных нарушений, которые, в свою очередь, состоят из наличия в периферической крови аутореактивных Т-лимфоцитов и лимфоидной инфильтрации островков Лангерганса. Собственно для определения поражения инсулинпродуцирующего органа — островков Лангерганса — и необходимы данные диагностические тесты [2].

К прямым методам определения наличия инсулита относятся биопсия и скинтиграфия поджелудочной железы с использованием меченого ⁹⁹Tc IL–2. Данные методы носят в настоящее время экспериментальный характер и еще не вошли в рутинную практику [1]. Необходимо отметить, что при наличии тесной статистической связи между наличием и выраженностью инсулита (в виде Т-клеточной инфильтрации, преимущественно за счет CD8+цитотоксических лимфоцитов, и гиперэкспрессии молекул I класса системы HLA на островковых клетках) с одной стороны, и наличием и уровнем титра антиостровковых антител (АОАТ) с другой стороны, абсолютной корреляции данных показателей нет. Так, у некоторых больных СД1 встречается инсулит без наличия АОАТ, а у некоторых больных, напротив, при наличии АОАТ нет признаков инсулита.

Косвенные методы включают определение наличия аутореактивных Т-лимфоцитов и титра АОАТ.

Роль Т-клеточного иммунитета в генезе аутоиммунного сахарного диабета подтверждается прежде всего феноменом переноса болезни при использовании препаратов Т-лимфоцитов и Т-клеточных клонов, выделенных из селезенки или островков NOD-мышей. Описаны случаи диабета, возникшие после аллогенной пересадки костного мозга от донора-диабетика. Мононуклеарная инфильтрация островков Лангерганса состоит также преимущественно из Т-лимфоцитов и макрофагов.

В ранних работах исследовалась лейкоцитарная миграция (РТМЛ) с островковыми экстрактами и, позднее, пролиферация периферических мононуклеаров (РБТЛ) с использованием человеческих и эмбриональных свиных островков. Позже стали определять пролиферативный ответ Т-лимфоцитов на специфические антигены, и данная аутореактивность Т-клеток ассоциировалась с деструкцией β-клеток. В настоящее время аутореактивность Т-лимфоцитов определяют по уровню продукции цитокинов, прежде всего, IFNγ при культи-

Таблица 2

Диагностическая чувствительность, специфичность и прогностическая ценность исследования аутоантител к рекомбинантным антигенам β -клеток [6]

Антиген	Чувствительность (%)	Специфичность (%)	Прогностическая ценность (%)
1. Инсулин	40–80	99	30
2. GAD65	70–80	99	60
3. GAD67	10–20	99	очень низкая
4. IA-2	50–60	98–99	30
5. IA2 β	50	99	30

Примечание: прогностическая ценность рассчитывалась в исследованиях на ICA+ родственниках 1 линии родства больных СД1, а не в общей популяции.

вировании с островковыми антигенами (проинсулин, GAD, IA-2 и др.). Но пока данные методы не входят в батарею тестов «золотого стандарта» на детекцию СД1 из-за большой вариабельности и низкой чувствительности.

Определение активности гуморального иммунитета в настоящее время является основополагающим для определения наличия аутореактивности к островковым клеткам. Так, присутствие GAD-Ab, IA-2Ab, IAA, ICA при наличии клиники диабета считается достаточным подтверждением иммуно-опосредованного генеза болезни.

Наиболее изучены *цитоплазматические аутоантитела к островковой ткани* — ICA (islet cell antibodies). Данные аутоантитела изучаются методом непрямой иммунофлюоресценции на замороженных срезах поджелудочной железы, полученной от доноров 0 группы крови. В качестве международного стандарта используются единицы JDF (Juvenile Diabetes Foundation). Хотя СД1 проявляется специфическим поражением β -клеток, реакция иммунофлюоресценции при определении ICA визуализируется на всех островковых эндокринных клетках. Исключение составляют сыворотки, содержащие высокий титр GAD-Ab, которые специфически связываются только с β -клетками. 97% активности сыворотки ICA+ больных объясняется присутствием GAD65-Ab, IA2-Ab (Islet Antigen 2 Antibodies) и, возможно, IAA. Часть ICA-антигенов, по-видимому, не подвергается протеолизу и может представлять моносинтезированные, располагающиеся при тонкослойной хроматографии между GM1 и GM2.

Наличие и титр ICA, по-видимому, может определять течение и клинические особенности диабета. Так, по нашим данным, у ICA+ обследованных больных с клиническим диагнозом СД2 пожилого и старческого возраста, которых оказалось 8,5%, ранг ICA+ составил от 5 до 15 единиц. В клинической картине обращало на себя внимание достоверное отличие по числу макроангиопатических осложнений диабета. Так, у 26,4% ICA-негативных лиц определялись тяжелые макроангиопатии, в том числе инсульт и острый инфаркт миокарда

в анамнезе, макроангиопатия сосудов нижних конечностей, в то время как в группе ICA+ больных таких осложнений не было [8].

Определение *клеточно-поверхностных аутоантител к островковой ткани* — ICsA (islet cell surface antibodies) — показывает наличие у больных аутоантител к поверхностным молекулам β -клеток. Исследование ICsA пока не стандартизировано. Диагностическая чувствительность метода ниже, чем ICA, и составляет не более 30–60% у больных в дебюте СД1. Предполагается, что в ICsA реакции задействованы такие важные поверхностные молекулы β -клеток как глюкозный транспортер GLUT-2, что доказывается ингибированием глюкозо-стимулированной секреции инсулина при перфузии диспергированных островковых клеток крысы иммуноглобулинами сыворотки больных в дебюте СД1.

Наибольшая диагностическая чувствительность и специфичность определения аутоантител достигнута с помощью радиоиммунологического анализа с применением рекомбинантных антигенов, в том числе GAD65, инсулина и IA-2, которые демонстрируют наиболее воспроизводимые результаты.

Роль *инсулина* как антигена в патогенезе СД1 остается невыясненной. Эпитопы IAA ориентировочно находятся в аминокислотных последовательностях B1-B3 и A8-A13. IAA чаще определяются у детей, чем у подростков и взрослых в дебюте СД1 до начала инсулинотерапии. У детей возраста до 5 лет находили IAA в 100% случаев в дебюте заболевания, против 20% случаев в возрастной группе больных СД1 старше 15 лет. Предположение, что титр IAA линейно коррелирует со степенью активности инсулита и процессом деструкции β -клеток с исходом в диабет, в проспективных исследованиях родственников 1 линии родства больных СД1, имеющих на начало исследования снижение FPIR, не подтвердилось.

Фермент *глутаматдекарбоксилаза* (GAD) конвертирует L-глутамат в нейрональный трансмисмиттер γ -аминомасляную кислоту (GABA) и определяется в виде двух изоформ GAD67 и GAD65. Гены этих энзимов

располагаются на различных хромосомах, ген GAD65 на 3-й и ген GAD67 на 10-й хромосоме. GABA и GAD присутствуют в клетках головного мозга, а также в тканях вне ЦНС, включая панкреатические островки, эпителий фаллопиевых труб и сперматозоиды яичка. GAD65 преимущественно экспрессируется у человека в β -клетках. В нейронах определяется большое содержание обеих изоформ, с преобладанием GAD65 в аксональных отделах. Роль GABA в физиологии β -клеток до конца не ясна, предполагается, что она может использоваться как в регуляторных, так и в трофических процессах. Имеются сообщения о паракринных и метаболических эффектах островковой GABA. Так, ингибирующий эффект GABA на аргинин-стимулированную секрецию глюкагона объясняют связыванием GABA с GABA-рецепторами, присутствующими на α -клетках. Предполагается, что GABA играет важную роль в энергетическом метаболизме β -клеток, в частности, в генерации NADH и АТФ в γ -аминобутиратном шунте. Содружественной секреции GABA с инсулином исследователи не отмечают, и инсулиновые секретайзеры не влияют на ее секрецию. Но существенно, что при инкубации островковых клеток крыс в условиях высокой концентрации глюкозы наблюдается как выраженное повышение активности GAD, так и увеличение экспрессии мРНК GAD.

Диагностическая ценность GAD65-Ab высока и составляет 80% у больных СД1 в дебюте. Чувствительность ниже у мальчиков, но не снижается с возрастом, как это отмечается в случаях с IAA и IA-2Ab. Если диагностическая специфичность достигает 99% в общей популяции, то прогностическая ценность для GAD65-Ab составляет 60%. У детей, больных семейным СД1, антитела к GAD находят в периоде дебюта в 100% случаев, у детей же со спорадической формой СД1 существенно реже (78% случаев). Присутствие GAD65-Ab на момент верификации диагноза, ассоциируется с более быстрой потерей β -клеточной функции, затем в течение 2 лет уровень GAD65-Ab снижается, но у некоторых пациентов с СД1, осложненным явлениями автономной и периферической нейропатий, высокий уровень сохраняется годами и даже десятилетиями. GAD-Ab у больных СД1 детей ассоциируется с HLA-DQ2. Показано, что пептиды GAD65 специфически связываются с HLA молекулами в аллелях DQ и DR. В эксперименте пептид GAD65, гомологичный антигену Р2-С вируса Коксаки В, связывается с молекулой DQ8. Предполагается, что такая презентация антигенов II класса системы HLA приводит к активации Т-хелперов через определенные рецепторы Т-лимфоцитов. Активация Т-хелперов может стимулировать В-лимфоциты с анти-GAD мембрано-связанным IgM, что приводит позднее к продукции аутоантител класса IgG. Другой гипотезой, объясняющей иммунологическую роль GAD, является теория молекулярной мимикрии. Пептид GAD 247-279 имеет аналогичную последовательность протеину Р2-С вируса Коксаки В. Периферические мононуклеары, полученные

от больных СД1 и реагирующие на пептид GAD 247-279, также реагируют на гомологичный пептид вируса Коксаки. Такая молекулярная пертурбация может приводить к появлению иммунного ответа, направленного против собственных антигенов, первично вызванного реакцией на чужеродный антиген.

IA-2 антиген является белковой тирозинфосфатаза-подобной молекулой, которая входит в семейство трансмембранных молекул. Обнаружены две гомологичные молекулы, IA-2 и IA-2 β (фогрин). Эти молекулы представляют два фрагмента 41kDa и 37kDa, полученные обработкой трипсина антигена 64 kDa и определяемые методом иммунопреципитации и ауторадиографии. Таким образом, первый описанный антиген островковых клеток — протеин 64 kDa, выявленный методом иммунопреципитации с помощью сыворотки больных СД1 Baekkeskov S. и соавт. (1982), — в настоящее время рассматривается как три различных белка: GAD, IA-2 и IA-2 β /phogrin. Внутриклеточная локализация последних антигенов, в отличие от GAD65, преимущественно ассоциируется с секреторными гранулами β -клеток. Молекула IA-2 экспрессируется в островках Лангерганса, а также в различных отделах головного мозга. Данная молекула экспрессируется в клетках нейроэндокринных опухолей (АПУД системы), в частности овсяноклеточного рака легкого, что позволяет говорить о возможности применения данного антигена в качестве маркера таких опухолей. Предполагается, что эта молекула принимает участие в регуляции клеточного цикла и пролиферации, поддержании целостности скелета клетки в ответ на внешний стимул и, поскольку IA-2 является интегральным мембранным протеином в инсулиновых секреторных пузырьках, возможно, IA-2 играет важную роль в сигнале интернализации компонентов везикулярной мембраны. IA-2 позитивно ассоциируется с гаплотипом DQ8 и негативно — с гаплотипом DQ6 у недавно заболевших больных СД1, а также с более молодым возрастом дебюта СД1.

IA-2 β также определяется в островковых клетках, головном мозге, в клеточной линии рака толстой кишки. Данный энзим также, как IA-2, неактивен. Аутоантитела, полученные от больных СД1, реагируют только с цитоплазматическим доменом IA-2 β . Аутоантитела к IA-2 β у больных СД1 определяют реже, чем к IA-2, а практически у всех (95%) больных СД1, имеющих аутоантитела к IA-2 β , находят аутоантитела к IA-2. Таким образом, для скрининга эти аутоантитела не используют.

