



№ 5 (36) декабрь 2010

Главный редактор:

Эмануэль В. А., д. м. н., проф.

Заместители главного редактора:

Зыбина Н. Н., д. б. н., проф.

Сухоруков В. С., д. м. н., проф.

Директор редакции:

Чередниченко Д. В., к. м. н.

Зав. редакцией:

Эмануэль Ю. В., к. м. н.

Редактор перевода:

Филиппова Н. А., к. м. н.

Ответственный секретарь

Попенко В. В.

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 Федеральной службе
по надзору в сфере связи,
информационных технологий
и массовых коммуникаций
(Роскомнадзор)

Свидетельство о регистрации:

ПИ №ФС77-38698 от 22.01.2010

Учредитель:

**ГОУ ВПО «СПб Государственный
медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова
Федерального агентства
по здравоохранению
и социальному развитию»
(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 1000 экз.
Заказ №



КЛИНИКО - ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНСИЛИУМ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Санкт-Петербургский Государственный медицинский
университет имени академика И.П. Павлова
Комитет по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга
Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения
и социального развития
Российская Ассоциация медицинской лабораторной диагностики

РЕЗОЛЮЦИЯ

научно-образовательной конференции

**«ОТВЕТСТВЕННОСТЬ КЛИНИЧЕСКОГО ПЕРСОНАЛА В
ОБЕСПЕЧЕНИИ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА
ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ»**

Санкт-Петербург, 19 октября 2010 г.

1. Проблемы эпидемиологической безопасности медицинского персонала и меры по предотвращению распространения ВИЧ-инфекции, гепатитов, а также качество лабораторных исследований имеют важнейшее медико-экономическое значение.

2. Оптимальным решением этих проблем является использование современных технологий взятия проб крови с применением закрытых систем (вакутейнеров) и лабораторного пластика однократного применения в соответствии с ГОС Р 53079.4-2008 «Технологии медицинские лабораторные. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

3. Выполнение нормативных требований и их актуализация (сбор биоматериала, транспортировка, обеззараживание и утилизация) в учреждениях здравоохранения любых организационно-правовых форм собственности являются обязанностью клинического персонала и характеристикой компетенции их руководителей.

4. Рекомендовать Минобразованию обеспечить в Федеральных государственных образовательных стандартах профессиональное преподавание указанного направления специалистами клинической лабораторной диагностики.

5. Рекомендовать Минздравсоцразвития включить требования к медицинскому персоналу по обеспечению стандартизации преаналитического этапа лабораторных исследований, безопасности пациентов и медицинских работников в число важнейших компонентов аттестации профессиональной компетенции.

6. Адекватное выполнение преаналитического этапа лабораторного исследования является критерием оценки качества лабораторных услуг, предоставляемых по аутсорсингу.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

- Антонова Ирина Николаевна,**
СПб., Россия
Стоматологические заболевания
- Афанасьев Борис Владимирович,**
СПб., Россия
Гематология, трансфузиология, трансплантация
- Вавилова Татьяна Владимировна,**
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Дюк Вячеслав Анатольевич,**
СПб., Россия
Биомедицинская информатика
- Зыбина Наталия Николаевна,**
СПб., Россия
(заместитель главного редактора)
Клиническая лабораторная диагностика
- Каллнер Андерс,**
Швеция
Клиническая лабораторная диагностика
- Карпищенко Анатолий Иванович,**
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Козлов Антон Владимирович,**
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Корячкин Виктор Анатольевич,**
СПб., Россия
Анестезиология, реаниматология
и интенсивная терапия
- Мазуров Вадим Иванович,**
СПб., Россия
Ревматология
- Меньшиков Вадим Владимирович,**
Москва, Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Новик Виктор Иванович,**
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Петришев Николай Николаевич,**
СПб., Россия
Патологическая физиология
- Сапрыгин Дмитрий Борисович,**
Москва, Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Сельков Сергей Алексеевич,**
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Смирнов Алексей Владимирович,**
СПб., Россия
Нефрология
- Соколовский Евгений Владиславович,**
СПб., Россия
Дерматовенерология
- Стивен Хау Ян Вонг (Steven How Yan Wong)**
ААСС, США
Клиническая лабораторная диагностика
- Сухоруков Владимир Сергеевич,**
Москва, Россия
(заместитель главного редактора)
Клиническая лабораторная диагностика
- Тец Виктор Вениаминович,**
СПб., Россия
Микробиология
- Тогузов Руслан Тимофеевич,**
Москва, Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Томас Бринкманн (Thomas Brinkmann)**
Международная федерация
клинической химии (IFCC),
Италия
- Хоровская Лина Анатольевна,**
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Шляхто Евгений Владимирович,**
СПб., Россия
Кардиология
- Эмануэль Владимир Леонидович,**
СПб., Россия
(главный редактор)
Клиническая лабораторная диагностика

РЕЗОЛЮЦИЯ НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ

«ОТВЕТСТВЕННОСТЬ КЛИНИЧЕСКОГО ПЕРСОНАЛА В ОБЕСПЕЧЕНИИ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ»	1
--	---

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ	2
---------------------------------	---

КОНСИЛИУМ У ПОСТЕЛИ БОЛЬНОГО

<i>Кимберли А. Чапмен, Майкл Дж. Беннетт, Нил Сондхеймер</i> ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ СЗ-КАРНИТИНА У НЕДОНОШЕННОГО НОВОРОЖДЕННОГО	4
--	---

CLINICAL CASE STUDY

<i>Kimberly A. Chapman, Michael J. Bennett, Neal Sondheimer</i> INCREASED C3-CARNITINE IN A HEALTHY PREMATURE INFANT	10
---	----

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА В НЕФРОЛОГИИ

<i>В.Л. Эмануэль, Ю.В. Эмануэль, Е.С. Князева</i> ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ВЕРИФИКАЦИИ МОЧЕВОГО СИНДРОМА	15
--	----

<i>Вельков В.В.</i> ЦИСТАТИН С — НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ И НОВЫЕ ЗАДАЧИ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИГНОСТИКИ. ЧАСТЬ 1	23
---	----

<i>А.В. Смирнов, В.Л. Эмануэль, М.М. Волков, И.Г. Каюков</i> ГОМЕОСТАЗ КАЛЬЦИЯ И ФОСФОРА: НОРМА И ПАТОЛОГИЯ	32
--	----

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА

<i>О.В. Сироткина, М.В. Дубина</i> МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ТРОМБОЗАМ И ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИМ ОСЛОЖНЕНИЯМ	44
--	----

<i>С.С. Алексанин, О.М. Астафьев, Е.В. Племянникова, Н.В. Макарова</i> ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ЛИКВИДАТОРОВ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АТОМНОЙ ЭЛЕКТРОСТАНЦИИ	50
--	----

РАЗНОЕ

<i>В.И. Евдокимов</i> АНАЛИЗ АВТОРЕФЕРАТОВ ДИССЕРТАЦИЙ, ПРЕДСТАВЛЕННЫХ В ДИССЕРТАЦИОННЫЕ СОВЕТЫ РОССИИ В 1997–2008 ГГ., ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ 14.03.10 — «КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА».	57
---	----

КОНСИЛИУМ У ПОСТЕЛИ БОЛЬНОГО

УДК 616.153.9-053.32

ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ С3-КАРНИТИНА У НЕДОНОШЕННОГО НОВОРОЖДЕННОГО

КИМБЕРЛИ А. ЧАПМЕН¹, МАЙКЛА ДЖ. БЕННЕТТ², НИЛ СОНДХЕЙМЕР³

¹ Отделение генетики

² Отделение патологии и лабораторной медицины

³ Отделение развития ребенка, реабилитации и биохимической генетики
Детской больницы Филадельфии, Филадельфия, штат Пенсильвания

Резюме. Данная статья была переведена с разрешения ААСС. ААСС не отвечает за точность перевода. Точка зрения, высказанная авторами, не обязательно отражает точку зрения ААСС или журнала. Перепечатано из *Clinical Chemistry*. 2008; 54: 1914–1917 с разрешения издательства. Оригинальная публикация — 2008. При цитировании статьи необходимо сослаться на оригинальную публикацию в журнале «Клиническая химия» («*Clinical Chemistry*»).

Ключевые слова: неонатальный скрининг, ацилкарнитины, пропионилкарнитин, метилмалоновая ацидемия, пропионовая ацидемия, В12-недостаточность.

CLINICAL CASE STUDY

INCREASED C3-CARNITINE IN A HEALTHY PREMATURE INFANT

КIMBERLY A. CHAPMAN¹, MICHAEL J. BENNETT², NEAL SONDHEIMER³

¹ Department of Genetics

² Pathology and Laboratory Medicine

³ Child Development, Rehabilitation and Biochemical Genetics
The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, PA

Summary. This article has been translated with the permission of AACC. AACC is not responsible for the accuracy of the translation. The views presented are those of the authors and not necessarily those of the AACC or the Journal. Reprinted from *Clin. Chem.* 2008; 54: 1914–1917, by permission of the publisher. Original copyright © 2008. American Association for Clinical Chemistry, Inc. When citing this article, please refer to the original publication source in the journal, *Clinical Chemistry*.

Key words: neonatal screening, acylcarnitins, propioncarnitin, methylmalonic acidemia, B12-insufficiency.

Клинический случай

По данным неонатального скрининга г. Нью-Джерси, у недоношенного новорожденного (возраст 5 дней) выявлен повышенный уровень С3-карнитина (7,93 мкмоль/л; норма — менее 6,79 мкмоль/л, метод «сухой капли»). Определение уровня С3-карнитина используется как скрининговый тест в диагностике метилмалоновой и пропионовой ацидемий, потенциально смертельных, но поддающихся терапии врожденных метаболических заболеваний. Соотношение С3 : С2-карнитина у пациента составляло 0,23 (норма 0,074–0,32), С3 : С16 — 2,51 (норма 0,96–4,16). Ребенок был помещен в палату интенсивной терапии новорождённых. Он родился на 35 неделе гестации и сразу после рождения нуждался в

положительном давлении воздуха (использовалась кислородная палатка), затем быстро переведен на свободное дыхание (комнатный воздух). Пациент находился на искусственном вскармливании смесью на основе белка коровьего молока.

На шестой день жизни у пациента развился ацидоз легкой степени (рН 7,24 в артериальной крови). В связи с тем, что исключить метилмалоновую и пропионовую ацидемии до получения результатов тестов не представлялось возможным, кормления были заменены на внутривенную гидратацию глюкозосодержащими растворами, и ребенок был переведен в наш институт. При поступлении состояние было удовлетворительным, ребенок был в сознании, имел нормальные массо-ростовые

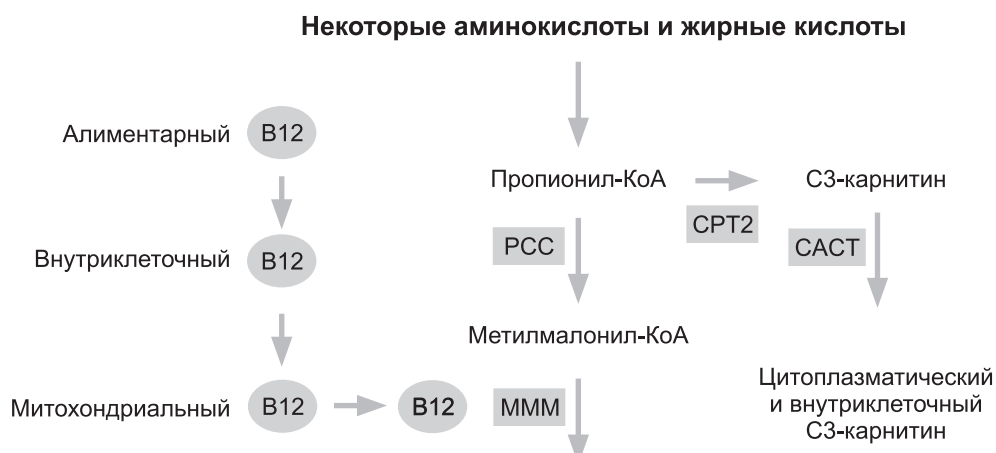


Рис. 1. Метаболизм пропионатов

параметры, тахипноэ отсутствовало, тоны сердца и рефлекс — в норме. Лабораторные тесты ацидоза не выявили. Мы перевели пациента на искусственное вскармливание и продолжили диагностику.

Обсуждение

Уровень С3-карнитина в крови позволяет точно судить о концентрации в митохондриях другого метаболита — пропионил-КоА. Пропионил-КоА — промежуточный продукт в обмене нескольких аминокислот (валина, метионина, треонина и изолейцина) и жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов. Пропионил-КоА также может поступать экзогенно (как дериват пропионатов, продуцируемых гастроинтестинальной флорой). В норме пропионил-КоА метаболизируется в метилмалонил-КоА под действием фермента пропионил-КоА-карбоксилаза (РСС). Мутации структурных генов α - и β -субъединиц митохондриальной пропионил-КоА-карбоксилазы приводят к ее недостаточности и становятся причиной возникновения пропионовой ацидемии. Этот вид ацидемии развивается в связи с накоплением пропионил-КоА, который, будучи в избытке, ферментом карнитин-пальметоил-трансфераза-2 (СРТ2) превращается в соответствующий ацилкарнитин и выводится из митохондрий в цитоплазматическое или внеклеточное пространство (при помощи фермента карнитин-ацилкарнитин-транслоказа, САСТ) (рис. 1).

У пациентов с метилмалоновой ацидезией возможно наличие как дефекта фермента метилмалонил-КоА-мутаза (МММ), так и нарушение обмена вит. В₁₂. Алиментарная недостаточность вит. В₁₂ также приводит к снижению синтеза МММ, для которого В₁₂ является кофактором.

Дифференциальная диагностика повышения уровня С3-карнитина у новорожденных проводится между врожденными дефектами метаболизма и недостаточностью вит. В₁₂ [1]. Необходимо также исключать ложноположительные результаты теста. Метаболические нарушения включают, в том числе, и дефект РСС, который приводит к пропионовой ацидемии. У таких детей на-

блюдается самый выраженный подъем С3-карнитина в связи с непосредственным повышением концентрации пропионил-КоА. Дефекты в обмене кофактора РСС, биотина, в теории могут приводить к подъему уровня С3-карнитина, однако такие случаи не описаны.

Самая большая группа дефектов, ассоциированная с повышением уровня С3-карнитина, затрагивает фермент метилмалонил-КоА-мутаза (МММ). МММ превращает метилмалонил-КоА (ММА) в сукцинил-КоА, промежуточный продукт цикла Кребса. Это один из двух ферментов, кофактором для которых является вит. В₁₂. Повышение концентрации С3-карнитина у новорожденных поддается легкому и быстрому выявлению и используется для определения недостаточности МММ (проявляющейся как метилмалоновая ацидемия).

Повышение же уровня С4-дикарбоксилкарнитина (ММА- или сукцинил-карнитин) не является достаточным информативным для дифференциальной диагностики. К возникновению метилмалоновой ацидемии может приводить большое разнообразие дефектов обмена вит. В₁₂, известных как кобаламинопатии.

Вит. В₁₂-недостаточность у матери и вертикальная передача этой недостаточности — доказанная причина подъема уровня С3-карнитина у новорожденных [2, 3]. Она прослеживается не только в неонатальном периоде, но также может стать причиной неврологических расстройств и экскреции метилмалоната у грудных детей, находящихся на естественном вскармливании (при наличии дефицита вит. В₁₂, вегетарианстве у матери) [4]. Адаптированные смеси для искусственного вскармливания и молоко доноров содержат концентрации вит. В₁₂, достаточные для предотвращения этих осложнений.

Использование лабораторных исследований может быть полезным при осуществлении дифференцировки причин подъема С3-карнитина (табл. 1).

У нашего пациента ни на пятый, ни на шестой дни жизни не было зафиксировано повышение С3-ацилкарнитина. Повышения метилмалоната в моче (хроматографическим методом) как диагностического маркера

Таблица 1. Некоторые диагностические показатели и их ожидаемые изменения у новорожденных с повышенным уровнем С3-карнитина

Причина	V ₁₂	Ацилкарнитин	Органические кислоты в моче	Аминокислоты плазмы	Другое
Пропионовая ацидемия	норма	высокий	повышение метилцитрата, 3-ОН-пропионата, пропионил глицина	повышение глицина, гомоцистеин — в норме	гипераммониемия, ацидоз
Метилмалоновая ацидемия	норма	высокий	резкое повышение метилмалоната	гомоцистеин — в норме	выраженный ацидоз, гипераммониемия
Кобаламинопатии	норма	высокий	повышение метилмалоната	возможно повышение гомоцистеина	—
V ₁₂ -недостаточность	низкий	высокий	повышение метилмалоната	возможно повышение гомоцистеина	—
Корректированная V ₁₂ -недостаточность	норма	норма	норма	норма	—

метилмалоновой ацидемии также не было выявлено. Уровень гомоцистеина, часто повышающийся при V₁₂-дефиците и дефектах метаболизма кобаламина, оставался нормальным. Метилцитрат и 3-гидрокси-пропионат, вспомогательные маркеры пропионовой ацидемии, среди органических кислот мочи отсутствовали, позволяя исключить дефект фермента РСС. Концентрация вит. V₁₂ в сыворотке, полученной на 5-й день жизни, находилась на нижней границе нормы (3300 пг/л, при норме 2930–12 080 пг/л).

При анализе анамнестических данных мы выяснили, что у матери пациента во время беременности была диагностирована анемия. При более детальном расспросе она рассказала, что за три года до беременности ей проводилась гастропластика с целью коррекции избытка массы тела. Курса поддерживающей терапии вит. V₁₂ в последующем пациентка не получала.

Диагноз

Был установлен диагноз дефицита вит. V₁₂, ассоциированный с дефицитом V₁₂ у матери после гастропластики.

Анализ клинического случая

Вертикальная передача вит. V₁₂-недостаточности повлекла за собой метаболическое расстройство у ребенка, зафиксированное на второй день жизни, во время проведения скрининговых тестов. Недостаточность, однако, была скорректирована к моменту его перевода в наш институт. После 5 дней энтерального питания, обеспечивающего потребность в вит. V₁₂, нормализовались концентрации как митохондриального (о чем свидетельствует концентрация С3-карнитина), так и плазматического вит. V₁₂. Оставалась неясной причина развития ацидоза на 6-й день жизни, но исследования

подтвердили, что оно не было связано с дефектом метаболизма разветвленных аминокислот. Матери было рекомендовано информировать своего терапевта о том, что у нее диагностирована недостаточность вит. V₁₂, требующая пожизненной коррекции.

Неонатальный скрининг предназначен для определения врожденных дефектов метаболизма в первые дни после рождения, что существенно улучшает прогноз для жизни и лечения. Первоначально он был разработан для диагностики фенилкетонурии, но в большинстве штатов был расширен и включает диагностику дефектов β-окисления жирных кислот, аминокислотопатий, органических ацидурий. Повышение уровня С3-карнитина представляет серьезную диагностическую проблему из-за широкого ряда возможных причин, приводящих к нему, включая ложно-положительные результаты, витаминную недостаточность, а также ряд опасных для жизни состояний, таких как метилмалоновая и пропионовая ацидопатии. Тяжелое заболевание в данном случае было маловероятным, так как метилмалоновая или пропионовая ацидопатия в типичном случае дебютирует у детей с дегидратацией, умеренной гепатомегалией, кетоацидозом, гипераммониемией, потерей массы, сомноленцией, генерализованной мышечной гипотонией и мышечной гипертонией конечностей (судороги). Диагностика патологии у матери (в данном случае V₁₂-дефицит) по результатам неонатального скрининга для этого состояния не редкость. Повышение С5-ОН-ацилкарнитина является индикатором ряда патологических состояний, включающих недостаточность 3-метилкротонил-КоА-карбоксилазы, и выявлялось при этой недостаточности у матери чаще, чем у новорожденного [5]. У таких пациентов механизм, возможно, иной: повышение 3-метилкротонил-КоА-карбоксилазы напрямую связано с трансфузией материнских метаболитов ацилкарнитина. Дефекты карнитинового транспортера у матери

также определялись по результатам неонатального скрининга (низкие концентрации карнитина) [6].

Механизм недостаточности вит. В₁₂ у матери также является распространенным. Число гастропластик, проводимых у женщин репродуктивного возраста, существенно возросло (в общей популяции с 16 000 в год в ранних 1990-х до 103 000 в 2003-м) [7].

Пациенты, перенесшие гастропластику, подвержены серьезному риску развития В₁₂-недостаточности из-за снижения секреции внутреннего фактора Касла, необходимого для всасывания кобаламина. Такие пациенты должны получать по 1 мг вит. В₁₂ внутримышечно 1 раз в 3 месяца или интраназально по 500 мкг 1 раз в неделю [8].

Данный случай иллюстрирует необычный механизм повышения уровня диагностического метаболита. Удовлетворительное состояние пациента в сочетании с анамнестическими и лабораторными данными позволили выявить причину до назначения терапии. В данном случае мать выбрала искусственное вскармливание, которое корригировало витаминную недостаточность. Сохранение грудного вскармливания привело бы к снижению активности МММ и ацидозу. Благодаря скрининговой программе терапия В₁₂-недостаточности у матери была начата до появления неврологической симптоматики, однако у нее уже развилась анемия. Необычный вариант диагностики, несмотря на то, что он может вызвать недоверие у клиницистов и в семье пациента, явился неожиданным преимуществом неонатального скрининга. Анамнез, осмотр и лабораторные исследования являются очень существенными для дифференциальной диагностики метилмалоновой и пропионовой ацидезий и ложноположительных или алиментарных повышений уровня СЗ-карнитина по результатам неонатального скрининга.

Вклад авторов: все авторы подтвердили, что они внесли свой вклад в интеллектуальное содержание этого документа и отвечают трём следующим требованиям: (а) значительный вклад в развитие концепции и дизайна, приобретение данных или их анализ и интерпретация данных; (б) составление или пересмотр статьи интел-

лектуального содержания и (в) окончательное утверждение для публикации статьи.

Авторское изложение информации, потенциальный конфликт интересов: нет авторов, заявивших о любых потенциальных конфликтах интересов.

Финансирование исследования: К.А. Чапмен является получателем гранта 2Т32GM008638, НИИ Национального института медицинской науки, Н. Сондхеймер является получателем гранта 2К12HD043245, НИИ Национального института здоровья ребенка и развития человека.

Роль спонсора: финансирующие организации не играли никакой роли в исследовании, выборе пациентов, в обзоре и интерпретации данных, в подготовке или одобрении рукописи.

Литература

1. ACMG Newborn Screening Workgroup. Newborn screening ACT sheets and confirmatory algorithms. 2006 (Accessed March 2008).
2. Bjorke Monsen A.L., Ueland P.M., Vollset S.E., Guttormsen A.B., Markestad T., Solheim E. et al. Determinants of cobalamin status in newborns // *Pediatrics*, 2001; 108: 624–630.
3. Campbell C.D., Ganesh J., Ficicioglu C. Two newborns with nutritional vitamin B12 deficiency: Challenges in newborn screening for vitamin B12 deficiency // *Haematologica*, 2005; 90 (12 Suppl.): ECR45.
4. Kuhne T., Bubl R., Baumgartner R. Maternal vegan diet causing a serious infantile neurological disorder due to vitamin B12 deficiency // *Eur. J. Pediatr.*, 1991; 150: 205–208.
5. Koeberl D.D., Millington D.S., Smith W.E., Weavil S.D., Muenzer J., McCandless S.E. et al. Evaluation of 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency detected by tandem mass spectrometry newborn screening // *J. Inherit. Metab. Dis.*, 2003; 26: 25–35.
6. Schimmenti L.A., Crombez E.A., Schwahn B.C., Heese B.A., Wood T.C., Schroer R.J. et al. Expanded newborn screening identifies maternal primary carnitine deficiency // *Mol. Genet. Metab.*, 2007; 90: 441–445.
7. Steinbrook R. Surgery for severe obesity // *N. Engl. J. Med.*, 2004; 350: 1075–1079.
8. Clements R.H., Katasani V.G., Palepu R., Leeth R.R., Leath T.D., Roy B.P. et al. Incidence of vitamin deficiency after laparoscopic roux-en-Y gastric bypass in a university hospital setting // *Am. Surg.*, 2006; 72: 1196202; discussion 1203–4.

► NOTA BENE

1. Диагноз метаболического заболевания не может быть поставлен по данным исключительно неонатального скрининга. Любое отклонение от нормы должно быть подтверждено дополнительными исследованиями после анализа клинических данных и анамнеза.
2. Повышение уровня СЗ-карнитина используется в диагностике метилмалоновой ацидурии, хотя этот метаболит удален от дефекта МММ.
3. Находки неонатального скрининга могут выявлять также патологию у матери: врожденные дефекты метаболизма, включающие недостаточность 3-метилкротонил-КоА-карбоксилазы, нарушение транспорта карнитина, а также алиментарные дефициты.
4. Неонатальный скрининг допускает большой процент ложно-положительных результатов при высокой чувствительности, но имеет низкую предсказательную ценность.

ЧАРЛЬЗ П. ВЕНДИТТИ*

Отдел исследований генетических заболеваний, Национальный институт исследований генома человека, Национальный институт здоровья, Бетесда, штат Мэриленд

* Адрес для корреспонденции этому автору: Genetic Disease Research Branch, National Human Genome Research Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, e-mail: venditti@mail.nih.gov

Расширенный неонатальный скрининг с определением профиля эфиров ацилкарнитина существенно облегчил диагностику нарушений β -окисления жирных кислот и органических ацидезий у новорожденных. Каждый метаболит или группа метаболитов, определяемые тандемной масс-спектрометрией в сухой капле, позволяют выявлять новорожденных с тем или иным метаболическим заболеванием. Среди этих маркеров положительный результат теста на пропионилкарнитин требует немедленного исследования метаболизма у новорожденного. Повышение уровня пропионилкарнитина в крови — это биохимический маркер изолированной метилмалоновой ацидемии, пропионовой ацидемии и патологии внутриклеточного обмена кобаламина, потенциально смертельных нарушений метаболизма. Однако опытные клиницисты и лаборатории, участвующие в неонатальном скрининге, готовы признать, что это не идеальный маркер данных заболеваний. В большой группе обследуемых высокий СЗ-карнитин будет скорее расценен как ложноположительный, результат гораздо более ожидаемый, чем пропионовая или метилмалоновая ацидемия [1].

Новорожденные с наследственными дефектами метаболизма составляют самую большую группу среди пациентов с истинным повышением пропионилкарнитина (1). Вторая группа включает детей, рожденных женщинами с недостаточностью вит. В₁₂. Дефицит вит. В₁₂ у матери может проявляться у новорожденного в разной степени, от энцефалопатии с тяжелыми метаболическими расстройствами [2] до бессимптомной метилмалоновой ацидурии (3). В описанном случае мать перенесла гастропластику без последующей заместительной терапии, и, хотя ее биохимические и гематологические параметры не были представлены в статье, в момент проведения скрининга, она, по-видимому, являлась «пробандом». К счастью, состояние ребенка было удовлетворительным и метаболические отклонения,

например, метилмалоновая ацидурия, у него не наблюдались. В конечном счете, положительный результат скрининга позволил диагностировать некоррегированную В₁₂-недостаточность у матери и продемонстрировал неожиданную социальную выгоду расширенного неонатального скрининга. Возможно, получение ложноположительного результата должно подталкивать нас к поиску патологии у матери.

Вклад авторов: все авторы подтвердили, что они внесли свой вклад в интеллектуальное содержание этого документа и отвечают трём следующим требованиям: (а) значительный вклад в развитие концепции и дизайна, приобретение данных или их анализ и интерпретация данных; (б) составление или пересмотр статьи интеллектуального содержания и (в) окончательное утверждение для публикации статьи.

Авторское изложение информации, потенциальный конфликт интересов: нет авторов, заявивших о любых потенциальных конфликтах интересов.

Роль спонсора: финансирующие организации не играли никакой роли в исследовании, выборе пациентов, в обзоре и интерпретации данных, в подготовке или одобрении рукописи.

Литература

1. Chace D.H., DiPerna J.C., Kalas T.A., Johnson R.W., Naylor E.W. Rapid diagnosis of methylmalonic and propionic acidemias: quantitative tandem mass spectrometric analysis of propionylcarnitine in filter-paper blood specimens obtained from newborns // Clin. Chem., 2001; 47: 2040–2044.
2. Higginbottom M.C., Sweetman L., Nyhan W.L. A syndrome of methylmalonic aciduria, homocystinuria, megaloblastic anemia and neurologic abnormalities in a vitamin B12-deficient breast-fed infant of a strict vegetarian // N. Engl. J. Med., 1978; 299: 317–323.
3. Marble M., Copeland S., Khanfar N., Rosenblatt D.S. Neonatal vitamin B12 deficiency secondary to maternal subclinical pernicious anemia: identification by expanded newborn screening // J. Pediatr., 2008; 152: 731–733.

ДИТРИХ МАТЕРН*

Биохимическая генетическая лаборатория, Клинический колледж медицины Майо, Рочестер, штат Миннесота

* Адрес для корреспонденции этому автору: Biochemical Genetics Laboratory, Mayo Clinic College of Medicine, 200 First Street SW, Rochester, MN, 55905. E-mail: matern@mayo.edu

Цель скрининга — выявление заболеваний новорожденных. Диагностика с его помощью патологии у мате-

ри — редкое явление и учитывается в основном в случае инфекционных заболеваний, таких как ВИЧ [1]. Кроме

того, отклонения от нормы, как правило, расцениваются как признак генетического дефекта, а не нарушений алиментарного или ятрогенного характера. Данный случай наглядно иллюстрирует ценность скрининга не только для ребенка, но и для его матери. Кроме того, неонатальный скрининг может быть полезен в последующем обследовании членов семьи пациента с бессимптомным течением, например, ацил-КоА-недостаточности [2].

Данный случай поднимает также другую проблему. Многие скрининговые программы требуют наличия второй сухой капли для повторного исследования в случае, когда результат первого теста отклоняется от нормы. Если повторный тест дает нормальный результат — ребенок считается здоровым, и первый отвергается как ложноположительный.

В настоящее время такой подход является неприемлемым для диагностики нарушений окисления нескольких жирных кислот, в частности недостаточности ацил-КоА-дегидрогеназ жирных кислот с очень длинной цепью [3, 4]. Если бы такой принцип был применен в данном случае, состояние матери осталось бы невыявленным, так как результаты последующих тестов у ребенка были нормальными.

В связи с расширением и усложнением неонатального скрининга Американской коллегией медицинской генетики были разработаны руководящие документы (доступные на www.ASMG.net), позволяющие клиницистам эффективно использовать его результаты.

Эти документы затрагивают не только состояния, официально входящие в отдельные скрининговые программы, но также содержат рекомендации по обследованию семей пациентов.

Вклад авторов: все авторы подтвердили, что они внесли свой вклад в интеллектуальное содержание этого документа и отвечают трём следующим требованиям: (а) значительный вклад в развитие концепции и дизайна, приобретение данных или их анализ и интерпретация данных; (б) составление или пересмотр статьи интеллектуального содержания и (в) окончательное утверждение для публикации статьи.

Авторское изложение информации, потенциальный конфликт интересов: нет авторов, заявивших о любых потенциальных конфликтах интересов.

Роль спонсора: финансирующие организации не играли никакой роли в исследовании, выборе пациентов, в обзоре и интерпретации данных, в подготовке или одобрении рукописи.

Литература

1. Cameron T. Mandatory HIV testing of newborns in New York State: what are the implications? // J. Health. Soc. Policy., 2002; 14: 59–78.
2. Matern D., Rinaldo P. Medium-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=gene&part=mcad> (Accessed October 2008).
3. Browning M.F., Larson C., Strauss A., Marsden D.L. Normal acylcarnitine levels during confirmation of abnormal newborn screening in long-chain fatty acid oxidation defects // J. Inherit. Metab. Dis. 2005; 28: 545–550.
4. Boneh A., Andresen B.S., Gregersen N., Ibrahim M., Tzanakos N., Peters H. et al. VLCAD deficiency: pitfalls in newborn screening and confirmation of diagnosis by mutation analysis // Mol. Genet. Metab., 2006; 88: 166–170.

CLINICAL CASE STUDY

INCREASED C3-CARNITINE IN A HEALTHY PREMATURE INFANT

KIMBERLY A. CHAPMAN¹, MICHAEL J. BENNETT², NEAL SONDSHEIMER^{3*}

¹ Department of Genetics

² Department of Pathology and Laboratory Medicine

³ Department of Child Development, Rehabilitation, and Biochemical Genetics

The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, PA

* Address correspondence to this author at: The Children's Hospital of Philadelphia, 34th Street and Civic Center Blvd, Philadelphia, PA, 19104. Fax 215-5904297; e-mail Sondheim@email.chop.edu.

Received March 21, 2008; accepted July 10, 2008.

Previously published online at DOI: 10.1373/clinchem.2008.107581

This article has been translated with the permission of AACC. AACC is not responsible for the accuracy of the translation. The views presented are those of the authors and not necessarily those of the AACC or the Journal. Reprinted from Clin. Chem. 2009; 55: 11: 1905–1909, by permission of the publisher. Original copyright © 2009. American Association for Clinical Chemistry, Inc. When citing this article, please refer to the original publication source in the journal, Clinical Chemistry.

CASE

A 5-day-old male infant with an increased dried blood spot propionylcarnitine (C3-carnitine) value of 7.93 $\mu\text{mol/L}$ (cutoff < 6.79 $\mu\text{mol/L}$) was identified by the New Jersey state newborn screening program. C3-carnitine is used as a screening tool for methylmalonic and propionic acidemias, potentially fatal but treatable inborn errors of metabolism. The initial screen values provided a calculated C3:C2 carnitine ratio of 0.23 (cutoff < 0.32, mean 0.074) and a C3:C16 ratio of 2.51 (cutoff < 4.16, mean 0.96). The child was an inpatient at an outlying neonatal intensive care unit. He was born at 35 weeks estimated gestational age, required continuous positive airway pressure for a short time after birth, and transitioned quickly to room air. He was taking regular feedings with a cow's milk protein-based formula.

On day of life 6, the patient developed a mild acidosis (pH 7.24 on arterial blood gas testing). Because methylmalonic and propionic acidemia could not be excluded while confirmatory test results were pending, feedings were discontinued, intravenous hydration with glucose-containing fluids was initiated, and the infant was transferred to our institution. On arrival the child appeared well, was alert, and had normal growth parameters and no tachypnea. He had good tone and normal reflexes, and laboratory studies showed no acidosis. We allowed normal feedings and proceeded with the diagnostic evaluation.

DISCUSSION

Although C3-carnitine appears in the blood, the active metabolite within the mitochondrion is propionyl-CoA. Propionyl-CoA is an intermediate in the degradation of several amino acids. It can also appear as an intermediate of odd-chain fatty acid metabolism and exogenously as a de-

rivative of propionate that is generated by gastrointestinal flora. Normally propionyl-CoA is metabolized to methylmalonyl-CoA by the action of propionyl-CoA carboxylase (PCC), but if the metabolite is in excess the propionyl species is released from the mitochondrion after conversion by carnitine palmitoyl transferase II to the corresponding acylcarnitine (Fig. 1).

The differential diagnosis for increased C3-carnitine in a newborn includes inborn errors of metabolism, vitamin B12-deficiency, and false-positive results (1). The associated inborn errors of metabolism include PCC defects that cause propionic acidemia. Children with this condition potentially have the greatest elevations in C3-carnitine because of an immediate backup of metabolic flux resulting in increased concentrations of propionyl-CoA. Defects in processing of the cofactor for PCC, biotin, could in theory lead to C3-carnitine elevation, but isolated elevations of C3-carnitine in patients with biotinidase deficiency or holocarboxylase synthetase deficiency have not been reported.

The largest group of defects associated with C3-carnitine elevation involves the downstream enzyme methylmalonyl-CoA mutase (MMM). MMM converts methylmalonyl-CoA to succinyl-CoA, an intermediate in the Krebs cycle. This enzyme is one of 2 in the body that uses vitamin B12 as a cofactor. C3-carnitine is the newborn screen metabolite used for detection of MMM deficiency (known as methylmalonic acidemia) because C4-dicarboxylcarnitine elevations (MMA-carnitine or succinyl-carnitine) are not consistently or sufficiently increased to enable differentiation of patients from those who are unaffected; the backup to propionyl-CoA and C3-carnitine is more readily detectable. A broad variety of defects in vitamin B12 processing,



Propionyl-CoA is produced by the degradation of the amino acids valine, methionine, threonine, and isoleucine. Patients with propionic acidemia have defects in PCC. Patients with methylmalonic acidemia can have defects either in the enzyme methylmalonyl-CoA mutase or within the pathways of vitamin B12 processing. Dietary deficiency of B12 also disrupts methylmalonyl-CoA mutase. Accumulating propionyl-CoA within the mitochondria can be transported to the cytoplasm and plasma as C3-acylcarnitine by the combined action of carnitine palmitoyl transferase II (CPT2) and carnitine-acylcarnitine translocase (CACT).

Maternal vitamin B12 deficiency, and vertical transmission of this deficiency, is a known cause of C3-carnitine elevation (2, 3). This defect is not isolated to the newborn period; breast-fed infants of vegan mothers with B12 deficiency have been reported with neurological impairment and methylmalonate excretion (4). Commercially available formulas and term breast-milk from mothers with normal B12 metabolism have adequate concentrations of B12 to avoid such complications.

mocysteine, often increased in B12 deficiency and some defects of cobalamin metabolism, was not detected. Methylcitrate and 3-hydroxy propionate, additional markers of propionic acidemia, were absent from urine organic acids, effectively ruling out defects in PCC. A serum B12 concentration obtained on day of life 5 was in the lower end of the normal range (3300 pg/L, normal reference interval 2930–12080 pg/L).

On further review of the history, we learned that the mother was diagnosed with anemia during the pregnancy. On closer questioning, she disclosed that 3 years before the pregnancy she had undergone gastric bypass for the purpose of weight loss. She could not recall having received supplemental vitamin B12 following the procedure.

The diagnosis was vitamin B12 deficiency due to maternal vitamin B12 deficiency after gastric bypass.

True diagnosis	B12	Acylcarnitine profile	Urine organic acids	Plasma amino acids	Other
Propionic acidemia	Normal	↑ C3	↑ Methylcitrate, 3-OH propionate, propionyl glycine	↑ Glycine, Normal homocysteine	↑ ↑ Ammonia, acidosis
Methylmalonic acidemia	Normal	↑ C3	↑ ↑ Methylmalonate	Normal homocysteine	Severe acidosis, ↑ Ammonia
Cobalaminopathy	Normal	↑ C3	↑ Methylmalonate	+/- Elevated homocysteine	None
B12 deficiency	Low	↑ C3	↑ Methylmalonate	+/- Elevated homocysteine	None
Corrected B12 deficiency	Normal	Normal	Normal	Normal	None

RESOLUTION OF CASE

Vertical transmission of vitamin B12 deficiency caused a metabolic disturbance in the child on the second day of life, at the time of newborn screening. The B12 deficiency in our patient, however, had been corrected by the time of transfer to our institution. After 5 days of enteral feeding, provision of dietary vitamin B12 in infant formula had corrected both the intramitochondrial defect (as determined by C3-carnitine concentrations) and plasma concentrations of B12. The cause of the patient's transient acidosis on day of life 6 was unclear, but metabolic studies confirmed that it was unrelated to defects in branched-chain amino acid metabolism. The mother was told to inform her primary care physician that she had B12 deficiency and would require lifelong supplementation.

Newborn screening is designed to detect inborn errors of metabolism in a time course that improves prospects for treatment and survival. Newborn screening was initially developed for detection of phenylketonuria, but has expanded in most states to include other conditions such as fatty acid oxidation defects, amino acidopathies, and organic acidopathies. Increased C3-carnitine presents a diagnostic challenge because of the wide range of possible causes, including false-positive results, vitamin deficiency, and life-threatening disorders such as methylmalonic or propionic acidopathy. Severe disease was unlikely in this case, because the typical infant with methylmalonic or propionic acidopathy presents with dehydration, moderate hepatomegaly, increased ammonia, ketoacidosis, poor feeding, drowsiness, axial hypotonia, and limb hypertonia.

Detection of maternal pathology (in this case B12 deficiency) through the newborn screen is not unique to this condition. Elevations in C5-OH acylcarnitine are indicative of a variety of pathologies, including 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency, and have frequently resulted in a diagnosis of this deficiency in the mother rather than in the newborn (5). The mechanism in these patients is probably distinct, with 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase elevations due to a direct maternal transfer of the acylcarnitine species.

Defects in the maternal carnitine transporter have also been detected by low concentrations of carnitine on a newborn screen (6).

The mechanism of B12 deficiency in the patient's mother is also not uncommon. The number of gastric bypasses performed on women of reproductive age has increased as roux-en-Y gastric bypasses in the general population have increased from 16 000 per year in the early 1990s to 103 000 in 2003 (7). Patients who have had gastric bypass are at significant risk for B12 deficiency because of the loss of intrinsic-factor secretion that is required for absorption. Patients should receive 1 mg intramuscular B12 every 3 months or 500 µg intranasal B12 weekly following gastric bypass (8).

This case illustrates an unusual mechanism leading to the elevation of a diagnostic metabolite. The patient's benign presentation in combination with family history and laboratory studies revealed the cause before any form of treatment was instituted in the infant. In this case, the mother elected to feed her child commercial infant formula, which corrected the vitamin deficiency. Had the infant been breastfed, the deficiency would have continued and acidosis resulting from impaired MMM function could have resulted. As a result of the newborn screening program, the maternal deficiency in B12 was detected and treated before the emergence of neurological symptoms, although she had already developed anemia. This unusual route of diagnosis, although it may provoke anxiety in the clinician and family, can be considered an unexpected benefit of the newborn screening program. History, examination, and metabolic laboratory studies are sufficient to expeditiously separate cases of methylmalonic and propionic acidemia from false-positive or nutritional causes of C3-carnitine elevation on newborn screening.

Author Contributions: Each author confirmed they have contributed to the intellectual content of this paper and have met the following 3 requirements: (a) significant contributions to the conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; (b) drafting or

► POINTS TO REMEMBER

1. The diagnosis of a metabolic disease cannot be made exclusively on the basis of newborn screening. An abnormal result must be confirmed by additional testing pursued in consideration of the clinical presentation and family history.
2. Elevations in C3-acylcarnitines are used in the diagnosis of methylmalonic aciduria, although this metabolite is several steps removed from the metabolic defect.
3. Newborn screen findings can reveal maternal defects in the case of several inborn errors of metabolism, including 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency and carnitine transport defect, and also can reveal nutritional deficits in the mother.
4. Newborn screening is designed to accept an increased false-positive rate to have an excellent sensitivity and negative predictive value.

revising the article for intellectual content; and (c) final approval of the published article.

Authors' Disclosures of Potential Conflicts of Interest: Upon manuscript submission, all authors completed the Disclosures of Potential Conflict of Interest form. Potential conflicts of interest:

Employment or Leadership: M.J. Bennett, Board of Directors, AACC, and member of the editorial board of Clinical Chemistry.

Consultant or Advisory Role: None declared.

Stock Ownership: None declared.

Honoraria: None declared.

Research Funding: K.A. Chapman is the recipient of grant 2T32GM008638, NIH, National Institute of General Medical Sciences; and N. Sondheimer is the recipient of grant 2K12HD043245, NIH, National Institute of Child Health and Human Development. Expert Testimony: None declared.

Role of Sponsor: The funding organizations played no role in the design of study, choice of enrolled patients, review and interpretation of data, or preparation or approval of manuscript.

References

1. ACMG Newborn Screening Workgroup. Newborn screening ACT sheets and confirmatory algorithms, 2006 (Accessed March 2008).
2. Bjorke Monsen A.L., Ueland P.M., Vollset S.E., Guttormsen A.B., Markestad T., Solheim E. et al. Determinants of cobalamin status in newborns // *Pediatrics* 2001; 108: 624–630.
3. Campbell C.D., Ganesh J., Ficicioglu C. Two newborns with nutritional vitamin B12 deficiency: Challenges in newborn screening for vitamin B12 deficiency // *Haematologica*, 2005; 90 (12 Suppl.):ECR45.
4. Kuhne T., Bubl R., Baumgartner R. Maternal vegan diet causing a serious infantile neurological disorder due to vitamin B12 deficiency // *Eur. J. Pediatr.*, 1991; 150: 205–208.
5. Koeberl D.D., Millington D.S., Smith W.E., Weavil S.D., Muenzer J., McCandless S.E. et al. Evaluation of 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency detected by tandem mass spectrometry newborn screening // *J. Inher. Metab. Dis.*, 2003; 26: 25–35.
6. Schimmenti L.A., Crombez E.A., Schwahn B.C., Heese B.A., Wood T.C., Schroer R.J. et al. Expanded newborn screening identifies maternal primary carnitine deficiency // *Mol. Genet. Metab.*, 2007; 90: 441–445.
7. Steinbrook R. Surgery for severe obesity // *N. Engl. J. Med.*, 2004; 350: 1075–1079.
8. Clements R.H., Katasani V.G., Palepu R., Leeth R.R., Leeth T.D., Roy B.P. et al. Incidence of vitamin deficiency after laparoscopic roux-en-Y gastric bypass in a university hospital setting // *Am. Surg.* 2006; 72: 1196, 202; discussion 1203–1204.

Commentary

CHARLES P. VENDITTI

Genetic Disease Research Branch, National Human Genome Research Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD

Address correspondence to the author at: Genetic Disease Research Branch, National Human Genome Research Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892. E-mail venditti@mail.nih.gov

Supplemental newborn screening using acylcarnitine ester profiling has greatly expanded the scope of detection of newborns with a wide range of fatty acid oxidation disorders and organic acidemias. Each metabolite, or group of metabolites, measured by tandem mass spectrometry in the newborn blood spot carries the potential to identify infants at risk for metabolic disease. Among these markers, a positive test for increased C3 species — propionyl carnitine — causes a characteristic and immediate reaction of initiating an emergency metabolic evaluation for the at-risk infant, with good reason. Increased propionylcarnitine in the blood is a biochemical hallmark of isolated methylmalonic acidemia, propionic acidemia, and disorders of intracellular cobalamin processing, all potentially lethal disorders of intermediary metabolism. However, experienced clinicians and newborn screening laboratories alike recognize that increased propionylcarnitine is not a perfect disease marker and in some large series, an infant with increased C3 species will more likely be categorized as a false positive vs affected with a metabolic disorder (1), an outcome far more desirable than the diagnosis of propionic or methylmalonic acidemia.

Although hereditary metabolic disorders comprise the most common true-positive subset within the group of babies with increased propionylcarnitine (1), another category includes infants born to mothers with diminished maternal vitamin B12 stores. Maternal B12 deficiency is recognized to produce a spectrum of symptoms in the infant — ranging from frank encephalopathy with severe metabolic derangements (2) to increased propionylcarnitine (1) with mild methyl-malonic aciduria (3). The mother in the current case had undergone gastric bypass without subsequent vitamin B12 supplementation, and although her biochemical and hematological parameters were not documented in this report, she presumably was vitamin B12 deficient as was the proband when initially screened. Fortunately, other than mild prematurity, the baby was well and without biochemical abnormalities such as methyl-malonic aciduria. In the end, a positive newborn screen enabled recognition of untreated maternal disease and demonstrates the unexpected societal benefit that can be derived from expanded newborn screening. One now wonders whether other infants in the false-positive category for in-

creased C3 species might be instructing us to pay more attention to whether maternal pathology is present.

Author Contributions: Each author confirmed they have contributed to the intellectual content of this paper and have met the following 3 requirements: (a) significant contributions to the conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; (b) drafting or revising the article for intellectual content; and (c) final approval of the published article.

Authors' Disclosures of Potential Conflicts of Interest: No authors declared any potential conflicts of interest.

Role of Sponsor: The funding organizations played no role in the design of study, choice of enrolled patients, review and interpretation of data, or preparation or approval of manuscript.

References

1. Chace D.H., DiPerna J.C., Kalas T.A., Johnson R.W., Naylor E.W. Rapid diagnosis of methylmalonic and propionic acidemias: quantitative tandem mass spectrometric analysis of propionylcarnitine in filter-paper blood specimens obtained from newborns // *Clin. Chem.* 2001; 47: 2040–2044.
2. Higginbottom M.C., Sweetman L., Nyhan W.L. A syndrome of methylmalonic aciduria, homocystinuria, megaloblastic anemia and neurologic abnormalities in a vitamin B12-deficient breast-fed infant of a strict vegetarian // *N. Engl. J. Med.*, 1978; 299: 317–323.
3. Marble M., Copeland S., Khanfar N., Rosenblatt D.S. Neonatal vitamin B12 deficiency secondary to maternal subclinical pernicious anemia: identification by expanded newborn screening // *J. Pediatr.*, 2008; 152: 731–733.

Commentary

DIETRICH MATERN

Biochemical Genetics Laboratory, Mayo Clinic College of Medicine, Rochester, MN

Address correspondence to the author at: Biochemical Genetics Laboratory,

Mayo Clinic College of Medicine, 200 First Street SW, Rochester, MN 55905. E-mail Matern@mayo.edu

Newborn screening is used to detect disease in the newborn. Rarely do we consider that screening may uncover disease in the mother. Only in newborn screening for infectious diseases such as HIV is the identification of disease in the mother also considered a goal (1). Furthermore, it is also generally assumed that abnormal results are indicative of an underlying genetic disease and not dietary or iatrogenic factors. As this case nicely demonstrates, newborn screening can have implications and benefits not only for the baby but also for the mother. In addition, newborn screening can also benefit others when follow-up of positive test results includes further testing of asymptomatic family members, such as in medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (2).

This case also exemplifies an issue in newborn screening that needs to be considered. Many screening programs require a second dried blood spot sample to repeat the newborn screen when the first test is abnormal. If the second sample yields normal results, then the baby is deemed healthy and the first result is overruled as a false positive. By now, it should be well known that this approach is inappropriate for several fatty acid oxidation disorders, in particular very long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (3, 4). Had the same approach been applied to this case, the maternal condition would again have escaped detection because the results of follow-up acylcarnitine profiles in the baby were already normal.

With the expansion of newborn screening and the associated increase in complexity, the American College of Medical Genetics developed follow-up guidelines (freely available at www.ACMG.net) to help the practitioner efficiently and comprehensively follow up on abnormal new-

born screening results. These practice guidelines are based on the analytes that can be abnormal in newborn screening and not just the conditions officially screened for in a particular screening program. These guidelines also include suggestions to evaluate family members when indicated.

Author Contributions: Each author confirmed they have contributed to the intellectual content of this paper and have met the following 3 requirements: (a) significant contributions to the conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; (b) drafting or revising the article for intellectual content; and (c) final approval of the published article.

Authors' Disclosures of Potential Conflicts of Interest: No authors declared any potential conflicts of interest.

Role of Sponsor: The funding organizations played no role in the design of study, choice of enrolled patients, review and interpretation of data, or preparation or approval of manuscript.

References

1. Cameron T. Mandatory HIV testing of newborns in New York State: what are the implications? // *J. Health Soc. Policy.*, 2002; 14: 59–78.
2. Matern D., Rinaldo P. Medium-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=gene&part=mcad> (Accessed October 2008).
3. Browning M.F., Larson C., Strauss A., Marsden D.L. Normal acylcarnitine levels during confirmation of abnormal newborn screening in long-chain fatty acid oxidation defects // *J. Inher. Metab. Dis.*, 2005; 28: 545–550.
4. Boneh A., Andresen B.S., Gregersen N., Ibrahim M., Tzanakos N., Peters H. et al. VLCAD deficiency: pitfalls in newborn screening and confirmation of diagnosis by mutation analysis // *Mol. Genet. Metab.*, 2006; 88: 166–170.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ВЕРИФИКАЦИИ МОЧЕВОГО СИНДРОМА

В.А. ЭМАНУЭЛЬ¹, Ю.В. ЭМАНУЭЛЬ¹, Е.С. КНЯЗЕВА²¹ ГОУ ВПО «СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Росздрава»² Sysmex Europe GmbH

Резюме. В статье анализируется современное технологическое обеспечение верификации мочевого синдрома при скрининговых исследованиях. Приводятся материалы по применяемым лабораторным методам, используемым при выполнении «общего анализа мочи» в клиничко-диагностических лабораториях учреждений здравоохранения России, и результаты этих исследований.

В российские лаборатории благодаря приоритетному Национальному проекту «Здоровье» на смену отечественным фотометрам приходит более современное оборудование. Сегодня, по данным Федеральной системы внешней оценки качества лабораторных исследований, значительный процент выполненных анализов является не качественным. Причины этого закладываются на преаналитическом и аналитическом этапах. В статье обсуждаются актуальность использования сертифицированной медицинской посуды для сбора биологических субстратов и создание нормативных документов по этому вопросу. Необходимость микроскопии огромного количества осадков мочи при использовании рутинных методик не позволяет квалифицированному персоналу сосредоточиться на действительно патологических образцах. Частое назначение антибиотиков (не всегда обоснованное) по результатам микробиологического анализа мочи приводит к нарушениям в иммунной регуляции организма. В связи с этим актуально использование скрининговых методов для выявления образцов, требующих пристального внимания. В статье показана информативность использования современного лабораторного оборудования (на основе проточной цитометрии), применение которого увеличивает диагностическую эффективность исследования мочи.

Ключевые слова: анализ мочи; химический состав, микроскопия осадка, мочевого синдром; ошибки диагностики, проточная цитометрия.

TECHNOLOGICAL BASIS OF URINARY SYNDROME VERIFICATION

V.I. EMANUEL¹, U.V. EMANUEL¹, E.S. KNYAZEVA²¹ State Educational Institution of Higher Professional Education «Saint-Petersburg Pavlov State Medical University, Federal Agency of Health Care and Social Development»² Sysmex Europe GmbH

Summary. The article analyses modern technologies for urinary syndrome verification in screening investigations. The discussed materials concern the laboratory methods used for routine urine analysis in clinical diagnostic laboratories of health care institutions of Russia as well as the results of these investigations.

The National project "Health" gave possibilities for Russian laboratories to receive modern equipment. Nowadays, according to information given by Federal system of external quality control the significant percentage of the laboratory tests are not of proper quality. The cause of this concerns the preanalytic and analytic steps of the procedure. The article discusses the use of the certified medical glass for biologic samples and the necessity of the standards and documents concerning this problem. Microscopy of the large number of samples in routine practice doesn't give possibility for qualified personnel to concentrate on pathological ones. Frequent administration of antibiotics basing on the results of urine analysis is not in all cases adequate and may lead to disturbances in the immune system. Because of all factors mentioned, the screening methods revealing the samples which need special attention are required. The informativity of the modern equipment based on flow cytometry is shown. The use of this equipment increases the diagnostic efficacy of urine tests.

Key words: urinalysis, urinary syndrome, diagnostic mistakes, urine sediment microscopy, urine flow cytometry.

Методы исследования мочи имеют долгую историю. В наши дни медико-экономические соображения и, главное, прогресс в понимании патофизиологических процессов обуславливают необходимость более четкого определения медицинских показаний к различным исследованиям мочи.

Ни одна нация не может позволить себе осуществлять масштабный скрининг всех заболеваний. Большинство дорогостоящих скрининговых программ создаются с последующей проверкой позитивных находок. Вместе с тем, наиболее распространенным методом скринингового исследования является скрининг мочи.

Количественный анализ мочи

Доля лабораторий, использующих турбидиметрический метод с 3%-й сульфосалициловой кислотой, за 10 лет в значительной степени не изменялась и составляла 80–88% к общему числу лабораторий. За последние 3 года она резко сократилась. Получает все большее распространение метод количественного определения белка — реакция с пирогалловым красным.



Рис. 1. Использование качественных и количественных методов для определения белка мочи в РФ с 2005 по 2009 год

Соотношение используемых классов методов (белок)



Появились приборы для полуколичественного анализа с числом деления шкалы более 6

Рис. 2. Методы определения белка мочи, используемые в поликлиниках РФ с 1998 по 2008 год

Действительно, самым распространенным видом деятельности клинических лабораторий в нашей стране является анализ мочи: в год выполняется около 600 млн таких исследований, т.е. в 4 раза больше численности населения страны.

Наиболее важным показателем в этом лабораторном анализе является выявление и определение величины протеинурии. Ниже приводим данные, любезно предоставленные Федеральной системой внешней оценки качества лабораторных исследований (ФСВОК). Все еще большое количество лабораторий определяют бе-

лок в моче с помощью сульфосалициловой кислоты (рис. 1).

Причем эта доля не зависит от того, относятся лаборатории к первичному звену медицинской помощи или же нет. Однако в лабораториях первичного звена в 2 раза реже используют метод с пирогалловым красным, но в 3 раза чаще — методы сухой химии с регистрацией результата в непрерывной шкале измерений (методы с дискретной шкалой измерений относятся к полуколичественному анализу). При этом биуретовый метод определения белка в моче лаборатории поликлиник не используют совсем (рис. 2).

В российских лабораториях количественный анализ мочи все еще выполняется на отечественных фотометрах, хотя на смену устаревшему оборудованию, благодаря Национальному приоритетному проекту «Здоровье», приходит все большее количество современных приборов. Среди них в лабораториях первичного звена получили распространение отечественный прибор Белур-600, а также приборы Clinitek Status, а также Clinitek-500, Uriscan и другие.

При закупке наборов реактивов для количественного анализа белка в моче лаборатории определенно отдают предпочтение отечественным производителям (рис. 3).

Однако первое место здесь принадлежит реактивам собственного приготовления — для метода с сульфосалициловой кислотой. Причем такая ситуация, конечно, определяется финансовыми возможностями учреждений здравоохранения. Вместе с тем в формировании технологической политики отчетливо проявляются дефекты подготовки кадров по клинической лабораторной диагностике и, главное, разобщенность профессионального диалога между клиницистами и сотрудниками лабораторий. Клиницист подчас не требует применения более информативных технологий, а лаборатория остается достаточно консервативной при внедрении более клинически значимых методик.

Помимо количественных исследований, большое число анализов мочи выполняется скрининговыми полуколичественными методами, с использованием диагностических полосок. При этом нередко, к сожалению, результат определяется на глаз, без инструментальной оценки (рис. 4, 5).

Результаты внешней оценки качества анализов мочи (параметр из «общего анализа мочи» и иные биохимические параметры) за 2007 год, по данным ФСВОК (из доклада руководителя службы, главного специалиста-эксперта Росздравнадзора по клинической лабо-

ракторной диагностике профессора В.Н. Малахова), представлены в диаграмме. В диаграмме приведены данные по лабораториям Санкт-Петербурга и лабораториям России в целом (рис. 6).

Какими причинами может быть вызвано получение некачественных результатов «общего анализа мочи»?

Как известно, наибольший вклад в неопределенность результата общего анализа мочи вносит преаналитический этап. Одним из компонентов этого этапа лабораторного теста является емкость для биологических жидкостей, в данном случае — для мочи. Сегодня на нашем рынке уже появились специализированные емкости для сбора мочи. К сожалению, еще нет нормативного документа, обязывающего проводить анализ мочи только путём отбора пробы мочи в специализированную посуду, которая производится предприятием, выполняющим требования сертификации менеджмента качества. Несоблюдение правил отбора пробы приводит к возникновению «медицинских» ошибок при интерпретации результатов исследований.

Во-первых, не гарантируется достоверность анализа: старательные лаборанты находят в «моче» белок майонеза и глюкозу варенья!

Во-вторых, сложность использования повседневной посуды заключается еще и в трудности идентификации. Зачастую листочки с ФИО пациента, подложенные под баночки, теряются и путаются, что приводит к неверно выданным результатам и к ошибкам в клинической картине обследуемого.

В-третьих, бытовая посуда сложно утилизируется, в отличие от пластиковой, т.е. учреждения здравоохранения вступают в опасную зону нарушений санитарно-эпидемиологических правил.

Сегодня в мире широко внедряются нормативные документы по вопросам качества медицинских услуг. С этих позиций адекватно собранная биологическая проба предопределяет более половины качества любого лабораторного теста и общего анализа мочи, в частности.

Иначе говоря, обсуждая профессиональные вопросы, нужно иметь в виду, что в повседневной жизни есть нечто, что при его наличии воспринимается как должное, а при отсутствии — как острая проблема. Например, зарплата: если она есть — так и должно быть, а если ее нет?! Следовательно, необходимо обеспечить, чтобы специализированная лабораторная посуда для сбора биологических субстратов вошла в повседневную практику лабораторной медицины, как и сами субстраты.

Распространенность различных наборов для количественного анализа белка мочи в лабораториях

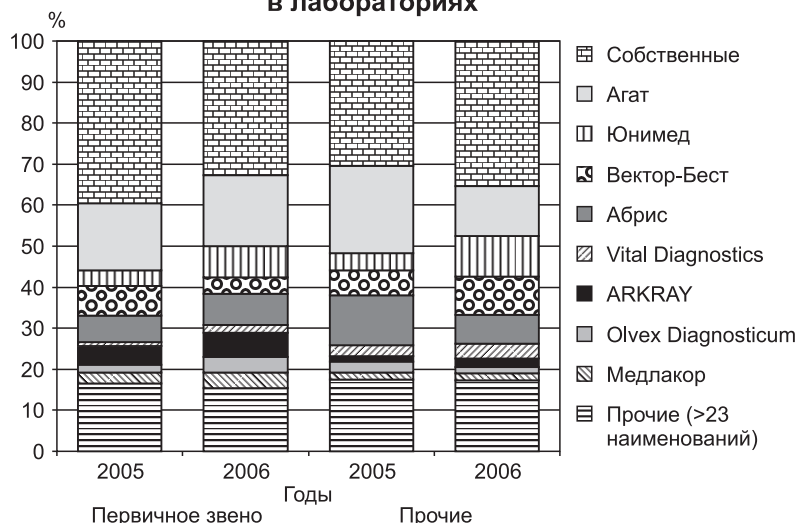
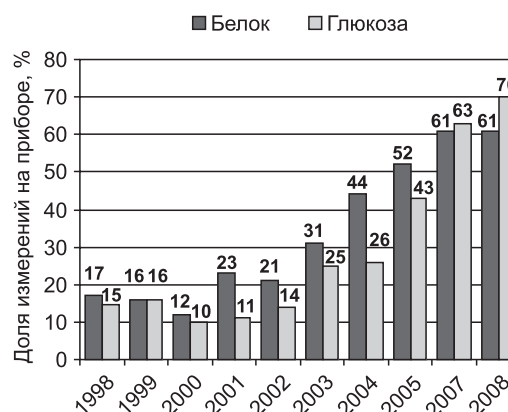


Рис. 3. Распространенность различных наборов для количественного анализа белка мочи в лабораториях РФ, 2005–2006 годы

Динамика соотношения использования визуальных и инструментальных способов регистрации измерений. Полуколичественный анализ



Увеличивается число лабораторий, заменяющих визуальный метод считывания результатов полуколичественного анализа мочи на инструментальный

Рис. 4. Динамика соотношения использования визуальных и инструментальных способов регистрации измерений с 1998 по 2008 год

Для уверенности в правомочности использования медицинской посуды того или иного производителя необходимо определиться с наличием (или отсутствием) регистрационного удостоверения МЗиСР и сертификата соответствия. Регистрационное удостоверение дает право использовать данный вид изделия как средство медицинского назначения. Сертификат соответствия позволяет быть уверенным в безопасности применения и утилизации данной продукции. Этим требованиям, в частности, отвечает продукция компании «BD» (США, Becton Dickinson).

Распространенность анализаторов мочи в 2008 г. (полуколичественный анализ)

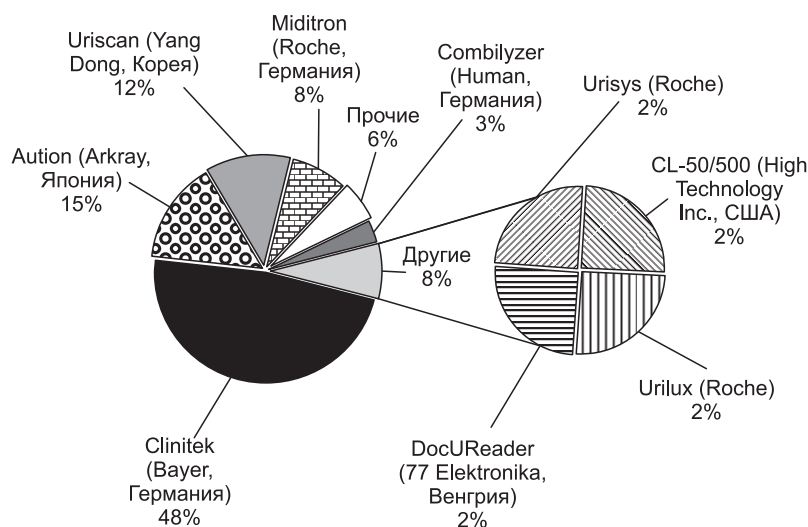


Рис. 5. Распространенность анализаторов мочи в 2008 году

Доля удовлетворительных результатов

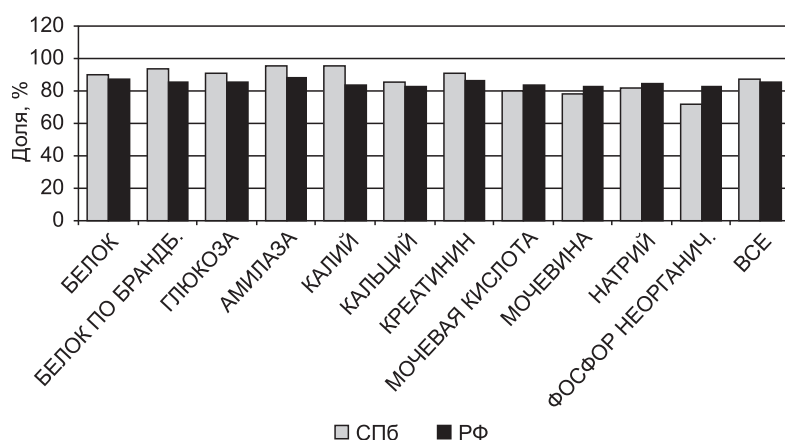


Рис. 6. Результаты внешней оценки качества анализов мочи (параметр из «общего анализа мочи» и иные биохимические параметры) за 2007 год, по данным ФСВОК

Моча является очень «скоропортящимся» продуктом жизнедеятельности организма. Иначе говоря, многие компоненты мочи очень быстро разрушаются при хранении, особенно в условиях комнатной температуры и в обычной повседневной посуде.