Кроме вышеупомянутых антигенов, имеется ряд клонированных протеинов, по которым пока получено недостаточно информации, такие как:

- ICA69 — антиген островковых клеток 69K. Ген данного антигена картирован на хромосоме 7p22. Высокий уровень ICA69 находят в островковых клетках, головном мозге, тестикулах и поджелудочной железе. Данный антиген имеет гомологию с бычьим сывороточным альбумином и, как считается, может

принимать участие в запуске СД1. ICA69-Ab находят как в предиабетической стадии, так и в дебюте 20–30% случаев СД1, их уровень не зависит от других аутоантител, в том числе ICA и IAA. Т-клеточная аутореактивность к ICA69 более выражена в дебюте болезни, чем у больных со стажем или их близких родственников.

- *38kDa jun-B* — аутореактивность Т-лимфоцитов к ядерному транскрипционному протеину jun-B (38K) нашли у 71% больных впервые выявленным сахарным диабетом тип 1 и у 50% ICA-позитивных родственников 1 линии родства, у 25% больных другими аутоиммунными заболеваниями при негативной реакции у здоровых. Предполагается, что данный антиген имеет общие последовательности с цитомегаловирусом и вирусом герпеса.
- *CPH* (carboxypeptidase H) — известная также как энкефалинконвертаза, является энзимом с молекулярным весом 52kDa, экспрессируемым в островковых и нейроэндокринных клетках. CPH существует как в мембранной, так и в растворимой форме, которая секретируется вместе с инсулином.
- *HSP* (heat shock proteins) — семейство стресс-протеинов, продуцируемых различными клетками в ответ на температуру, цитокины или свободные радикалы. Предполагается молекулярная мимикрия между эпитопом GAD65 и HSP мол. массой 65 kDa. HSP65 может экспрессироваться на поверхности β-клеток и служить мишенью для островковых аутоантител. Антитела к рекомбинантному мышинному HSP60 находили методом ELISA не только у 16% больных СД1, но и у 20% больных ревматоидным артритом.
- *AADC* (aromatic L-amino acid decarboxylase) — аутоантитела к данному протеину β-клеток весом 51kDa часто находят у больных с АПГС тип 1, наряду с аутоантителами к GAD65. Данный антиген является ферментом и катализирует декарбоксилирование ароматических L-аминокислот, которые являются интермедиатами в синтезе катехоламинов и индоламиновых нейротрансмиттеров. AADC также присутствует в периферической и центральной нервной системах, печени, кишечнике и почках. Имеется некоторая гомология между активным центром AADC и GAD65. Аутоантитела к AADC определяли у 51% больных АПГС тип 1, но AADC-Ab не определялись у больных вновь выявленным СД1 и в группе контроля. Предполагается, что данный антиген можно будет использовать для разграничения патогенетических механизмов эссенциального аутоиммунного сахарного диабета тип 1 и неспецифического аутоиммунного сахарного диабета тип 1 в структуре АПГС тип 1.
- *DNA topoisomerase II* — аутоантитела к данному антигену находят у 48% больных СД1, что отражает повышенную частоту аутоантител к нуклеопротеинам у больных СД1 и их родственников 1 линии

родства. Причем отмечают, что в отличие от ICA и IAA титр аутоантител к данному антигену не зависит от возраста, пола и стажа диабета. При анализе аминокислотных последовательностей отмечается гомология до 64% между данным белком и другими антигенами, в том числе инсулином, GAD и HSP65.

- *Glima 38* (glycosylated islet cell membrane antigen) — мембранный гликопротеин молекулярным весом 38kDa, экспрессирующийся в островковых и нейроэндокринных клетках. Он определяется в реакции иммунопреципитации у 19% детей с вновь выявленным СД1 и у 14% родственников 1 линии родства больных СД1.

Комплемент-зависимая антителоопосредованная цитотоксичность (САМС — complement-dependent antibody mediated cytotoxicity) является специфическим способом уничтожения клеток. Такие антитела связываются с антигенами поверхности клеток, что инициирует систему комплемента. Комплемент, в свою очередь, поражает клетки, протеолитически повреждая плазматическую мембрану, нарушая ее целостность, что приводит к гибели клетки. Чаще как источник комплемента используется сыворотка животных (кролика или гвинейской свиньи) и, реже, человека. Как мишени обычно используют островковые клетки или инсулин-продуцирующие опухолевые клетки крыс. Первоначально комплемент-фиксирующие цитотоксические аутоантитела были продемонстрированы у больных СД1 в дебюте, но диагностическая чувствительность составила всего 50–60%. Существенно, что цитотоксическая реакция не точна, так как изменяется в зависимости от метаболического статуса клеток-мишеней.

Диагностика на 4 стадии — латентная стадия диабета тип 1

На данной стадии отсутствуют клинические признаки сахарного диабета, но поскольку имеются функциональные и органические расстройства (дисгликемия в нагрузочных тестах и иммунологические маркеры аутоагрессии, направленной к островковой ткани), речь идет о латентной форме заболевания, при которой правомочны активные врачебные действия лечебно-профилактического характера. Проблемой, разумеется, остается соотношение тяжести прогноза и степени активности терапевтических мероприятий, которые, по существующим гуманитарным представлениям, никогда не должны наносить больному ущерб больший, чем сама болезнь.

Для выявления дисгликемии используется метод ВГТТ (внутривенный глюкозо-толерантный тест). Показатели ВГТТ позволяют на практике охарактеризовать секрецию инсулина β-клетками, и прежде всего количественно определить степень нарушения 1-й фазы секреции инсулина. Метод ВГТТ впервые был предложен еще в 1923 году S. Jorgensen, T. Plum для дифферен-

Таблица 3

Протокол ВГТТ [3]

Подготовка	Рекомендации NDDG, как и для ПТГ (3-дневная обычная диета с содержанием углеводов 150 г и более, обычная физическая активность, отсутствие интеркуррентных заболеваний). Предшествующее голодание не менее 10 и не более 16 часов, в этот период разрешается пить воду, но запрещается курить
Время начала теста	7,30–10,00
Дозировка глюкозы	0,5 г/кг, но не более 35 г на болюс, 25% концентрации
Инфузия	Мануально или помпой с постоянной скоростью, время инфузии 3 мин ± 15 сек
Время ноль	Конец инфузии
Минимальное число образцов	Два отдельных базальных образца, а также на 1, 3, 5, 10 минутах
Канюля	Возможно применение венозного катетера в вену предплечья, но с промыванием физиологическим раствором после введения глюкозы. «Мертвое» пространство должно быть промыто перед забором образцов крови

циальной диагностики между «доброкачественной и злокачественной глюкозурией». В 1972 году тест был усовершенствован и предложен для диагностики диабета вместо пробы на толерантность к глюкозе (ПТГ), показатели которой варьируют в зависимости от гастроинтестинальной абсорбции глюкозы. Некоторые авторы предлагают оценивать уровень инсулинемии на 3 минуте ВГТТ в сравнении с таковым у здоровых, другие авторы предлагают для оценки 1 фазы рассчитывать площадь инсулиновой кривой. С целью стандартизации теста для работ по предикции СД1 группа ICARUS (Islet Cell Antibody Register User's Study) предложила соответствующий протокол-консенсус (табл. 3).

Сумма концентраций инсулина на 1-й и на 3-й минутах оценивается как величина, характеризующая 1-ю фазу секреции инсулина (FPIR). В практике, тем не менее, интраперсональная вариабельность значительно ограничивает полезность теста. Другой проблемой являются физиологические особенности детского и подросткового возраста, когда во время пубертата отмечается повышение базального и стимулированного уровней инсулинемии, что отражает пубертатную транзиторную инсулинорезистентность. В целом нарушение 1-й фазы секреции инсулина предшествует дебюту диабета в среднем за 1–5 лет.

Другим релевантным методом оценки функции β-клеток остается, как это ни парадоксально, ПТГ. Так, в исследовании DPT-1 была обнаружена значительная группа среди ICA+ родственников больных СД1, имеющих исключительно нарушение гликемии только на 120 минуте ПТГ, причем корреляция между FPIR и уровнем гликемии на 120 минуте практически отсутствовала.

На латентной стадии, с точки зрения вероятности развития явного диабета, как правило, у больных имеется высокий титр ICA (выше 20 и, более значимо, выше 80 единиц JDF), который сочетается с наличием других предиабетических антител.

Различают три фазы предиабета по степени риска манифестации СД1:

- Отсутствие предиабета — отсутствие диабетических антител.
- Ранний предиабет — определяется один вид антител при нормальных значениях 1-й фазы секреции инсулина во внутривенном глюкозотолерантном тесте (ВГТТ).
- Поздний предиабет — определяется один и более видов антител в сочетании с нарушением 1-й фазы секреции инсулина в ВГТТ.

Таблица 4

Диагностические значения ПТГ (WHO, 1999)

		Концентрация глюкозы (ммоль/л)			
		Цельная кровь		Плазма	
		Венозная	Капиллярная	Венозная	Капиллярная
Нарушенная гликемия натощак	Натощак	> 5,6 и < 6,1	> 5,6 и < 6,1	> 6,1 и < 7,0	> 6,1 и < 7,0
	Через 2 ч*	< 6,7	< 7,8	< 7,8	< 8,9
Нарушенная толерантность к глюкозе	Натощак*	< 6,1	< 6,1	< 7,0	< 7,0
	и через 2 ч	> 6,7 и < 10,0	> 7,8 и < 11,1	> 7,8 и < 11,1	> 8,9 и < 12,2
Сахарный диабет	Натощак	> 6,1	> 6,1	> 7,0	> 7,0
	или через 2 ч	> 10,0	> 11,1	> 11,1	> 12,2

Примечания: * — если определяется.

Для эпидемиологических исследований достаточно значений гликемии натощак или через 2 часа, но для клинических целей необходимо подтверждение диагноза диабета посредством повторения теста на следующий день.

Диагностика на 5 стадии — явного диабета

Диагностика на стадии явного диабета складывается из известных клинических данных и параметров гликемии, оцениваемых, особенно в случае аглюкозурии, в стандартном ПТГ.

Диагностика на 6 стадии — терминального диабета

На стадии терминального диабета является принципиальным отслеживание резидуальной функции β -клеток, сохранность которой, по современным представлениям, имеет существенное значение с точки зрения развития поздних диабетических осложнений, прежде всего ретинопатии и нейропатии, а также с позиций риска развития лабильного течения болезни со склонностью к кетоацидозу и гипогликемическим состояниям. В исследовательских целях применяют нагрузочные тесты для выявления резервов островков Лангерганса, в рутинной же практике достаточно определения тощакового уровня С-пептида в сыворотке крови.

Заключение

В современной клинической медицине имеется ряд принципиально новых подходов к лечению аутоиммунных заболеваний, в том числе аутоиммунного сахарного диабета тип 1. Так, иммунотерапия сегодня включает не только иммуносупрессию, но и иммунодевиацию, иммуномодуляцию, индукцию толерантности и способы прямой реконструкции иммунной системы. Все это коренным образом меняет подходы к лечению этого заболевания и позволяет перенести акцент с заместительной терапии, профилактирующей развитие не-

обратимых осложнений, на профилактику самого заболевания. Так, например, инсулинотерапия диабета, насчитывающая почти столетнюю историю, рассмотренная с современных позиций понимания особенностей иммунопатофизиологии СД1, дает принципиально новые возможности для лечения аутоиммунного сахарного диабета и его осложнений [5]. Таким образом, возможности современной лабораторной диагностики, в свою очередь, обеспечивают успех новых терапевтических подходов к лечению аутоиммунного сахарного диабета тип 1.