Так, например, за 2 часа хранения мочи (особенно при ее щелочной среде) в ней разрушается половина форменных элементов и цилиндров, а количество микроорганизмов существенно увеличивается [8].

Эту критическую роль времени от момента сбора пробы мочи (в амбулаторных условиях — на дому у пациента) до времени проведения исследования (т.е. и время ее транспортировки в учреждение здравоохранения) нужно рассматривать и с точки зрения организации труда в клинико-диагностических лабораториях. Обыч-

но при поступлении проб пациентов сотрудники лабораторий осуществляют регистрацию этих проб и только затем приступают к последовательному выполнению исследований по достаточно широкому перечню характеристик, определяя физико-химические свойства (цвет, прозрачность, реакция, относительная плотность, белок, глюкоза, кетоны, билирубин, уробилиноген) и осуществляя центрифугирование аликвоты пробы мочи и, затем, микроскопию осадка.

Иначе говоря, сроки выполнения того или иного вида лабораторного исследования в рамках «общего анализа мочи» во многом зависят:

- от количества проб мочи, поступивших в конкретную лабораторию;
- от уровня прогрессивности применяемых методик исследования;
- от количества и квалификации персонала, привлекаемого для выполнения этих исследований.

Поскольку основным вопросом при «общем анализе мочи» является достоверность диагностической информации, то приоритетным представляется выполнение исследований методами «сухой химии», т. н. тест-полосками. Согласно современной организации лабораторного анализа, такое исследование выполняется и как первый этап детального исследования мочи в условиях стационарного обследования.

Многофункциональные тест-полоски основаны на колориметрических реакциях и предназначены для определения лейкоцитов, бактерий (нитриты), эритроцитов, белка (альбумин), глюкозы, кетоновых тел, pH, относительной плотности мочи, билирубина, уробилиногена и аскорбиновой кислоты.

В рамках Национального проекта «Здоровье» учреждения здравоохранения первичного звена получили возможность использования «анализаторов мочи» различных фирм-производителей.

Следующим этапом диагностического алгоритма является стандартизированное исследование осадка мочи, которое остается рутинным методом обнаружения почечных заболеваний. Однако необходимо отметить, что микроскопия осадка мочи обеспечивает лишь небольшое преимущество перед использованием тест-полосок, особенно в неотложных ситуациях. В случаях, когда результат тест-полосок на эритроциты, лейкоциты и белок/альбумин является отрицательным, микроскопия мочи обычно не нужна, но она необходима при динамическом наблюдении верифицированного больного.

Различают органическую и неорганическую части мочевого осадка. Органическая часть осадка представлена эритроцитами, лейкоцитами, цилиндрами, эпителием и микроорганизмами. Неорганический компонент представлен прежде всего различными солями.

Для улучшения дифференциации различных компонентов мочевого осадка удобно использовать суправитальное окрашивание осадка, принятое в странах Западной Европы. Красители позволяют обеспечивать стандартизацию для быстрого и точного обнаружения и идентификации нейтрофилов, эпителиальных клеток, цилиндров, клеток злокачественных новообразований и других элементов мочевого осадка. Данная методика рекомендована Европейской группой анализа мочи в рамках Европейской конфедерации лабораторной медицины.

Число клеток в моче может быть определено несколькими методами:

1) с помощью *полуколичественных* методов, позволяющих считать клетки в поле зрения микроскопа при большом или малом увеличении;

2) посредством *количественных* методов, в основе которых лежит определение количества клеток в единице объема или количества клеток, экскретируемых в единицу времени.

Количество элементов мочевого осадка определяется пробами Аддиса–Каковского (суточная экскреция), Амбурже (выделение элементов в минуту, рассчитанное при сборе мочи за 3 часа) и Нечипоренко (выделение элементов в единице объема мочи при произвольном сборе пробы мочи).

Подсчет клеток, экскретируемых за определенный период, обеспечивает более точные результаты. Однако сбор мочи по Аддису–Каковскому подвержен значительной вариабельности, связанной, прежде всего, с изменениями, происходящими при хранении мочи в течение столь продолжительного времени. Поэтому в настоящее время данный метод представляет лишь исторический интерес. В России наибольшей популярностью пользуется проба Нечипоренко, хотя предпочтение должно быть отдано пробе Амбурже, поскольку результаты пробы Нечипоренко зависят от объема диуреза.

3) с помощью *тест-полосок «сухой химии»*.

Одним из наиболее важных лабораторных симптомов заболеваний почек и мочевыделительного тракта является выявление эритроцитурии. Несмотря на обилие современных диагностических методов, далеко не всегда удается установить причину эритроцитурии. После использования всех возможных методов исследования причина гематурии остается неизвестной в 5–10% случаев.

В попытках установить уровень поражения при эритроцитурии различные авторы предлагают самые разнообразные методики, основанные на изучении морфологии эритроцитов мочевого осадка [6; 11; 12; 22].

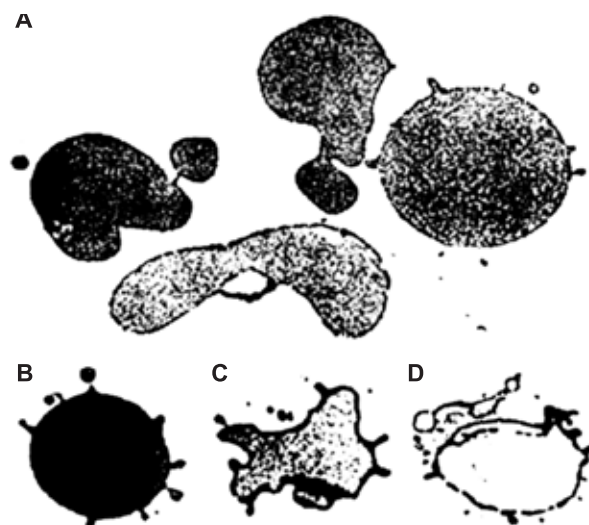


Рис. 7. Трансмиссионная электронная микроскопия, демонстрирующая различные виды дисморфичных эритроцитов

Известно, что эритроциты при прохождении через нефрон подвергаются различным морфологическим изменениям. Наблюдаемый широкий спектр морфологических изменений эритроцитов обозначили термином «дисморфизм» (рис. 7).

Дисморфичные эритроциты различаются по форме (пойкилоцитоз) и размерам (анизоцитоз). Они, как правило, более мелкие, с неровными контурами и небольшими выростами клеточной мембраны, часто фрагментированы и могут сочетаться с наличием эритроцитарных или гранулярных цилиндров. Напротив, эритроциты внепочечного происхождения — одинаковые по размеру, с ровными контурами, морфологически представлены двумя типами клеток:

- неизмененные (эуморфичные или изоморфичные) с нормальным содержанием гемоглобина, похожие на клетки циркулирующей крови;
- «клетки-тени» со сниженным содержанием гемоглобина.

Иногда встречаются еще и зубчатые клетки («эхиноциты»).

Присутствие более 80% дисморфичных эритроцитов в осадке мочи расценивалось как *гломерулярная* гематурия, наличие же более 80% неизмененных эритроцитов — как *негломерулярная*, примерно равные количества и тех и других — как смешанная [1].

Для морфологической характеристики клеток мочевого осадка применяется фазово-контрастная микроскопия. Следует отметить, что дисморфизм эритроцитов не указывает исключительно на клубочковое происхождение эритроцитурии, а скорее свидетельствует о почечном ее происхождении, т. к. пациенты с интерстициальными поражениями почек также могут демонстрировать дисморфизм. Наиболее вероятные объяснения образования дисморфичных эритроцитов:

1) физическое давление, действующее на эритроциты при прохождении через базальную мембрану, вызывающее их механическое повреждение;

2) осмотическая «травма», изменения рН и воздействие тубулярных ферментов во время пассажа через каналы;

3) токсическое действие лизосомальных ферментов, высвобождающихся из разрушенных клеток в результате воспаления;

4) фагоцитоз клетками канальцевого эпителия.

Прохождение эритроцитов через узкие поры возможно лишь в том случае, если эритроциты, имеющие диаметр 7–8 мкм, сильно деформированы. Деформируемость, или способность клеток изменять свою форму под воздействием окружающих условий, важная функция эритроцитов, которая обеспечивает их реологические возможности. Способность эритроцитов к деформации определяется геометрией клетки, особенно отношением площади поверхности к объему (S/V), вязко-эластичными свойствами мембраны и внутренней вязкостью цитоплазмы. Разнообразные внешние воздействия вызывают биохимические изменения мембран эритроцитов, способствуя возникновению или ускорению их спонтанной деформации. Осмоляльность — основной определяющий фактор, способствующий клеточной фильтрации через узкие поры. Высокая осмоляльность приводит к сморщиванию клеток с повышением отношения S/V и повышению цитоплазматической вязкости. Напротив, при низкой осмоляльности эритроциты разбухают, становятся выпуклыми, уменьшается соотношение S/V , что ведет к повышенному сопротивлению фильтрации и гемолизу.

Иначе говоря, эритроциты, прошедшие через гломерулярную базальную мембрану в пространство Боумена, и рН во время прохождения через почечные каналы подвергаются воздействию изменений осмоляльности. Так, рН 7,4 в гломерулярном ультраfiltrате падает до 6,7 в проксимальном извитом канальце, вновь повышаясь до 7,4 на вершине петли Генле, и становится 6,5–6,6 в дистальном отделе нефрона. Последующая ацидификация происходит в зависимости от кислотно-основного состояния организма. У взрослого человека величина осмотического градиента в почке на протяжении нефрона изменяется приблизительно в 4,5 раза — от 300 мосм/кг H_2O в корковом слое до максимальных значений 1450 мосм/кг H_2O у вершины почечного сосочка (в зависимости от водного баланса). Особенно резко изменяется осмоляльность в юкстамедуллярных нефронах.

Таким образом, исследование морфологии эритроцитов мочевого осадка является неинвазивным методом, позволяющим уточнить источник гематурии. Такой подход важен для скрининга пациентов и хотя он не приводит к установлению окончательного диагноза, но дает возможность врачу выбрать оптимальную тактику дальнейшего обследования.

Для фазово-контрастной микроскопии необходимо немедленно исследовать осадок свежесобранной мочи (не позже 1–2 часов) или применять фиксаторы (глютеральдегид или формальдегид). Данный метод не лишен субъективной оценки. Несмотря на то, что сканирующая электронная микроскопия является более точным методом определения морфологических изменений эритроцитов, фазово-контрастная микроскопия все же остается лучшим методом для обычной лабораторной практики. В повседневной практике сохраняется привычка констатации выявления «измененных» или, как их ранее называли, «выщелочных» эритроцитов, что расценивается как косвенный признак почечной гематурии из-за влияния осмотического градиента при прохождении эритроцита по канальцу в зоне петли Генле. Однако необходимо учитывать, что эритроциты, попавшие в мочу в мочевом пузыре, могут стать «измененными» при контакте с гипоосмолярной мочой.

Итак, традиционно анализ осадка мочи в России выполняется ручным методом со всеми присущими этому методу недостатками, такими как плохая воспроизводимость, субъективность оценки, длительность и трудоёмкость выполнения и пр. Из-за отсутствия контрольных материалов анализ осадка мочи фактически остается вне сферы как внутрилабораторного, так и внешнего контроля качества. При рутинном ручном исследовании коэффициент вариации при подсчете элементов осадка мочи превышает 130%, что делает такой метод пригодным для клинического использования только в случаях выраженного отклонения от «нормальных» значений [13].

Помимо этого частицы осадка не являются одинаковыми и осаждаются при центрифугировании по-разному. Скорость седиментации различных частиц мочи при центрифугировании описывается сложной формулой и зависит от относительной плотности и вязкости мочи, а также от относительной плотности и радиуса соответствующих частиц. Разнообразие как частиц, так и химического состава мочи приводит к тому, что процент клеток, остающихся в супернатанте, сильно отличается в разных образцах [15]. Также цилиндры оказываются достаточно хрупкими и легко разрушаются при центрифугировании [23].

В то же самое время еще один широко используемый вид исследований, микробиологическое исследование мочи для определения бактериурии, является более длительным и требует для своего выполнения до двух дней. Причем в зависимости от типа бактерий в некоторых случаях условия культивирования могут препятствовать полноценному росту микроорганизмов [3; 17; 18].

Автоматизация анализа мочи до сих пор находится в стадии развития по сравнению с другими областями лабораторной диагностики, такими как гематология или клиническая химия. И это при том, что анализ мочи является самым распространенным лабораторным методом исследования и используется при диагностике

практически любых заболеваний, а для нефрологии и урологии имеет определяющее значение.

Все эти сложности учитывались при разработке первого в мире автоматического анализатора частиц осадка мочи UF-100, выпущенного на мировой рынок компанией Sysmex в 1995 г. За прошедшие годы использованная технология значительно эволюционировала, и в 2006 г. Sysmex предложил лабораториям второе поколение анализаторов мочи — приборы UF-1000i и UF-500i. Это новое поколение анализаторов было специально разработано для наилучшей детекции наиболее частых отклонений, выявляемых при анализе мочи.

Также как и их предшественники, системы UF-1000i и UF-500i являются проточными цитофлуориметрами, основанными на передовой технологии полупроводникового лазера. Без какой-либо предварительной подготовки пробирки с нативной мочой помещаются на борт анализатора UF. После автоматического перемешивания образца для анализа аспирируется 1,2 мл мочи. В приборе аликвота мочи перемешивается в фиксированном соотношении со специальными реагентами — дилюентами и флуоресцентными красителями. Задача дилюентов — растворение аморфных кристаллов за счет поддержания определенного уровня pH, предобработка клеточных мембран для облегчения дальнейшего окрашивания, а также предотвращение неспецифического окрашивания. Флуорохромы представляют собой полиметиновые красители, которые добавляются как в камеру для подсчета бактерий, так и в камеру для подсчета элементов осадка.

Полиметин как флуорохром имеет множество аналитических преимуществ. Он синтезируется искусственно, а длина и структура цепи определяют диапазон световой адсорбции, который в случае UF точно соответствует длине волны лазера, равной 635 нм. Кроме того, полиметин может обнаруживаться в крайне низких концентрациях, что особенно важно для анализа образца с очень малым содержанием клеточных элементов. Но основным свойством полиметиновых флуорохромов является их тропность к нуклеиновым кислотам, содержащимся в клетках, — РНК и ДНК, причем интенсивность флуоресценции прямо пропорциональна концентрации РНК/ДНК в соответствующей частице. Окрашенные клетки проходят строго по одной через проточную камеру, где под действием возбуждающего лазера флуоресцируют; длина волны испускаемого флуоресцентного сигнала составляет 660 нм. Помимо интенсивности флуоресцентного сигнала каждой частицы, регистрируется длительность его пульса, а также интенсивность фронтального и бокового светорассеяния. Совокупность регистрируемых параметров подробно описывает размер частицы, ее форму и внутреннюю структуру, а также количество содержащихся нуклеиновых кислот. В каждом образце мочи анализируется до 65 000 частиц. На основе суммы полученной оптической информации через 40 секунд — 1 минуту оператору

выдаются данные о количественном содержании в моче эритроцитов, лейкоцитов, эпителиальных клеток (с подразделением на клетки плоскоклеточного эпителия и клетки почечного и переходного эпителия), бактерий, грибов, кристаллов, цилиндров (как гиалиновых, так и патологических) и сперматозоидов.

Одна из основных задач анализатора UF — отсортировать с высокой чувствительностью нормальные образцы. Такая чувствительность обеспечивается классификацией огромного количества частиц, анализом из нативной мочи для исключения известных источников ошибок традиционного микроскопического анализа и окрашиванием при оптимальных условиях специально разработанными реагентами. В результате «отрицательные» образцы (а их, как правило, большинство) могут быть немедленно автоматически подтверждены, а полученные данные — переданы в лабораторную информационную систему и сразу выданы клиницисту. Реализация в лаборатории подхода совместного применения для анализа мочи ридера тест-полосок и проточного цитометра UF существенно сокращает количество образцов, требующих дальнейшей микроскопии. По данным разных авторов, при использовании такого подхода процент микроскопических исследований может быть снижен до 10–15% [5, 21].

Среди «положительных» образцов одной из наиболее частых находок является подозрение на инфекцию мочевыводящих путей. Естественно, что при скрининге такие образцы не должны быть пропущены: каждый образец, показанный как отрицательный, должен быть действительно отрицательным. Используемая в канале бактерий анализатора UF реагентная система окрашивает исключительно бактерии, при этом наличие в образце клеточного дебриса не оказывает влияния на результат. Такая технология позволяет достоверно количественно подсчитывать бактерии даже в «пограничном» диапазоне 10^3 – 10^4 /мл. В комбинации с одновременным подсчетом в моче лейкоцитов и грибов такой анализ дает клиницисту быструю информацию о наличии или отсутствии инфекции мочевыводящих путей, позволяя при отрицательном результате значительно сократить слепое назначение антибиотикотерапии и уменьшить количество посевов мочи. По данным многочисленных исследований, в зависимости от примененного cut-off для бактериурии UF демонстрирует чувствительность и специфичность до 97% и 93% соответственно, а отрицательную и положительную прогностическую значимость — до 99,5% и 83% [4, 10, 19, 24]. При использовании предварительного скрининга на анализаторе UF на наличие инфекции мочевыводящих путей количество посевов удалось сократить на 75% [9, 16].

Помимо инфекции мочевыводящих путей, другой клинически значимой находкой является гематурия. Описанные выше различные морфологические методы для определения источника кровотечения (фазо-контрастная микроскопия, световая микроскопия предвари-

тельно окрашенного по Райту образца и световая микроскопия нативного образца) имеют чувствительность 91%, 82% и 66% соответственно [20]. Таким образом, клинически значимая чувствительность показана только для метода, доступного далеко не во всех лабораториях, а достоверность информации о клеточной морфологии, полученной рутинным методом, сомнительна. В 80-е годы прошлого века были предприняты достаточно многообещающие попытки использовать для определения источника кровотечения показатель распределения эритроцитов мочи по размеру, полученный на гематологическом анализаторе [7]. Однако апробация данного метода выявила серьезные ограничения, т. к. частицы, схожие по размеру с эритроцитами мочи (например, бактерии или кристаллы), ошибочно принимаются анализатором за эритроциты. В отличие от гематологических анализаторов приборы серии UF лишены таких недостатков: на основе четкого выделения эритроцитов в образце, анализа их размера и распределения по размеру прибор в состоянии оценить морфологию эритроцитов и сообщить о выявленных отклонениях оператору. В случае, если эритроциты нормальны по размеру и одинаковы по форме, генерируется сообщение “RBC isomorphic”, а если эритроциты дисморфны или имеются значительные вариации по размеру — сообщение “RBC dysmorphic” или “RBC mixed”. Достоверность такой информации проверена также в клинической практике. При этом показано, что данная классификация имеет чувствительность 100% и специфичность 92,5% для выявления гломерулярного кровотечения, а для диагностики негломерулярных кровотечений — чувствительность 83% и специфичность 94% [2, 14].

Такие высокие аналитические характеристики обусловлены тем, что общее количество анализируемых

элементов осадка очень велико — до 65 000 частиц. Кроме того, для каждой частицы, в частности эритроцита, оцениваются размер и форма, что в совокупности с большим общим количеством дает достоверную клиническую информацию.

Итак, анализ мочи, одна из древнейших медицинских технологий, получил в XXI веке новые возможности, какие предоставляют новейшие автоматизированные анализаторы осадка мочи UF-1000i / UF-500i (Sysmex Corporation, Japan) и использование сертифицированной медицинской посуды. Применение данных подходов значительно сокращает время анализа, повышает его достоверность и исключает повальную микроскопию осадка мочи. Это позволяет квалифицированному персоналу лабораторий сосредоточиться только на образцах, требующих внимания, а также предоставляет урологам и нефрологам дополнительную информацию об источнике кровотечения, что важно для дифференциальной диагностики заболеваний.

Использование UF-1000i / UF-500i как скринингового инструмента перед посевом мочи позволяет исключить слепое назначение антибиотиков, что ведет как к уменьшению расходов лечебного учреждения, так и к снижению риска генерации резистентной флоры. Для лаборатории же предварительный скрининг позволяет значительно снизить количество последующих посевов, что также дает значительный экономический эффект.

Необходимо особо подчеркнуть не только высокую производительность анализатора, но и, главное, гарантированное качество выполнения исследований, которое может контролироваться в системе внешней оценки качества благодаря возможности применения контрольных материалов.

Список литературы находится в редакции.

ЦИСТАТИН С: НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ И НОВЫЕ ЗАДАЧИ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ (ЧАСТЬ 1)

В.В. ВЕЛЬКОВ

ЗАО «ДИАКОН», Пушкино, Московская область, Россия

Резюме. Обзор, касающийся применения цистатина С в лабораторной диагностике ренальных заболеваний и их сердечно-сосудистых и других осложнений.

Ключевые слова: цистатин С, лабораторная диагностика, заболевания почек, сердечно-сосудистые осложнения.

CYSTATIN C: THE NEW OPPORTUNITIES AND NEW GOALS FOR LABORATORY DIAGNOSTICS (PART 1)

V.V. VELKOV

ZAO "DIAKON", Pushchino, Moscow region, Russia

Summary. The review concerns the use of Cystatin C in clinic laboratory diagnostics of renal diseases and its cardiovascular and other complications.

Key words: Cystatin C, laboratory diagnosis, renal diseases, cardiovascular complications.

Цистатин С, как в настоящее время признано мировым медицинским сообществом, это:

1) самый точный эндогенный маркер скорости клубочковой фильтрации (СКФ), по своим диагностическим характеристикам значительно превосходящий креатинин; 2) высокочувствительный маркер тяжести сердечно-сосудистых событий, независимый от таких кардиомаркеров, как кардиальные тропонины, натрийуретические пептиды, С-реактивный белок и др.; 3) ранний маркер преэклампсии и 4) перспективный маркер инвазивности некоторых злокачественных заболеваний [1–6].

Что такое цистатин С

Цистатин С — негликозилированный белок с молекулярной массой 13,4 кДа и изоэлектрической точкой при рН 9,3. Относится к семейству ингибиторов цистеиновых протеиназ, идентичен пост-гамма глобулину (post-gamma-globulin); впервые идентифицирован у пациентов с почечной недостаточностью как белок спинномозговой жидкости и мочи [7]. Это белок, который 1) с постоянной скоростью синтезируется всеми клетками, содержащими ядра; 2) свободно фильтруется через клубочковую мембрану; 3) полностью метаболизируется в почках; 4) не секретируется проксимальными почечными канальцами [8–10].

Будучи ингибитором цистеиновых протеиназ, он блокирует их активность и, тем самым, осуществляемую ими деградацию внеклеточного матрикса. Таким образом, он стимулирует синтез или распад внеклеточных

структур: 1) в стенках сосудов (атеросклероз); 2) при ремоделировании миокарда (сердечная недостаточность, острый коронарный синдром); 3) при инвазии злокачественных опухолей.

Согласно многочисленным исследованиям, в норме сывороточные уровни цистатина С обусловлены: 1) постоянной скоростью его синтеза, практически не зависящей от возраста, пола, веса и 2) постоянной скоростью его выведения из организма, которая определяется преимущественно ренальными функциями.

При патологии его уровень в крови повышается. Чем тяжелее ренальная патология, тем хуже цистатин С фильтруется в почках и тем выше его уровень в крови. Однократное измерение концентрации цистатина С в крови позволяет вычислить значения СКФ с помощью формул.

Исходно высокие при рождении уровни цистатина С в первый год жизни снижаются и остаются стабильными до 50 лет, а затем повышаются [13–15]. В большинстве исследований обнаружено, что референтный интервал значений концентрации цистатина С в сыворотке составлял (5 и 99 перцентиль): 1) 0,52–0,90 мг/л для женщин со средним значением 0,71 мг/л и 2) 0,56–0,98 мг/л — для мужчин, среднее значение — 0,77 мг/л [16]. В недавнем широкомасштабном исследовании, включившем 7596 лиц общей популяции, референтный интервал цистатина С (1 и 99 перцентиль) составлял 0,57–1,12 мг/л для женщин и 0,60–1,11 мг/л для мужчин [17]. Возникает вопрос, влияют ли на уровни цистатина С антропометрические показатели?

В ранних исследованиях был сделан вывод, что сыровороточные уровни цистатина С не зависят ни от пола, ни от массы тела, ни от мышечной массы, ни от возраста (до 50 лет) [14, 18–21]. Однако затем в ряде других исследований, в частности, в гериатрической популяции, была обнаружена небольшая, но статистически достоверная положительная связь между уровнем сыровороточного цистатина С и показателями индекса массы тела (ИМТ) [22]. Затем такая же связь была обнаружена и в общей популяции [23, 24, 26, 27]. Было показано также, что у практически здоровых лиц уровни сыровороточного цистатина С положительно связаны с показателями окружности талии и процентным содержанием жира в теле [15].

Так, при обследовании 7596 лиц общей популяции обнаружилось, что уровни цистатина С возрастали с возрастом и у мужчин были более высокими, чем у женщин. При этом уровни цистатина С были положительно связаны: 1) с возрастом (особенно после 60 лет); 2) с высокими показателями ИМТ; 3) с курением; 4) с низким уровнем образования; 5) с гипертензией; 6) с низким уровнем ЛПВП; 7) с высокими триглицеридами; 8) с высокими уровнями С-реактивного белка в высокочувствительном диапазоне (hsCRP). У лиц в возрасте 60–80 лет уровни цистатина С были на 40–50% выше, чем у более молодых людей. Отметим, что в этом широкомасштабном исследовании показатели СКФ не измерялись, а измерения цистатина С были однократными [17].

При наблюдении японской популяции (596 лиц в возрасте 30–75 лет) было показано, что уровни цистатина С: 1) у мужчин выше, чем у женщин, в среднем на 0,082 мг/л, но после 50 лет эта разница исчезает; 2) положительно связаны с количеством жировой ткани и 3) с курением; 4) отрицательно связаны с потреблением алкоголя; 5) возрастают каждые 10 лет на 0,047 мг/л. Согласно возрасту, полу и уровням цистатина С исследуемая когорта была разделена на три группы: 1) у мужчин 30–50 лет уровни цистатина С составляли 0,60–0,95 мг/л; 2) у женщин 30–50 лет — 0,55–0,84 мг/л; 3) для лиц обоего пола 51–75 лет — 0,64–1,05 мг/л. Авторы рекомендуют при измерении СКФ с помощью цистатина С учитывать пол, возраст, процент жировой ткани, статус курения и потребление алкоголя [25].

При исследовании 30 недоношенных детей (гестационный возраст 24–36 недель) было обнаружено, что уровни цистатина С составляли 1,10–2,06 мг/л, что превышает таковые уровни у доношенных новорожденных [13]. В другом исследовании (58 недоношенных и 50 доношенных новорожденных и 132 девочки и 167 мальчиков с медианным возрастом 4,17 лет (от 8 дней до 16 лет)) было обнаружено, что: 1) уровни цистатина С от пола не зависели; 2) у недоношенных новорожденных средние уровни цистатина С составляли $1,88 \pm 0,36$ мг/л, а 3) у доношенных — $1,70 \pm 0,26$ мг/л. Референтные интервалы составляли 1,34–2,57 мг/л для недоношенных

новорожденных и 1,36–2,23 мг/л для доношенных. После рождения уровни цистатина С быстро снижались и после 3 лет уже не зависели от возраста. Референтные интервалы составляли: 1) для детей до 1 года — 0,75–1,87 мг/л; 2) для детей от 1 до 3 лет — 0,68–1,60 мг/л; 3) для детей 3–16 лет — 0,51–1,31 мг/л [28].

При наблюдении 258 детей (93 девочки, 165 мальчиков, медианный возраст 6,29 лет — от 1 дня до 18 лет), не имевших ренальной патологии, также было обнаружено, что сыровороточные уровни цистатина С были наивысшими в первые дни жизни (1,64–2,59 мг/л), а затем в течение 4 месяцев быстро снижались. В возрасте старше одного года уровни цистатина С оставались постоянными (0,7–1,38 мг/л), а сыровороточные уровни креатинина с возрастом повышались. Авторы считают, что повышенные в течение первого года жизни уровни цистатина С отражают низкую СКФ у новорожденных и детей [29].

Как известно, ожирение — это не столько простой избыток жира, сколько нарушение секреторных функций адипозной ткани, которое приводит к повышенной секреции большого числа физиологически активных молекул, включающих: 1) провоспалительные факторы (ИЛ-6, ИЛ-1, ФНО- α и др.) и 2) протромботические медиаторы (ингибитор активатора плазминогена-1 и др.), которые затем в повышенных концентрациях циркулируют в кровотоке [30, 31]. Источники этих факторов — увеличенные в размерах адипозные клетки, стромальные воспалительные клетки и макрофаги, преимущественно накапливающиеся в больших количествах в адипозных клетках лиц, страдающих ожирением [32, 33].

Не является ли избыточная жировая ткань также источником повышенных уровней цистатина С? Если исходить из пограничного уровня цистатина С в 1,09 мг/л, то при исследовании популяции из 5083 лиц (в возрасте 20–39 лет), не имевших гипертензии, сахарного диабета, микро- и макроальбуминурии, выяснилось, что повышенные уровни цистатина С имеют: 1) 9,6% лиц с нормальным весом; 2) 12,9% лиц с избыточным весом (уровни цистатина С составляют 1,46 (1,0–2,10) мг/л); 3) 17,4% лиц с ожирением I степени (уровни цистатина С — 2,36 (1,56–3,57) мг/л); 4) 21,5% лиц с ожирением II и III степени (уровни цистатина С — 2,82 (1,56–5,11) мг/л) [34].

Вот что показало сравнительное исследование 237 лиц, не имевших ожирения (ИМТ = $22,8 \pm 0,11$ кг/м², возраст $51 \pm 0,8$ лет), и 248 пациентов, страдавших ожирением (ИМТ = $34,7 \pm 0,29$ кг/м², возраст $50 \pm 0,8$ лет), у которых измеряли: 1) СКФ по креатинину; 2) уровни цистатина С в сыворотке и 3) концентрацию мРНК цистатина С в биоптатах адипозной ткани. Оказалось, что сыровороточный цистатин С у пациентов с ожирением повышен, при этом как независимо от пола, так и, что принципиально, *независимо от показателей СКФ*. У лиц

с ожирением уровни цистатина С были повышены в каждой тертили СКФ. Средние сывороточные уровни цистатина С (мг/л) составляли 1) у лиц без ожирения $0,89 \pm 0,009$; 2) при ожирении — $0,96 \pm 0,009$; а уровни креатинина составляли (мкмоль/л) $88,1 \pm 0,92$ и $87,1 \pm 1,12$ соответственно. Значения СКФ по креатинину, рассчитанные по формуле MDRD (мл/мин/1,73 м²), составляли в контрольной группе $69,4 \pm 0,79$, при ожирении — $71,7 \pm 0,88$.

У пациентов с ожирением экспрессия гена цистатина С в адипозных тканях была в 2–3 раза выше, чем у лиц без ожирения. Авторы полагают, что «повышенный синтез цистатина С в адипозных тканях дает вклад в повышение цистатина С в сыворотке и что в таких случаях повышенные уровни цистатина С могут не свидетельствовать о снижении СКФ». Существенно, что различия в сывороточных уровнях цистатина С при ожирении и без такового были достоверными и после поправок на курение, дислипидемию, гипертензию, наличие сахарного диабета 2 типа (СД 2) и лекарственную терапию. Принципиально, что при сниженных значениях СКФ у пациентов с ожирением и у пациентов без такового наблюдалось параллельное повышение сывороточного цистатина С и в тех и других случаях. Авторы делают вывод, что «концентрации циркулирующего цистатина С отражают ренальный статус вне зависимости от степени ожирения», и отмечают, что возможность использования цистатина С как маркера СКФ для пациентов с тяжелым ожирением (ИМТ > 40 кг/м²), у которых оценка ренальных функций затруднена, пока еще не выяснена. Что касается механизма связи степени ожирения с повышением синтеза цистатина С в адипозных тканях, то авторы предполагают, что его повышенный синтез в адипозных тканях имеет, по аналогии с повышением синтеза цистатина С при атеросклерозе (см. ниже), протективное действие — снижает разрастание адипозных тканей путем ингибирования катепсина-1 и протеиназа [35].