Литература

1. Один В.И. Аутоиммунный сахарный диабет (под ред. А. А. Новика). — СПб.: ВМедА, 2003. — 344 с.
2. Один В.И., Цыган В.Н. Иммунопатофизиология сахарного диабета тип 1. — СПб.: СпецЛит, 2006. — 32 с.
3. Bingley P.J., Colman P., Eisenbarth G.S. et al. Standardization of IVGTT to predict IDDM // *Diab. Care.* — 1992. — V. 15. — N 10. — P. 1313–1315.
4. Eisenbarth G.S. Type I diabetes mellitus. A chronic autoimmune disease // *N. Engl. J. Med.* — 1986. — V. 314. — 1360–1368.
5. Odin V.I. Insulin therapy in autoimmune diabetes: different aims // *Medline.Ru.* — 2003. — V. 4. — N 4. — P. 186–191
6. Schranz D.B., Lenmark A. Immunology in diabetes: an update // *Diabetes metab. Reb.* — 1998. — V. 14. — P. 3–29.
7. Slover R.H., Eisenbarth G.S. Prevention of type I diabetes and recurrent β -cell destruction of transplanted islets // *Endocr. Rev.* — 1997. — V. 18. — N 2. — P. 241–258.
8. Vartanian N.L., Odin V.I., Zarubajev V.V. et al. Islet cell antibodies and diabetic angiopathies in elderly diabetes type 2 patients // *Diab. Res. Clin. Pract.* — 2000. — V. 50. — Suppl.1. — S.130.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОГЕННЫХ АМИНОВ В ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКЕ

С.Д. ЗАЙКО

Ведущий специалист по продукции ЗАО «АНАЛИТИКА», Москва

Резюме. В настоящем обзоре рассматриваются современные данные о направлениях использования методов определения биогенных аминов — катехоламинов, серотонина, гистамина и их метаболитов — в лабораторной практике. Проанализированы диагностические подходы к лабораторной диагностике опухолей нейроэндокринного происхождения (феохромоцитомы, нейробластомы, ганглионевромы). Рассматриваются современные возможности определения биогенных аминов методом иммуноферментного анализа и перспективы его практического использования в лабораторной практике. Представлен обширный список литературы по теме (зарубежные источники).

Ключевые слова: метанефрины, адреналин, норадреналин, дофамин, серотонин, гистамин, феохромоцитома, нейробластома, иммуноферментный анализ.

METANEPHRINES AND AMINES MEASUREMENT IN LABORATORY PRACTICE

S.D. ZAIKO

Chief specialist for production of “Analytica” company, Moscow

Summary. The data concerning the diagnostic value of laboratory measurement of biogenic amines (catecholamines, serotonin, histamine and their metabolites) are discussed. Some approaches to laboratory diagnosis of neuroendocrine tumours (phaeochromocytoma, neuroblastoma, ganglioneuroma) are analyzed. Also we assess the diagnostic perspectives of enzyme immunoassay (ELISA) in the sphere.

Key words: metanephrines, adrenaline, noradrenaline, dopamine, serotonin, histamine, phaeochromocytoma, neuroblastoma, ELISA.

Биогенные амины (БА) — эндогенные биологически активные производные ароматических аминокислот, участвующие в осуществлении и регуляции многочисленных и разнообразных физиологических процессов. Они хорошо известны как медиаторы передачи нервного импульса и как гормоны. Активно исследуется участие этих веществ в различных иммунологических и воспалительных реакциях [4, 41, 56].

В связи с этим определение концентрации БА в крови, моче и других биологических жидкостях важно для диагностики и мониторинга многих заболеваний и функциональных состояний организма. Кроме того, они являются специфическими маркерами развития некоторых опухолей.

Для измерения концентрации биогенных аминов используется ряд современных биохимических и иммунохимических методов, пришедших на смену недостаточно чувствительному колориметрическому определению. К ним относятся высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с флуоресцентной, электрохимической [25] и масс-спектрометрической детекцией [23] и газовая хроматография (ГХ) с масс-спектрометрической детекцией [62]. Эти методы обеспечивают высокую чувствительность, специфичность и точность измерения, однако для их использования необходимы дорогостоящее оборудование и реагенты и высококвалифицированный персонал.

Другим направлением является разработка иммунохимических методов, основанных на специфическом

узнавании молекул БА молекулами соответствующих антител. К ним относятся радиоиммунологический и иммуноферментный методы анализа. Первые попытки разработки иммунохимических тестов встретили значительные трудности, так как низкомолекулярные молекулы БА практически не обладают свойствами антигенов и, даже будучи конъюгированными с белком-носителем, не вызывают образования антител, аффинность которых достаточна для достижения требуемой чувствительности анализа. Успешное решение было найдено, когда обнаружили, что ацилирование молекул БА резко усиливает их антигенные свойства. Были получены высокоаффинные поли- и моноклональные антитела к ацильным производным БА и разработана методика ацилирования молекул БА в исследуемых и контрольных образцах в процессе проведения анализа [63]. Это сделало возможным создание иммуноферментных и радиоиммунологических диагностических наборов, по чувствительности, специфичности и точности определения не уступающих хроматографическим методам, но более простых, привычных по формату для лабораторного персонала и легко поддающихся автоматизации.

Катехоламины

Катехоламины (КА) — группа ароматических аминов, включающая адреналин (эпинефрин), норадреналин (норэпинефрин) и дофамин. Адреналин и норадреналин синтезируются из дофамина — производного аминокислоты фенилаланина. Основная часть адрена-

лина синтезируется в мозговом веществе надпочечников, норадреналина и дофамина — в нервных клетках. Активная секреция адреналина и норадреналина связана с реакцией организма на стресс. При этом их концентрация в крови и моче может возрасти во много раз, после чего уровень КА в крови быстро восстанавливается, тогда как концентрация метаболитов — метанефрина и норметанефрина (вместе обозначаются как «метанефрины») — остается высокой. Уровень катехоламинов может значительно изменяться при гипертонии, кардиопатиях, депрессиях [19, 21] и многих других патологических состояниях, однако эти изменения зависят от многих факторов и часто краткосрочны.

Большое клиническое значение имеет определение КА и их производных в крови и моче при развитии ряда опухолей. Их концентрация увеличивается при развитии нейробластом, феохромоцитом и ганглионевром. Клетки этих опухолей имеют нейроэндокринное происхождение и секретируют КА и метанефрины. Даже если опухоль является доброкачественной, постоянное выделение КА в кровь может привести к тяжелым последствиям, вплоть до гибели больного. Основными симптомами являются приступы гипертонии, причину которых необходимо установить, а также головная боль, повышенное потоотделение, тахикардия. Если преобладает секреция норадреналина, симптоматика выражена слабее.

Феохромоцитомы — доброкачественные, редко злокачественные опухоли мозгового вещества надпочечников [1] — являются источником секреции КА, метанефрина и норметанефрина. Их раннее выявление очень важно, так как при своевременном обнаружении хирургическое лечение обычно является успешным [36]. Сходные опухоли, расположенные вне надпочечника (секретирующие параганглиомы), обычно выделяют норадреналин и норметанефрин. Как правило, концентрация КА и их метаболитов увеличивается как в плазме крови, так и в моче. Основное диагностическое значение имеет определение метанефринов, поскольку основная часть молекул метанефринов образуется из КА еще внутри клетки до поступления в кровоток [14]. Степень возрастания уровня метанефрина и норметанефрина хорошо коррелирует с размером опухоли, в отличие от КА, уровень которых является более переменным [11, 16]. Основная часть метанефринов в плазме и особенно в моче находится в виде сульфоконъюгатов, и для их суммарного определения нужно провести предварительный гидролиз образца. Образование сульфоконъюгатов происходит не в надпочечниках, а главным образом в клетках желудочно-кишечного тракта, и зависит как от местной секреции КА, так и от диеты [14]. Поэтому неудивительно, что, несмотря на то, что концентрация суммарных метанефринов значительно выше, определение именно свободных метанефринов в плазме обеспечивает наибольшую клиническую чувствительность [43, 58]. Если содержание свободных метанефри-

нов в плазме не увеличено, это с высокой степенью вероятности свидетельствует об отсутствии секретирующей КА опухоли [26, 45, 47]. Специфичность анализа значительно увеличивается, если одновременно определять метанефрин и норметанефрин и в плазме, и в моче [48, 52]. Ложноположительные реакции, связанные с влиянием лекарств, можно исключить, определяя отношения метанефрин/адреналин или норметанефрин/норадреналин (в зависимости от преобладания секреции), а также по реакции на клонидиновую пробу [12]. Проблемы, связанные с лабораторной диагностикой феохромоцитомы в моче, проанализированы в обзоре [44]; определение свободных метанефринов в моче позволяет диагностировать опухоль с высокой клинической чувствительностью [5].

Описаны случаи резкого увеличения активности секреции адреналина у больных с феохромоцитомой при назначении глюкокортикоидов. При наличии определенных клинических симптомов (головная боль, гипертония, тахикардия, боль в области груди или живота) назначение этих препаратов, вероятно, требует предварительного обследования на наличие феохромоцитомы [51].

Все более широкое распространение методов сканирования брюшной полости привело к частому случайному обнаружению новообразований («инсиденталом», от англ. *incidental* — «случайный») в надпочечниках; обычно это происходит при проведении исследований, назначенных по другому поводу. В случае обнаружения такой опухоли необходимо выяснить, не секретирует ли она КА [40, 64], для чего измеряют концентрации КА и их производных [54].

Мониторинг концентрации КА и метанефринов может также применяться для контроля эффективности хирургического лечения феохромоцитомы [49]. При радикальном удалении опухоли концентрация маркеров постепенно нормализуется [46].

Снижение содержания метанефринов как в плазме, так и в моче выявлено при врожденной гиперплазии коры надпочечников — заболевании, при котором нарушен синтез кортизола из-за дефицита 21-гидроксилазы. Наблюдалась корреляция между этим снижением и выраженностью дефицита фермента, что подтверждает регулирующее влияние глюкокортикоидных гормонов на функцию клеток мозгового вещества надпочечников. Восстановление уровня кортизола за счет ввода экзогенного гормона не приводит к восстановлению нормального уровня концентрации метанефринов [34].

Увеличение уровня дофамина и его метаболита 3-метокситирамина в крови и моче наблюдается у детей при развитии нейробластомы [6, 24]. Если при клиническом обследовании возникает подозрение на наличие нейробластомы, измерение концентрации дофамина может дать лабораторное подтверждение клинических данных. Развитие нейробластомы может сопровождаться также увеличением содержания норадреналина и

норметанефрина в моче; при этом показано, что отношение концентрации норадреналина [17] или ванилилминдальной кислоты [57] к концентрации дофамина в моче характеризует активность дофамин-β-гидроксилазы в клетках опухоли и может служить прогностическим показателем: чем выше это отношение, тем более дифференцированные клетки образуют опухоль. Описан случай, когда после проведения химиотерапии из нейробластомы образовалась опухоль, состоящая из более зрелых клеток и сходная с ганглионевромой; при этом процесс химиотерапии сопровождался повышением концентрации норметанефрина и (в меньшей степени) ванилилминдальной кислоты в моче [7].

Повышение концентрации дофамина в моче выявлено и при некоторых других заболеваниях: карциноиде (у взрослых), феохромоцитоме (у взрослых и детей), синдроме Костелло, лейкемии, синдроме Менкеса и рабдомиосаркоме мочевого пузыря (у детей). Кроме того, такое повышение может быть связано с лекарственной терапией (дофамин внутривенно, леводофа, метилдофа, клозапин, антидепрессанты, метоклопрамид) и встречается во время беременности [10]. Редкие, продуцирующие дофамин параганглиомы выявляли по увеличению содержания О-метилокситирамина (метаболит дофамина, аналогичный метанефринам) в плазме [15].

Серотонин

Серотонин, или 5-гидрокситриптамин (5-ГТ), — биогенный амин, являющийся производным триптофана. Он хорошо изучен как медиатор серотонинэргических нейронов ЦНС, участвующих в регуляции сна, аппетита, поведенческих реакций. Основная часть серотонина за пределами ЦНС находится в тромбоцитах. Кроме того, он содержится в тучных клетках, базофилах и хромаффинных клетках кишечника. Эффекты серотонина разнообразны. Он оказывает стимулирующее влияние на гладкомышечные клетки кровеносных сосудов, бронхиол, кишечника; недостаточность серотонина может привести к функциональной кишечной непроходимости. Повышенный уровень серотонина в крови обнаружен при воспалительных реакциях и активации тромбоцитов. В последнее время обнаружено и активно исследуется влияние серотонина на иммунологические процессы, в частности, миграцию клеток иммунной системы, их взаимодействие, фагоцитоз, продукцию цитокинов и т.д. [8, 22].

Повышение содержания серотонина в плазме и моче является весьма специфичным маркером карциноида ЖКТ и легких, которые составляют до 85% новообразований нейроэндокринного происхождения в ЖКТ [32]. Их развитие часто сопровождается вызванным серотонином повреждением сердечных клапанов [28]. Измеряя концентрацию серотонина, можно оценить качество проведенной операции по удалению опухоли, а также предположить наличие или отсутствие метастазов.

Маркером наличия таких опухолей также является метаболит серотонина — 5-гидроксииндолуксусная кислота [37].