В целом считается, что уровни цистатина С гораздо меньше зависят от пола, возраста, расы и мышечной массы и ожирения, чем уровни креатинина.

В течение 8 недель уровни цистатина С измеряли в утренних образцах сыворотки 20 здоровых лиц (13 женщин, 7 мужчин, медианный возраст 44 года) и 19 больных с патологией почек (8 женщин, 11 мужчин, 25–61 года).

У здоровых лиц средние уровни цистатина С составляли $0,7 (0,44–1,09)$ мг/л, а креатинина — $77 (54–100)$ мкмоль/л. Аналитическая вариабельность для цистатина С составляла 2,0%, а для креатинина — 1,6%. Внутрииндивидуальная вариабельность для цистатина С и для креатинина составляли 8,6% и 4,7% соответственно, межиндивидуальная — 15,1% и 14,4% соответственно.

При ренальной патологии средние уровни цистатина С были $1,6 (0,45–3,31)$ мг/л, а креатинина — $224 (103–$

$430)$ мкмоль/л, аналитические вариации составляли 1,8% для цистатина С и 1,4% для креатинина, внутрииндивидуальная вариабельность для цистатина С составляла 16,0%, а для креатинина — 8,9% [36].

Коэффициенты вариации для педиатрических пациентов составляли: внутрииндивидуальные для цистатина С и креатинина — 6,4% (были одинаковы), межиндивидуальные для цистатина С — 11,1%, для креатинина — 24,8% [37].

СКФ — главный диагностический критерий хронических ренальных заболеваний

Полагается, что значения СКФ — лучший маркер функции почек [38]. Общепринято, что определение значений СКФ необходимо для: 1) диагностики и мониторинга нарушения ренальных функций; 2) для правильной дозировки потенциально нефротоксичных лекарственных препаратов и 3) для оценки потенциальной нефротоксичности рентгеноконтрастных препаратов [39].

Хронические болезни почек (ХБП) диагностируются при значениях СКФ, составляющих < 60 мл/мин/1,73 м², имеющих место в течение, по крайней мере, трех месяцев, независимо от причины или наличия нарушения ренальных функций [38].

Степень снижения СКФ коррелирует со степенью нарушений функций и, поэтому, с тяжестью почечной недостаточности. Пациентам с СКФ ниже 15 мл/мин/1,73 м² обычно необходим диализ.

Тем не менее, в некоторых случаях утрата функции нефрона не связана с изменением СКФ. Так, на ранних стадиях ренальной патологии, связанной с СД, имеют место гипертрофия почек и гиперперфузия, при которых показатели СКФ нормальны или повышаются (*гиперфилтрация*). Таким образом, начинающаяся диабетическая нефропатия с помощью определения СКФ по креатинину не диагностируется.

У пациентов с СКФ > 60 мл/мин/1,73 м², не имеющих признаков ренальной патологии, нефропатия с высокой вероятностью отсутствует [40].

Однако и при значениях СКФ > 60 мл/мин/1,73 м² у некоторых пациентов может быть диагностирована нефропатия, или 1) на основе функциональной диагностики, или 2) на основе биопсии почки, и/или 3) наличия альбуминурии.

Согласно значениям СКФ (мл/мин/1,73 м²) тяжесть ХБП может иметь пять стадий:

- 1) ≥ 90 — нормальная или повышенная СКФ,
- 2) 60–89 — мягкое снижение СКФ,
- 3) 30–59 — умеренное понижение СКФ,
- 4) 15–29 — выраженное снижение СКФ и
- 5) < 15 — тяжелая почечная недостаточность [38].

В США примерно 10% взрослого населения имеет ранние нарушения ренальных функций, при этом 40% населения имеет значения СКФ < 60 мл/мин/1,73 м² и

60% населения имеют повышенную экскрецию альбумина (>30 мг/г креатинина) [41].

Вероятность и тяжесть осложнений ХБП возрастает с показателями СКФ и может приводить к терминальным стадиям почечных заболеваний (ТСПЗ) и к острой почечной недостаточности (ОПН).

СКФ можно определять: 1) с помощью измерения экзогенных маркеров клубочковой фильтрации («золотой стандарт») и 2) с помощью измерения уровней эндогенных маркеров фильтрации. Показатели СКФ, полученные с помощью прямого измерения экзогенных маркеров, принято называть *измеряемыми* — *иСКФ* (mGFR — measured Glomerular Filtration Rate), а вычисляемые после определения уровней эндогенных маркеров — *определяемыми* — *оСКФ* (eGFR — estimated) [38]. Измерение концентраций экзогенных маркеров признано «золотым стандартом» СКФ, однако эта процедура является дорогостоящей, весьма трудоемкой и длительной и может выполняться только в специализированных лабораториях. Более удобным, но менее точным является определение концентраций эндогенных маркеров и затем вычисление показателей СКФ по специальным формулам.

Ранние стадии почечной патологии клинически не проявляются и диагностируются только согласно значениям СКФ, определяемым с помощью экзогенных маркеров фильтрации. Однако как только значения СКФ снижаются <60 мл/мин/ $1,73$ м², нарушение функции почек может диагностироваться с помощью эндогенных маркеров фильтрации [38].

Экзогенными маркерами фильтрации являются инулин, иогексол, иоталамат и радионуклиды: ⁵¹Cr-ЭДТА и ^{99m}Tc-диэтиленetriаминпентауксусная кислота (ДТПУ, ДТРА). СКФ определяется в абсолютных значениях как мл/мин или в показателях, стандартизированных на $1,73$ м² поверхности тела индивида весом 70 кг, в этом случае СКФ выражается в мл/мин/ $1,73$ м². При измерении СКФ разные экзогенные маркеры могут давать не совпадающие результаты [42].

Эндогенными маркерами СКФ являются креатинин и цистатин С.

Креатинин и цистатин С почти полностью фильтруются клубочками, поэтому повышение их сывороточных уровней свидетельствует о снижении СКФ. Уравнения для расчета СКФ основаны на концентрациях креатинина и цистатина С в сыворотке [43, 44]. Как же лучше определять СКФ, по креатинину или по цистатину С?

Измерение сывороточных уровней креатинина — распространенный метод определения СКФ. Источник креатинина в сыворотке — метаболизм креатина и фосфокреатина в мышцах. В сутки синтезируется примерно 20 мг на кг массы тела креатинина, что связано в основном с мышечной массой. Синтез креатинина с возрастом *снижается* от $23,8$ мг/кг у мужчин в возрасте 20 – 29 лет до $9,8$ мг/кг у мужчин в возрасте 90 – 99 лет. Причиной этого является уменьшение мышечной массы [45].

Если ренальные функции в норме, основная масса креатинина фильтруется клубочками, а 15% его секретируется канальцами [46].

При ХБП концентрация сывороточного креатинина повышается только на 30 – 50% от его теоретического уровня, который соответствует измеряемым значениям иСКФ («золотой стандарт»), так как от 16 до 66% креатинина удаляется за счет внеклубочковых механизмов. В частности, канальцевая секреция креатинина и его элиминация в кишечнике достигает максимума, когда СКФ падает до ≤ 15 мл/мин/ $1,73$ м² [47].

Полагается, что как маркер СКФ креатинин имеет следующие недостатки:

1) уровень креатинина варьирует в связи с возрастом, полом, уровнем метаболизма в мышечной ткани, принимаемыми медикаментами, водно-солевым обменом;

2) из-за большого функционального резерва почек концентрация креатинина может не изменяться в случаях, когда большая часть почечной ткани уже не функционирует;

3) при ухудшении клубочковой фильтрации происходит компенсаторное усиление канальцевой секреции креатинина, в результате чего происходит завышенная оценка функции почек;

4) при каких-либо острых изменениях функции почек сывороточный креатинин недостаточно точно отражает реальную картину до тех пор, пока не достигается некоторая стабилизация состояния, что чаще всего происходит только спустя два-три дня после инициации поражения.

Другие неренальные факторы, влияющие на синтез креатинина и его сывороточные концентрации, — этническая принадлежность, наличие хронических заболеваний, потребление мясной пищи. Все эти факторы в той или иной степени учитываются в формулах вычисления СКФ. Такие препараты как циметидин (cimetidine) и триметоприм (trimethoprim) ингибируют секрецию креатинина, но не влияют на СКФ. Изменения уровней сывороточного креатинина очень инерционны, они не позволяют оценивать быстрые изменения СКФ, в частности, при ухудшении или улучшении ренальных функций, в то время как ряд экспериментальных исследований указывает на тот факт, что ОПН нуждается в эффективном вмешательстве именно в тот момент, когда уровень сывороточного креатинина еще даже не начал увеличиваться [48].

Наиболее применяемыми уравнениями для вычисления СКФ являются уравнение Кокрофта–Гаулта (Cockcroft–Gault) [49] и уравнение MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) [50].

Уравнение Кокрофта–Гаулта предназначено для вычисления клиренса креатинина в мл $\times$ мин⁻¹, но не для вычисления СКФ, и не стандартизовано на поверхность тела ($1,73$ м²). При сравнении с измеряемыми показателями СКФ (экзогенные маркеры) это уравне-

ние систематически завышает клиренс креатинина, поскольку не учитывает его канальцевую секрецию. Поскольку это уравнение учитывает вес тела, оно особенно рекомендуется для мониторинга ренальных функций при приеме препаратов, влияющих на работу почек [49, 51].

Уравнение MDRD. В этом уравнении, исходно разработанном при наблюдении пациентов с ХБП, учитываются возраст, пол, этническая принадлежность [51, 52]. Для определения СКФ разработаны два варианта формулы MDRD — полная и сокращенная. Для расчета СКФ по полной (оригинальной) формуле кроме креатинина требуется ряд дополнительных биохимических показателей сыворотки, таких как альбумин и азот мочевины. Для сокращенной формулы MDRD нужны только демографические данные (пол, возраст, раса) и уровень креатинина сыворотки. Сокращенная формула MDRD:

$$\text{СКФ} = 186 \times (\text{креатинин сыворотки, мг/дл})^{-1,154} \times (\text{возраст, годы})^{-0,203}.$$

Для женщин результат умножают на 0,742, для лиц негроидной расы результат умножают на 1,210. Результаты, получаемые при применении обеих формул, сопоставимы.

Несмотря на некоторую неточность формулы MDRD для оценки функции почек у пациентов с ССЗ, рассчитанная данным методом СКФ является, тем не менее, независимым предиктором летального исхода у больных с дисфункцией левого желудочка [53]. При применении формулы MDRD значения СКФ ≤ 60 мл/мин/1,73 м² считаются патологическими [54]. Для вычисленного по формуле MDRD значения СКФ, составляющего 60 мл/мин/1,73 м², диапазон значений будет составлять от 42 до 78. Такая точность полагается приемлемой, но предполагает повторное определение СКФ через 3 месяца [55].

Диагностическая надежность уравнения MDRD может быть суммирована следующим образом:

- 1) при ХБП значения СКФ в 6% случаев могут быть завышены [56–59];
- 2) у лиц без ХБП значения СКФ в 29% случаев могут быть занижены [60, 61];
- 3) в 90% случаев показатели СКФ находятся в диапазоне $\pm 30\%$ от прямо измеряемых значений СКФ [62];
- 4) формула MDRD завышает стадии ХБП у пациентов, в действительности находящихся на 2 и 3 стадиях тяжести, но правильно классифицирует пациентов на 4 и 5 стадиях. Такое завышение показателей СКФ по формуле MDRD является весьма существенным при мониторинге ХБП и поэтому в этих случаях должно рассматриваться критически [63, 64];
- 5) педиатрические пациенты с СКФ < 60 мл/мин/1,73 м² могут иметь на 29% более высокие значения СКФ по «золотому стандарту» и, тем не

менее, иметь нарушенные ренальные функции [55]. В таких случаях для правильной диагностики необходимо проведение тестов на альбуминурию [38].

Для скрининга на наличие почечного повреждения рекомендуется использовать отношение альбумин/креатинин в моче, которое принято считать патологическим при превышении 30 мг/г [65, 66].

Предположение, что цистатин С может быть маркером СКФ, было сделано еще в 1979 г., сразу после того, как было обнаружено, что в плазме пациентов, находящихся на гемодиализе, его уровень в 13 раз выше, чем у здоровых лиц [67]. И только в 2005 г. это предположение было воплощено в практику: были проведены сравнительные эксперименты по выяснению зависимости уровней цистатина С в сыворотке от значений СКФ, измеряемых с помощью «золотого стандарта», и была предложена простая формула для расчета СКФ по цистатину С [68]. С того времени опубликованы результаты многих исследований, посвященных сравнению точности и надежности креатинина и цистатина С как индикаторов СКФ. Мета-анализ, обобщающий 46 статей и 8 неопубликованных кратких отчетов, содержащих результаты наблюдений около 4500 пациентов и лиц контрольных групп, показал, что *цистатин С дает более точное приближение к реальным (измеряемым) значениям СКФ, чем креатинин*. Так, коэффициент корреляции концентрации цистатина С с СКФ составлял 0,92 против 0,74 для креатинина. Значения ROC кривой (area under curve of receiver operator characteristic) для цистатина С составляли 0,93 против 0,84 для креатинина [69].

У 451 пациента СКФ определяли по «золотому стандарту» (клиренс иогекола) и сопоставляли со значениям СКФ, определенными по цистатину С и по креатинину (по формуле Кокрофта–Гаулта), и соотносили с показателями ИМТ. Как оказалось, определение СКФ по цистатину С даже без учета антропометрических показателей дает более точные результаты, чем определение СКФ по креатинину с учетом таких показателей как пол, возраст и вес тела [1]. Такого же мнения придерживаются и другие авторы [70].

В 2004 г. цистатин С был официально одобрен FDA (Администрацией пищевых и лекарственных препаратов США) как маркер для альтернативного определения СКФ.

Формулы для расчета СКФ (мл/мин/1,73 м²)

по однократному определению в сыворотке уровня цистатина С (мг/мл)

$$\text{СКФ} = 99,43 \times \text{цистатин С}^{-1,5837}$$

Larsson et al. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 2004; 64: 25–30.

$$\text{СКФ} = 80,35/\text{цистатин С} - 4,32$$

Hoek et al. Nephrol. Dial. Transplant., 2003; 18: 2024–2031.

$$\text{СКФ} = 91,62 \times \text{цистатин С}^{-1,123}$$

Filler et al. Pediatr. Nephrol., 2003; 18: 981–985.

СКФ = $84,69 \times \text{цистатин С} - 1,680 \times 1,384$

(возраст < 14 лет)

Grubb et al. Clin. Chem., 2005; 51: 1420–1431.

СКФ = $78/\text{цистатин С} + 4$

Le Bricon et al. Clin. Chem., 2000; 46: 1206–1207.

СКФ = $119/\text{цистатин С} - 33$

Sjostrom P. et al. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 2005; 65: 111–124.

СКФ = $100/\text{цистатин С} - 14$

Sjostrom P. et al. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 2005; 65: 111–124.

СКФ = $76,7 \times \text{цистатин С}^{-1,19}$ (уравнение Леви (Levey))

Stevens L.A. et al. Am. J. Kidney. Dis., 2008; 51(3): 395–406.

СКФ = $90,63 \times \text{цистатин С} - 1,192$

Hojs R. et al. Clin. Nephrol., 2008; 70 (1): 10–17.

Примечание. Как правило, в инструкции к конкретному диагностическому набору для определения цистатина С указана формула, наиболее пригодная для расчета СКФ при использовании данного метода измерения.

Пожалуй, на данный момент цистатин С — самый точный маркер для определения СКФ в педиатрии [71–75]. И вот почему: 1) его уровни (после достижения 1 года) практически не зависят ни от мышечной массы, ни от возраста; 2) расчет педиатрической СКФ по формуле, предложенной А. Граббом с сотр. [68], более надежен, чем расчет СКФ по креатинину; 3) формулы MDRD и Коннахана–Бэррэтта (Counahan–Barratt) считаются не подходящими для расчета педиатрической СКФ по креатинину [68]. Действительно, еще в ранних исследованиях сравнение значений СКФ, определенных у детей с помощью цистатина С и креатинина с прямо измеренными значениями СКФ (клиренс Cr-ЭДТА), показало, что СКФ, определенная по цистатину С, более тесно коррелирует с «золотым стандартом» [76].

Аналогичные результаты были получены и при сравнении значений педиатрической СКФ, определенных с помощью цистатина С и креатинина с показателями СКФ, измеренными с помощью инулина. Диагностическая точность (ROC кривая) для цистатина С составляла $0,970 \pm 0,35$ и для креатинина — $0,894 \pm 0,131$. Пограничный уровень цистатина С для патологической СКФ составлял 1,39 мг/л и имел 90% чувствительность и 86% специфичность. Авторы сделали вывод, что «в отличие от креатинина сывороточный цистатин С отражает ренальные функции у детей независимо от возраста, пола, роста и веса» [77, 80].

Для получения более точных педиатрических значений СКФ были проведены исследования (103 пациента в возрасте $12,7 \pm 4,7$ лет), учитывающие возраст, пол, вес, диагноз, уровни цистатина С и креатинина и реальные значения СКФ, измеренные по иоталамату. Точность определения СКФ по цистатину С была выше таковой, определяемой по креатинину. В результате были предложены две формулы для наиболее точного

вычисления педиатрической СКФ, одна из которых учитывает уровни цистатина С, другая — уровни цистатина С и креатинина одновременно [78].

Формула Шварца, предложенная для определения СКФ у детей еще в 70-х годах прошлого столетия, в действительности завышает значения СКФ (при сравнении с измерением СКФ с помощью иогексола). При исследовании 349 пациентов в возрасте от 1 года до 16 лет и имевших значения СКФ (иогексол), составлявшие $41,3 \text{ мл/мин}/1,73 \text{ м}^2$ (медианное значение), была предложена более точная (по мнению авторов) формула, учитывающая пол, рост, вес, сывороточные уровни креатинина и концентрацию мочевины в крови [79].

Мета-анализ результатов наблюдения 27 групп педиатрических пациентов, проведенного в 24 исследованиях, показал преимущество цистатина С по сравнению с креатинином для определения СКФ. В целом, *пограничный уровень цистатина С в интервале $0,9–1,4 \text{ мл/мин}/1,73 \text{ м}^2$ надежно диагностировал педиатрическую ренальную патологию* [81].

Но, может быть, педиатрические неренальные патологии могут снижать значения СКФ, определенные по цистатину С?

Spina bifida. При исследовании 27 пациентов (1,4–27 лет), страдающих спина бифида (контрольная группа — 201 пациент с ренальной патологией, возраст 1–20,2 лет), уровни СКФ, определяемые по цистатину С и креатинину, сравнивали с реальными значениями СКФ по экзогенному маркеру. Выяснилось, что при спина бифида только цистатин С дает лучшую корреляцию с реальными значениями СКФ [82, 83].

Патология мочевого тракта. Цистатин С обладал высокой точностью по сравнению с креатинином и при определении СКФ у 72 пациентов в возрасте 20 дней–36 месяцев с патологиями мочевого тракта [84].

С возрастом СКФ снижается и уровни цистатина С растут, что наилучшим образом отражает показатели ренальной функции, поскольку его уровни практически не зависят от мышечной массы. После 50 лет референтные уровни цистатина С возрастают. При определении СКФ у пожилых с помощью креатинина (уравнение MDRD) результаты свидетельствуют о превалировании у пожилых ХБП третьей стадии, что не подтверждается при определении СКФ с помощью цистатина С [85, 86].

Вот, в частности, результаты сравнения СКФ, определенной по креатинину и по цистатину С у 754 пожилых лиц. Как оказалось, уровни цистатина С действительно коррелировали с таковыми для креатинина ($r = 0,6196$). Однако, согласно уравнению MDRD, третья стадия ХБП была диагностирована у 17,2% лиц, а согласно уравнению Леви по цистатину С — только у 2% [87].

При наблюдении 40 пациентов в возрасте от 60 лет и старше, имевших ХБП третьей и четвертой стадии, сравнивали показатели СКФ, определенные по цистатину С по формулам Хоука (Hoek), Ларсона (Larsson) и Стивенса (Stevens) и по креатинину (формулы MDRD

и Кокрофта–Гаулта). Обнаружено, что и СКФ («золотой стандарт») составляла $36,9 \pm 9,2$ мл/мин/ $1,73$ м², средний уровень цистатина С составлял $2,2 \pm 0,8$ мг/л, а креатинина — $2,8 \pm 1,1$ мг/дл. Наиболее точные результаты давали (по убыванию) формулы Хоука, Ларсона и Стивенса, которые значительно превосходили результаты, полученные с помощью формул MDRD и Кокрофта–Гаулта [88].

Таким образом, расчетные формулы для определения СКФ у пожилых лиц согласно клиренсу креатинина занижают истинные значения СКФ, что приводит к ложноположительным результатам. Цистатин С лишен этого недостатка и является надежным маркером СКФ у гериатрических пациентов [89, 90].

Насколько точно цистатин С отражает динамику ХБП? Можно ли использовать цистатин С для мониторинга эффективности терапии ренальной патологии?

В исследовании 592 взрослых пациентов с ХБП СКФ определяли по клиренсу креатинина (формула Кокрофта–Гаулта), по сывороточному креатинину (формула MDRD) и по цистатину С (формула Ходжса (Hojs R)) и измеряли с помощью 51CrЭДТА («золотой стандарт»). Среднее значение клиренса 51CrЭДТА составляло 47 мл/мин/ $1,73$ м², средний уровень сывороточного креатинина составлял 269 мкмоль/л, а цистатин С — 2,68 мг/л. Корреляция между клиренсом 51CrЭДТА и СКФ согласно формуле Кокрофта–Гаулта составляла $r = 0,861$, согласно MDRD — $r = 0,909$ и согласно формуле Ходжса по цистатину С — $r = 0,899$. Однако согласно значениям ROC кривой при пограничном уровне СКФ = 60 мл/мин/ $1,73$ м², определение СКФ по цистатину С имело большую точность, чем по формулам Кокрофта–Гаулта и MDRD. При этом *последовательно определенные значения СКФ по цистатину С предсказывали дальнейшие изменения СКФ более точно, чем показатели СКФ, определенные по формуле MDRD (91,6% против 84,1% соответственно), и более точно, чем показатели СКФ, вычисленные по формуле Кокрофта–Гаулта (91,6% против 88,3%)*. Авторы считают, что их результаты «показывают, что сывороточный цистатин С является надежным маркером СКФ с очень высокой диагностической точностью и способностью выявлять пациентов с ХБП и СКФ ниже 60 мл/мин/ $1,73$ м²» [91].

Следующий вопрос: насколько цистатин С пригоден для диагностики ренальной патологии у лиц с повышенным кровяным давлением?

При наблюдении 51 пациента с первичной гипертензией (29 лиц в контрольной группе) сравнивали точность диагностики ренальной патологии с помощью определения в сыворотке цистатина С, бета-2-микроглобулина, креатинина, мочевого кислоты, определения клиренса креатинина. СКФ рассчитывали согласно уравнениям Кокрофта–Гаулта и MDRD. За нижний предел пограничного уровня принимали СКФ < 80 мл/мин/ $1,73$ м². Как оказалось, все измеренные сывороточные параметры у пациентов с гипертензией были повышены, а пока-

затели СКФ понижены. Статистический анализ показал, что согласно значениям ROC кривой цистатин С превосходил по своей точности все другие сывороточные маркеры (AUC = 0,900). Клиренс креатинина имел самую низкую диагностическую эффективность (AUC = 0,598). Авторы полагают, что «по сравнению с другими традиционными маркерами измерение цистатина С может быть лучшим параметром для определения СКФ, особенно у пациентов с первичной гипертензией» [92].

У пациентов с гипертензией высокая скорость экскреции альбумина (СЭА) в мочу связана с атеросклеротическими повреждениями сосудов и является независимым фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и смертности от всех причин. Есть ли у гипертензивных пациентов связь между уровнями цистатина С в сыворотке и кардиоваскулярными и ренальными патологиями?

У 60 пациентов с гипертензией определяли сывороточные уровни цистатина С, клиренс креатинина, индекс массы левого желудочка (ИМЛЖ) и толщину интимамедиа. Как оказалось, уровни цистатина С отрицательно коррелировали с клиренсом креатинина ($r = -0,617$) и положительно со средними значениями (за 24 ч) систолического давления ($r = 0,308$), ИМЛЖ ($r = 0,528$) и ИМТ ($r = 0,539$). И цистатин С, и показатели СЭА были независимо связаны со средними показателями систолического давления. Авторы полагают, что «цистатин С — это полезный для использования показатель ренальной функции, который может быть маркером тяжести кардиоваскулярных и ренальных осложнений у пациентов с гипертензией» [93].

Можно ли с помощью цистатина С прогнозировать развитие микроальбуминурии при гипертензии?

В проспективном исследовании 101 пациента с первой стадией гипертензии наблюдали в течение 3,1 года (медианное значение). СКФ определяли с помощью цистатина С по формуле Хоука, также измеряли альбумин в моче и кровяное давление. У лиц с СКФ в верхней трети (> 115 мл/мин/ $1,73$ м², гиперфилтрация!) альбуминурия развивалась чаще. Значения СКФ по креатинину (формулы Кокрофта–Гаулта и MDRD) такой прогнозирующей способностью не обладали. Авторы полагают, что их данные указывают на то, что «1) определение СКФ по цистатину С на ранних стадиях гипертензии — более чувствительный метод для прогнозирования развития микроальбуминурии, чем определение клиренса креатинина и 2) в данной клинической группе гиперфилтрация предшествует микроальбуминурии» [94].

Цистатин С и прогрессирование диабетической нефропатии

Начало развития диабетической нефропатии традиционно диагностируется по повышению скорости экскреции альбумина (СЭА) в мочу и/или согласно транзиторному повышению СКФ (гиперфилтрация). При

отсутствии терапии СЭА возрастает экспоненциально, а при установленной нефропатии СКФ снижается линейно. Таким образом, снижение СЭА — предиктор снижения СКФ. Поскольку диабетическая нефропатия лучше поддается лечению на ранних стадиях, проблема применения маркеров, более эффективных, чем определение СЭА, весьма актуальна. Полагается, что таким маркером может стать цистатин С [103].

В течение 4 лет у пациентов с СД 2 ежегодно измерялись показатели иСКФ (клиренс иоталамата), которые сравнивались с результатами расчета СКФ по цистатину С и креатинину. Как оказалось, наибольшую корреляцию с измеряемыми в процессе развития диабетической нефропатии показателями иСКФ имели уровни СКФ, рассчитанные по цистатину С, а не по креатинину (формулы MDRD и Кокрофта–Гаулта). Более того, анализ динамики интра-индивидуальных показателей СКФ показал, что уровни цистатина С — это более стабильный, чем креатинин, показатель функции почек, не подверженный резким колебаниям. Полагается, что при СД 2 сывороточные уровни цистатина С «отражают значения СКФ так же надежно, как уровни гликозированного гемоглобина отражают контроль гликемии». Некоторые авторы даже иногда называют цистатин С «ренальным гликозилированным гемоглобином» [104].

В других исследованиях четко показано, что для раннего обнаружения снижения СКФ при СД 2 цистатин С — более точный маркер, чем креатинин [105–107].

Отметим, что повышенные сывороточные уровни цистатина С позволяют проводить раннюю диагностику гипертензивной нефропатии [108].

Более детального рассмотрения заслуживает исследование, в котором у 85 пациентов с СД 1 в течение 10,1 года измеряли динамику иСКФ («золотой стандарт»). У каждого пациента за это время было проделано в среднем 5,6 измерений. Исходное среднее значение иСКФ в данной когорте соответствовало нормальному $106,1 \pm 2,6$ мл/мин/1,73 м². Скорость снижения СКФ (ΔСКФ) вычисляли с помощью линейной регрессии. Снижение ренальной функции наблюдалось у 19 больных, у которых значения Δ иСКФ были $> 3,3$ мл/мин/1,73 м² в год. У таких пациентов средние значения ΔСКФ составляли (мл/мин/1,73 м²): 1) по «золотому стандарту» — 6,5; 2) по цистатину С — 6,1; 3) по сывороточному креатинину — 4,2; 4) по формуле Кокрофта–Гаулта — 3,6 и 5) по формуле MDRD — 3,4. Авторы полагают, что «в популяции лиц с СД 1 с исходно нормальными значениями СКФ цистатин С является более точным показателем степени снижения ренальных функций, чем методы, основанные на креатинине» [109].

Цистатин С: оценка ренальных функций после трансплантации

Трансплантация почек

Современные клинические рекомендации предлагают классифицировать реципиентов трансплантирован-

ной почки согласно стадиям ХБП, определяемым с помощью СКФ по креатинину. Не пришло ли время делать это по цистатину С?

В исследовании наблюдалось 125 реципиентов трансплантированной почки со стабильными ренальными функциями, у которых в ранней послеоперационной фазе определяли СКФ с помощью креатинина, цистатина С и «золотого стандарта» (иогексол). Как оказалось, значения СКФ, определенные с помощью цистатина С, имели более сильную корреляцию с таковыми, измеренными с помощью иогексола ($r = 0,89$), чем СКФ, определенная по креатинину ($r = 0,81$). При пограничном уровне СКФ = 60 мл/мин/1,73 м², сывороточный цистатин С — это более чувствительный и точный маркер для раннего обнаружения ренальной дисфункции после трансплантации почек по сравнению с креатинином. В первый день после трансплантации сывороточный цистатин С снижается быстрее, чем креатинин [110].

Какое уравнение для вычисления СКФ по сывороточному цистатину С наиболее подходит для оценки ренальных функций после трансплантации почки? СКФ по цистатину С, креатинину и по «золотому стандарту» (ЭДТА) измерялась у 117 реципиентов. Среднее значение иСКФ составляло 58 ± 23 мл/мин/1,73 м². Наибольшую точность имели уравнения Филлера (Filler) и Ле Бриксона (Le Bricon), основанные на измерении цистатина С, причем эта точность сохранялась и в диапазоне > 60 мл/мин/1,73 м². Уравнения, основанные на креатинине, имели более низкую точность [111, 113].

В другом исследовании при наблюдении 108 реципиентов было установлено, что определение СКФ по цистатину С с помощью формул Хоука и Ларсона было более точным, чем по креатинину [112].

Педиатрическая трансплантация

Цистатин С и креатинин измеряли у 24 детей (10 девочек, 14 мальчиков, средний возраст $10,5 \pm 5,1$ лет), госпитализированных после удачной трансплантации. Было обнаружено, что через час после трансплантации средний уровень цистатина С снизился в два раза (от $6,9 \pm 0,45$ мг/л до $3,69 \pm 0,38$ мг/л), а креатинин снизился от $862 \pm 65,4$ до $633 \pm 62,9$ мкмоль/л. На второй день цистатин С был $1,82 \pm 0,18$ мг/л, а на десятый — $2,69 \pm 0,35$. Уровни креатинина продолжали снижаться и на девятый день составили $80,5 \pm 13,1$ моль/л. Авторы полагают, что «у детей после удачной ренальной трансплантации цистатин С является ранним индикатором функции трансплантата» [114].

При исследовании 50 педиатрических реципиентов было обнаружено, что корреляция между значениями СКФ, определенными по цистатину С и по креатинину, составляла $r = 0,75$, однако при определении СКФ по цистатину С было обнаружено, что 42% реципиентов имели СКФ < 60 мл/мин/1,73 м², а при определении СКФ по креатинину — только 16%. По мнению авторов,

«цистатин С — ранний маркер ренальной дисфункции у педиатрических пациентов с трансплантированной почкой, который может быть важным средством для улучшения терапии данной группы больных» [115].

Трансплантация печени

Раннее обнаружение ренальной дисфункции весьма актуально для пациентов, перенесших *ортопическую* трансплантацию печени. Какая именно из формул для определения СКФ по цистатину С (Ларсона, Филлера или Хоука) более подходит для данных случаев? При наблюдении 59 реципиентов СКФ определяли по цистатину С, креатинину (MDRD) и с помощью «золотого» стандарта (ЭДТА). Установлено, что наиболее точным было определение СКФ по цистатину С по формуле Хоука [116].

Что касается оценки ренальной дисфункции при *ортопической* трансплантации печени, наблюдали 41 реципиента, у которых через $6,5 \pm 4,7$ года после трансплантации СКФ определяли по креатинину (по формулам MDRD и Кокрофта–Гаулта), по цистатину С (по формулам Хоука, Ларсона, Филлера и Ле Брикон) и по «золотому» стандарту (ЭДТА). Согласно полученным результатам, ни одна из проверенных формул расчета СКФ по цистатину С и креатинину не имела удовлетворительной точности, что, по мнению авторов, «ставит под вопрос их применимость для реципиентов ортопической трансплантации печени» [117].