Во многих исследованиях определяли содержание серотонина в тромбоцитах при депрессии [33]. Пониженный уровень серотонина был обнаружен у больных с психотическими симптомами при болезни Альцгеймера [35]. Снижение содержания серотонина в тромбоцитах при гипотиреозе коррелировало со степенью выраженности симптомов депрессии и, по мнению авторов, может служить маркером депрессивного состояния у этих больных [55]. Многочисленные исследования связывали снижение содержания серотонина со склонностью к повторному покушению на самоубийство, однако возможность использования его в качестве маркера этого состояния вызывает сомнения [38].

Надежным маркером депрессии является снижение концентрации 5-гидроксииндолуксусной кислоты в спинномозговой жидкости.

Гистамин

Гистамин — биогенный амин, хорошо известный как медиатор аллергической реакции гиперчувствительности немедленного типа. Он содержится главным образом в тучных клетках и базофильных лейкоцитах. При анафилактических и аллергических реакциях, опосредованных гистамином, его концентрация возрастает пропорционально интенсивности реакции [9, 61]. Концентрацию гистамина определяют в плазме, моче, а также супернатантах культуры клеток после контакта с аллергеном. Изменение концентрации коррелирует с эффективностью терапии специфическими антагонистами. Так, при профилактическом приеме гидроксизина и хлорферамина — антагонистов рецепторов гистамина типа H-1 и H-2 — наблюдалось снижение чувствительности больных с аллергией к мидазолам-кетаминевой анестезии и уровень гистамина в плазме не увеличивался [20].

Обнаружено повышение концентрации гистамина в плазме при проведении коронарной ангиографии у больных ишемической болезнью сердца, по-видимому, не связанное с развитием аллергических реакций, опосредованных IgE [50].

Содержание гистамина в плазме и моче увеличивается также при непереносимости гистамина, поступающего с пищей, связанного со сниженной активностью диаминооксидаз; симптомы этого состояния сходны с аллергическими [30].

Отдельной областью лабораторного анализа является определение гистамина в продуктах питания. Он образуется из гистидина за счет действия декарбоксилаз микроорганизмов (многих видов бактерий и некоторых видов дрожжевых грибов). Поэтому его содержание велико в сырах, красном вине, квашеной капусте, некоторых видах мясопродуктов [3, 18]. В случае, если технология приготовления не предполагает роста микроорганизмов, выявление гистамина свидетельствует

о микробном заражении продукта. В частности, гистамин определяют для санитарно-гигиенического контроля свежей рыбы и рыбной муки [2].

Иммуноферментный анализ

В вышеупомянутых исследованиях БА чаще всего измерялись с помощью хроматографических методов, точных и высокочувствительных, однако предъявляющих высокие требования к персоналу и дорогостоящих, что существенно ограничивает внедрение их в широкую лабораторную практику [13, 53]. Появление новых иммуноферментных наборов, не уступающих по чувствительности и специфичности методам ВЭЖХ и ГХ, создает возможность проводить анализ БА, используя уже существующую инструментальную базу и опыт сотрудников, владеющих техникой широко распространенного метода ИФА.

Иммуноферментный анализ БА имеет ряд особенностей. Специфические высокоаффинные антитела удается получить только к молекулам ацилированных производных БА [29, 39, 42]. Поэтому в процессе проведения анализа БА, содержащиеся в исследуемых и контрольных образцах, также подвергаются ацилированию с помощью специального реагента. В состав наборов для определения КА также входит дополнительный планшет для ковалентной экстракции молекул КА из образцов и последующего ацилирования. Методика, используемая в иммуноферментных наборах производства компании «Labor Diagnostika Nord» (Германия), обеспечивает высокую специфичность экстракции, что является необходимым условием специфичности самого анализа. Возможно определение как свободных, так и суммарных (свободных и конъюгированных) КА и метанефринов в моче. Для определения БА после экстракции и модификации чаще всего используется конкурентный метод. Помимо иммуноферментного, возможно проведение и радиоиммунологического анализа [27].

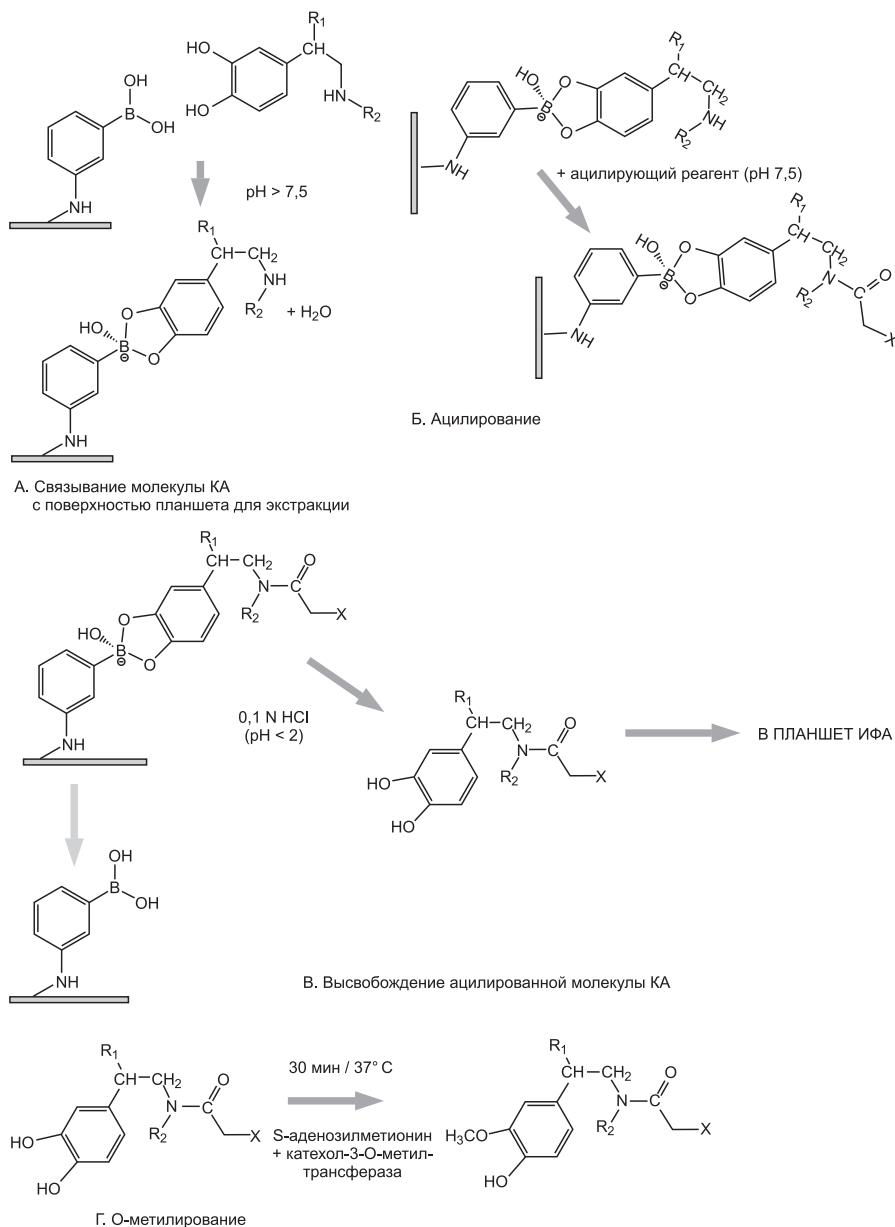


Рис. 1. Химические реакции КА, предшествующие иммуноферментному анализу

Стадии обработки образца, предшествующие собственно иммуноферментному анализу, в соответствии с технологией, использованной в наборах «Labor Diagnostika Nord», приведены на рисунке 1. Экстракция, ацилирование и гидролиз проводятся в лунках специального планшета, входящего в состав набора. Затем аликвота образца переносится в планшет для проведения ИФА и метилируется по ОН-группе (если определяются КА, но не метанефрины), после чего проводится конку-

рентный иммуноферментный анализ.

Проведенные сравнительные исследования показали высокую степень корреляции результатов ИФА с данными, полученными методом высокоэффективной жидкостной и газовой хроматографии [31, 60]. Аналитическая чувствительность ИФА разных БА составляет 5–20 пг/мл. Показано, что лекарственные препараты, обычно назначаемые больным, у которых присутствует или может быть заподозрена феохро-

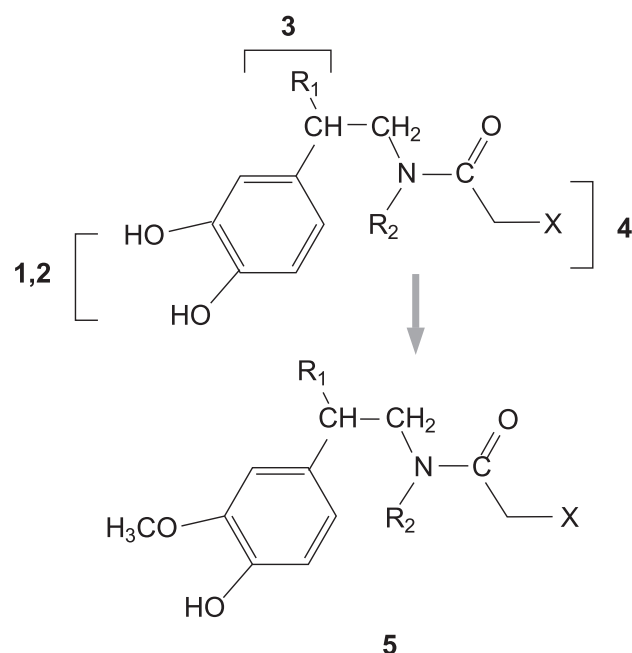


Рис. 2. Факторы, определяющие специфичность иммуноферментного анализа КА

моцитомы, на результаты измерения содержания метанефрина и норметанефрина в моче не влияют [59].

В процессе экстракции молекул КА из образца и модификации их происходит несколько химических реакций. Их высокая специфичность является причиной отсутствия перекрестных реакций со стороны лекарственных препаратов, молекулы которых имеют сходную структуру (рис. 2.).

При использовании наборов последнего поколения (марка Fast Track) производства компании «Labor Diagnostika Nord», по данным производителя, существенно увеличивается чувствительность и уменьшается время проведения анализа.

Появление усовершенствованных вариантов метода иммуноферментного анализа создает дополнительные возможности для определения содержания биогенных аминов и открывает перспективу широкого внедрения этих тестов в лабораторную практику.

Литература

1. Adler J.T. et al. Pheochromocytoma: Current Approaches and Future Directions // The Oncologist, 2008. — V. 13, p. 779–793.
2. Al Bulushi I., Poole S., Deeth H.C., Dykes G.A. Biogenic amines in fish: roles in intoxication, spoilage and nitrosamine formation — a review // Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 2009. — V. 49, p. 369–77.
3. Aygün O. et al. Comparison of ELISA and HPLC for the determination of histamine in cheese // J. Agric. Food Chem., 1999. — V. 47, p. 1961–4.
4. Beck G.C., Brinkkoetter P., Hanusch C., Schulte J., van Ackern K., van der Woude F.J., Yard B.A. Clinical review: immunomodulatory effects of dopamine in general inflammation // Crit. Care, 2004. — V. 8. — P. 485–491.
5. Boyle J.G., Davidson D.F., Perry C.G., Connell J.M.C. Comparison of Diagnostic Accuracy of Urinary Free Metanephrines, Vanillyl Mandelic Acid, and Catecholamines and Plasma Catecholamines for Diagnosis of Pheochromocytoma // J. Clin. Endocr. Metab., 2007. — V. 92, p. 4602–4608.
6. Candito M., Thyss A., Albertini M., Deville A., Politano S., Mariani R., Chambon P. Methylated catecholamine metabolites for diagnosis of neuroblastoma // Med. Pediatr. Oncol., 1992. — V. 20, p. 215–20.
7. Candito M., Soler C., Deville A., Bekri S., Chambon P., Thyss A. Urinary excretion of methylated catecholamine metabolites in a child

Перечень тест-систем для ИФА производства компании «Labor Diagnostika Nord»