Для сравнения точности определения СКФ исследовали 30 реципиентов трансплантированной печени. СКФ определяли по цистатину С (по формулам Хоука, Филлера и Ларсона) и с помощью «золотого» стандарта в первый, четвертый и седьмой дни после операции. Поскольку значения СКФ по цистатину С, рассчитанные с помощью указанных формул, отличались от реальных показателей СКФ, авторы предложили свою формулу для расчета СКФ по цистатину С у реципиентов трансплантированной печени: $СКФ = 9,12 + 96,21 \times (1/Цис С)$, которая давала результаты, более близкие к реальным ($97,4 \pm 30,2$ мл/мин/1,73 м² и $96,8 \pm 32,8$ мл/мин/1,73 м² соответственно) [118].

Трансплантация костного мозга

Как известно, у пациентов, перенесших трансплантацию стволовых гематopoэтических клеток, могут развиваться нарушения клубочковых и канальцевых функций [119].

При ретроспективном анализе историй болезни 75 реципиентов аллогенных гематopoэтических трансплантатов (allogeneic hematopoietic transplant recipients), у которых измерены уровни цистатина С, было обнаружено, что ОПН развилась у 31 пациента через 46 дней (медианное значение, интервал 1–502 дня), ухудшение ренальных функций было отмечено у 21 пациента. Повышение цистатина С после трансплантации наблюдалось у всех пациентов. Полагается, что оно было вызвано применением ингибиторов кальцийнейрина (calcineurin). В целом, у таких реципиентов повышенные уровни цистатина С были связаны с тяжестью ренальной дисфункции. Авторы полагают, что «измерение цистатина С может быть полезным диагностическим инструментом для выявления реципиентов гематopoэтических стволовых клеток с повышенным риском ХБП» [120].

Цистатин С и нефротоксичность рентгено-контрастных препаратов

При исследовании 410 пациентов, страдавших ХБП и подвергнутых коронарной и периферической ангиографии и/или ангиопластике, уровни цистатина С и креатинина были измерены через 24 и 48 ч после введения контрастного препарата. Тяжелые неблагоприятные исходы (смертность от всех причин, диализ) фиксировались в течение 12 месяцев. У 34 пациентов (8,2%) через 48 ч развилась ОПН. Повышение цистатина С ($\leq 10\%$) через 24 ч после введения контрастера было обнаружено у 87 пациентов (21,2%). При пограничном уровне цистатина С $\geq 10\%$ и креатинина $\geq 0,3$ мг/дл отрицательное предиктивное значение для неблагоприятных исходов было 100%, а положительное — 39,1%. При таких пограничных уровнях цистатина С и креатинина неблагоприятные исходы имели место: 1) у 16 из 297 пациентов (5,4%), имевших уровни этих маркеров ниже пограничных (группа 1); 2) у 9 из 49 пациентов (18,4%), имевших только повышенный цистатин С (группа 2) и 3) у 9 из 31 пациента (29%), имевших оба повышенных маркера (группа 3). Отношение рисков неблагоприятных исходов в группе 2 составляло 2,52 (1,17–5,41) и в группе 3 — 4,45 (1,72–11,54). Авторы полагают, что «у пациентов с ХБП цистатин С может быть надежным маркером для раннего диагноза и прогноза ОПН, вызываемой контрастными препаратами» [121].

Список литературы находится в редакции.

ГОМЕОСТАЗ КАЛЬЦИЯ И ФОСФОРА: НОРМА И ПАТОЛОГИЯ

А.В. СМЕРНОВ^{1, 2}, В.Л. ЭМАНУЭЛЬ³, М.М. ВОЛКОВ¹, И.Г. КАЮКОВ^{2, 4}

¹ Кафедра пропедевтики внутренних болезней

² Научно-исследовательский институт нефрологии

³ Кафедра клинической лабораторной диагностики

⁴ Кафедра нефрологии и диализа

ГОУ ВПО «СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Росздрава», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Рассмотрены вопросы обмена кальция и фосфора в организме, включая его гормональную регуляцию, а также этиология, симптомы, диагностика и лечение гиперкальциемии, гипокальциемии, гипофосфатемии и гиперфосфатемии.

Ключевые слова: кальций, фосфат, паратгормон, витамин D, гиперкальциемия, гипокальциемия, гипопосфатемия, гиперфосфатемия.

CALCIUM AND PHOSPHORUS HOMEOSTHASIS IN NORMAL AND PATHOLOGICAL CONDITIONS

A.V. SMIRNOV^{1, 2}, V.L. EMANUEL³, M.M. VOLKOV¹, I.G. KAJUKOV^{2, 4}

¹ Department of Internal Medicine Propedeutics

² Scientific research institute of Nephrology

³ Clinical Laboratory Diagnostics Department

⁴ Nephrology and Dialysis Department

State Educational Institution of Higher Professional Education "Saint-Petersburg I.P. Pavlov State Medical University"

Summary. The article concerns the problem of calcium and phosphorus metabolism and its endocrine regulation, as well as different aspects of its disturbances including aetiology, clinical manifestations, diagnostics and treatment of hypercalcaemia, hypocalcaemia, hypophosphatemia, hyperphosphatemia.

Key words: calcium, phosphorus, parathormone, vitamin D, hypercalcaemia, hypocalcaemia, hypophosphatemia, hyperphosphatemia.

Основные принципы организации кальций-фосфорного гомеостаза

Кальций — один из наиболее важных макроэлементов в организме человека. У здорового взрослого в организме содержится около 1–2 кг кальция (Ca), который находится в основном в костях (99%) в форме гидроксиапатита: $3[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]\text{Ca}(\text{OH})_2$. Из оставшейся незначительной части, содержащейся во внеклеточной жидкости (ВКЖ), 60% представлено несвязанным с белком ультрафильтруемым Ca (способным проходить через клеточные мембраны), в свою очередь, состоящим из ионизированного (50%) и комплексированного Ca — связанного с такими анионами как цитрат, фосфат, сульфат и бикарбонат (10%). Оставшиеся 40% Ca ВКЖ находятся в соединении с белками (преимущественно альбумином). Только концентрация ионизированного Ca является физиологически активной и регулируемой. Кальций костной ткани непрерывно обменивается с Ca внеклеточной жидкости. Суммарный обмен данного элемента между этими депо достигает 5–12 ммоль/сут.

При обычной диете поступает 800–1200 мг Ca, из которых примерно 200 мг всасывается в кишечнике. В равновесном состоянии суммарная кишечная абсорбция Ca соответствует почечной экскреции. В результате из ежедневно фильтруемых в почках 10 800 мг Ca реабсорбируется 10 600 (98%) [1]. Реабсорбция кальция в проксимальных канальцах составляет 60–70% профильтрованного Ca, в толстом восходящем отделе петли Генле — 20–25%, в дистальном извитом канальце — 5–10%, в собирательных трубках — 0,5–1%. В клетку кальций поступает, по-видимому, через кальциевые каналы, а из клеток удаляется Ca^{2+} – Na^{+} котранспортером или Ca^{2+} помпой [2].

Основная часть фосфата (P), как и Ca, находится в скелете (80%), и только около 10% — в скелетной мускулатуре и внутренних органах. Лишь незначительная фракция P является неорганической и может быть использована для синтеза аденозинтрифосфата (АТФ).

Около 2/3 общего P сыворотки представлено органическими соединениями (фосфолипидами) и 1/3 — не-

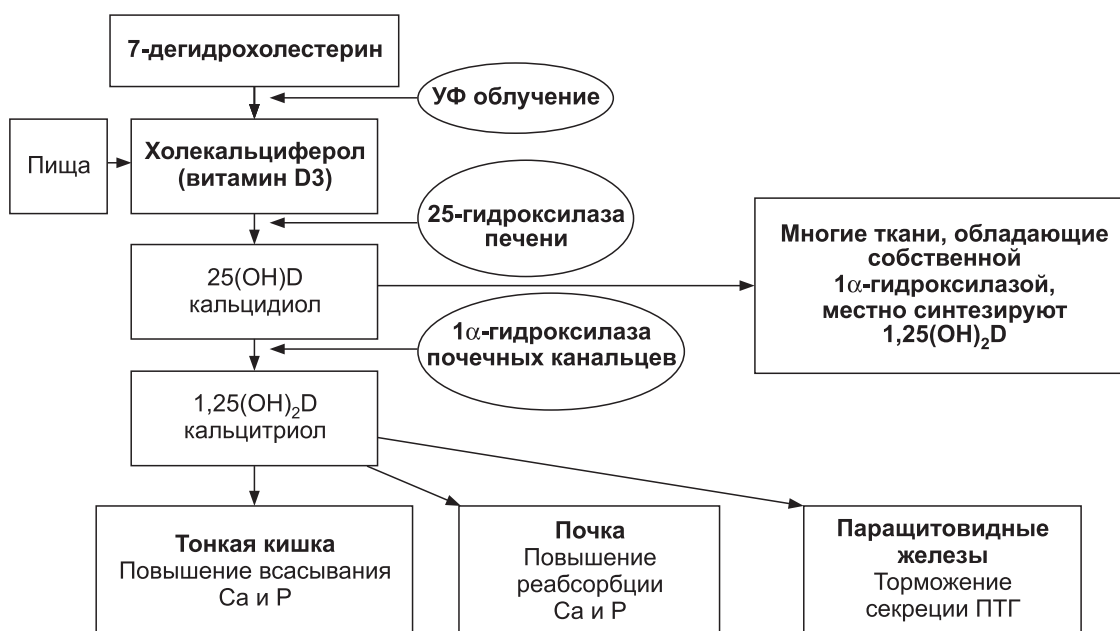


Рис. 1. Образование и основные эффекты витамина D

органическим P. В лаборатории определяют только неорганический P сыворотки крови (норма 0,89–1,44 ммоль/л). Около 85% его циркулирует в несвязанном состоянии: в виде HPO_4^{-2} или $\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$ [1], причем соотношение этих ионов зависит от pH внеклеточной жидкости. Оставшиеся 10% P сыворотки связаны с белком и 15% находятся в комплексной связи с кальцием или магнием.

В среднем за сутки с пищей поступает 800–1400 мг P, 80% из которого всасывается в тонкой кишке. В основном P всасывается пассивно, но есть и активный компонент, регулируемый кальцитриолом. В почках 80% профильтрованного P реабсорбируется в проксимальных канальцах, 10% всасывается в дистальных канальцах и только 10% экскретируется с мочой [2]. Реабсорбция P носит насыщаемый характер, пока не исчерпывается мощность транспортной системы, характеризующейся максимальной реабсорбцией P. Излишек профильтрованного P, превышающий эту величину, экскретируется с мочой, а при значениях ниже порогового выведение фосфата снижается. Поступление P в клетку проксимального канальца осуществляется посредством Na–P котранспортеров I и II типов, в значительной степени совпадающих по строению, основная функция которых по реабсорбции фосфата принадлежит Na–P II типа. Na–P котранспортер II типа способен переносить через апикальную мембрану канальцевых клеток как моно-, так и дивалентные фосфаты. ПТГ и потребление P регулируют активность Na–P котранспортера II типа. ПТГ ингибирует активность котранспортера, уменьшая число его молекул на апикальной мембране за счет их перехода в субапикальное пространство [2]. Концентрацию

P сыворотки крови регулируют гормоны: ПТГ, КТ и фактор роста фибробластов 23 (ФРФ23). Почечная экскреция P является основным регулятором его содержания в сыворотке крови.

Гуморальная регуляция гомеостаза кальция и фосфора

Основными гормонами, регулирующими Ca–P обмен, являются ПТГ, КТ и кальцитонин. Значимость последнего у людей, в отличие от животных, не установлена, так как он не оказывает существенного влияния на регуляцию кальциевого гомеостаза. Недавно обнаружены новые гормоны: ФРФ23 и клото.

ПТГ представляет собой линейный полипептид, состоящий из 84 аминокислотных остатков молекулярной массой около 9500 Да. Он продуцируется главными клетками паращитовидных желез (ПЩЖ). Концентрация Ca^{2+} в сыворотке крови является основным модулятором секреции ПТГ. Стимуляция кальций-чувствительных рецепторов (КЧР) ПЩЖ через каскад реакций приводит в конечном итоге к подавлению секреции ПТГ. Дополнительным стимулом увеличения секреции ПТГ является гиперфосфатемия. ПТГ оказывает следующие физиологические эффекты: стимулирует резорбцию кальция из костной ткани, реабсорбцию кальция в почечных канальцах, гидроксирование 25(OH)D в 1,25(OH)₂D в почках, экскрецию фосфата почками. ПЩЖ быстро реагируют (в течение минут) на изменения концентрации Ca^{2+} сыворотки крови. Обратная сигмоидальная зависимость существует между концентрацией Ca^{2+} во ВКЖ и секрецией ПТГ, причем базальная секреция этого гормона присутствует даже при высокой концен-

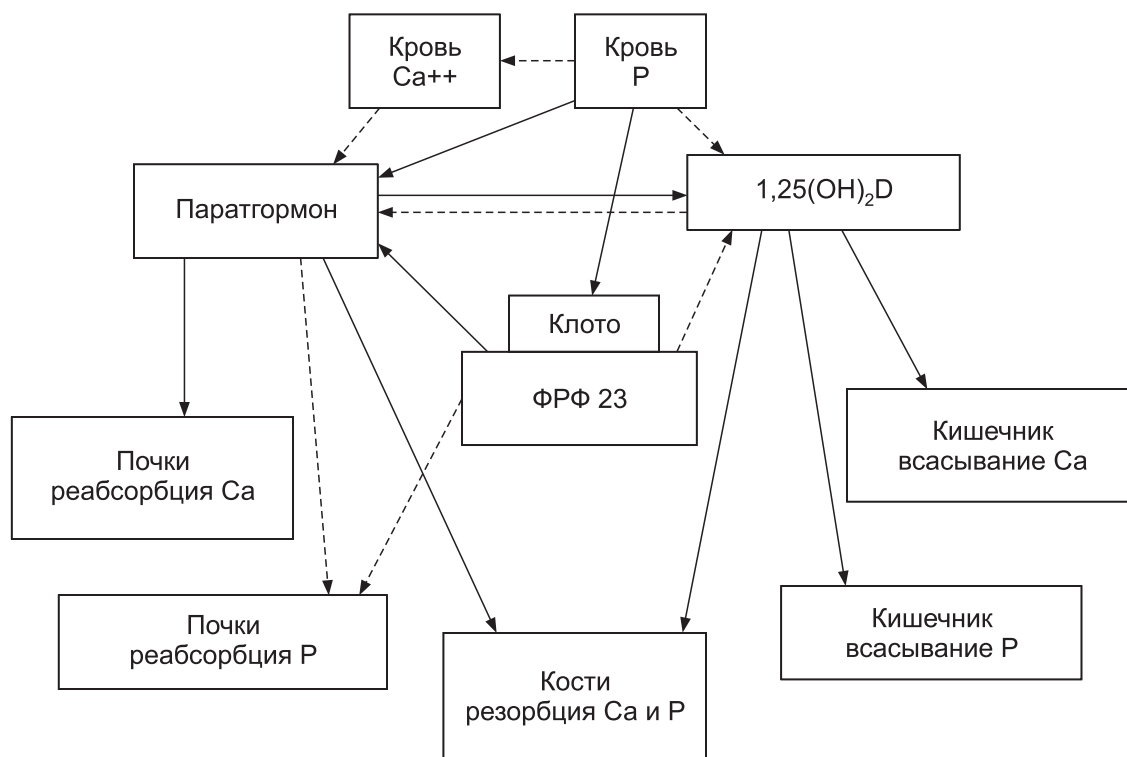


Рис. 2. Схема регуляции фосфорно-кальциевого баланса (показаны основные эффекты гормонов).

Примечание. Са — кальций, Р — фосфат, ФРФ 23 — фактор роста фибробластов 23, 1,25(OH)₂D — кальцитриол или D-гормон. Стрелки со сплошной линией — стимулирующий эффект, с штриховой — тормозящий

трации Са плазмы. Запасов ПТГ в ПЩЖ достаточно для поддержания базальной секреции в течение 6 часов и стимулированной в течение 2 часов.

1,25(OH)₂ витамин D, кальцитриол (КТ) или D-гормон. С биологической точки зрения КТ является полноценным стероидным гормоном, так как синтезируется в организме и обладает высокоспецифичным рецептором витамина D (РВД). Большая часть витамина D (ВД) (90–95%) образуется в коже под влиянием ультрафиолетового облучения, меньшая часть поступает с животной (витамин D₃) или растительной (D₂) пищей (рис. 1). Запасы ВД сохраняются в основном в печени с периодом полураспада примерно 14 дней. При всасывании большого количества ВД его избыток сохраняется в основном в жировой ткани. Далее витамин D (D₃ и D₂) в ассоциации с витамином D-связывающим белком переносится в печень, где гидроксилируется с образованием 25(OH)D или кальцидиола (КД), который в дальнейшем претерпевает 1α-гидроксилирование в почечных канальцах, превращаясь в активную форму витамина D — кальцитриол (КТ) или D-гормон, который действует через РВД. Основные эффекты D-гормона заключаются в повышении всасывания Са и фосфата Р в тонкой кишке. Значительно более слабое влияние он оказывает на почки, приводя к усилению реабсорбции Са и Р. Кроме того, D-гормон тормозит секрецию ПТГ. Он также способствует минерализации костей и резорбции из них Са. Следует отметить, что КД играет не менее важную роль,

чем КТ, так как многие ткани обладают собственной 1α-гидроксилазной активностью и способны превращать КД в КТ для собственных потребностей (аутокринная функция ВД).

ФРФ 23 представляет собой протеин молекулярной массой 30 кДа, который расщепляется энзимом проконвертазного типа на 2 меньших фрагмента: 18 кДа (аминофрагмент) и 12 кДа (карбокси-фрагмент) [3] и имеет собственный рецептор. Для реализации эффектов ФРФ 23 на органы необходим белок klotho [4], представляющий собой α-глюкозидазу, которая присоединяется к рецептору ФРФ 23 и С-терминалу этого гормона, тем самым конвертируя канонические рецепторы ФРФ 23 в специфические [4]. Белок Klotho является трансмембранным протеином, который помимо других эффектов обеспечивает в определенной мере чувствительность организма к инсулину и замедляет процесс старения в опытах на животных. Открытый Куго-о еще в 1997 году, ген Klotho свое название получил в честь одной из трех древнегреческих мойр — богинь судьбы (Лаксис назначает жизненный жребий, Клото прядет нить жизни, а Атропос обрезает жизненную нить). ФРФ23 оказывает фосфатурический эффект, стимулирует секрецию ПТГ и тормозит 1α-гидроксилазную активность почек, приводя к снижению синтеза КТ и его уровня в сыворотке крови [4, 5].

Кальцитонин оказывает значительно меньшее влияние на Са-Р обмен. Этот пептидный гормон, состоящий

из 32 аминокислот, секретируется С-клетками щитовидных желез. Стимулом для увеличения секреции является повышение концентрации Ca^{2+} в плазме крови. Гормон обладает гипокальциемическим действием за счет подавления активности и формирования остеокластов (уменьшения костной резорбции), а также, возможно, за счет снижения реабсорбции Са и Р в почках и уменьшения абсорбции Са в кишечнике.

Общая схема регуляции Р-Са обмена показана на рисунке 2.

Основные гормоны, участвующие в регуляции Са-Р баланса: ПТГ, D-гормон и ФРФ 23.

ПТГ увеличивает реабсорбцию Са и снижает реабсорбцию Р в почках, повышает обмен в костях, вызывая резорбцию Са и Р, стимулирует синтез КТ. Секрецию ПТГ стимулирует низкий уровень Ca^{2+} сыворотки крови за счет воздействия на КЧР. Высокий уровень Р сыворотки также способствует повышению уровня ПТГ. КТ, действуя на РВД ПЩЖ, тормозит образование и секрецию ПТГ.

Синтез КТ стимулируют низкий уровень Р сыворотки и высокая концентрация ПТГ. D-гормон повышает абсорбцию Са и Р в кишечнике; несколько увеличивает реабсорбцию этих веществ в почечных канальцах, а также тормозит секрецию ПТГ, действуя на РВД ПЩЖ.

ФРФ 23 — фосфатурический гормон, синтезируемый в костях, снижает реабсорбцию фосфата в почечных канальцах, что ведет к падению уровня Р плазмы. Этот гормон также повышает секрецию ПТГ и снижает синтез КТ, являясь его прямым антагонистом.

Белок Клото синтезируется в почках и необходим для реализации эффектов ФРФ 23.

Кальцитонин (не указан на схеме) — несколько снижает Са сыворотки крови за счет торможения реабсорбции кальция в почках и кишечнике, снижения резорбции Са и Р из костей.

Ионизированный Са плазмы регулируется сложным и координированным воздействием ПТГ, $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ на кишечник, кости и почки [1]. Клетки ПЩЖ реагируют на концентрацию Ca^{2+} крови посредством КЧР. Высокая концентрация Ca^{2+} во ВКЖ стимулирует эти рецепторы и активирует клеточные механизмы, что в конечном итоге приводит к торможению выделения ПТГ. Низкая концентрация Ca^{++} во ВКЖ стимулирует КЧР и секрецию ПТГ и вызывает гиперплазию ПЩЖ. В костях ПТГ в присутствии пермиссивного количества КТ способствует резорбции Са за счет повышения активности остеокластов. В кишечнике ПТГ повышает реабсорбцию Са и Р посредством повышения продукции КТ. Главными стимуляторами 1α -гидроксилазы являются высокий уровень в сыворотке ПТГ и гипофосфатемия. КТ обеспечивает поступления Са и Р для образования костей и предупреждения симптоматической гипокальциемии и гипофосфатемии. В кишечнике и почках этот гормон повышает образование Са-связы-

вающих протеинов (кальбидинов), способствующих трансмембранному транспорту Са. В костях КТ потенцирует эффекты ПТГ, стимулирует резорбцию кости остеокластами и индуцирует дифференциацию моноцитов в остеокласты. В ПЩЖ КТ связывается с рецептором витамина D, что приводит к торможению продукции ПТГ.

Поддержание оптимального уровня Р сыворотки обеспечивается взаимодействием гормонов, как снижающих уровень Р крови вследствие фосфатурического эффекта (ПТГ и ФРФ 23), так и повышающих Р за счет увеличения его абсорбции в кишечнике (КТ) и его резорбции из костей (ПТГ, КТ). ПТГ прямо влияет на кости, стимулируя остеокласты и резорбцию Р и косвенно повышает всасывание Р в тонкой кишке посредством стимуляции продукции КТ. Влияние ПТГ на почечные канальцы приводит к снижению реабсорбции Р и повышенной его экскреции за счет уменьшения количества Na-Р котранспортеров в люминальных мембранах почечных канальцев. В целом повышенная секреция ПТГ приводит к снижению уровня Р сыворотки. Основная роль КТ — повысить доступность Са и Р для образования новой кости и предупредить развитие гипокальциемии и гипофосфатемии. Этот гормон повышает всасывание Р в кишечнике и увеличивает его концентрацию в сыворотке. Гипофосфатемия способствует образованию Na-Р котранспортеров в почечных канальцах и росту величины реабсорбции Р. ФРФ 23, как и ПТГ, обладает мощным фосфатурическим эффектом, действуя посредством стимуляции собственных рецепторов, для нормальной функции которых нужен кофактор — белок клото, синтезируемый в почках. Снижение Р под влиянием ФРФ 23 достигается подавлением реабсорбции Р в почечных канальцах, а также за счет стимуляции секреции ПТГ и подавления синтеза КТ в почечных канальцах.

Нарушения Са-Р баланса проявляются изменением уровней Са, Р сыворотки крови, изменением содержания гормонов сыворотки крови (ПТГ, КТ, КД), развитием костной патологии и эктопической кальцификации сосудов и мягких тканей. Далее будут рассмотрены этиология, патогенез, клинические проявления, диагностика и лечение изменений содержания Са и Р сыворотки крови (гиперкальциемии, гипокальциемии, гиперфосфатемии и гипофосфатемии).

Гиперкальциемия

Гиперкальциемия подразделяется на незначительную — с уровнем Са крови 2,66–3,0 ммоль/л, умеренную — от 3,1 до 3,5 ммоль/л и тяжелую — выше 3,5 ммоль/л.

Этиология. В основе гиперкальциемии лежат 3 основных патофизиологических механизма: повышение абсорбции Са в ЖКТ, снижение почечной экскреции Са и повышение резорбции Са из костей [1]. Гиперкальциемия вызывает подавление секреции антидиуретиче-

ского гормона, усиление эффекта диуретиков, что может приводить к уменьшению объема ВКЖ и к снижению скорости клубочковой фильтрации (СКФ). Основная патология, сопровождающаяся гиперкальциемией, рассмотрена ниже.

1. Повышенная абсорбция Са в ЖКТ наблюдается при молочно-щелочном синдроме, интоксикации ВД и гранулематозных заболеваниях. Молочно-щелочной синдром развивается при избыточном потреблении Са и щелочей, в прошлом — молока и бикарбоната натрия соответственно. В настоящее время этот синдром наиболее часто встречается у пожилых женщин, принимающих избыточное количество карбоната или цитрата Са для лечения остеопороза. У пациентов имеет место триада симптомов: гиперкальциемия, алкалоз и почечная недостаточность [6]. Лечение гиперкальциемии у этих пациентов часто осложняется гипокальциемией из-за избыточного подавления секреции ПТГ. Без почечной недостаточности значительное поступление Са не приводит к гиперкальциемии. При снижении СКФ гиперкальциемия встречается нечасто и только у пациентов, получающих лечение препаратами Са и витамином D.

Интоксикация витамином D также приводит к гиперкальциемии, так как Са усиленно всасывается в тонкой кишке.

При гранулематозных болезнях, таких как саркоидоз, а также при лимфомах может наблюдаться повышение уровня кальция крови. Активированные макрофаги продуцируют КТ, который способствует усиленному всасыванию поступающего с пищей Са. Гиперкальциурия встречается чаще, чем гиперкальциемия.

2. Усиленная абсорбция Са из костей наблюдается при первичном, вторичном гиперпаратиреозе, злокачественных опухолях, тиреотоксикозе, болезни Педжета, интоксикации витамином А.

Первичный гиперпаратиреоз является наиболее частой причиной гиперкальциемии, он встречается с частотой 1 случай на 10 000 человек в общей популяции. Это состояние в 80% случаев вызвано солитарной аденомой ПЩЖ. У остальных пациентов выявляются диффузная гиперплазия или множественные аденомы. Примерно у половины в последней группе имеет место наследственный синдром: множественная эндокринная гиперплазия (МЭН) I типа, ассоциированная с аденомой гипофиза и островковых клеток поджелудочной железы, или МЭН II типа, ассоциированная с медулярным раком щитовидной железы и феохромоцитомой. Множественные аденомы встречаются нечасто, а карцинома ПЩЖ составляет менее 1%. Гиперкальциемия у этих пациентов обусловлена повышенной резорбцией Са из костей, увеличенной абсорбцией Са в тонкой кишке за счет более значительного образования КТ и повышенной реабсорбцией Са в дистальных почечных канальцах. При первичном гиперпаратиреозе гиперкальциемия обычно выражена незначительно при отсутствии симптоматики и обычно выявляется у амбулаторных пациентов при

рутинных биохимических исследованиях. Обычно пациенты заболевают в возрасте 40–60 лет, причем женщины в 2–3 раза чаще мужчин, 2/3 составляют женщины в постменопаузальном периоде.

Вторичный гиперпаратиреоз приводит к гиперкальциемии у пациентов с хронической болезнью почек (ХБП) 5 стадии обычно после трансплантации почки, когда нормализуются уровни Р крови, ВД, улучшается функция почек, но секреция ПТГ остается высокой вследствие увеличенной массы ПЩЖ. У большинства пациентов гиперкальциемия разрешается в течение первого года после трансплантации.

Злокачественные опухоли являются 2-й по частоте причиной гиперкальциемии. Несколько механизмов ответственны за это состояние: избыточная продукция ПТГ-подобного пептида (ПТГ-ПП) [7], избыточная резорбция кости вокруг опухолевой инфильтрации и избыточная продукция КТ (например, при лимфомах). Наиболее часто это состояние наблюдается у пациентов с плоскоклеточным раком легких, раком молочной железы, миеломной болезнью, раком почки. Гиперкальциемия у пациентов с онкологическими заболеваниями называют опухолевой гиперкальциемией [8]. Она обычно тяжелая, с уровнем Са сыворотки крови более 3,5 ммоль/л, и у пациентов имеются явные симптомы опухоли. ПТГ-ПП не выявляется с помощью стандартных методов определения ПТГ, но есть специальные наборы для его определения. Гиперкальциемия наблюдается у пациентов с запущенным раком, причем средняя выживаемость на момент выявления гиперкальциемии составляет всего около трех месяцев.

Миеломная болезнь сопровождается гиперкальциемией и локализованными остеолитическими очагами в скелете. Приблизительно у 30% пациентов с миеломой в течение болезни развивается гиперкальциемия. Очаги деструкции обусловлены остеокластической резорбцией костей без признаков образования новой кости, в отличие от метастатического поражения при раке молочной железы и простаты.

При тиреотоксикозе у 10–20% пациентов может наблюдаться гиперкальциемия в результате ускоренного ремоделирования костей. Имобилизация и болезнь Педжета также могут вызывать гиперкальциемию. Редкие причины гиперкальциемии: при лечении препаратами лития (легкая гиперкальциемия за счет взаимодействия препарата с КЧР), при использовании тиазидовых диуретиков (необходимо заподозрить скрытый первичный гиперпаратиреоз), при феохромоцитоме, первичной недостаточности надпочечников и при редком генетическом заболевании — семейной гипокальциурической гиперкальциемии (СГГ). Это аутосомно-доминантное заболевание обусловлено мутацией КЧР с пониженной их чувствительностью к Са сыворотки крови. В результате наблюдается незначительная гиперкальциемия с раннего возраста и гиперкальциурия при нормальном или слегка повышенном уровне ПТГ без

клиники гиперкальциемии. Об этом редком заболевании следует помнить и проводить дифференциальную диагностику с первичным гиперпаратиреозом, чтобы избежать неоправданного оперативного лечения.

Симптомы гиперкальциемии отмечаются при значительном повышении Са крови и представлены проявлениями со стороны нервной системы (от легкого изменения ментального статуса до комы), мышечной слабостью, миопатиями. Со стороны сердечно-сосудистой системы могут наблюдаться желудочковые аритмии, полная атриовентрикулярная блокада, артериальная гипертензия, развитие интоксикации сердечными гликозидами, укорочение интервала QT на ЭКГ. Расстройства желудочно-кишечного тракта выражаются в запорах, анорексии, тошноте и рвоте. Боли в животе могут быть результатом вызванной гиперкальциемией пептической язвы или панкреатита. Гиперкальциемия может приводить к нарушению концентрационной способности почек, к полиурии, вторичной полидипсии, что обуславливает уменьшение объема ВКЖ, снижение СКФ вследствие острого повреждения почек или хронической почечной недостаточности. Могут также развиваться нефролитиаз и нефрокальциноз.

Диагноз. Наиболее частыми причинами гиперкальциемии являются первичный гиперпаратиреоз [9] и злокачественные новообразования, составляющие в сумме 90% случаев. Вначале следует определить содержание Са, Р, креатинина, хлорида, бикарбоната сыворотки крови и суточную экскрецию Са с мочой. Высокий уровень хлорида крови и низкая концентрация Р в соотношении более 33/1 (в мг/дл) позволяет склониться в пользу первичного гиперпаратиреоза, так как высокий ПТГ крови подавляет канальцевую реабсорбцию Р. Низкая концентрация хлорида, высокий уровень бикарбоната сыворотки, повышение уровня креатинина сыворотки предполагают молочно-щелочной синдром. Наличие моноклонального градиента белков сыворотки помогает в диагностике миеломной болезни или болезни легких цепей. Низкий уровень Р сыворотки наблюдается при первичном гиперпаратиреозе и СГГ. Суточная экскреция Са снижена при молочно-щелочном синдроме, первичном гиперпаратиреозе, использовании тиазидовых диуретиков и СГГ.

Общее правило состоит в том, что первичный гиперпаратиреоз наблюдается у асимптоматических амбулаторных пациентов при уровне Са крови не более 2,75 ммоль/л, в то время как при злокачественных процессах имеются симптомы гиперкальциемии с острым началом и концентрацией Са сыворотки более 3,5 ммоль/л.

Исследование интактного ПТГ проводится после описанного выше начального обследования. Наиболее частой причиной повышения уровня ПТГ является первичный гиперпаратиреоз, хотя его повышение возможно при лечении литием и СГГ. Иногда при первичном гиперпаратиреозе концентрация ПТГ бывает в нор-

мальных пределах относительно уровня повышения Са крови.