Определяемый аналит	Номер по каталогу	Формат теста	Примечание
5-гидроксииндолуксусная кислота (5-HIAA)	BA10-1900	96×01	Опред. в моче
Адреналин (эпинефрин)	BA10-0100	96×01	Опред. в плазме и моче
Норадреналин (норэпинефрин)	BA10-0200	96×01	Опред. в плазме и моче
Дофамин	BA10-0300	96×01	Опред. в плазме и моче
Адреналин и норадреналин (2-CAT)	BA10-1500	96×02	Опред. в плазме и моче
Адреналин, норадреналин и дофамин (3-CAT)	BA10-1600	96×03	Опред. в плазме и моче
Норметанефрин	BA10-8500	96×01	Опред. в моче
	BA10-8200	96×01	Опред. в плазме
Метанефрин	BA10-8400	96×01	Опред. в моче
	BA10-8100	96×01	Опред. в плазме
Нефрины (метанефрин и норметанефрин)	BA10-8600	96×02	Опред. в моче
	BA10-8300	96×02	Опред. в плазме
Серотонин	BA10-0900	96×01	Опред. в сыворотке, плазме, моче и ликворе
Гистамин	BA10-1000	96×01	Опред. в плазме и моче
Гистамин (в пище)	BA10-3100	96×01	Опред. в свежей рыбе, рыбопродуктах, сыре, молоке, колбасе и вине

- with neuroblastoma maturing into ganglioneuroma // *Med. Pediatr. Oncol.*, 1996. — V. 26. — P. 57–60.
8. Cloez-Tayarani I., Petit-Bertron A. F., Venters H. D., Cavaillon J. M. Differential effect of serotonin on cytokine production in lipopolysaccharide-stimulated human peripheral blood mononuclear cells: involvement of 5-hydroxytryptamine_{2A} receptors // *Int. Immunol.*, 2003. — V. 15. — P. 233–240.
9. Corhay J.L., Bury T., Louis R., Radermecker M.F. Plasma histamine and bronchial reactivity in allergic asthma // *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1990. — V. 86. — P. 599–605.
10. Davidson D.F. Elevated urinary dopamine in adults and children // *Ann. Clin. Biochem.*, 2005. — V. 42, p. 200–207.
11. Eisenhofer G., Lenders J.W., Linehan W.M., Walther M.M., Goldstein D.S., Keiser H.R. Plasma normetanephrine and metanephrine for detecting pheochromocytoma in von Hippel-Lindau disease and multiple endocrine neoplasia type 2 // *N. Engl. J. Med.*, 1999. — V. 340. — P. 1872–1879.
12. Eisenhofer G., Goldstein D.S., Walther M.M., Friberg P., Lenders J.W.M., Keiser H.R., Pacak K. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: How to distinguish true from false-positive test results // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003. — V. 88. — P. 2656–2666.
13. Eisenhofer G. Biochemical Diagnosis of Pheochromocytoma — Is it Time to Switch to Plasma-Free Metanephrines? // *J. Clin. Endocr. Metab.*, 2003. — V. 88. — P. 550–552.
14. Eisenhofer G., Kopin I.J., Goldstein D.S. Catecholamine metabolism: a contemporary view with implications for physiology and medicine // *Pharmacol. Rev.*, 2004. — V. 56. — P. 331–349.
15. Eisenhofer G., Goldstein D.S., Sullivan P., Csako G., Brouwers F.M., Lai E.W., Adams K.T., Pacak K. Biochemical and Clinical Manifestations of Dopamine-Producing Paragangliomas: Utility of Plasma Methoxytyramine // *J. Clin. Endocr. Metab.*, 2005. — V. 90. — P. 2068–2075.
16. Eisenhofer G., Lenders J.W.M., Goldstein D.S., Mannelli M., Csako G., Walther M.M., Brouwers F.M., Pacak K. Pheochromocytoma catecholamine phenotypes and prediction of tumor size and location by use of plasma free metanephrines // *Clin. Chem.*, 2005. — V. 51. — P. 735–744.
17. Izbicki T., Izbicka E., Mazur J. Prognostic significance of biochemical heterogeneity of catecholaminergic clones in neuroblastoma // *J. Pediatr. Surg.*, 2006. — V. 41. — P. 1506–1512.
18. Halász A., Baráth Á., Simon-Sarkadi L., Holzapfel W.H. Biogenic amines and their production by microorganisms in food // *Trends Food Sci. Technol.*, 1994. — V. 5. — P. 42–49.
19. Joynt K.E., Whellan D.J., O'Connor C.M. Why is depression bad for the failing heart? A review of the mechanistic relationship between depression and heart failure // *J. Card. Fail.*, 2004. — V. 10. — P. 258–271.
20. Kimura K., Adachi M., Kubo K. H₁- and H₂-receptor antagonists prevent histamine release in allergic patients after the administration of midazolam-ketamine. A randomized controlled study // *Inflamm. Res.*, 1999. — V. 48. — P. 128–132.
21. Kjaer A., Hesse B. Heart failure and neuroendocrine activation: diagnostic, prognostic and therapeutic perspectives // *Clin. Physiol.*, 2001. — V. 21. — P. 661–672.
22. Laberge S., Cruikshank W.W., Beer D.J., Center D.M. Secretion of IL-16 (lymphocyte chemoattractant factor) from serotonin-stimulated CD8+ T cells in vitro // *J. Immunol.*, 1996. — V. 156. — P. 310–315.
23. Lagerstedt S.A., O'Kane D.J., Singh R.J. Measurement of Plasma Free Metanephrine and Normetanephrine by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry for Diagnosis of Pheochromocytoma // *Clin. Chem.*, 2004. — V. 50. — P. 603–611.
24. Laug W.E., Siegel S.E., Shaw K.N., Landing B., Baptista J., Gutenstein M. Initial urinary catecholamine metabolite concentrations and prognosis in neuroblastoma // *Pediatrics*, 1978. — V. 62. — P. 77–83.
25. Lenders J.W.M., Keiser H.R., Goldstein D.S., Willemsen J.J., Friberg P., Jacobs M.C. Plasma metanephrines in the diagnosis of pheochromocytoma // *Ann. Intern. Med.*, 1995. — V. 123. — P. 101–109.
26. Lenders J.W.M., Pacak K., McClellan M. W., Marston Linehan W., Mannelli M., Friberg P., Keiser H.R., Goldstein D.S., Eisenhofer G. Biochemical Diagnosis of Pheochromocytoma. Which Test Is Best? // *JAMA*, 2002. — V. 287. — P. 1427–1434.
27. Lenz T., Zorner J., Kirchmaier C., Pillitteri D., Badenhop K., Bartel C., Geiger H., Hasselbacher K., Tuschy U., Westermann J., Salewski L. Multicenter study on the diagnostic value of a new RIA for the detection of free plasma metanephrines in the work-up for pheochromocytoma // *Ann. NY Acad. Sci.*, 2006. — V. 1073. — P. 358–73.
28. Levy R.J. Serotonin Transporter Mechanisms and Cardiac Disease // *Circulation*, 2006. — V. 113. — P. 2–4.
29. Linuma K., Ikeda I., Ogihara T., Hashizume K., Kurata K., Kumahara Y. Radioimmunoassay of metanephrine and normetanephrine for diagnosis of phaeochromocytoma // *Clin. Chem.*, 1994. — V. 32. — P. 1879–1883.
30. Maintz L., Benfadal S., Allam J.P., Hagemann T., Fimmers R., Novak N. Evidence for a reduced histamine degradation capacity in a subgroup of patients with atopic eczema // *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006. — V. 117. — P. 1106–12.
31. Manz B., Kuper M., Bootink E., and Fischer-Bruegge U. Development of enantiosensitive immunoassay for free plasma metanephrines. In: "Stress: current neuroendocrine and genetic approaches" // *Ann. NY. Acad. Sci.*, 2004. — V. 1018. — P. 582–587.
32. Mao C., Ayman E.A., Domenico D.R. et al. Carcinoid tumors of the pancreas: status report based on two cases and review of the world's literature // *Int. J. Pancreatol.*, 1998. — V. 23. — P. 153–164.
33. Meltzer H.Y. Role of serotonin in depression // *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1990. — V. 600. — P. 486–499.
34. Merke D.P., Chrousos G.P., Eisenhofer G., Weise M., Keil M.F., Rogol A.D., Van Wyk J.J., Bornstein S.R. Adrenomedullary dysplasia and hypofunction in patients with classic 21-hydroxylase deficiency // *N. Eng. J. Med.*, 2000. — V. 343. — P. 1362–1368.
35. Mimica N., Mück-Seler D., Pivac N., Mustapić M., Dezeljin M., Stipčević T., Presecki P., Radonić E., Folnegović-Smalc V. Platelet serotonin and monoamine oxidase in Alzheimer's disease with psychotic features // *Coll. Antropol.*, 2008 Jan; 32 Suppl. 1: 119–122.
36. Modlin I.M., Farndon J.R., Shepherd A., Johnston I.D.A., Kennedy T.L., Montgomery D.A.D., Welbourn R.B. Pheochromocytomas in 72 patients: clinical and diagnostic features, treatment and long term results // *Br. J. Surg.*, 1979. — V. 66. — P. 456–465.
37. Modlin I.M., Kidd M., Latich I., Zikusoka M.N., Shapiro M.D. Current status of gastrointestinal carcinoids // *Gastroenterology*, 2005. — V. 128. — P. 1717–51.
38. Müller-Oerlinghausen B. et al. Serotonergic platelet markers of suicidal behavior — do they really exist? // *J. Affect. Disord.*, 2004. — V. 79. — P. 13–24.
39. Murphy J.F., Davies D.H., Smith C.J. The development of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the catecholamines adrenaline and noradrenaline // *J. Immunol. Methods*, 1992. — V. 154. — P. 89–98.
40. Nawar R., Aron D. Adrenal incidentalomas — a continuing management dilemma // *Endocr. Rel. Cancer*, 2005. — V. 12. — P. 585–598.

41. Oberbeck R. Catecholamines: physiological immunomodulators during health and illness // *Curr. Med. Chem.*, 2006. — V. 13. — P. 1979–1989.
42. Oishi S., Sanaki M., Ohno M., Sato T. Urinary normetanephrine and metanephrine measured by radioimmunoassay for the diagnosis of pheochromocytoma: utility of 24-hour and random 1-hour determinations // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1988. — V. 67. — P. 614–617.
43. Pacak K., Eisenhofer G., Ahlman H., Bornstein S.R., Gimenez-Roqueplo A.P., Grossman A.B. Pheochromocytoma: recommendations for clinical practice from the First International Symposium, October 2005 // *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.*, 2007. — V. 3. — P. 92–102.
44. Peaston R.T., Veinkove C. Measurement of catecholamines and their metabolites // *Ann. Clin. Biochem.*, 2004. — V. 41. — P. 17–38.
45. Peaston R.T., Ball S. Biochemical detection of pheochromocytoma: why are we continuing to ignore the evidence? // *Ann. Clin. Biochem.*, 2008. — V. 45. — P. 6–10.
46. Plouin P.F., Gimenez-Roqueplo A.P. Pheochromocytomas and secreting paragangliomas // *Orphanet J. Rare Dis.*, 2006. — V. 1. — P. 49–55.
47. Raber W., Raffesberg W., Bischof M., Scheuba C., Niederle B., Gasic S., Waldhäusl W., Roden M. Diagnostic Efficacy of Unconjugated Plasma Metanephrines for the Detection of Pheochromocytoma // *Arch. Intern. Med.*, 2000. — V. 160. — P. 2957–2963.
48. Reeves C., Roberts N.B., Fairclough D., Higgins G., Reed P. The comparison of urinary free and total methylated catecholamines with free catecholamines in the laboratory assessment of catecholamine secreting tumours // *Proc. Association of Clinical Biochemists National Meeting, Birmingham, UK*, 2004. — P. 51 (Abstract 23).
49. Reisch N., Peczkowska M., Januszewicz A., Neumann H.P. Pheochromocytoma: presentation, diagnosis and treatment // *J. Hypertens.*, 2006. — V. 24. — P. 2331–2339.
50. Rodriguez R.M., Guéant J.L., Aimone-Gastin I., Gérard P., Amoghly F., Bellou A., Jullière Y., Faure G., Danchin N., Romano A. The increased histamine release in ischaemic heart disease patients undergoing coronarography is not mediated by specific IgE // *Allergy*, 2002. — V. 57. — Suppl. 72. — P. 61–66.
51. Rosas A.L., Kasperlik-Zaluska A.A., Papierska L., Bass B.L., Pacak K., Eisenhofer G. Pheochromocytoma crisis induced by glucocorticoids: a report of four cases and review of the literature // *Eur. J. Endocr.*, 2008. — V. 158. — P. 423–429.
52. Sawka A.M., Jaeschke R., Singh R.J., Young W.F. A comparison of biochemical tests for pheochromocytoma: measurement of fractionated plasma metanephrines compared with the combination of 24-hour urinary metanephrines and catecholamines // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003. — V. 88. — P. 553–558.
53. Sawka A.M., Gafni A., Thabane L., Young W.F. The Economic Implications of Three Biochemical Screening Algorithms for Pheochromocytoma // *J. Clin. Endocr. Metab.*, 2004. — V. 89. — P. 2859–2866.
54. Singh P.K., Buch H.N. Adrenal incidentaloma: evaluation and management // *J. Clin. Path.*, 2008. — V. 61. — P. 1168–1173.
55. Stipcevic T. et al. Platelet serotonin concentration and monoamine oxidase activity in hypothyroid patients // *Horm. Res.*, 2009. — V. 71. — P. 207–212.
56. Spiller R. Serotonin and GI clinical disorders // *Neuropharm.*, 2008. — V. 55. — P. 1072–1080.
57. Strenger V., Kerbl R., Dornbusch H.J., Ladenstein R., Ambros P.F., Ambros I.M., Urban C. Diagnostic and prognostic impact of urinary catecholamines in neuroblastoma patients // *Pediatr. Blood Cancer*, 2007. — V. 48. — P. 504–509.
58. Unger N., Pitt C., Schmidt I.L., Walz M.K., Schmid K.W., Philipp T., Mann K., Petersenn S. Diagnostic value of various biochemical parameters for the diagnosis of pheochromocytoma in patients with adrenal mass // *Eur. J. Endocr.*, 2006. — V. 154. — P. 409–417.
59. Wassell J., Reed P., Kane J., Weinkove C. Freedom from interference in new immunoassays for urinary catecholamines and metanephrines // *Clin. Chem.*, 1999. — V. 45. — P. 2216–2223.
60. Westermann J., Hubl W., Kaiser N., Salewski L. Simple, rapid and sensitive determination of epinephrine and norepinephrine in urine and plasma by non-competitive enzyme immunoassay, compared with HPLC method // *Clin. Lab.*, 2002. — V. 48. — P. 61–71.
61. White M.V. The role of histamine in allergic diseases // *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1990. — V. 86. — P. 599–605.
62. Whiting M.J. Simultaneous measurement of urinary metanephrines and catecholamines by liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection // *Ann. Clin. Biochem.*, 2009. — V. 46. — P. 129–136.
63. Wolthers B.J., Kema I.P., Volmer M., Wesemann R., Westermann J., Manz B. Evaluation of urinary metanephrine and normetanephrine enzyme immunoassay (ELISA) kits by comparison with isotope dilution mass spectrometry // *Clin. Chem.*, 1997. — V. 43. — P. 114–120.
64. Young W.F. Management approaches to adrenal incidentalomas. A view from Rochester, Minnesota // *Endocr. Metab. Clinics of North America*, 2000. — V. 29. — P. 159–185.

ПО ВОПРОСАМ ПРИОБРЕТЕНИЯ ПРОДУКЦИИ КОМПАНИИ «LABOR DIAGNOSTIKA NORD» ОБРАЩАЙТЕСЬ В ЗАО «АНАЛИТИКА»

Москва, проезд Серебрякова, дом 2, корпус 1
тел.: (495) 737-03-63, 748-11-68, 748-11-69
факс: (495) 737-03-65
почта: 129343, Москва, а/я 93
e-mail: info@analytica.ru
веб-сайт: www.analytica.ru

Пресс-релиз
18-ГО КОНГРЕССА
МЕЖДУНАРОДНОЙ ФЕДЕРАЦИИ КЛИНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА: УРОКИ ШИРОКОМАСШТАБНЫХ
КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ И ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
ЧАСТЬ 1

18th IFCC-EFCC European Congress of Clinical Chemistry
and Laboratory Medicine, Innsbruck, Austria, 7–11 June 2009
Инсбрук, Австрия, 7–11 июня 2009 года

Основные направления работы Конгресса можно сформулировать так:

- 1) Что уже дали и, главное, что должны дать для медицинской науки и практики широкомасштабные проспективные клинические испытания,
- 2) Какие новые биомаркеры уже обнаружены, какие новые тесты уже разработаны для рутинной практики и какие маркеры надо внедрять в первую очередь,
- 3) Каковы результаты текущих фундаментальных научных исследований в области клинической химии и молекулярной генетики и что от них следует ждать для практической медицины.

Первой проблеме и был, по праву важности, посвящен первый пленарный доклад. Его сделал др. Мэттью Дж. МакКуин¹. Доклад так и назывался: «Лабораторная диагностика: уроки клинических испытаний и эпидемиологических исследований» (Laboratory diagnostics — lessons from clinical trials and epidemiological studies).

В этих кратких заметках будет сделана попытка охарактеризовать только основные проспективные проекты, как уже выполненные, так и те, о результатах которых мы узнаем через 5, 10, 20 и 30 лет.

AMORIS: Apolipoprotein MOrtality RISk study (Апо-липопротеины: исследование риска смертности).

Цель: повышение уровней каких именно липопротеиновых компонентов системы метаболизма холестерина наиболее сильно связано с будущими фатальными и нефатальными острыми инфарктами миокарда (ОИМ)?

Наблюдалось 149 121 человек, ранее не имевших ИМ, у которых анализировались образцы крови, отобранные с 1985 по 2002 г. За этот период было зафиксировано 6794 первых случая ОИМ. Показано, что наибо-

лее сильно с рисками нефатальных и фатальных ИМ у обоих полов были связаны: 1) уровни Апо В, 2) Х-ЛП-НП, 3) уровни липопротеинов, не относящихся к Х-ЛП-ВП. При этом Апо В, «не Х-ЛПВП липопротеины» и Х-ЛПНП предсказывали нефатальные ОИМ лучше, чем фатальные ОИМ, Х-ЛПНП такими предикторскими характеристиками не обладал. В целом, *соотношение уровней АпоВ/АпоА, отражающее баланс про- и антиатерогенных липопротеинов, — самый сильный предиктор ОИМ* [1, 2].

Какие именно компоненты липопротеинов предсказывают инсульты и, если предсказывают, какие типы инсультов? В течение 10,3 лет наблюдались 98 722 мужчины и 76 831 женщина. Показано, что высокие уровни АпоВ и низкие АпоА-1 наиболее сильно связаны с риском ишемического инсульта (ИИ). При этом низкие уровни Апо А-1 были характерны для риска всех типов инсультов, включавших субарахноидальные (subarachnoidal) и геморрагические инсульты (ГИ). В целом, *соотношение Апо В/Апо А-1 — более сильный предиктор инсультов, чем общий холестерин/Х-ЛПВП и Х-ЛПНП/Х-ЛПВП*. При этом зависимость повышения риска от показателей соотношения АпоВ/Апо А-1 имеет линейный характер. Связи между значениями Апо В/Апо А-1 и рисками смертности от рака или от других не ишемических заболеваний отмечено не было [3].

Следующая стадия проекта AMORIS (в течение 7–17 лет наблюдались 148 600 лиц обоего пола, зафиксировано 7480 фатальных и нефатальных ишемических инсультов и цереброваскулярных событий).

ИИ. Показано, что: 1) частота нефатальных и фатальных ИИ в 5 раз выше, чем частота ГИ, при этом

¹ Matthew J. McQueen. Professor, Pathology and Molecular Medicine in the Department of Pathology and Molecular Medicine at McMaster University, Canada, Director of the Lipid Research Clinic and Director of the Clinical Trials and Clinical Research Laboratory, Fellow of the Royal College of Physicians of Canada and a founding Fellow of the Canadian Academy of Clinical Biochemistry. The ex-president of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, the ex-president of the Canadian Society of Clinical Chemists and Chairman of the Board of the Canadian Academy of Clinical Biochemistry).

2) частота фатальных исходов выше при ГИ. Для лиц старше 65 лет и с Х-ЛПНП ниже 3 ммоль/л показатели АпоВ/АпоА-1 — более сильный предиктор ИИ, чем показатели общий холестерин/Х-ЛПВП.

ГИ. Как оказалось, риск ГИ как у мужчин, так и у женщин не связан с повышенными атерогенными липопротеинами, однако у женщин с высокими значениями АпоВ/Апо А-1 повышен риск фатальных геморрагических инсультов [4].

Интересными оказались и результаты проекта AMORIS по выяснению того, является ли мочева кислота фактором риска фатальных и нефатальных ИМ, инсульта и застойной сердечной недостаточности (ЗСН). Проспективное наблюдение длилось в среднем от 11,8 до 17 лет, уровни мочево кислоты измерялись у 417 734 мужчин и женщин. Обнаружено постепенное повышение риска ОИМ, инсульта и ЗСН при повышении уровней мочево кислоты. При этом у женщин эта связь была более сильной, чем у мужчин. Полагается, что уровни мочево кислоты могут быть дополнительным показателем кардиоваскулярного риска в общей популяции [5].

INTERHEART (ИНТЕР-СЕРДЦЕ)

Кардиоваскулярные риски: гендерные различия

Наблюдалось 27 098 человек из 52 стран, из них 6787 женщин. Показано, что у женщин заболевания коронарных артерий развиваются на 9 лет позже, чем у мужчин. Причины и механизмы этой закономерности пока не ясны. Медианный возраст, при котором происходит первый ИМ у женщин, — 65 лет, у мужчин — 56 лет [6].

Диета

Во всем мире нездоровая диета ответственна примерно за 30% случаев ИМ, происходящих в различных популяциях.

Ожирение

С риском ИМ наиболее сильно связан такой показатель ожирения, как отношение окружности талии к окружности бедер, повышенные показатели индекса массы тела связаны с риском ИМ в меньшей степени [7].

Психосоциальные факторы

Психосоциальные факторы являются независимыми факторами риска ССЗ. Исходно это было показано при изучении популяций США и Европы. Верна ли эта закономерность для других популяций? Исследование проводилось при наблюдении 24 767 лиц из 52 стран. В 62 центрах в Азии, Европе, Среднем Востоке, Африке, Австралии и Северной и Южной Америке в течение 5 лет наблюдались 11 119 пациентов с первым ИМ и 13 648 лиц из контрольной группы. Как оказалось, во всех странах мира с риском заболеваний коронарных

артерий и кардиальной смерти связаны: стресс, враждебность, депрессия, тревожность. Психосоциальные стрессы нарушают гормональный гомеостаз, что ведет к нарушениям метаболизма, к инициации воспалительного процесса, инсулинорезистентности и эндотелиальной дисфункции. Полагается, что психосоциальные стрессы — это модифицируемый фактор риска ССЗ [8].

Девять модифицируемых факторов риска ССЗ

В целом, как показала реализация проекта INTERHEART, с риском ИМ у мужчин и у женщин связаны девять модифицируемых факторов.

У женщин с риском ИМ более сильно (сильнее, чем у мужчин) связаны:

- 1) гипертензия,
- 2) диабет,
- 3) сниженная физическая активность,
- 4) потребление алкоголя.

У мужчин и у женщин с риском ССЗ в равной степени связаны:

- 5) ненормальный липидный профиль,
- 6) курение в данное время,
- 7) абдоминальное ожирение,
- 8) нездоровая диета,
- 9) негативные психосоциальные стрессы.

Эти девять факторов риска ответственны за 96% случаев ССЗ в популяции мужчин и за 93% случаев у женщин [6].

Таким образом, у мужчин и у женщин по девять модифицируемых факторов риска, связанных с ИМ, но у женщин ИМ происходят на девять лет позже.

Биохимические факторы риска ССЗ

АпоВ/АпоА-1

В образцах крови 9345 лиц, перенесших ОИМ, и 12 120 лиц контрольной группы измерялись уровни липидов, липопротеинов и аполипопротеинов. Как оказалось, наиболее сильными предикторами ОИМ были:

- повышенные соотношения уровней АпоВ/АпоА-1, связанные с 54% случаями ОИМ в популяции,
- повышенные соотношения Х-ЛПНП/Х-ЛПВП, связанные с 37% случаями ОИМ,
- повышенные соотношения общий холестерин/Х-ЛПВП, связанные с 32% случаев ОИМ в популяции [9].