При отсутствии данных за онкологическое заболевание и при нормальном уровне ПТГ надо исключить интоксикацию ВД или гранулематозное заболевание, что требует определения концентраций кальцидиола и кальцитриола плазмы. Повышение уровня первого наблюдается при интоксикации витамином D. Повышение концентрации КТ крови бывает при передозировке этого препарата, гранулематозной болезни, лимфоме и при первичном гиперпаратиреозе.

При повышении концентрации КТ без явной причины для выявления гранулематозного заболевания может быть использован тест с гидрокортизоном. Если после назначения 40 мг этого препарата каждые 8 часов в течение 10 дней гиперкальциемия разрешится, то она является признаком гранулематозного заболевания.

Лечение гиперкальциемии зависит от ее выраженности и направлено на повышение экскреции Са с мочой, торможение резорбции Са из костей и снижение интестинального всасывания Са.

1. Повышение экскреции Са с мочой достигается путем увеличения объема ВКЖ с последующим назначением диуретиков. Реабсорбция Са в проксимальных почечных канальцах является пассивным процессом, идущим параллельно с реабсорбцией натрия. Уменьшение объема ВКЖ за счет подавления секреции антидиуретического гормона приводит к повышению реабсорбции натрия и, соответственно, Са. Пациенты с гиперкальциемией часто имеют сниженный объем ВКЖ. Гиперкальциемия подавляет реабсорбцию натрия в толстом восходящем отделе петли Генле путем активации КЧР и также препятствует действию антидиуретического гормона. При снижении СКФ могут потребоваться высокие дозы петлевых диуретиков. При резком снижении почечной функции может быть необходим гемодиализ. В случае умеренной гиперкальциемии достаточно проведения регидратации с введением 2–4 л 0,9% NaCl и последующего применения петлевых диуретиков (20–160 мг внутривенно каждые 8 часов).

2. Препараты, снижающие резорбцию костей, часто необходимы при умеренной или тяжелой гиперкальциемии. В острой ситуации обычно эффективен кальцитонин в дозе 4 МЕ/кг 2 раза в день из-за быстрого начала действия (через 2–4 часа). Кальцитонин ингибирует остеокластическую резорбцию и повышает почечную экскрецию Са. Он снижает концентрацию Са сыворотки только на 1–2 мг/дл (0,25–0,5 ммоль/л). Кроме того, при повторном применении препарата развивается тахифилаксия. По этим причинам кальцитонин не следует использовать как единственный препарат для подавления костной резорбции.

Бисфосфонаты являются препаратами выбора для лечения гиперкальциемии, вызванной костной резорбцией [10]. Эти аналоги неорганического пирофосфата избирательно концентрируются в костях, из-за высоко-

го сродства с их минеральным компонентом. Они оказывают комплексное тормозящее действие на костный метаболизм за счет подавления резорбционной активности остеокластов и ускорения их апоптоза, снижения активности формирования новой кости. Начинают действовать бисфосфонаты только через 2–3 дня, но оказывают длительный эффект (несколько недель). Первым препаратом для лечения гиперкальциемии был использован этидронат. Са сыворотки при его использовании начинает падать на 2-й день лечения, достигая минимума на 7-й день. Гипокальциемический эффект продолжается несколько недель. При быстром падении Са сыворотки в течение 48 часов следует отменить препарат для предотвращения гипокальциемии. Этидронат можно вводить внутривенно в дозе 7,5 мг/кг в течение 4 часов 3 дня. Однократное в/в введение в дозе 30 мг/кг в виде 24-часовой инфузии на 1 л физиологического раствора также эффективно. Памидронат является более эффективным препаратом по сравнению с этидронатом и широко используется в лечении гиперкальциемии. Его вводят в дозе 60 или 90 мг в/в в течение 4 часов. Если концентрация Са сыворотки равна или меньше 13,5 мг/дл (3,38 ммоль/л), назначают 60 мг, если выше 3,38 ммоль/л — вводят 90 мг. Уровень Са сыворотки постепенно снижается в течение 2–4 дней. Однократная доза дает эффект в течение 1–2 недель. У большинства пациентов концентрация Са сыворотки нормализуется после 7 дней. Дозы этидроната и памидроната должны назначаться с учетом почечной функции. Используют также препараты клодроновая кислота (бонифос), ибандоновая кислота (бондронат), цоледронат (зомета).

Пликамицин (митрамицин) можно использовать только у больных без тяжелых нарушений печеночной, почечной функции и кроветворения в дозе 25 мкг/кг в/в в виде 4-часовой инфузии 1 раз в день в течение 3–4 дней. Эффект начинается через 12 часов и достигает максимума через 48 часов. Введение повторяют каждые 3–7 дней. Побочные эффекты (тошнота, гепатотоксичность, протеинурия, тромбоцитопения) ограничивают применение препарата.

Нитрат галлия ингибирует резорбцию костей и может использоваться как дополнительное средство лечения гиперкальциемии при онкологической патологии при неэффективности других препаратов. Механизм действия неясен. Препарат назначают в виде внутривенной инфузии в дозе 100–200 мг/м² в течение 5 дней. Препарат нельзя использовать у пациентов с повышенным уровнем креатинина сыворотки (более 0,22 ммоль/л).

При гиперкальциемии оправдано применение кальцимиметика цинакальцета (Сенсипар® — США, Австралия; Мимпара® — Европа). Цинакальцет непосредственно снижает уровень ПТГ за счет повышения чувствительности КЧР главных клеток ПЩЖ к экстрацеллюлярному кальцию. Подавление секреции ПТГ приводит к соответствующему снижению концентрации кальция в сыворотке крови. Рекомендуемая начальная

доза препарата при карциноме ПЩЖ составляет 30 мг 2 раза/сут. Коррекцию дозы следует проводить каждые 2–4 недели в следующей последовательности изменений дозировки: 30 мг 2 раза/сут., 60 мг 2 раза/сут., 90 мг 2 раза/сут. и 90 мг 3–4 раза/сут. по мере необходимости для снижения концентрации кальция в сыворотке крови.

3. Терапия, направленная на снижение кишечной реабсорбции Са, используется у амбулаторных пациентов с легкой гиперкальциемией. Кортикостероиды (гидрокортизон 200–300 мг в/в в день в течение 3–5 дней) могут быть эффективными при интоксикации витаминами D, при гранулематозных болезнях и некоторых видах опухолей (лимфома, миелома), так как подавляют синтез КТ. Альтернативными средствами являются кетоконазол и гидроксихлорохин (плаквенил). Можно назначить препараты, содержащие фосфат, перорально при отсутствии гиперфосфатемии или снижения СКФ. Пероральные препараты Р могут вызывать диарею и снижают уровень Са сыворотки только на 1 мг/дл (0,25 ммоль/л).

4. Хирургическое лечение по поводу солитарной аденомы ПЩЖ показано при превышении Са сыворотки более чем на 1 мг/дл (0,25 ммоль/л) верхней границы нормы, при наличии явных признаков поражения костей, при снижении минеральной плотности кортикальных костей более чем на 2 стандартных отклонения от нормальных значений с учетом возраста, пола и расы (по Z-критерию), при снижении СКФ более чем на 30%, наличии нефролитиаза или нефрокальциноза, суточной экскреции Са, превышающей 400 мг/день, и при наличии эпизодов острой симптоматической гиперкальциемии. Около 50% пациентов нуждаются в хирургическом лечении в соответствии с этими критериями. Определяют наличие аденомы с помощью сонографии и при сканировании ПЩЖ с ^{99m}Tc MIBI.

Гипокальциемия

Этиология. Истинная гипокальциемия является результатом сниженной абсорбции Са в кишечнике или уменьшенной резорбции Са из костей. Принимая во внимание, что 98% Са находится в костях, длительная гипокальциемия невозможна без снижения эффекта действия ПТГ или КТ на скелет [1].

Общий Са плазмы состоит из трех компонентов: ионизированный (50%), находящийся в комплексных связях (10%) и связанный с белком (40%). Истинная гипокальциемия возможна только при снижении ионизированного Са (нормальные значения 1,05–1,25 ммоль/л). Вместо определения ионизированного Са обычно ориентируются на скорректированный на альбумин Са сыворотки, который рассчитывают по формуле: Са корр. (ммоль/л) = Са сыворотки + [(40 — альбумин в г/л) × × 0,02]. На связывание Са с белком влияет рН ВКЖ. Ацидемия повышает, а алкалемия понижает концентрацию ионизированного Са.

Истинная гипокальциемия обусловлена сниженной секрецией ПТГ, резистентностью органов к ПТГ или нарушениями метаболизма ВД. Иногда гипокальциемия развивается внезапно вследствие внутрисосудистого связывания Са.

1. Гипопаратиреоз развивается при многих приобретенных и наследственных заболеваниях, обусловленных нарушенным синтезом и выделением ПТГ или резистентностью периферических тканей к ПТГ.

Наиболее частой причиной идиопатического гипопаратиреоза является полигландулярный аутоиммунный синдром I типа, характеризующийся хроническим кандидозом кожи и слизистых и первичной надпочечниковой недостаточностью. Иногда также наблюдаются пернициозная анемия, сахарный диабет, витилиго и аутоиммунный тиреоидит. Кандидоз кожи и слизистых обычно диагностируют в раннем детстве, гипопаратиреоз развивается несколько лет спустя, а надпочечниковая недостаточность выявляется в юношеском возрасте. Семейная гипокальциемия обусловлена мутацией КЧР, увеличивающей его чувствительность к Са.

Хирургическое удаление ткани ПЩЖ по поводу вторичного гиперпаратиреоза часто приводит к транзиторному гипопаратиреозу, но может осложняться тяжелой гипокальциемией вследствие реминерализации костей, так называемого «синдрома голодной кости».

Оперативное лечение заболеваний щитовидной железы в 5% случаев ведет к гипокальциемии, причем примерно у 0,5% этих пациентов она становится постоянной. Факторами риска развития этого состояния являются удаление трех и более ПЩЖ, послеоперационная концентрация ПТГ менее 12 пг/мл, уровень общего Са сыворотки крови, равный или меньше 2,0 ммоль/л через неделю после начала пероральной заместительной терапии Са, и концентрация Р сыворотки крови не выше 1,29 ммоль/л.

Заболевания с инфильтративными изменениями (гемохроматоз, болезнь Вильсона, ВИЧ-инфекция) также могут сопровождаться гипопаратиреозом.

Тяжелая гипомагниемия является наиболее частой причиной гипопаратиреоза. Дефицит магния приводит к развитию резистентности к ПТГ органов-мишеней и снижению секреции ПТГ. В этой ситуации лечение гипокальциемии препаратами Са и ВД неэффективно до устранения дефицита магния.

2. Генетические заболевания, вызывающие резистентность органов-мишеней к ПТГ (псевдогипопаратиреоз). Полагают, что в его основе лежит генетически обусловленная резистентность почек и скелета к действию паратгормона в результате дефекта комплекса специфического циторецептора — паратгормон — аденилатциклаза, что нарушает процесс образования в почках циклического 3', 5'-АМФ, являющегося внутриклеточным посредником действия паратгормона на метаболические процессы. У части больных есть дефект самого циторецептора, связывающего паратгормон (тип Ia

псевдогипопаратиреоза), у других отмечается дефект нуклеотидсвязывающего белка, локализованного в липидном бислое клеточной мембраны и функционально связывающего рецептор с аденилатциклазой (тип Ib псевдогипопаратиреоза). У некоторых больных наблюдается ферментативная недостаточность самой аденилатциклазы (псевдогипопаратиреоз II типа). Дефицит цАМФ вследствие этих дефектов ведет к нарушению синтеза специфических белков, определяющих биологический эффект паратгормона.

3. Нарушение метаболизма витамина D. Причинами являются: сниженное потребление ВД, мальабсорбция, медикаменты, болезни печени, почек и витамин D-зависимый рахит. Дефицит ВД может встречаться у плохо питающихся лиц, при недостаточном пребывании на солнце. Так как ВД является жирорастворимым, его дефицит может наблюдаться при синдроме мальабсорбции. Противосудорожные препараты способствуют развитию дефицита ВД, причем механизм их действия неясен. Фенобарбитал усиливает метаболизм ВД и КТ. Снижение КТ сыворотки при ХБП обусловлено нарушением 1 α -гидроксирования КД в проксимальных канальцах почек. Витамин D-зависимый рахит связан с генетически обусловленным нарушением синтеза в почках КТ с аутосомно-рецессивным типом наследования (тип I), либо с резистентностью органов-мишеней к КТ (тип II). Больные I типом отвечают на физиологические дозы КТ. У пациентов II типа значительно повышен уровень КТ сыворотки крови, лечение КТ не дает эффекта вследствие мутации рецепторов витамина D.

4. Редкие причины гипокальциемии включают синдром лизиса опухоли, остеобластические метастазы, острый панкреатит, токсический шок и сепсис. Внезапное поступление фосфата во ВКЖ может вызвать гипокальциемию с помощью различных механизмов. Са и Р могут преципитировать в тканях. Кроме того, инфузии Р повышают скорость формирования кости и ингибируют индуцированную ПТГ резорбцию костей, что приводит к снижению концентрации Са.

Симптомы гипокальциемии зависят не только от выраженности гипокальциемии, но и от скорости ее развития. Порог, при котором появляются симптомы гипокальциемии, зависит от уровня рН сыворотки, наличия сопутствующей гипомагниемии, гипокалиемии, гипонатриемии. В клинической картине преобладают симптомы повышенной нервно-мышечной возбудимости. Больные могут жаловаться на парестезии, локализованные вокруг рта, в дистальных отделах конечностей или карпопедальный спазм. Симптомы со стороны ЦНС включают нарушение ментального статуса, раздражительность и судороги. При физикальном обследовании могут определяться гипотония, брадикардия, спазм гортани, бронхоспазм. Следует определить симптомы Хвостека и Труссо. Симптом Хвостека — сокращение лицевых мышц, вызываемое при перкуссии над лицевым нервом ниже скуловой кости, причем во время обследо-

вания рот пациента должен быть приоткрыт. Следует отметить, что симптом Хвостека встречается у 10–25% здоровых людей и отсутствует у 30% пациентов с гипокальциемией. Симптом Труссо — флексия в лучезапястном суставе, пястно-фаланговых суставах, гиперэкстензия межфаланговых суставов, флексия 1-го пальца после наложения манжеты и поддержания в ней давления на 20 мм рт. ст. выше систолического в течение 3 минут. Эктодермальные проявления гипокальциемии включают алопецию, катаракту, дерматиты, кандидомикозы, повышенную ломкость ногтей. Со стороны сердечно-сосудистой системы могут наблюдаться: удлинение интервала QT на ЭКГ, желудочковые аритмии, застойная сердечная недостаточность, гипотония, снижение чувствительности к сердечным гликозидам, фибрилляция желудочков и остановка сердца. Могут также присутствовать психические расстройства: деменция, психозы, расстройства мышления, аффективные расстройства, депрессия, галлюцинации.

Диагноз. 1-й шаг диагностики у пациента со сниженным уровнем общего Са состоит в определении альбумина сыворотки, скорректированного Са сыворотки и, при необходимости, уровня ионизированного Са. При истинной гипокальциемии следует определить концентрации креатинина, магния, Р, суточную экскрецию Са и Р с мочой.

2-й шаг — определение концентрации магния сыворотки (норма 0,65–1,10 ммоль/л). Гипомагниемия — наиболее частая причина гипокальциемии у госпитализированных пациентов. Настороженность должно вызывать наличие у пациентов стеатореи, диареи, хронического алкоголизма. У этих пациентов обычно присутствует тяжелая гипомагниемия, и гипокальциемия не разрешится до тех пор, пока не будет восполнен дефицит магния. Часто требуется несколько дней для коррекции Са после восполнения дефицита магния.

3-й шаг — определение концентраций Р в сыворотке и моче. Гиперфосфатемия при отсутствии почечной недостаточности позволяет предполагать либо истинный гипопаратиреоз (при этом уровень ПТГ сыворотки снижен), либо псевдогипопаратиреоз (уровень ПТГ повышен). Снижение Р сыворотки указывает на нарушение метаболизма ВД. Следует определить в сыворотке уровни кальцидиола и кальцитриола. Снижение концентрации КД наблюдается при недостаточной инсоляции, синдроме мальабсорбции, болезнях печени, лечении фенотербиталом. Снижение КТ при нормальном уровне КД присутствует при ХБП и при витамин D-зависимом рахите I типа (недостаточность фермента 1 α -гидроксилазы). Повышение КТ при низком уровне Р крови встречается при витамин D-зависимом рахите II типа (патология рецепторов витамина D).

Лечение зависит от тяжести гипокальциемии и ее причины. В неотложной ситуации, когда подозревается гипокальциемия и присутствуют судороги, тетания, гипотензия или сердечные аритмии, до получения ре-

зультатов лабораторного исследования внутривенно назначают 100–300 мг Са (10–30 мл 10% глюконата Са) в течение 10–15 минут. Пациентам с симптоматической гипокальциемией и уровнем скорректированного на альбумин Са сыворотки, равным или меньшим 7,5 мг/дл (1,86 ммоль/л), следует назначить Са парентерально. Хроническую легкую гипокальциемию у амбулаторных пациентов можно лечить пероральными препаратами Са с добавлением витамина D при необходимости.

Острая симптоматическая гипокальциемия требует назначения препаратов Са внутривенно [11]. При отсутствии судорог, тетании, сердечных аритмий достаточно инфузии 15 мг/кг элементарного Са в течение 4–6 часов с повышением общего Са сыворотки на 2–3 мг/дл (0,5–0,75 ммоль/л). Глюконат Са (10%) в 10 мл ампулах содержит 94 мг элементарного Са. Первую ампулу можно ввести за несколько минут с последующей постоянной инфузией сначала со скоростью от 0,5–1 мг/кг/час и затем под контролем уровня Са сыворотки. Вводят в/в 100 мл 10% р-ра глюконата кальция на 900 мл 5% р-ра глюкозы со скоростью 50 мл/ч (у мужчин с массой тела более 70 кг в начале можно несколько быстрее), продолжительность инфузии составляет от 8 до 18 часов (при необходимости всю дозу можно ввести быстрее — за 4–6 ч).

Кальция глюцептат (10%) содержит 90 мг элементарного Са в ампуле 5 мл. Хлорид Са имеет более высокую биодоступность и содержит 272 мг элементарного Са в 10 мл ампуле. Лечение гипокальциемии неэффективно в присутствии гипомагниемии. При наличии метаболического ацидоза гипокальциемию надо скорригировать до начала лечения ацидоза.

При сочетании гипокальциемии с гипомагниемией, алкоголизмом, мальабсорбцией, почечными потерями магния или при наличии необъяснимой гипокальциемии нужно дополнительно ввести 5–10 мл 25% р-ра MgSO₄ в/в болюсом в течение 5–10 мин и далее по 5–10 мл 25% р-ра MgSO₄ в/м каждые 4 ч или в виде в/в инфузии 0,5 ммоль мг/кг массы тела в сутки (доза MgSO₄ разводится в 1 л изотонического р-ра NaCl). Надо учитывать, что 1 мл 25% раствора MgSO₄ содержит 1 ммоль Mg. Введение солей магния противопоказано при значительном снижении СКФ. Нельзя смешивать растворы солей кальция и магния. При сочетании гипокальциемии с ацидозом сначала устраняется гипокальциемия, затем ацидоз, причем нельзя смешивать растворы солей кальция и бикарбоната натрия. При сочетании гипокальциемии с применением сердечных гликозидов вводить последние необходимо только под мониторным контролем ЭКГ. При сочетании гипокальциемии с гиперфосфатемией целесообразно назначение фосфор-связывающих препаратов.

Длительная терапия гипокальциемии показана при уровне скорректированного Са сыворотки ниже 2,1 ммоль/л. Назначают соли Са перорально из расчета 1–2 г элементарного Са в сутки. Содержание элементар-

ного Са составляет в карбонате 40%, хлориде — 30%, лактате — 12%, глюконате — 8%.

Пациентов с гипопаратиреозом лечат препаратами Са и витамином D [12]. Концентрацию Са сыворотки крови следует поддерживать на нижней границе нормы. Пероральный элементарный Са 1–3 г в день обычно эффективен. Са лучше всасывается при его назначении между приемами пищи. Цитрат Са лучше растворим по сравнению с карбонатом, особенно у пациентов, принимающих ингибиторы протонной помпы. В присутствии гиперфосфатемии назначение Са следует задержать по возможности до снижения уровня Р сыворотки ниже 6 мг/дл (1,95 ммоль/л) с помощью фосфат-связывающих препаратов. Тяжелую гипокальциемию, однако, следует срочно корректировать, несмотря на гиперфосфатемию.

КТ является наиболее эффективным витамином D и имеет самый быстрый эффект и самое короткое действие, является самым дорогим. В день обычно требуется 0,5–1,0 мкг. В ряду кальцидиола, холекальциферола и эргокальциферола стоимость снижается и длительность действия нарастает. При заболеваниях почек и печени эффект этих препаратов снижается. При гипопаратиреозе снижается реабсорбция Са в дистальных канальцах. Поэтому повышенное поступление Са может привести к гиперкальциурии, нефролитиазу и нефрокальцинозу. Если экскреция Са с мочой превышает 350 мг в день, следует сократить прием Са даже несмотря на его низкую концентрацию в сыворотке, также следует ограничить прием натрия и добавить тиазидовые диуретики.

Гиперфосфатемия

Этиология

1. Почечная недостаточность является причиной гиперфосфатемии в 90% случаев. При снижении СКФ возрастает экскретируемая фракция (ЭФ) Р. Когда СКФ падает ниже 30 мл/мин, реабсорбция Р максимально подавлена и ЭФ не может повышаться больше. В результате повышается сывороточная концентрация Р.

2. Внезапное массивное поступление Р может приводить к повышению Р крови. Р может поступать из внутриклеточного пространства, что наблюдается при синдроме лизиса опухоли, рабдомиолизе и при повышенной абсорбции в кишечнике в случае интоксикации ВД. Синдром лизиса опухоли наиболее часто наблюдается при лечении быстро растущих злокачественных опухолей (лейкозы, лимфомы). Он также может встречаться после лечения таких солидных опухолей как мелкоклеточная карцинома, рак молочной железы, нейробластома. Факторами риска развития синдрома являются: нарушение функции почек, повышенный уровень лактатдегидрогеназы и гиперурикемия. Последние два показателя свидетельствуют о большом объеме опухоли.

3. Первичное повышение тубулярной реабсорбции Р встречается реже и может наблюдаться при гипопаратиреозе, при акромегалии вследствие прямой стимуляции инсулиноподобным фактором роста фосфатного транспорта, при лечении бисфосфонатами за счет прямого влияния препаратов на реабсорбцию Р и при опухолевом кальцинозе. Последний вызван патологией проксимального канальца, ведущей к повышению реабсорбции Р.

Симптомы острого повышения Р крови обусловлены сопутствующей гипокальциемией, вызванной отложением Са в мягких тканях и падением уровня ионизированного Са внеклеточной жидкости. Гиперфосфатемия также может вызвать гипокальциемию за счет снижения активности 1 α -гидроксилазы и снижения образования КТ.

Диагноз. Клинически необъяснимая персистирующая гиперфосфатемия должна вызвать подозрение наличия псевдогиперфосфатемии, наиболее частой причиной которой является парапротеинемия, причем связи ложного обнаружения гиперфосфатемии с типом и подклассом иммуноглобулинов обнаружено не было. Выявление псевдогиперфосфатемии в этой ситуации является артефактом спектрофотометрического метода анализа, обусловленного влиянием парапротеинов. При отсутствии парапротеинемии гиперфосфатемия, как правило, обусловлена острой или хронической почечной недостаточностью.

Лечение гиперфосфатемии направлено на снижение абсорбции Р в кишечнике, что достигается применением фосфат-связывающих препаратов: карбоната Са, ацетата Са, севеламера гидрохлорида, лантанума карбоната, алюминия гидрохлорида. Эти препараты надо назначать во время приема пищи. Карбонат и ацетат Са назначают по 1–2 таблетки 3 раза в день во время еды (таблетки ацетата Са содержат 667 мг, карбоната — 0,5 г). Препараты противопоказаны при уровнях Са сыворотки выше 2,54 ммоль/л и/или ПТГ ниже рекомендуемых для данной стадии ХБП значений. Севеламер (ренагель) — катионный полимер, связывающий Р в кишечнике. Преимуществом препарата является отсутствие в его составе Са, поэтому препарат не вызывает гиперкальциемии у больных с ХБП. Назначают 1–2 капсулы, содержащих 800 мг севеламера, в день во время еды. Лантана карбонат (Fosrenol) — новый препарат, по эффективности не уступает алюминий-содержащим фосфат-байндерам. Жевательные таблетки, содержащие 250–500 мг лантана, принимают после еды в суточной дозе 1500–3000 мг в день, начиная с 750 мг в день. Алюминия гидроокись используют только при неэффективности других препаратов и короткими курсами, не более 3 недель. Препараты никотиновой кислоты — никотинамид и никотиновая кислота медленного высвобождения — ингибируют Na–Р котранспортеры и снижают всасывание Р в кишечнике. Назначают в дозе 500–1500 мг в день. Эффективность препаратов доказана двойным слепым

рандомизированным методом [13]. Преимуществами являются низкая стоимость препарата, доступность, однократный прием, благоприятное влияние на липидный обмен (повышение уровня липопротеидов высокой плотности). Переносимость препаратов обычно удовлетворительная, но могут наблюдаться гиперемия, приливы, зуд, тошнота. Противопоказаниями являются: язвенная болезнь в стадии обострения, гиперчувствительность.

Гипофосфатемия

Этиология. Гипофосфатемия может быть следствием перераспределения Р из внеклеточного во внутриклеточное пространство, снижением кишечной абсорбции Р или почечной реабсорбции Р.

1. Переход Р из внеклеточного во внутриклеточное пространство наиболее часто обусловлен респираторным алкалозом и синдромом возобновления питания у госпитализированных пациентов [14]. Респираторный алкалоз вызывает повышение внутриклеточного рН, что стимулирует фосфофруктокиназу, являющуюся лимитирующим по скорости звеном гликолиза. Это ведет к тяжелой гипофосфатемии с уровнем Р сыворотки от 0,16 до 0,32 ммоль/л. Внутриклеточное перемещение Р также наблюдается при лечении диабетического кетоацидоза и синдроме «голодной кости», встречающемся после паратиреоидэктомии, выполненной по поводу вторичного гиперпаратиреоза. При этом в послеоперационном периоде значительно снижаются концентрации Са и Р сыворотки.

2. Снижение потребления Р редко приводит к гипофосфатемии, так как содержание Р в диете почти всегда превышает потери Р через ЖКТ, а почки могут реабсорбировать почти весь профильтрованный Р. Для развития гипофосфатемии сниженное поступление Р должно сочетаться с повышенной его потерей через ЖКТ (например, при диарее) или с использованием фосфат-связывающих препаратов, уменьшающих всасывание Р в кишечнике.

3. Избыточная экскреция Р с мочой наблюдается при первичном гиперпаратиреозе, вторичном гиперпаратиреозе, вызванном нарушением метаболизма ВД, при синдроме Фанкони, осмотическом диурезе, применении ацетозоламида и при онкогенной остеомалиции. Последняя представляет собой редкое заболевание, связанное с мезенхимальными опухолями, характеризующееся гипофосфатемией, фосфатурией, сниженной концентрацией КТ, нормальным содержанием КД и остеомалицией. Может быть значительной временной промежуток между проявлениями синдрома гипофосфатемии и обнаружением опухоли. Опухоль продуцирует ФРФ 23, снижающий тубулярную реабсорбцию Р и продукцию КТ, причем эти эффекты исчезают после удаления опухоли. Известно, что ФРФ 23 присутствует в сыворотке у здоровых лиц и обладает фосфатурическим эффектом. В опытах *in vivo* было показано, что гормон индуцирует

фосфатемию, снижает концентрацию КТ и приводит к остеомалиции. Два наследственных заболевания, характеризующихся фосфатурией: аутосомно-доминантный гипофосфатемический рахит (АДГР) и гипофосфатемия, сцепленная с Х-хромосомой (ГСХ), являются результатом нарушенного метаболизма ФРФ 23 [15]. АДГР обусловлен миссенс-мутацией ФРФ 23 (замена на участке структурного гена одной нуклеотидной пары другой), что вызывает изменение места протеолитической деструкции гормона, приводящее к торможению его расщепления и инактивации. В опытах *in vitro* было показано, что биологическая активность ФРФ 23 ограничена полной длиной ФРФ 23, включающего 251 аминокислоту. Эндим, ответственный за инактивацию ФРФ 23, пока не обнаружен. В одном исследовании было показано, что одна из поверхностных клеточных металлопротеиназ, Рhex, способна метаболизировать ФРФ 23, но эти данные не были подтверждены. АДГР характеризуется гипофосфатемией, потерей фосфата почками, малым ростом пациентов и деформацией костей.

ГСХ характеризуется потерей фосфата почками, гипофосфатемией, замедлением роста, нарушенной кальцификацией хрящей и костей и резистентностью к лечению фосфатами и ВД. Инактивационные мутации Рhex вызывают ГСФ [16]. Рhex является представителем семейства цинк-зависимых протеаз поверхности клеток, которые расщепляют мелкие пептиды, такие как эндотелин. Они экспрессируются преимущественно в хрящах, костях и зубах. Их физиологический субстрат еще не обнаружен. Хотя предполагалось, что Рhex расщепляет и инактивирует ФРФ 23, значительный размер ФРФ 23, состоящего из 251 аминокислоты, делает эту возможность менее вероятной.

Симптомы. Гипофосфатемия имеет разнообразные клинические последствия [17]. Так, было показано, что коррекция умеренной гипофосфатемии улучшает диафрагмальную функцию у пациентов с острой дыхательной недостаточностью. Так, перевод пациента с искусственной вентиляции на самостоятельное дыхание при наличии тяжелой гипофосфатемии возможен только после восполнения дефицита Р. В опытах *in vitro* было продемонстрировано, что гипофосфатемия вызывает сдвиг кривой диссоциации кислорода влево. Нейромышечные симптомы гипофосфатемии включают парестезии, тремор, мышечную слабость, нарушение ментального статуса. Выраженная гипофосфатемия может приводить к хрупкости клеток, гемолизу, снижению хемотаксиса, фагоцитоза с повышением вероятности развития инфекций.

Диагноз. Определение ЭФ Р в суточной моче можно использовать для дифференциальной диагностики патофизиологических механизмов гипофосфатемии. Если почка адекватно реагирует на сниженное всасывание Р в кишечнике или переход Р в клетки, то ЭФ Р будет составлять менее 5%, а суточная экскреция менее 100 мг. Если почечная патология является причиной

гипофосфатемии, ЭФ Р будет более 5%, а суточная экскреция Р составит более 100 мг. В этом случае показано исследование мочи на глюкозу, определение ПТГ крови для исключения гиперпаратиреоза и определение КД и КТ.

Лечение показано при тяжелой гипофосфатемии (при уровне меньшем или равном 1 мг/дл (0,32 ммоль/л)) или при наличии симптомов. Следует учитывать, что Р является преимущественно внутриклеточным ионом, поэтому концентрация Р сыворотки не является надежным критерием запасов Р в организме. Гипофосфатемия часто сочетается с потерей калия и магния. Восполнение дефицита Р следует проводить с крайней осторожностью у немногочисленных пациентов с почечной недостаточностью. Самым безопасным методом является пероральный прием по 1000 мг Р в день. Используют фосфат калия по 2 таблетки 3–4 раза в день (каждая таблетка содержит 114 мг фосфата и 3,68 ммоль калия), фосфат калия нейтральный по 2 таблетки 2–3 раза в день (в таблетке 250 мг фосфата, 12 ммоль Na и 2 ммоль К). Наиболее частым осложнением терапии является диарея. Можно использовать и другие фосфатсодержащие препараты (АТФ, рибоксин, фосфоколин, глицерофосфаты,

фитин). Внутривенное введение чревато развитием гипокальциемии и гиперфосфатемии, и оно показано только у пациентов с тяжелой симптоматической гипофосфатемией. Следует использовать фосфат натрия, если уровень калия не ниже 4 ммоль/л. Необходимо тщательно мониторировать концентрации в сыворотке фосфора, Са, магния, калия и диурез. При повышении Р сыворотки более 0,32 ммоль/л надо переходить на пероральный прием Р. Назначение доз, больших, чем 0,32 ммоль/кг в течение 12 часов, редко показано.

Заключение

Полученные в последнее время данные существенно обогатили наши представления о механизмах кальций-фосфорного гомеостаза. Особенно важно выявление систем гуморальной регуляции, непосредственно уровня неорганического фосфора во внеклеточной жидкости. Эти сведения, наряду с уже имеющимися представлениями, позволяют замкнуть цикл регуляции обмена кальция и фосфора. Кроме того, углубление понимания механизмов кальций-фосфорного гомеостаза может открыть новые пути в терапии расстройств обмена этих ионов.

Литература

1. Reilly R.F. The patient with disorders of serum calcium and phosphate // Schrier R.W. (ed). Manual of nephrology. Sixth ed. — Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. — P. 61–78.
2. Ермоленко В.М. Фосфорно-кальциевый обмен и почки / Под ред. И.Е. Тареевой // Нефрология: Руководство для врачей. 2-е изд., перераб. и доп. — Медицина: М., 2000. — С. 62–75.
3. Razzaque M.S., St-Arnaud R., Taguchi T., Lanske B. FGF-23, vitamin D and calcification: the unholy triad // Nephrol. Dial. Transplant., 2005. — Vol. 20. — N 10. — P. 2032–2035.
4. Torres P.U., Prie D., Beck L. et al. Klotho gene, phosphocalcic metabolism, and survival in dialysis // J. Ren. Nutr., 2009. — Vol. 19. — N 1. — P. 50–56.
5. Stubbs J., Liu S., Quarles L.D. Role of fibroblast growth factor 23 in phosphate homeostasis and pathogenesis of disordered mineral metabolism in chronic kidney disease // Semin. Dial., 2007. — Vol. 20. — N 4. — P. 302–308.
6. Fiorino A.S. Hypercalcemia and alkalosis due to the milk-alkali syndrome: a case report and review // Yale J. Biol. Med., 1996. — Vol. 69. — N 6. — P. 517–523.
7. Fiaschi-Taesch N.M., Stewart A.F. Minireview: parathyroid hormone-related protein as an intracrine factor — trafficking mechanisms and functional consequences // Endocrinology, 2003. — Vol. 144. — N 2. — P. 407–411.
8. Mundy G.R., Guise T.A. Hypercalcemia of malignancy // Am. J. Med., 1997. — Vol. 103. — N 2. — P. 134–145.
9. al Zahrani A., Levine M.A. Primary hyperparathyroidism // Lancet, 1997. — Vol. 349. — N 9060. — P. 1233–1238.
10. Lourwood D.L. The pharmacology and therapeutic utility of bisphosphonates // Pharmacotherapy, 1998. — Vol. 18. — N 4. — P. 779–789.
11. Reber P.M., Heath H. 3rd. Hypocalcemic emergencies // Med. Clin. North. Am., 1995. — Vol. 79. — N 1. — P. 93–106.
12. Bushinsky D.A., Monk R.D. Electrolyte quintet: Calcium // Lancet, 1998. — Vol. 352. — N 9124. — P. 306–311.
13. Cheng S.C., Young D.O., Huang Y. et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of niacinamide for reduction of phosphorus in hemodialysis patients // Clin. J. Am. Soc. Nephrol., 2008. — Vol. 3. — N 4. — P. 1131–1138.
14. Brooks M.J., Melnik G. The refeeding syndrome: an approach to understanding its complications and preventing its occurrence // Pharmacotherapy, 1995. — Vol. 15. — N 6. — P. 713–726.
15. Quarles L.D. FGF23, PHEX, and MEPE regulation of phosphate homeostasis and skeletal mineralization // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., 2003. — Vol. 285. — N 1. — P. 1–9.
16. Econs M.J., Francis F. Positional cloning of the PEX gene: new insights into the pathophysiology of X-linked hypophosphatemic rickets // Am. J. Physiol., 1997. — Vol. 273. — N 4. — P. 489–498.
17. Bugg N.C., Jones J.A. Hypophosphataemia. Pathophysiology, effects and management on the intensive care unit // Anaesthesia, 1998. — Vol. 53. — N 9. — P. 895–902.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ТРОМБОЗАМ И ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИМ ОСЛОЖНЕНИЯМ

О.В. СИРОТКИНА¹, М.В. ДУБИНА²

¹ Учреждение Российской академии наук «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова», Санкт-Петербург, Россия

² ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Росздрава», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. В современных представлениях о патогенезе венозного тромбоэмболизма существенное значение при дается наследственным нарушениям в системе гемостаза. В качестве основных генетических факторов риска рассматриваются лейденская мутация фактора V свертывания крови, мутация G20210A в гене протромбина, мутация C677T в гене MTHFR, мутации фибриногена и компонентов системы фибринолиза. Было показано, что для Северо-Западного региона России значимыми факторами риска развития венозного тромбоэмболизма являются мутации F V Leiden, G20210A F2, сочетанное носительство C677T MTHFR и F V Leiden. Данные мутации могут быть рекомендованы для молекулярно-генетической диагностики предрасположенности к тромбозам.

Ключевые слова: венозный тромбоэмболизм, генетические факторы риска, наследственная тромбофилия.

MOLECULAR-GENETIC DIAGNOSTICS OF PREDISPOSITION TO THROMBOSIS

O.V. SIROTKINA¹, M.V. DUBINA²

¹ B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of RAS, Saint-Petersburg, Russia

² State Educational Institution of Higher Professional Education «Saint-Petersburg Pavlov State Medical University, Federal Agency of Health Care and Social Development»

Summary. At present the inherited defects in haemostasis are believed to play an important role in pathogenesis of venous thrombosis. The main genetic risk factors are F V Leiden, G20210A F2, C677T MTHFR, mutations in fibrinogen and components of fibrinolytic system. The F V Leiden, G20210A F2, simultaneous carrying of T677 MTHFR and F V Leiden were appeared to be the risk factors of venous thrombosis in Russia. The genotyping of these mutations may be recommended to laboratory practice.

Key words: venous thrombosis, genetic risk factors, inherited thrombophilia.

Введение

Венозный тромбоэмболизм (ВТЭ), проявляющийся обычно как тромбоз глубоких вен (ТГВ) или тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА), встречается у 1–3 человек из 1000 в год. При этом летальные исходы наблюдаются в 5% случаев, как правило, в результате развития ТЭЛА [1]. ВТЭ безусловно является мультифакторальным заболеванием, в основе которого лежат как внешние, приобретенные, так и генетические факторы риска (табл. 1).

В современных представлениях о патогенезе ВТЭ существенное значение при дается наследственным нарушениям системы свертывания крови, т.е. гемостаза [1, 2]. Впервые термин «наследственная тромбофилия», т.е. первичная генетически обусловленная склонность к тромбозам, был применен в 1965 г., когда Egeberg описал семью с наследственным дефицитом антитромбина [3]. В 1969 г. было показано, что группа крови также имеет отношение к риску развития ВТЭ [4]. Наслед-

ственные дефициты протеина С и протеина S были идентифицированы как факторы риска ВТЭ в начале 1980-х гг. [5, 6], и, наконец, лейденская мутация фактора V и мутация G20210A в гене протромбина были открыты в 1994 г. и 1996 г., соответственно [7, 8]. Все известные на настоящий момент генетические факторы риска развития ВТЭ можно разделить на три группы — строгие, умеренные и слабые (strong, moderate and weak genetic risk factors), которые увеличивают относительный риск развития ВТЭ более чем в 10 раз, в 2–10 раз и в 1,5–2 раза, соответственно. Причем частота встречаемости в популяции строгих факторов менее 1%, умеренных — около 5%, слабых — более 10% [1]. Следует отметить, что рутинные оценочные тесты, использующиеся в лабораторной практике для определения состояния системы гемостаза, неинформативны для выявления тромбофилии, и в данном случае ведущая роль отдается молекулярно-генетической диагностике предрасположенности к ВТЭ.

Таблица 1. Факторы риска венозного тромбоэмболизма

Приобретенные	Генетические	Смешанные
Имобилизация Травма Хирургическое вмешательство Ортопедическая хирургия Онкология Оральные контрацептивы Гормон-заместительная терапия Антифосфолипидный синдром Миелопролиферативные заболевания Постановка венозного катетера Возраст Ожирение	Дефицит антитромбина Дефицит протеина С Дефицит протеина S Factor V Leiden G20210A F2 Дисфибриногенемия Фибриноген (G) 10034T Фибриноген (FGB) BclI, G(–455)A PAI-1 4G/5G, (CA)n, HindIII Фактор XIII Val34Leu Группа крови	Высокий уровень F VIII Высокий уровень F IX Высокий уровень F XI Уровень фибриногена Высокий уровень TFPI АПС-резистентность Гипергомоцистеинемия Высокий уровень PCI

PAI-1 — ингибитор активатора плазминогена 1 типа; TFPI — ингибитор пути тканевого фактора; PCI — ингибитор протеина С.

Генетические факторы риска развития ВТЭ

К строгим факторам риска ВТЭ относятся дефициты естественных антикоагулянтов — антитромбина, протеина С и протеина S. Частота встречаемости в популяции данных дефектов составляет менее 1%. Однако спектр мутаций, вызывающих дефицит антитромбина, протеина С или протеина S, очень широк, только для протеина С их найдено более 160 [9]. Наследственные дефекты естественных антикоагулянтов приводят к развитию тяжелых ВТЭ, дефицит антитромбина, протеина С и протеина S определяется лабораторными методами, генетический анализ обычно не применяется. К другим, менее известным, строгим факторам риска относятся такие компоненты антикоагулянтной системы как ингибитор пути тканевого фактора (TFPI), тромбомодулин и эндотелиальный рецептор протеина С (EPCR) [1]. Хотя генетические нарушения для данных белков мало изучены, известно, например, что снижение уровня TFPI на 10% ведет к увеличению риска развития ВТЭ вдвое [10], уровень растворимых тромбомодулина и EPCR в плазме крови также имеет отношение к развитию ВТЭ [11, 12].

Наиболее известными и хорошо изученными умеренными факторами риска развития ВТЭ являются лейденская мутация фактора V (Factor V Leiden или FVL) и мутация G20210A в гене протромбина (F2 G20210A). Мутация FVL лежит в основе АПС-резистентности, т. е. устойчивости к активированному протеину С, которая проявляется отсутствием ингибиторного эффекта при добавлении активированного протеина С в плазму больного. Данный феномен наблюдается у 40–60% пациентов с диагностированным тромбозом. В норме активированный протеин С расщепляет активный фактор V в трех позициях — Arg506, Arg306 и Arg679, а также инактивирует фактор VIIa [13–15]. Причиной АПС-резистентности является точечная мутация — замена G на A в 1691 нуклеотидной позиции гена фактора V свертывания крови, названная лейденской [7]. Результатом лейденской мутации является

замена аргинина на глутамин в 506 положении аминокислотной последовательности белка, что нарушает сайт расщепления фактора V активированным протеином С. Таким образом, не происходит регулирования образования тромбина по принципу обратной связи. Частота встречаемости данной мутации в европейской популяции колеблется от 2% до 7%, однако крайне редка в странах Азии и Африки [16]. У пациентов с тромбозом глубоких вен частота F V Leiden достигает 20%, относительный риск развития заболевания у гетерозиготных носителей возрастает в 7 раз, а у гомозиготных — в 80 раз [17]. Замена G на A в 20210 позиции 3'-нетранслируемого региона гена протромбина была обнаружена при изучении пациентов с семейной историей тромбофилии непонятного генеза. Тромбин, являясь основным ферментом коагуляционного каскада, не только превращает фибриноген в фибрин, но и активирует факторы V, VIII, XI и XIII, а также тромбоциты. Логично, что высокий уровень в крови предшественника тромбина — протромбина будет служить фактором риска тромбозов. У гетерозиготных носителей мутации F2 G20210A было отмечено повышение уровня протромбина на 50% [18]. Замена G/A 20210 локализована в области эндонуклеазного разрезания пре-мРНК и полиаденилирования. В 2001 г. Gehring et al. показали, что данная замена ведет к накоплению мРНК и увеличению синтеза белка [19]. F2 G20210A редко встречается в популяции (1–4%), но частота встречаемости полиморфизма среди больных с венозными тромбозами достигает 20% [20, 21]. Риск развития тромботических осложнений особенно растет при сочетании F2 G20210A с F V Leiden [22], а у женщин — при приеме оральных контрацептивов [23]. Кроме того, у пациентов с комбинацией лейденской мутации и полиморфизма в гене протромбина тромбозы развиваются в более молодом возрасте и имеют атипичную локализацию — тромбозы глубоких вен верхних конечностей, илеофemorальный тромбоз, ТЭЛА [24].

К умеренным факторам риска развития ВТЭ относится и группа крови. У лиц с 0 (AB0) группой крови наблюдается пониженный уровень фактора Виллебранда и фактора VIII свертывания крови, что снижает риск ВТЭ, соответственно индивидуумы с не 0 группой крови имеют в 2–4 раза больший риск развития ВТЭ [25, 26].

К слабым факторам риска развития ВТЭ следует отнести генетические дефекты фибриногена, нарушения в генах, кодирующих компоненты системы фибринолиза, умеренную гипергомоцистеинемию вследствие мутаций метилентетрагидрофолат редуктазы. Фибриноген состоит из трех полипептидных цепей: А α , В β и γ , связанных дисульфидными мостиками. Эти полипептиды кодируются тремя различными генами, локализованными на длинном плече 4 хромосомы [27]. Мутации фибриногена, ведущие к гипофибриногенемии и дисфибриногенемии, обычно не имеют клинических симптомов или ассоциируются с геморрагическим диатезом [28]. Редко, но дисфибриногенемия связана с гиперкоагуляционными состояниями. Описаны фибриноген Dusart (Paris V) и Chapel Hill III, устойчивый к действию плазмина, фибриноген Oslo I, для которого характерны короткое тромбиновое время, быстрая полимеризация и повышенная агрегация тромбоцитов, фибриноген New York I с делецией В β 9-72, ведущей к дефекту связывания фибрина с тканевым активатором плазминогена и, как следствие, к снижению активности плазминогена [29, 30]. В эксперименте *in vitro* синтез β цепи оказался фактором, ограничивающим скорость синтеза фибриногена [31], поэтому большинство исследований посвящено полиморфизмам β -фибриногена. Как правило, структура белка остается нормальной, мутации расположены в регуляторных областях. Наиболее изученными являются BclI полиморфизм 3' региона и промоторный полиморфизм –455G/A гена β -фибриногена. Они объясняют вариативность уровня фибриногена в 9% и 5% случаев, соответственно [32]. Связь –455G/A гена β -фибриногена с повышением уровня белка в крови подтверждается многими исследователями, причем наибольшая концентрация фибриногена наблюдается у лиц с AA генотипом, наименьшая — у нормальных гомозигот GG, гетерозиготы имеют промежуточный уровень [33–36]. Частота встречаемости A-аллеля гена β -фибриногена в различных регионах Европы составляет около 20% [34]. Важным компонентом системы фибринолиза является ингибитор активатора плазминогена типа 1 (PAI-1). Его врожденный дефицит сопровождается кровотечениями, а избыток — развитием тромбофилий [37, 38]. Ген, кодирующий PAI-1, локализован на длинном плече 7 хромосомы [39]. Описаны три полиморфизма этого гена — 3' HindIII, CA повторы в 3 интроне и инсерционно-делеционный полиморфизм 4G/5G в –675 позиции промотора [32, 40]. Полиморфизм промоторной области 4G/5G влияет на уровень PAI-1 в крови. У лиц с генотипом 4G4G активность PAI-1 и уровень антигена к PAI-1 выше, чем у индивидуумов с 5G5G генотипом,

гетерозиготы 4G5G имеют промежуточные значения этих показателей. Это связано с различной транскрипционной активностью 4G и 5G аллелей. 4G аллель связывается только с энхансером, тогда как аллель 5G связывается с энхансером и супрессором, соответственно скорость транскрипции в этом случае ниже [41]. Наличие 4G аллеля усиливает риск развития тромботических осложнений у индивидуумов с дефицитом естественных антикоагулянтов, в частности с дефицитом протеина S, и особенно у курящих [42].

Особое место среди причин развития ВТЭ занимает гипергомоцистеинемия. К настоящему времени многочисленные проспективные исследования и исследования «случай–контроль» подтвердили, что повышение уровня гомоцистеина плазмы крови является независимым фактором риска как для венозных тромбозов, так и для артериальных, включая коронарные и церебральные тромбозы [43, 44]. Участие гомоцистеина в развитии сердечно-сосудистых заболеваний и тромботических осложнений осуществляется по нескольким биологическим каналам, и в первую очередь через токсическое воздействие гомоцистеина на эндотелий сосудов. Гомоцистеин, попадая в кровь, продуцирует гомоцистин, смесь дисульфидов и тиолактон гомоцистеина. Образование перекиси водорода в ходе этих реакций определяет наиболее токсичные свойства гомоцистеина для сосудов, так как в результате ее действия повреждается эндотелий, обнажаются субэндотелиальные структуры и гладкомышечные клетки, что способствует активации тромбоцитов и инициации процесса коагуляции [45]. Кроме того, гомоцистеин активирует факторы XII и V свертывания крови, усиливает экспрессию тканевого фактора, подавляет экспрессию тромбомодулина и ингибирует инактивацию фактора Va активированным протеином C [46–48]. Все это способствует усиленному формированию тромбина. Причины, приводящие к нарушению метаболизма гомоцистеина, разнообразны. Большое значение в развитии гипергомоцистеинемии отводится пищевым факторам. Так как концентрация гомоцистеина в плазме обратно пропорциональна концентрации кофакторов реакций, регулирующих его обмен, — фолиевой кислоты, витаминов B₆ и B₁₂, то недостаточное потребление любого из этих веществ может привести к гипергомоцистеинемии. Повышение уровня гомоцистеина наблюдается при различных заболеваниях — анемиях, онкологических заболеваниях, хронической почечной недостаточности, гипотиреозе и псориазе, и при приеме лекарственных препаратов, которые уменьшают концентрацию в крови витаминов группы B, — цитостатиков, противоэпилептических средств, оральных контрацептивов. На уровень гомоцистеина оказывает влияние возраст (уровень растет с возрастом), пол (мужчины имеют более высокий уровень гомоцистеина) и состояние менопаузы у женщин (в постменопаузальном периоде уровень гомоцистеина выше) [48]. Кроме вышеперечисленных внешних факторов, разви-

тие гипергомоцистеинемии определяют наследственно обусловленные дефекты метаболизма гомоцистеина. Причиной умеренной гипергомоцистеинемии являются мутационные повреждения гена метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR), приводящие к снижению ферментативной активности. Ген MTHFR идентифицирован в 1993 г., он локализован на первой хромосоме — 1p36.3 [49]. Наиболее частой и самой изученной ферментопатией, приводящей к умеренному повышению уровня гомоцистеина в плазме, является миссенс-мутация C677T гена MTHFR. В результате этой замены в 222 позиции аминокислотной последовательности белка аланин меняется на валин и образуется вариант фермента с порогом термолабильности 55° С, обладающий вдвое сниженной активностью [50]. В различных этнических группах частота 677Т аллеля колеблется в среднем от 5% (Африка) до 40% (Евразия) [51]. Причем в Европе эта частота также сильно варьирует с Севера на Юг — от 19% в Англии до 55% в Испании. Мета-анализ показал, что гомозиготное носительство 677 Т аллеля гена MTHFR повышает риск ВТЭ примерно в 1,5 раза [52]. Но наиболее информативным для диагностики предрасположенности к ВТЭ является непосредственное определение уровня гомоцистеина в плазме крови.

Генетические факторы риска ВТЭ, значимые для Северо-Западного региона России

Данные генетических исследований, полученные за рубежом, нельзя напрямую аппроксимировать к российской популяции. Для того, чтобы выявить протромботические генетические факторы риска, значимые для Северо-Западного региона России и Санкт-Петербурга в том числе, нами был проведен анализ мутаций FVL, F2 G20210A, G(–455)A FGB и C677T MTHFR у 193 пациентов с ВТЭ и 282 здоровых доноров [2]. Все пациенты (99 женщин и 94 мужчины) имели в анамнезе один

или более случаев ВТЭ. Средний возраст первого тромботического случая $32,9 \pm 16,6$ г. (от 1 года до 68 лет). Тромбоз глубоких вен и тромбофлебит наблюдался у 140 пациентов, у 25 человек была изолированная ТЭЛА, 28 пациентов имели в анамнезе ВТЭ и ТЭЛА одновременно. В отдельную подгруппу был выделен 41 пациент с ранней манифестацией ВТЭ — первый тромботический эпизод в возрасте до 21 года (средний возраст $11,5 \pm 6,5$ г.). В контрольную группу здоровых доноров вошли 176 мужчин и 106 женщин, не имевших в анамнезе указаний на эпизоды ВТЭ и сердечно-сосудистые заболевания (средний возраст $41,1 \pm 5,2$ г.). Результаты проведенного анализа представлены в таблице 2. В нашем исследовании было показано, что FVL и F2 G20210A являются независимыми факторами риска развития ВТЭ, относительный риск развития ВТЭ составил — OR = 5,1 ($p = 0,0001$) и OR = 4,0 ($p = 0,005$), соответственно. В группе с ранней манифестацией ВТЭ частота GA20210 генотипа была в почти два раза выше, чем в общей группе пациентов, и достигала 12,2%, риск развития ВТЭ в раннем возрасте у носителей данного генетического дефекта возрастал более, чем в 7 раз (OR = 7,7, $p = 0,0003$). Рассмотрев варианты сочетанного носительства двух вышеуказанных мутаций в исследуемых группах (табл. 3), мы обнаружили, что в подгруппе с ранней манифестацией ВТЭ состояние FVL и F2 G20210A определялось в 5% случаев, что было практически в 2 раза выше, чем в общей группе пациентов с ВТЭ (2,6%), при этом в контрольной группе лиц с данным сочетанием аллелей не обнаружено. Очевидно, что такое сочетанное носительство обладает высоким тромбофильным потенциалом, и ВТЭ развивается в молодом возрасте. Распределение генотипов C677T MTHFR и G(–455)A FGB статистически не отличалось в исследованных нами группах. Указанные генетические дефекты сами по себе или в сочетании друг с другом не увеличи-

Таблица 2. Распределение исследованных генотипов у пациентов с ВТЭ и в контрольной группе

Мутация	Генотип	ВТЭ, n (%)	ВТЭ < 21 года, n (%)	Контроль, n (%)
FVL (G1691A)	GG GA	168 (87,0) 25 (13,0) ¹	35 (85,4) 6 (14,6) ²	274 (97,2) 8 (2,8)
G20210A F2	GG GA	180 (93,3) 13 (6,7) ³	36 (87,8) 5 (12,2) ⁴	277 (98,2) 5 (1,8)
G(–455)A FBG	GG GA AA	113 (58,5) 72 (37,3) 8 (4,2)	28 (68,3) 12 (29,3) 1 (2,4)	144 (51,1) 113 (40,1) 25 (8,8)
C677T MTHFR	CC CT TT	89 (46,1) 85 (44,1) 19 (9,8)	16 (39,0) 20 (48,8) 5 (12,2)	148 (52,5) 110 (39,0) 24 (8,5)

¹ OR = 5,1 (CI 95% 2,4–10,8), $p = 0,0001$; ² OR = 5,9 (CI 95% 2,1–16,1), $p = 0,0005$;

³ OR = 4,0 (CI 95% 1,5–10,6), $p = 0,005$; ⁴ OR = 7,7 (CI 95% 2,5–23,4), $p = 0,0003$.

Таблица 3. Частоты носительства сочетанных генотипов

Сочетанный генотип	Контроль, N = 282	ВТЭ, N = 193	ВТЭ < 21 года, N = 41	OR (CI 95%) для ВТЭ	OR (CI 95%) для ВТЭ < 21 года
(СТ+ТТ)MTHFR/FVL	4 (1,4%)	17 (8,8%)	4 (9,7%)	7,5 (2,9–20,2) ¹	10,3 (2,9–36,1) ²
(СТ+ТТ)MTHFR/GA 20210 F2	3 (1,1%)	4 (2,1%)	2 (4,9%)	2,4 (0,6–10,2)	7,3 (0,7–78,1)
FVL/GA 20210 F2	0 (0%)	5 (2,6%)	2 (5%)	—	—

¹ p = 0,0002; ² p = 0,0003.

вали риск развития ВТЭ. Однако был показан аддитивный эффект носительства FVL и Таллеля гена MTHFR, как в общей группе пациентов с ВТЭ, так и в подгруппе с ранней манифестацией ВТЭ. При этом риск развития тромбоза возрастал практически вдвое по сравнению с изолированным носительством FVL — OR = 7,5 и OR = 10,3, соответственно (p = 0,0002 и p = 0,0003). Данный факт находит логическое объяснение в работе Undas A. и коллег, где было показано, что ковалентное соединение гомоцистеина с активным фактором V является одной из причин АПС-резистентности при гипергомоцистеинемии [47].

Заключение

Таким образом, можно сделать заключение, что для Санкт-Петербурга и Ленинградской области значимыми генетическими дефектами, увеличивающими риск развития ВТЭ, являются: лейденская мутация фактора V свертывания крови, мутация G20210A гена протромбина и C677T MTHFR. Молекулярно-генетический анализ данных мутаций рекомендован Всероссийской ассоциацией по изучению тромбозов, геморрагий и патологии сосудов им. А.В. Шмидта–Б.А. Кудряшова и Российской ассоциацией медицинской лабораторной диагностики для выявления повышенного риска тромбозов.

Литература

- Rosendaal F.R., Reitsma P.H. Genetics of venous thrombosis // J. Thromb. Haemost., 2009; 7 (Suppl.1): 301–304.
- Шейдина А.М., Сироткина О.В., Пчелина С.Н. и соавт. Генетические факторы риска развития венозных тромбозов в молодом возрасте // Вопросы современной педиатрии, 2005; 4 (№ 2): 42–46.
- Egeberg O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia // Thromb. Diath. Haemorrh., 1965; 13: 516–530.
- Jick H., Slone D., Westerholm B. et al. Venous thromboembolic disease and ABO blood type // Lancet, 1969; i: 539–542.
- Griffin J.H., Evatt B., Zimmerman T.S., Kleiss A.J., Wideman C. Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease // J. Clin. Invest., 1981; 68: 1370–1373.
- Comp P.C., Nixon R.R., Cooper M.R., Esmon C.T. Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis // J. Clin. Invest., 1984; 74: 2082–2088.
- Bertina R.M., Koeleman B.P.C., Koster I. et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C // Nature, 1994; 369: 64–67.
- Poort S.R., Rosendaal F.R., Reitsma P.H., Bertina R.M. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene

is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis // Blood, 1996; 88: 3698–3703.

- Bertina R.M. Factor V Leiden and other coagulation risk factor mutations affecting thrombotic risk // Clin. Chem., 1997; 43: 1678–1683.
- Dahm A., van Hylckama Vlieg A., Bendz B., Rosendaal F., Bertina R.M., Sandset P.M. Low level of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) increase the risk of venous thrombosis // Blood, 2003; 101: 4387–4392.
- Espana F., Medina P., Navarro S., Estelles A., Aznar J. Inherited abnormalities in the protein C activation pathway // Pathophysiol. Haemost. Thromb., 2002; 32: 241–244.
- Uitte de Willige S., Van Marion V., Rosendaal F.R., Vos H.L., De Visser M.C., Bertina R.M. Haplotypes of the EPCR gene, plasma sEPCR levels and the risk of deep venous thrombosis // J. Thromb. Haemost., 2004; 2: 1305–1310.
- Dahlback B. Inherited thrombophilia: resistance to activated protein C as a pathogenic factor of venous thromboembolism // Blood, 1995; 85 (3): 607–614.
- Dahlback B., Carlsson M., Svensson P.J. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993; 90: 1004–1008.
- Hooper W.C., Evatt B.L. The role of activated protein C resistance in the pathogenesis of venous thrombosis // Am. J. Med. Sci., 1998; 316 (2): 120–128.
- Rees D.C., Cox M., Clegg J.B. Wold distribution of factor V Leiden // Lancet, 1995; 345: 1133–1134.
- Rosendaal F.R., Koster T., Vandenbroucke J.P., Reitsma P.H. High risk of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (activated protein C resistance) // Blood, 1995; 85: 1504–1508.
- Poort S.R., Rosendaal F.R., Reitsma P.H., Bertina R.M. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis // Blood, 1996; 88: 3698–3703.
- Gehring N.H., Frede U., Neu-Yilik G. et al. Increased efficiency of mRNA 3' end formation: a new genetic mechanism contributing to hereditary thrombophilia // Nature Genetics, 2001; 28: 389–392.
- Rosendaal F.R., Doggern C.J., Zivelin A. et al. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant // Thromb. Haemost., 1998; 79: 706–708.
- Leroyer C., Mercier B., Oger E. et al. Prevalence of the 20210A allele of the prothrombin gene in venous thromboembolism patients // Thromb. Haemost., 1998; 80: 49–51.
- Emmerich J., Rosendaal F.R., Cattaneo M. et al. Combined effect of factor V Leiden and prothrombin 20210A on the risk of venous thromboembolism — pooled analysis of 8 case-control studies including 2310 cases and 3204 controls. Study Group for Pooled-Analysis in Venous Thromboembolism // Thromb. Haemost., 2001; 86: 809–816.

23. Martinelli I., Taioli E., Bucciarelli P., Akhavan S., Mannucci P.M. Interaction between the G20210A mutation of the prothrombin gene and oral contraceptive use in deep vein thrombosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999; 19: 700–703.
24. Ehrenforth S., von Depka Prondsinski M., Aygoren-Pursun E., Nowak-Gottl U., Scharrer I., Ganzer A. Study of the prothrombin gene 20210GA variant in FV:Q506 carriers in relationship to the presence or absence of juvenile venous thromboembolism // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999; 19: 276–280.
25. Koster T., Blann A.D., Briet E., Vandenbroucke J.P., Rosendaal F.R. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis // *Lancet*, 1995; 345: 152–155.
26. Morelli V.M., De Visser M.C., Vos H.L., Bertina R.M., Rosendaal F.R. ABO blood group genotypes and the risk of venous thrombosis: effect of factor V Leiden // *J. Thromb. Haemost.*, 2005; 3: 183–185.
27. Kant J.A., Furnace A.J., Saxe D., Simon M.I., McBride O.W., Crabtree G.R. Evolution and organization of the fibrinogen locus on chromosome 4: gene duplication accompanied by transcription and inversion // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1985; 82: 2344–2348.
28. Kottke-Marchant K. Genetic polymorphisms associated with venous and arterial thrombosis // *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2002; 126: 295–304.
29. Wada Y., Lord S. A correlation between thrombotic disease: a specific fibrinogen abnormality (A alpha 554 Arg-Cys) in two unrelated kindred, Dusart and Chapel Hill III // *Blood*, 1994; 84: 3709–3714.
30. Al-Mondhry H.A.B., Bilezikian S.B., Nosse H.L. Fibrinogen New York: an abnormal fibrinogen associated with thromboembolism: functional evaluation // *Blood*, 1975; 45: 607–619.
31. Yu S., Sher B., Kudryk B., Redman C.M. Intracellular assembly of human fibrinogen // *J. Biol. Chem.*, 1984; 259 (10): 574.
32. Lane D.A., Grant P.J. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease // *Blood*, 2000; 95 (5): 1517–1532.
33. Scarabin P.-Y., Bara L., Ricard S. et al. Genetic variation at the β -fibrinogen locus in relation to plasma fibrinogen concentrations and risk of myocardial infarction // *Arteriosclerosis and Thrombosis*, 1993; 13: 886–891.
34. Humphries S.E., Ye S., Talmud P., Bara L., Wihlmsen L., Tirit L. European atherosclerosis research study: genotype at the fibrinogen locus (G-455A β -gene) is associated with differences in plasma fibrinogen levels in young men and women from different regions in Europe // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1995; 15: 96–104.
35. Maat de M.P.M., Kastelein J.J.P., Jukema J.W. et al. –455G/A polymorphism of the β -fibrinogen gene is associated with the progression of coronary atherosclerosis in symptomatic men // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1998; 18: 265–271.
36. Bom van der J.G., Maat de M.P.M., Bots M.L. et al. Elevated plasma fibrinogen cause or consequence of cardiovascular disease? // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1998; 18: 621–625.
37. Патрушев Л.И. Генетические механизмы наследственных нарушений гемостаза // *Биохимия*, 2002; 67 (1): 40–55.
38. Nilsson I.M., Ljungner H., Tengbom L. Two different mechanisms in patients with venous thrombosis and defective fibrinolysis: low concentration of plasminogen activator or increased concentration of plasminogen activator inhibitor // *Brit. Med. J.*, 1985; 290: 1453–1456.
39. Koeleman B.P.C., Reitsma P.H., Bakker E., Bertina R.M. Location on the human genetic linkage map of 26 genes involved in blood coagulation // *Thromb. Haemost.*, 1997; 77 (5): 873–878.
40. Sykes T.C.F., Fegan C., Mosquera D. Thrombophilia, polymorphisms, and vascular disease // *Molecular Pathology*, 2000; 53 (6): 300–306.
41. Dawson S.J., Wiman B., Hamsten A., Green F., Humphries S., Henney A.M. The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells // *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 10739–10745.
42. Zoller B., Garcia de Frutos P., Dahlback B. A common 4G allele of the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene as a risk factor for pulmonary embolism and arterial thrombosis in hereditary protein S deficiency // *Thromb. Haemost.*, 1998; 79: 802–807.
43. Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for arterial and venous thrombotic disease // *Int. J. Clin. Lab. Res.*, 1997; 27: 139–144.
44. Мухин Н.А., Моисеев С.В., Фомин В.В. Гипергомоцистеинемия как фактор риска развития заболеваний сердечно-сосудистой системы // *Клиническая медицина*, 2001; 6: 7–14.
45. Welch G., Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis // *N. Engl. J. Med.*, 1998; 338 (15): 1042–1050.
46. Спиридонов М.Г., Степанов В.А., Пузырев В.П. О роли полиморфных вариантов гена 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний // *Клиническая медицина*, 2001; 2: 10–16.
47. Undas A., Williams E.B., Butenas S., Orfeo T., Mann K.G. Homocysteine inhibits inactivation of factor Va by activated protein C // *The Journal of Biological Chemistry*, 2001; 276(6): 4389–4397.
48. Malinow M.R. Homocyst(e)ine and arterial occlusive disease // *J. Intern. Med.*, 1994; 236: 603–617.
49. Goyette P., Sumner J.S., Milos R. et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification // *Nature Genet.*, 1994; 7: 195–200.
50. Frost P., Blom H.J., Milos R. et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase // *Nature Genet.*, 1995; 10: 111–113.
51. Franco R.F., Araujo A.G., Guerreiro J.F., Elion J., Zago M.A. Analysis of the 677C-T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in different ethnic groups // *Thromb. Haemost.*, 1998; 79 (1): 119–121.
52. Arruda V.R., Zuben von P.M., Chiapparini L.C., Annichino-Bizzacchi J.M., Costa F.F. The mutation Ala677-Val in the methylene tetrahydrofolate reductase gene: a risk factor for arterial disease and venous thrombosis // *Thromb. Haemost.*, 1997; 77 (5): 818–821.