Полагается полностью доказанным, что *риск атеросклероза связан не столько с повышенной концентрацией общего холестерина, повышенным уровнем Х-ЛПНП и пониженным уровнем Х-ЛПВП, сколько с количеством циркулирующих атерогенных частиц, которые связываются со стенками сосудов и проникают в эндотелий.* Наиболее точно количество таких циркулирующих частиц отражают концентрации аполипопротеинов В и А. Поэтому:

- АпоВ — самый точный индикатор риска ССЗ,
- соотношения АпоВ/АпоА по своей точности в оценке коронарных рисков у пациентов с бессимптомными ССЗ и у лиц, страдающих диабетом, превосходят индикаторные свойства всех других соотношений холестерина,
- Апо В — самый адекватный показатель эффективности терапии, направленной на снижение липидов,
- следует снизить целевые показатели концентрации АпоВ с <90 мг/дл до <80 мг/дл.
- необходимо заменить определение общего холестерина и Х-ЛПНП на измерение концентрации АпоВ [10].

И вот один из самых серьезных практических уроков проекта INTERHEART: «Соотношения концентраций АпоВ/АпоА (определяемые не натощак), превосходят в оценке риска ОИМ любые соотношения холестерина во всех этнических группах, у обоих полов, во всех возрастах и должны быть внедрены в мировую практику». («The non-fasting ApoB/ApoA1 ratio was superior to any of the cholesterol ratios for estimation of the risk of acute myocardial infarction in all ethnic groups, in both sexes, and at all ages, and it should be introduced into worldwide clinical practice» [10].)

Трудно переоценить значение результатов проекта INTERHEART. Однако проект JUPITER преподнес лабораторной диагностике более серьезный урок.

JUPITER — Justification for the Use of Statins in Primary Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin (Проверка применимости статинов для первичной профилактики).

В проекте участвовало более 1000 врачей в 26 странах, которые 4 года наблюдали 17 802 практически здоровых мужчин и женщин, у которых в высокочувствительном диапазоне были *повышенные уровни С-реактивного белка (hsCRP)* и при этом были *низкие уровни Х-ЛПНП*.

Как известно, примерно половина всех случаев сердечных приступов, ИИ и кардиальных смертей происходит у практически здоровых лиц с уровнями Х-ЛПНП, находящимися ниже пограничных. Согласно современным представлениям, основной механизм атерогенеза и атеротромбоза — это воспалительный процесс, приводящий к эндотелиальной дисфункции, что подтверждается десятилетиями проспективных эпидемиологических исследований. Факт, что СРБ, центральный компонент воспалительного процесса, играет ключевую роль как в атерогенезе, так и в атеротромбозе и является эффективным предиктором сердечно-сосудистых событий, твердо и окончательно установлен [11–13].

Действительно, СРБ, измеряемый в высокочувствительном диапазоне (hsCRP, 0,05–10,0 мг/л), широко применяется в клинической практике как независимый

показатель кардиоваскулярного риска у практически здоровых лиц, когда уровень Х-ЛПНП низкий [14–20]. Более того, неожиданно было обнаружено, что терапия статинами снижает уровни hsCRP и при этом, независимо от снижения уровней Х-ЛПНП [21, 22], как у здоровых лиц [23], так и у пациентов со стабильными коронарными заболеваниями [24], а также у больных, перенесших острый коронарный синдром [25, 26].

В 2003 г. Американской кардиологической ассоциацией (American Heart Association) были рекомендованы Правила применения hsCRP для оценки риска ССЗ [27] и были предложены алгоритмы (формулы) подсчета кардиориска, включающие шесть показателей: возраст, текущий статус курения, систолическое артериальное давление, общий холестерин, Х-ЛПНП, hsCRP, случаи ИМ в семейном анамнезе [28].

Более того, уровни hsCRP не только предсказывают риск ИМ, ИИ и кардиальной смерти, но также тесно связаны с метаболическим синдромом и сахарным диабетом [29, 30].

Полагается, что повышение hsCRP — это ключевое патологическое событие, своего рода «патологический перекресток», ответвления от которого ведут к инсулинорезистентности, к нарушению функций лептина, адипонектина, цитокинов, к эндотелиальной дисфункции, к нарушению фибринолиза [31].

Закономерный вопрос, который при этом возникает: если повышение уровня hsCRP действительно связано со всеми перечисленными патологиями, то приведет ли снижение к терапевтическому эффекту? И если приведет, то какими должны быть целевые уровни hsCRP? Недавно заверченный JUPITER дает весьма впечатляющий ответ на эти вопросы [32].

Снижение hsCRP — цель терапии

Как уже говорилось, статины не только ингибируют 3-гидрокси-3-метил-глутарил коэнзим А редуктазу и снижают Х-ЛПНП, но и оказывают противовоспалительное действие, которое можно оценивать по снижению уровней hsCRP. При этом повышенные уровни hsCRP, как показали исследования, проведенные в рамках программы JUPITER, могут использоваться для принятия решения о начале терапии статинами с целью первичной профилактики сосудистых заболеваний.

Вот что показало четырехлетнее наблюдение 17 802 практически здоровых мужчин и женщин, у которых были повышенные уровни hs CRP (> 2 мг/л) и низкие уровни Х-ЛПНП (104 мг/дл, 2,72 ммоль/л), и которые с целью первичной профилактики ССЗ получали розувастатин (20 мг/день) или плацебо.

В когорте, получавшей розувастатин, снижались:

- на 54% количество ИМ,
- на 48% количество инсультов,
- на 46% необходимость реваскуляризации артерий,
- на 43% тромбоз вен,
- на 20% смертность от всех причин [33–36].

Но насколько эффективной окажется терапия статинами, если уровни Х-ЛПНП будут еще ниже, а hsCRP ниже 2 мг/л? В дальнейших исследованиях (наблюдались 15 548 исходно практически здоровых мужчин и женщин) показано, что розувастатин действительно улучшает клинические исходы у пациентов, у которых уровни hsCRP были ниже 2 мг/л, а уровни Х-ЛПНП ниже 1,8 ммоль/л (<70 мг/дл).

При уровнях Х-ЛПНП $\geq 1,8$ ммоль/л или $<1,8$ ммоль/л и hsCRP ≥ 2 мг/л или <2 мг/л количество сосудистых событий уменьшалось на 55% и на 62% соответственно. У лиц, имевших уровни Х-ЛПНП менее 1,8 ммоль/л и hsCRP менее 1,5 мг/л, количество сосудистых событий уменьшалось на 79%. Сделан вывод, что «для лиц, выбравших фармакологическую профилактику, снижение уровней Х-ЛПНП и hsCRP является показателем удачной терапии розувастатином».

В целом, реализация проекта JUPITER четко продемонстрировала: у лиц, имевших после терапии розувастатином уровни Х-ЛПНП менее 70 мг/дл (1,83 ммоль/л) и hsCRP меньше 2 мг/л, кардиальные риски снижались на 70%. Для первичной профилактики практически здоровых лиц с низким Х-ЛПНП, но с повышенным hsCRP, снижение hsCRP является критическим и таким же важным, как и снижение уровней Х-ЛПНП [37, 38].

Следует ли оценивать эффективность терапии статинами с помощью мониторинга hsCRP?

Для ответа на вопрос наблюдалась когорта из 8901 пациента, у которых был проведен скрининг согласно уровням Х-ЛПНП <130 мг/дл ($<3,37$ ммоль/л) и hsCRP ≥ 2 мг/л и которые принимали розувастатин или плацебо. Исходно медианный уровень hsCRP в группе «плацебо» был 4,3 мг/л, а в группе, получавшей статин, — 4,2 мг/л. Для сравнения измерялись систолическое и диастолическое кровяное давление, общий холестерин, Х-ЛПНП, Х-ЛПВП, триглицериды натощак. Вот результаты. У лиц, получавших плацебо, через 4 года наблюдалось незначительное снижение hsCRP, до 3,8–3,4 мг/л. У лиц, получавших статин, уровни hsCRP через 4 года составляли 2,1–2,3 мг/л [39].

В целом, результаты проекта JUPITER четко и достоверно показали, что *повышенный уровень hsCRP*:

- указывает на развитие атеросклероза даже у лиц, не имеющих традиционных факторов сердечно-сосудистых рисков и имеющих низкие уровни Х-ЛПНП,
- может быть показанием для назначения соответствующих профилактических мероприятий.

Представляется весьма целесообразным:

- включение измерения hsCRP в программы скрининга для выявления лиц с повышенным риском ССЗ (например, при диспансеризации),
- проведение мониторинга hsCRP при мероприятиях, направленных на терапию ССЗ.

Итак, трудно не согласиться с тем, что результаты уже проведенных проспективных исследований как весьма впечатляющи с научной точки зрения, так и крайне важны для ранней профилактики ССЗ. И если это действительно так, что же тогда ждать от будущих проспективных исследований?

Проект INTERHEART установил, что более 90% риска ИМ в популяции зависит от девяти факторов риска. Но от чего зависят эти риски, от «плохих» генов или от «плохой» окружающей среды? Или от «плохой» экономики? Чтобы ответить на эти вопросы, необходимо выяснить: 1) социальные, экономические и политические факторы, влияющие на поведение человека, 2) генетические маркеры, которые взаимодействуют с перечисленными факторами, 3) их совместный вклад в состояние здоровья различных этнических групп.

На эти и на связанные с ними вопросы должны ответить новые проспективные и эпидемиологические исследования.

PURE — The Prospective Urban Rural Epidemiology (Проспективная городская и сельская эпидемиология).

Это двенадцатилетнее исследование 150 000 лиц в более чем 500 городских и сельских сообществах в 18 странах с высоким, средним и низким доходом.

Цели:

- выяснить причины диабета, ожирения, ССЗ и инсультов и их связь с социо-экономическими факторами жизни, с генетическими особенностями, с факторами сердечно-сосудистых рисков и хроническими заболеваниями неинфекционного характера [40].

SHARE — The Survey of Health, Ageing and Retirement in Europe (Исследование здоровья, старения и выхода на пенсию в Европе).

Цель: изучение связи между доступностью медицинского обслуживания, доходом и возрастом выхода на пенсию в разных группах населения Европы. 150 000 мужчин и женщин возрастом от 50 до 64 лет из 18 стран ЕС будут наблюдаться с 2006 по 2018 г. [41].

INTERSTROKE (ИНТЕР-ИНСУЛЬТ)

Инсульты — третья причина смертности во всех странах, 2/3 всех инсультов происходят в странах с низким жизненным уровнем, при этом в разных странах — разные частоты ишемических и геморрагических инсультов.

Цели: наблюдение 30 000 лиц в разных странах для того, чтобы: 1) установить популяционные факторы риска ИИ, 2) выявить их связь с симптомами ИИ и с факторами риска ССЗ, 3) установить факторы, повышающие и снижающие риск ИИ (факторы стиля жизни, терапевтические мероприятия и др.).

APOLLO

Цели:

- установить связи между диастолической дисфункцией, гипертензией и риском ИМ,
- выявить оптимальные стратегии терапии, снижающие гипертензию и риск ИМ, в особенности у лиц пожилого возраста.

Проект включает:

- наблюдение 12 500 пожилых лиц с гипертензией, имеющих и не имеющих ССЗ,
- проверку эффективности применения ингибиторов ренина,
- определение биомаркеров сердечной недостаточности и сердечно-сосудистых рисков,
- учет: 1) цереброваскулярных событий, 2) нарушений когнитивных функций, 3) ренальных патологий,
- поиск новых биомаркеров гипертензии и диастолической дисфункции с помощью метаболомики и протеомики [42].

FAMILY STUDY COHORT

(Когортное исследование семей)

Цели:

- выяснить, как у членов семей в течение 40 лет изменяются риски основных патологий,
- какие факторы влияют на эти изменения.

В частности, планируется исследовать:

- взаимодействия между генами и средой (внутриутробной и факторами раннего детства), приводящие к ожирению, дислипидемии, дисгликемии в первые 20 лет жизни ребенка,
- взаимодействия между генами и факторами окружающей среды, влияющие на кардиометаболический риск в период от 20 до 40 лет.

Подпрограммы:

- изучение соотношения уровней материнских и фетальных липидов в связи с гликемическим статусом материи и ее питанием,
- определение лептина и лептин-связывающего белка в пуповинной крови,
- изучение гликемического статуса матери и особенностей развития ребенка в первый год жизни,
- изучение статуса витамина D матери в течение беременности и его влияние на мать и на ребенка.

VISION. Vascular Events In Noncardiac Surgery Patients Cohort Evaluation Study (Сосудистые события у некардиальных хирургических пациентов, когортное исследование).

Ежегодно во всем мире более 200 000 000 лиц подвергаются некардиальной хирургии. Миллионы из них

потом страдают от тяжелых осложнений, связанных с операциями (сосудистая смерть, нефатальные ИМ, остановка сердца, нефатальные инсульты). Создана сеть из 190 центров в 23 странах, которая будет два года наблюдать 40 000 пациентов (старше 45 лет), подвергшихся некардиальной хирургии и получивших общую или местную анестезию.

Цели:

- установить основные факторы рисков пред- и постоперационных сосудистых событий,
- сформулировать оптимальные клинические модели, предсказывающие основные пред- и постоперационные сосудистые события,
- выявить связь между постоперационным уровнем тропонина Т и риском кардиальной летальности в течение 1 года,
- установить долю пациентов, у которых постоперационные ИМ не выявляются с помощью измерения тропонина Т.

Для реализации этого проекта будут определяться уровни тропонина Т и NT proBNP на первый, второй и третий день после операции. При этом будут: 1) фиксироваться основные сердечно-сосудистые события, 2) учитываться виды пред- и постоперационной терапии (например, прием варфарина и др.), 3) учитываться случаи острой почечной недостаточности, пневмонии и др. С проектом VISION связаны четыре подпроекта.

RE-VISION. Цель: выявить факторы риска хронической почечной недостаточности, наблюдение 50 000 пациентов.

THROMBOVISION. Цель: установить, какие тромботические механизмы могут быть предикторами сосудистых событий, наблюдение 5000 пациентов.

GENEVISION. Цель: выявить генетические механизмы, влияющие на пред- и постоперационную миокардиальную ишемию, наблюдение 5000 пациентов.

GLUCOVISION. Цель: выяснить роль пред- и постоперационной дисгликемии в развитии пред- и постоперационных кардиоваскулярных событий, наблюдение 4500 пациентов.

DREAM. Diabetes Reduction Assessment with Ramipril and Rosiglitazone Medication (Исследование эффективности снижения заболеваемости диабетом с помощью рампирила и росиглитазона).

Цели:

- установить связи между ССЗ и СД,
- выявить наиболее оптимальные предикторы кардиоваскулярных осложнений при СД,
- установить, какая комбинация указанных препаратов наиболее эффективна при профилактике СД и его осложнений.

Двухлетнее наблюдение 4000 пациентов с высоким риском развития СД2.

EpiDREAM. Подпроект.

Цель: определить генетические особенности, повышающие риск развития СД2. Должны быть проанализированы 22 000 образцов ДНК у 15 000 лиц, имеющих высокий риск развития СД2. Проект должен быть завершен в 2009 г.

Отметим, что это *только некоторые* из планируемых и уже выполняемых крупных проспективных и эпидемиологических исследований.

Но как быть, если большой проспективный проект, включавший, например, регулярное и дорогостоящее обследование 100 000 лиц и длившийся 10 лет, подходит к концу, а совсем недавно открыт новый, весьма многообещающий биомаркер? Ведь «время не вернешь назад»... Но вынуть из жидкого азота образцы, замороженные 10 лет назад, вполне возможно.

Биобанки — стратегический вклад в медицину XXI века

Создание больших биобанков, хранящих десятки тысяч образцов крови и других биологических жидкостей, а также образцов тканей и ДНК, — это новый и революционный этап в развитии доказательной медицины. Он позволит проводить ретроспективный мониторинг тех ранее не известных показателей, которые будут открыты по мере реализации проекта и, в общем, на протяжении жизни того или иного лица.

Внимание, которое уделяется биобанкам и организационным, информационным, техническим, юридическим, этическим и экономическим проблемам, с ними связанным, весьма велико [43–49].

В 2004 г. в Германии был создан биобанк для проспективных исследований по оценке генетических и других рисков, связанных с сердечной недостаточностью. В данный момент хранятся и исследуются 85 000 образцов сыворотки, плазмы и ДНК, взятых у 9500 пациентов, страдающих сердечной недостаточностью [50].

Более чем впечатляет создающийся сейчас в Великобритании под эгидой Манчестерского университета крупнейший в мире (несомненно — пока крупнейший) биобанк биологических материалов человека. Планируется в течение 30 лет собрать образцы биологических жидкостей 500 000 лиц, что должно составить приблизительно 10 000 000 образцов, составляющих 6500 л мочи и 2000 л крови. Стать участником проекта может любой житель Великобритании в возрасте от 40 до 60 лет, готовый сдать необходимые анализы и пройти стандартный набор тестов и медицинских обследований. Кроме очевидного огромного научного и практического значения, которое имеет этот биобанк, каждый человек, сдавший свои образцы, получит невиданные ранее возможности как для ретроспективной диагностики своих заболеваний, так и для проспективных оценок своих будущих рисков и мониторинга степени их реализации. Полагается, что массовое распространение биобанков явится основой для персонализированной медицины.

Так какой же вывод можно сделать из уроков широкомасштабных проспективных и эпидемиологических исследований? Вывод простой.

В начале двадцать первого века в медицине происходит революция, аналогичная той, которая произошла в физике в начале века двадцатого.

Какие уроки преподнесет нам медицина двадцать первого века? Кто знает...

Но в любом случае, они будут захватывающими.

Материалы подготовлены *В.В. Вельковым*, ЗАО «ДИАКОН», 142290, г. Пущино, Московская область, пр. Науки, 5.

Список литературы имеется в редакции.

e-mail: ejycons@mail.ru,

тел.: 8 905 229 60 22

**ПРЕСС-РЕЛИЗ ЕЖЕГОДНОГО КОНГРЕССА
АМЕРИКАНСКОЙ АССОЦИАЦИИ КЛИНИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

Чикаго, штат Иллинойс (США), 19–23 июля 2009

С 19 по 23 июля 2009 г. в Чикаго, штат Иллинойс (США) проходил очередной ежегодный конгресс Американской ассоциации клинической химии (American Association for Clinical Chemistry, ААСС), объединенный с конгрессом Канадского общества клинической химии. В рамках этой встречи проводилась выставка лабораторного оборудования Clinical Lab Expo 2009.

На данном конгрессе участники имели возможность посетить около 200 образовательных сессий, посвященных последним достижениям лабораторной медицины, в которых участвовало более 18 000 врачей, научных исследователей, других специалистов, вовлеченных в лабораторный процесс в высших медицинских школах, учреждениях практического здравоохранения и коммерческих медицинских организациях. Количество зарегистрированных участников в 2009 году было рекордным, несмотря на имеющиеся на сегодняшний день экономические проблемы, когда в среднем посещаемость профессиональных встреч снижается на 20–30%. Это говорит о возрастающей роли лабораторной медицины и ее востребованности во всем мире. Международное участие было представлено делегатами и участниками выставки почти из 100 стран.

Одним из ярких событий среди образовательных сессий явились пленарные лекции, на которые были приглашены лучшие лекторы мира. Конференция стартовала с пленарной сессии «Как думают доктора». Лектор Жером Групман в стиле диалога осветил проблемы диагностики с точки зрения практикующих врачей, от чего зависит успех этого процесса. В процессе лекции были показаны проблемы клиницистов и специалистов лабораторной медицины с учетом когнитивной науки.

Лауреат Нобелевской премии доктор Питер Агре из Медицинской школы университета Джона Хопкинса в Балтиморе (США) на своей пленарной лекции «Акваториновые водные каналы: от атомной структуры до клинической медицины» рассказал об особенностях распределения воды между внутри- и межклеточными, внутрисосудистыми и интерстициальными пространствами как ключевой проблеме обеспечения здоровья и гомеостаза. В процессе лекции обсуждались вопросы нарушения транспорта воды, приводящего к дисфункциям органов и тканей, таким как отек мозга, катаракта, сухость глаз и почечная недостаточность.

Лекция доктора Кеннета Мерфи была посвящена достижениям в изучении Т-клеточной биологии: в частности, в дополнение к клеткам Th1, Th2 и CD4, Т-клетки теперь включают новую клетку Th17 и регуляторные механизмы. Расстройства в регуляции Т-клеток могут

лежать в основе развития аутоиммунных заболеваний, вносить вклад в аллергические проявления и хроническое воспаление.

Доктор Каролин Кланси, работающая в Агентстве по исследованиям в здравоохранении и качеству (США), рассказала в своей лекции о безопасности пациента и национальных приоритетах для работы по улучшению состояния здоровья и роли лабораторной медицины в государственных стратегиях здравоохранения.

Доктор Нил Сандсон на пленарной сессии «Управление лекарственными взаимодействиями» показал роль лекарственного мониторинга для диагностики взаимодействия лекарств, акцентировал внимание на необходимости указания специфических лекарственных форм, для которых лекарственный мониторинг особо необходим, и описал ситуации, при которых измерение лекарств в крови является клинически значимым при ведении больного.

Участники конференции имели возможность свободно посетить утренние и вечерние симпозиумы, охватывающие многие актуальные вопросы современной лабораторной медицины. В процессе «интерактивных семинаров», «встреч с экспертами», «коротких курсов» и «Brown bag» сессий участники по желанию могли принимать участие в обсуждении отдельных тем, важных для образования лабораторных специалистов. После каждой сессии участники получали кредитные часы, учитываемые при аттестации специалистов.

Большое внимание на конгрессе было уделено постерным презентациям, абстракты которых были опубликованы в июльском номере Clinical Chemistry. Стендовые доклады представлялись в специально выделенном секторе выставочного зала. Участники конференции и выставки имели возможность с ними познакомиться и задать вопросы авторам.

Clinical Lab Expo поддержала статус одной из самых больших и значительных выставок мира, в которой участвовало 663 компании, представлявшие свои достижения на 1793 стендах, что превысило на 3% экспозиции выставок ААСС в 2005–2008 годах. Посетители выставки имели возможность увидеть новые технологии и научные разработки во всех областях клинической диагностики, автоматизации, информационных систем, методах диагностики возле пациента, молекулярной медицины и биотехнологий.

В рамках ААСС конгресса состоялось подписание соглашения между журналом Clinical Chemistry и Санкт-Петербургским отделением Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики о переводе на

русский язык и публикации в журнале «Клинико-лабораторный консилиум» материалов *Clinical Chemistry*. Президент ААСС Барбара Голдсмит отметила данное событие как дальнейший вклад в сотрудничество в рамках ААСС-российского взаимодействия. Барбара высказала пожелания об организации новых совместных конференций со специалистами лабораторной диагностики России и возможности перевода на русский язык известного сайта «Lab Tests Online».

Следующий ежегодный ААСС конгресс состоится 25–29 июля в г. Анагейм, штат Калифорния (США). На него будут приглашены лучшие спикеры и организованы актуальные сессии. ААСС приглашает специалистов посетить эту встречу в 2010 г. Для более подробной информации желающие могут обращаться к Питеру Паттерсону: ppatterson@aacc.org. 2010 Annual Meeting July 25–29, 2010, in Anaheim, CA, with another slate of excellent speakers and sessions. ААСС invites reporters to check the association web site for updates on the meeting.

Американская ассоциация клинической химии (ААСС) является лидирующей профессиональной организацией, деятельность которой направлена на улучшение здравоохранения с помощью лабораторной медицины. Она состоит из более чем 9000 специалистов по лабораторной медицине, врачей, научных исследователей и другого персонала, вовлеченного в разработку лабораторных исследований и участвующего в лабораторном процессе. Основными задачами ААСС являются развитие образования в различных областях лабораторной медицины, распространение знаний, совершенствование экспертных систем и инноваций. Желающие могут получить информацию о том, как стать членом ААСС, на сайте www.aacc.org.

Американская ассоциация клинической химии (ААСС) предоставляет 5-летний грант для тех, кто не



Президент ААСС профессор Барбара Голдсмит

имеет других возможностей вступить в ААСС и пользоваться ее образовательными ресурсами. Данная программа открывает двери для лучших специалистов в лабораторной науке и практике, которые смогут получить возможность в течение 5 лет быть членами ААСС со всеми преимуществами, включая подписку на журнал *Clinical Chemistry*, и состоять в любых двух секциях ААСС. Для дополнительной информации о гранте Галлваса обращайтесь на главную страницу ААСС в интернете по адресу www.aacc.org в рубрике International Section под заголовком Gallwas Membership <http://www.aacc.org/ia/gallwinf.stm>.

Материалы подготовлены Л.А. Хоровской, профессором кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.