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ЛИКВИДАТОРОВ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АТОМНОЙ ЭЛЕКТРОСТАНЦИИ

С.С. АЛЕКСАНИН, О.М. АСТАФЬЕВ, Е.В. ПЛЕМЯННИКОВА, Н.В. МАКАРОВА

Федеральное государственное учреждение здравоохранения «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Обследовано 75 ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции с метаболическим синдромом. Изучена связь признаков метаболического синдрома с полиморфизмами шести генов-кандидатов сердечно-сосудистых заболеваний: ACE, MTHFR, PPARG2, LPL, AT2R1 и AnoE.

Выявлены ассоциации неблагоприятных генотипов с основными и дополнительными признаками МС. У ЛПА с наличием четырех и пяти неблагоприятных генотипов отмечено более тяжелое течение МС. Не установлено наличия ассоциаций полиморфизмов генов с разными вариантами нарушения обмена веществ.

Ключевые слова: метаболический синдром, гены-кандидаты, ликвидаторы последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции.

GENETIC ASPECTS OF METABOLIC SYNDROME IN PARTICIPANTS OF THE DISASTER FIGHT AT CHERNOBIL NUCLEAR STATION

S.S. ALEXANIN, O.M. ASTAFIEV, E.V. PLEMIANNIKOVA, N.V. MAKAROVA

Federal State Institution of Health care All-Russia A.M. Nikiforov Center of Emergency and Radiation medicine, Ministry for Emergency Situations of Russia; Saint-Petersburg, Russia

Summary. 75 participants of the disaster fight at Chernobyl nuclear station were examined. All patients had metabolic syndrome. The links between the metabolic syndrome development and polymorphisms of six candidate genes for cardiovascular diseases: ACE, MTHFR, PPARG2, LPL, AT2R1 and AnoE were investigated. The associations of unfavorable genotypes with the main and additional signs of metabolic syndrome were found. In patients having simultaneously four of five unfavorable genotypes more severe course of metabolic syndrome was revealed. No associations between genes polymorphism with different variants of metabolic changes were found.

Key words: metabolic syndrome, candidate genes, participants of the disaster fight at Chernobyl nuclear station.

Введение

Наличие метаболического синдрома (МС), включающего абдоминальное ожирение, повышенное содержание триглицеридов и уровня глюкозы в крови натощак, артериальную гипертензию (АГ) и пониженное содержание липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), значительно ухудшает прогноз сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и способствует ранней инвалидизации и высокой летальности. Выявление МС на ранних стадиях его формирования и проведение адекватной терапии повышает эффективность профилактических и лечебных мероприятий.

До настоящего времени нет единого мнения о пер-вопричине возникновения МС — является ли это состояние предопределенным генетически или развивается исключительно вследствие воздействия факторов внешней среды [16].

Имеется мнение, что развитие МС обусловлено существованием одного или группы взаимодействующих

между собой генов, которые могут одновременно способствовать развитию всех компонентов МС. В данном случае в своем дебюте МС рассматривается не как последовательность событий, а изначально как некое «аккордно» развивающееся состояние [4].

Вместе с тем, в патогенезе МС неокончательно установленными являются не только его отправная точка, но и механизмы взаимодействия основных компонентов его структуры и патогенеза, однако большинство исследователей сходятся во мнении, что в основе развития МС лежит инсулинорезистентность (ИР) [17].

При изучении естественного течения ИР в различных популяциях удалось установить, что в основе ее развития лежит сочетание двух компонентов: генетического, или наследственного, и приобретенного [2].

В последние годы активно ведется поиск генов-кандидатов ИР. Ген-кандидат — это такой ген, белковый продукт которого в соответствии со своей биологической активностью способен оказывать влияние на основные

этапы патологического процесса [8]. Гены-кандидаты, расположенные на хромосоме в непосредственной близости от локусов, для которых доказана связь с патологическим процессом, рассматриваются как «позиционные» гены-кандидаты. Большинство исследований с использованием метода сканирования генома подтверждают, что в развитии ИР и СД типа 2 принимают участие различные участки хромосом [20, 25].

Вместе с тем, имеющиеся литературные данные о роли полиморфизмов некоторых генов-кандидатов в развитии нарушений углеводного обмена крайне противоречивы. Так, S.A. Cole и соавт. (2000), изучая мексиканскую популяцию, выявили достоверную ассоциацию генотипа Ala/Ala с развитием абдоминального ожирения [29]. В то же время в ряде работ подобной связи не найдено [22, 28]. Более того, некоторые авторы полагают, что аллель Ala полиморфного маркера гена PPARG2 оказывает протективный эффект в отношении развития ИР и СД типа 2 [3, 14].

Таким образом, несмотря на значительные успехи в области генетики и молекулярной биологии, вопрос о влиянии генетических факторов на риск развития и особенности течения МС и ССЗ остается малоизученным.

Некоторые исследователи считают, что генетические факторы могут влиять на обмен глюкозы на различных этапах передачи инсулинового сигнала, а в сочетании с неблагоприятными факторами внешней среды — приводить к развитию ИР [23, 26].

В семьях больных сахарным диабетом типа 2 (СД типа 2) прослеживается наследственный компонент ИР. Так, родственники 1-й степени родства с нарушенной и даже нормальной толерантностью к глюкозе имеют выраженную ИР по сравнению с лицами контрольной группы. У монозиготных близнецов, имеющих СД типа 2, ИР также более выражена по сравнению с близнецами без СД [2].

В ряде исследований было показано, что имеющаяся у родственников 1-й степени родства при сохранении нормальной толерантности к глюкозе умеренная ИР значительно усугубляется при нарушении у них углеводного обмена. Аналогичные данные получены при проведении исследований у монозиготных близнецов [2].

Генетическую основу заболевания подтверждают случаи ИР внутри одной семьи. S.M. Haffner с соавторами (1988) показали, что ИР чаще встречается в тех семьях, где один или оба родителя страдают СД типа 2 [23]. Данные, полученные в исследованиях близнецов, свидетельствуют о том, что наследование ИР варьирует от 47 до 66% [27].

Генетическая предрасположенность к развитию СД типа 2 установлена многими исследователями в этой области, однако очень сложно отличить влияние генов самих по себе от формирования фенотипа под воздействием факторов внешней среды [2, 23, 27].

Если принять концепцию о том, что генетические факторы оказывают влияние на действие инсулина, возникает вопрос, какое количество генов оказывает такое влияние: небольшая группа основных генов, каждый с большим количеством эффектов, или большая группа «полигенов», каждый с небольшим эффектом?

С.М. Шумахер и соавт. изучали пациентов белой расы с гиперинсулинемией (ГИ) натошак [25]. Используя комплексный сегрегационный анализ, они показали, что в каждом третьем случае имелась мутация только одного гена. Похожие результаты получили Б.Д. Митчел и соавт. (1995) в исследованиях мексикано-американской популяции [21]. К.Л. Эдвартс и соавт. (1997) в исследовании женщин-близнецов белой расы показали, что основные проявления МС (ГИ, дислипидемия и АГ) могут быть врожденными [24]. Несмотря на эти данные, убедительных доказательств того, что на уровень инсулина влияет небольшая группа основных генов, пока нет.

Широкая распространенность МС и её рост среди населения, в том числе у ликвидаторов последствий аварии (ЛПА) на Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС), требуют выделения «групп высокого риска» по развитию атеросклероза и его осложнений, а также СД типа 2 с помощью самого раннего метода — метода генотипирования для своевременного проведения профилактических мероприятий на доклинической стадии признаков МС.

Целью работы явилась оценка связи признаков МС с полиморфизмами генов-кандидатов ССЗ у ЛПА на ЧАЭС с МС.

Материал и методы исследования

Обследовано 75 ЛПА мужского пола с МС в возрасте от 45 до 75 лет (средний возраст $58,41 \pm 0,95$), участвовавших в аварийно-восстановительных работах на ЧАЭС в 1986–1987 гг. и получивших дозу внешнего облучения (по картам учета доз) от 0,2 до 24,8 сЗв. Верификация МС проводилась согласно диагностическим критериям IDF от 2005 г. [19], по которым к основным относятся: абдоминальное ожирение (окружность талии >94 см для мужчин), повышение АД $>130/85$ мм рт. ст. или антигипертензивная терапия, повышение уровня триглицеридов $>1,7$ ммоль/л или специфическое лечение дислипидемии, повышение уровня глюкозы венозной плазмы натошак $>5,6$ ммоль/л или ранее выявленный СД типа 2 и пониженное содержание холестерина липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) $<1,03$ ммоль/л для мужчин или специфическое лечение. Дополнительными признаками МС, наиболее часто используемыми в клинической практике, в том числе и в нашем исследовании, явились: повышение уровня ЛПНП и апопротеина В, исследование эндотелиальной дисфункции, микроальбуминурия, повышенный С-реактивный белок.

В исследование не включались ЛПА с тяжелыми поражениями сердечно-сосудистой системы (ССС):

с гипертонической болезнью (ГБ) 3 ст., с врожденными пороками сердца, с указаниями на перенесенные заболевания эндокарда и миокарда, с хронической сердечной недостаточностью 4 ф. к. по NYHA, с инсулинозависимым СД, с обострением хронических заболеваний на момент обследования, не относящихся к болезням системы кровообращения, с онкологическими заболеваниями и психическими расстройствами.

Для изучения роли связи ассоциаций генетических факторов с отдельными признаками МС в качестве генов-кандидатов отобраны 6 генов, белковые продукты

которых участвуют в регуляции АД, в обмене липидов, углеводов, а также в метаболизме гомоцистеина. Краткая характеристика генов, отобранных полиморфных маркеров, состав их генотипов и др. приведены в таблице 1.

С целью оценки метаболического статуса и структурно-функциональных изменений ССС всем ЛПА были проведены следующие исследования:

- антропометрические измерения (рост, вес, индекс массы тела (ИМТ), окружность талии (ОТ));

Таблица 1. Характеристика исследованных генов-кандидатов ССЗ

Название гена	Обозначение	Полиморфный маркер	Генотипы	Неблагоприятные генотипы	Функция в организме [8]
Ген ангиотензин-превращающего фермента [5,18]	ACE	—	DD ID II	DD — повышает риск эндотелиальной дисфункции, развития АГ, ИМ	<i>Регуляция АД</i> Превращает ангиотензин I в ангиотензин II и инактивирует брадикинин. Является ключевым ферментом РААС, регулирует сокращение сосудов, всасывание ионов и воды, синтез альдостерона, катехоламинов, вазопрессина
Ген метилентетрагидрофолат редуктазы [5, 12, 13]	MTHFR	C677T	CC CT TT	TT — ↑ уровень гомоцистеина в крови → эндотелиальная дисфункция	<i>Метаболизм гомоцистеина</i> Катализирует превращение 5, 10-метилентетрагидрофолата в 5-метилентетрагидрофолат — субстрат для реметилирования гомоцистеина в метионин
Ген рецепторов пролифератов пероксисом [7, 10, 11]	PPARG2	Pro12Ala	Pro-пролин (C) Ala-аланин (G) Pro/Pro (C/C) Pro/Ala (C/G) Ala/Ala (G/G)	Pro, Ala — ожирение, инсулинорезистентность, риск СД типа 2	<i>Молекулярные сигнальные пути</i> Участвует в дифференцировке адипоцитов. Влияет на уровни ДАД, глюкозы крови, инсулина, С-пептида
Ген липопротеинлипазы [6, 7]	LPL	Ser447Ter	Аллель Ter-G Аллель Ser -C Ser/Ser (C/C) Ser/Ter (C/G) Ter/Ter (G/G)	Ter/Ter — риск развития ИБС	<i>Метаболизм липидов</i> Превращение ЛПОНП в ЛПВП путем гидролиза триглицеридов
Ген рецептора ангиотензина II, тип 1 [8, 9]	AT2R1	A1166C	AA AC CC	CC — риск развития ИБС, коррелирует с нарушением функции эндотелия	<i>Регуляция АД</i> Связывает ангиотензин II, опосредует вазоконстрикторную функцию: стимуляция синтеза и секреции альдостерона, канальцевая реабсорбция ионов натрия, снижение почечного кровотока, пролиферация гладкомышечных клеток, гипертрофия миокарда, стимуляция высвобождения вазопрессина и торможение образования ренина
Ген аполипопротеина E [5, 7]	ApoE	E2/E3/E4	e2/e2 e2/e3 e3/e2 e3/e3 e3/e4 e4/e4	E4 — повышение общего холестерина, β-липопротеинов, снижение антиоксидантной активности (риск ССЗ); e4/e4 — ИБС в 3 раза чаще, чем при e3/e3; E2 — связан со снижением общего холестерина и β-липопротеинов	<i>Метаболизм липидов</i> Участвует в доставке холестерина в составе липопротеиновых частиц, в удалении холестерина и ЛПВП из мембран клеток и в образовании антиатерогенных ЛПВП

- оценка метаболических параметров (липидный спектр, АпоА, АпоВ, свободные жирные кислоты, глюкоза крови, мочевая кислота, глюкозотолерантный тест (ГТТ), гликемический профиль, гликозилированный гемоглобин, инсулин, С-пептид, микроальбуминурия, проба Реберга, экскреция мочевой кислоты);
- оценка функционального статуса и структурных изменений ССС (ЭКГ, суточное мониторирование ЭКГ и АД, дуплексное сканирование БЦА, эхо-КГ).

Все обследования проводились в стационарных условиях на базе ФГУЗ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России в 2007 г.

Лабораторные исследования проведены на базе сектора клинического лабораторно-диагностического отдела (начальник сектора и научно-исследовательского отдела клинико-биохимических исследований д. м. н. проф. Н.Н. Зыбина), в научно-исследовательской лаборатории иммунохимического анализа (начальник лаборатории д. м. н. Л.Б. Дрыгина), в научно-исследовательском отделе генетической диагностики (начальник отдела д. б. н., проф. Н.М. Слозина).

Статистическую обработку материалов исследования проводили с использованием пакета прикладных программ "Statistic for Windows" с определением средних значений, стандартной ошибки, среднего квадратичного отклонения, вариационного размаха, максимальных и минимальных значений. Достоверность различия средних показателей оценивалась с помощью t-критерия по Стьюденту.

Результаты

При анализе ассоциаций изучаемых признаков МС с генотипами изучаемых генов проводилось сопостав-

ление среднего значения признака МС в группе с про- тективным генотипом и в группе ЛПА с неблагоприятными аллелем или генотипом с последующим расчетом значения «р» по критерию Стьюдента.

При оценке характера распределения аллелей и генотипов в зависимости от лабораторных и инструментальных показателей были установлены следующие ассоциации:

- аллеля Ala полиморфного маркера Pro12Ala гена PPARG2 с уровнем глюкозы крови через 60 мин после нагрузки 75 г глюкозы ($p = 0,002$);
- генотипа DD гена ACE — с уровнем ЛПВП ($p = 0,023$), КА ($p = 0,027$), ДАД ночью ($p = 0,029$). При этом ДАД ночью более 90 мм рт. ст. выявлен только у лиц — носителей D-аллеля или DD-генотипа гена ACE;
- генотипа AC полиморфного маркера A1166C гена AT2R1 с АпоА/АпоВ ($p = 0,062$);
- аллеля e4 полиморфного маркера E2/E3/E4 гена АпоЕ с уровнем глюкозы крови натощак ($p = 0,146$), САД днем ($p = 0,031$), САД ночью ($p = 0,006$), ДАД ночью ($p = 0,002$).

Не установлено ассоциаций генотипа Ser/Ter полиморфного маркера Ser447Ter гена LPL, а также генотипа C/T и T/T полиморфного маркера C677T гена MTHFR.

Таким образом, при нарушении липидного обмена определялись следующие неблагоприятные аллели и генотипы: аллель D и генотип DD гена ACE, генотип AC полиморфного маркера A1166C гена AT2R1.

Нарушение углеводного обмена сопровождали аллель Ala полиморфного маркера Pro12Ala гена PPARG2 и аллель e4 гена АпоЕ.

Отчетливая связь неблагоприятных аллелей с повышением АД выявлена для генов ACE и АпоЕ.

Таблица 2. Результаты мультигенного тестирования образцов ДНК исследуемых ЛПА на ЧАЭС с МС

Ген, полиморфизм						n
ACE	MTHFR	PPARG2	LPL	AT2R1	АПОЕ	
	C677T	Pro12Ala	Ser447Ter	A1166C	E2/E3/E4	
ID	CT	Pro/Ala	Ser/Ter	AC		1
ID	CT	Pro/Ala	Ser/Ter		e3/e4	1
ID	TT	Pro/Ala		AC	e3/e4	1
ID	CT	Pro/Ala		AC	e3/e4	1
ID	CT		Ser/Ter	AC	e3/e4	1
ID	CT		Ser/Ter	AC	e3/e4	1
DD	CT	Pro/Ala		AC		4
ID	CT	Pro/Ala		AC		5
DD		Pro/Ala		AC	e3/e4	1
ID		Pro/Ala		AC	e3/e4	1
ID	CT	Pro/Ala	Ser/Ter			1
ID	CT	Pro/Ala			e3/e4	1

Далее нами была проведена оценка количества выявленных неблагоприятных аллелей у каждого пациента по 6 исследуемым генам. Так, было установлено, что наиболее часто у ЛПА с МС встречается сочетание двух и трех неблагоприятных аллелей (в 31,5 и 30,1% случаев, соответственно). Не выявлено ни одного случая носительства 6 неблагоприятных генотипов.

В 24% случаев установлено наличие 4 и 5 неблагоприятных генотипов. Для этих лиц были характерны: более ранний дебют АГ, больший стаж АГ, большая частота наличия СД типа 2, большая частота ИБС в анамнезе, нарушение белкового обмена, наличие атеросклеротических бляшек в БЦА. Характеристика генотипов этих ЛПА представлена в таблице 2.

Особое внимание привлек случай сочетания у одного ЛПА двух наиболее неблагоприятных генов-кандидатов ССЗ [8]: DD-генотипа гена ACE и TT-генотипа полиморфного маркера С677Т гена МТНFR. Этот пациент выделялся среди прочих ранним дебютом АГ (с 40 лет) и наличием уже в возрасте 51 года признаков выраженного распространенного атеросклероза сосудов нижних конечностей и атеросклероза брахиоцефальных сосудов, осложненного образованием атеросклеротических бляшек; нарушением жирового, углеводного и белкового обменов. При этом степень абдоминального ожирения была минимальной (ОТ 95 см, ИМТ 25,6 кг/мІ).

Анализ перечня признаков МС (основных и дополнительных) у изучаемых ЛПА позволил сформировать из них 4 группы, характеристика которых представлена в таблице 3.

Целесообразность группировки ЛПА заключается в том, что лица, входящие в эти группы, имеют различный спектр признаков МС. Так, общим для всех групп является наличие двух основных признаков МС: Ож и АГ, а далее имеются различия: для первой группы характерно лабораторно подтвержденное нарушение углеводного обмена; для второй — липидного обмена; для третьей — нарушение липидного обмена, представленное не основным, а дополнительным признаком МС; для четвертой — сочетанное нарушение углеводного и липидного обменов.

С целью выявления ассоциаций различных нарушений обменных процессов с изучаемыми генотипами проведен анализ частоты полиморфизма отобранных генов-кандидатов среди ЛПА четырех групп (табл. 4.)

При этом не выявлено статистически достоверных различий распределения изучаемых генотипов шести генов в зависимости от спектра и интенсивности нарушения обмена веществ у ЛПА. Вместе с тем, обращает на себя внимание два обстоятельства:

- частота наличия протективного генотипа ІІ гена ACE у ЛПА с нарушением липидного обмена (группы 2, 3 и 4) была в 2,3 раза меньше, чем среди ЛПА первой группы (у 15,4 и 34,8%, соответственно; $p = 0,059$);
- количество ЛПА с неблагоприятным аллелем е4 гена АпоЕ среди лиц с лабораторно подтвержденными нарушениями углеводного и липидного обменов также было в 2,3 раза больше, чем среди ЛПА с нарушением углеводного обмена (32,7 и 14,3%, соответственно; $p = 0,110$).

Таким образом, результаты изучения генетических аспектов МС у ЛПА на ЧАЭС свидетельствуют: во-первых — о наличии ассоциаций генотипов исследуемых генов с нарушениями липидного и углеводного обменов, с повышением АД; более тяжелым течением МС при наличии у ЛПА 4 и 5 неблагоприятных генотипов; во-вторых — об отсутствии принципиальных отличий полиморфизма генов при разных вариантах нарушения обмена веществ; в-третьих — о целесообразности увеличения исследуемой выборки для устранения влияния на результаты случайных факторов.

Литература

1. Багмет А.Д. І/D-полиморфизм гена ангиотензинпревращающего фермента, морфофункциональное состояние сердца и суточный профиль артериального давления у молодых мужчин с артериальной гипертонией / А.Д. Багмет, Н.С.ШестопаІ // Тер. архив. — 2005. — Т. 39. — С. 16–20.
2. Балаболкин М.І. Роль ІР в патогенезе сахарного диабета 2-го типа / М.І. Балаболкин // Тер. арх. — 2003. — № 1. — С. 72–77.
3. Бирюкова Е.В. Молекулярно-генетические, гормонально-метаболические и клинические аспекты метаболического синдрома:

Таблица 3. Краткая клинико-лабораторная характеристика изучаемых групп ЛПА с МС

№ группы	Наличие основных и дополнительных признаков МС	Численность группы
1	Основные: Ож, АГ, СД типа 2 / НТГ	23
2	Основные: Ож, АГ, ЛПВП и/или ТГ	13
3	Основные: Ож, АГ Дополнительные: ЛПНП, АпоВ, исследование эндотелиальной дисфункции, микроальбуминурия	26
4	Основные: Ож, АГ, ЛПВП и/или ТГ, СД типа 2 / НТГ	13

Таблица 4. Распределение изучаемых генотипов среди ЛПА исследуемых групп (%)

Ген	Полиморфный маркер	Генотип	Группы				Р
			1	2	3	4	
ACE		DD	13,0	30,8	23,1	19,2	>0,05
		ID	52,2	53,8	61,5	65,4	
		II	34,8	15,4	15,4	15,4	
MTHFR	C677T	CC	42,9	38,5	46,2	42,3	>0,05
		CT	47,6	53,8	38,5	46,2	
		TT	9,5	7,7	15,4	11,5	
	A1298C	AA	52,4	61,5	38,5	53,8	>0,05
		AC	42,9	38,5	38,5	46,2	
		CC	4,8	0,0	23,1	0,0	
PPAG2	Pro12Ala	Pro/Pro	66,7	69,2	61,5	50,0	>0,05
		Pro/Ala	33,3	30,8	38,5	50,0	
		Ala/Ala	0,0	0,0	0,0	0,0	
LPL	Ser447Ter	Ser/Ser	90,5	100,0	92,3	84,6	>0,05
		Ser/Ter	9,5	0,0	7,7	15,4	
		Ter/Ter	0,0	0,0	0,0	0,0	
AT2R1	All66C	AA	38,1	30,8	53,8	42,3	>0,05
		AC	61,9	69,2	46,2	57,7	
		CC	0,0	0,0	0,0	0,0	
ApoE	E2/E3/E4	e2/e2	4,8	0,0	0,0	0,0	>0,05
		e2/e3	19,0	7,7	7,7	19,2	
		e3/e2	0,0	0,0	0,0	3,8	
		e3/e3	61,9	61,5	61,5	42,3	
		e3/e4	14,3	23,1	30,8	34,6	
		e4/e4	0,0	7,7	0,0	0,0	

автореф. ... дис. док. мед. наук / Бирюкова Е.В. ; [ГОУ Московский государственный медико-стоматологический университет]. — М., 2009. — 48 с.

4. Бойцов С.А. Связь основных параметров метаболического сердечно-сосудистого синдрома со степенью нарушения углеводного обмена и выраженностью абдоминального ожирения у мужчин / С.А. Бойцов, А.В. Голощапов // Артериальная гипертензия. — 2003. — Т. 9, № 2. — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: http://old.consilium-medicum.com/media/gyper/03_02/47.shtml (21.10.2010).

5. Выявление наследственной предрасположенности к заболеваниям кровеносной и сердечно-сосудистой систем // [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://file:///F:/> (10.11.2010).

6. Генетическая предрасположенность к неблагоприятному течению ишемической болезни сердца у больных после острого коронарного синдрома / В.Б. Закирова [и др.] // Кардиология. — 2008. — Т. 48, № 11. — С. 14–18.

7. Генетические предикторы неблагоприятного течения заболевания у больных ишемической болезнью сердца высокого риска по данным 2-летнего наблюдения / Д.А. Затеищikov [и др.] // [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://file:///F:/тер,тер.Wht> (10.11.2010).

8. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины / под ред. В.С. Баранова. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. — 528 с.

9. Дисфункция эндотелия: связь с полиморфизмом гена рецептора (тип 1) ангиотензина II у больных ишемической болезнью сердца / Л.О. Минушкина [и др.] // [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://file:///F:/научная сеть>, 4 с. (10.11.2010).

10. Клинико-генетические детерминанты нарушений углеводного обмена у больных с артериальной гипертензией и избыточной массой тела / Ж.Д. Кобалава [и др.] // [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://file:///F:/Издательство «МедиаСфера»>. wht, 4 с. (10.11.2010).

11. Мкртумян А.М. Молекулярно-генетические особенности, характер метаболизма глюкозы и функция эндотелия у больных метаболическим синдромом русской популяции / А.М. Мкртумян, Е.В. Бирюкова, Н.В. Маркина // Сахарный диабет. — 2008. — Т. 4, № 41. — С. 26–30.

12. Оценка индивидуального риска эссенциальной артериальной гипертензии на основе комплексного изучения механизмов ее развития / Т.Ю. Кузнецова [и др.] // Медицинский академический журнал. — 2006. — Том 6, № 1. — С. 102–112.

13. Пузырев В.П. Синтропные гены болезней сердечно-сосудистого континуума / В.П. Пузырев, В.А. Степанов, О.А. Макеева // Медицинская генетика. — 2009. — № 3. — С. 31–38.

14. Расин А.М. Пероксисом пролифератор-активирующие рецепторы и их роль в системном воспалении, атерогенезе, артериальной гипертензии и хроническом обструктивном заболевании

легких / А.М. Расин, И.П. Кайдашев, М.С. Расин // Украинский терапевтический журнал. — 2006. — № 2. — С. 100–108.

15. Распределение аллельных вариантов генов, определяющих склонность к тромбофилии, у мужчин, перенесших ИМ в молодом возрасте / О.В. Сироткина [и др.] // Медицинский академический журнал. — 2004. — Т. 4, № 1. — С. 29–35.

16. Ройтберг Г.Е. Метаболический синдром / Г.Е. Ройтберг. — М.: МЕДпресс-информ, 2007. — 223 с.

17. Чазова И.Е. Метаболический синдром / И.Е. Чазова, В.Б. Мычка // Consilium medicum. — 2002. — Т. 4, № 11. — С. 587–590.

18. Чугунова Д.Н. Генетические особенности формирования суточного профиля артериального давления // [Электронный ресурс]. — Режим доступа: whtml: file // F: Генетические особенности формирования суточного профиля артериального давления, 6 с. (10.11.2010).

19. Barclay L. Medscape Medical News. New definition of the metabolic syndrome: a newsmaker interview with Sir George Alberti, MA, DPhil, BMBCh. Available at: <http://www.medscape.com/viewarticle/504382> Accessed July 8, 2005.

20. Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics / R.R. Williams [et al.] // Am. J. Cardiol. — 1993. — Vol. 72. — P. 171–176.

21. Evidence for a major gene affecting post-challenge insulin levels in Mexican-Americans / B.D. Mitchell [et al.] // Diabetes. — 1995. — Vol. 44. — P. 284–289.

22. Genetic Variants Associated with Insulin Resistance and Metabolic Syndrome in Young Indians with Myocardial Infarction /

N. Ranjith [et al.] // Metabolic Syndrome and Related Disorders. — 2008. — Vol. 6, N 3. — P. 209–214.

23. Haffner S.M., Fong D., Hazuda H.P. et al. // Metabolism. — 1988. — Vol. 37. — P. 338–345.

24. Heritability of factors of the insulin resistance syndrome in women twins / K.L. Edwards [et al.] // Genetic Epidemiol. — 1997. — Vol. 14. — P. 241–253.

25. Major gene effect for insulin levels in familial NIDDM pedigrees / M.C. Schumacher [et al.] // Diabetes. — 1992. — Vol. 41. — P. 416–423.

26. Stern M.P. Genetics of insulin resistance. In Contemporary endocrinology. Insulin resistance: the metabolic syndrome X / M.P. Stern, B.D. Mitchell // Humana Press Inc. — Totowa, New Jersey, USA. — 1999. — P. 3–18.

27. Stern M.P. Strategies and prospects for finding insulin resistance genes / M.P. Stern // J. Clin. Invest. — 2000. — Vol. 106. — P. 323–327.

28. The PPARgamma Pro12Ala polymorphism is not associated with body mass index or waist circumference among Hispanics from Colorado / T.L. Nelson [et al.] // Ann. Nutr. Metab. — 2007. — Vol. 51, N 3. — P. 252–257.

29. The Pro12Ala variant of peroxisome proliferator-activated receptor — G2 (PPARG2) is associated with measures of obesity in Mexican Africans / S.A. Cole [et al.] // Int. J. Obes. — 2000. — V. 24. — P. 522–524.



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

АНАЛИЗ АВТОРЕФЕРАТОВ ДИССЕРТАЦИЙ, ПРЕДСТАВЛЕННЫХ В ДИССЕРТАЦИОННЫЕ СОВЕТЫ РОССИИ В 1997–2008 ГГ., ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ 14.03.10 – «КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА»

В.И. ЕВДОКИМОВ

Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России,
Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Представлен анализ 269 диссертаций по специальности 14.03.10 – «Клиническая лабораторная диагностика», рассмотренных в диссертационных советах России в 1997–2008 гг., которые составили 0,4% медицинского и 0,2% биологического отраслевого российского потока диссертаций. Полиномиальный тренд динамики диссертаций при прогностичности модели ($R^2 = 0,87$) и достоверной способности показывает их ежегодный рост. За изученный период представлялось к защите (22 ± 4) диссертационных работы в год, в последнее пятилетие (2004–2008 гг.) – (33 ± 2) работы. Докторские диссертации составили 17,5%, отношение докторских и кандидатских диссертаций – 1 : 4,7, что несколько выше отраслевых данных. Диссертаций, отнесенных к медицинским наукам, было 83,3%, к биологическим наукам – 16,7%. Динамика отраслевой структуры диссертаций показывает в последние годы некоторое уменьшение вклада биологических диссертаций. На стыке наук (по двум специальностям) было 53,9% работ. Вторые специальности в 72,6% относились к клинической медицине, в 15,8% – к медико-биологическим, 9,5% – к биологическим, 2,1% – к другим наукам.

Ключевые слова: науковедение, диссертация, диссертационный совет, медицинские и биологические диссертации, клиническая лабораторная диагностика.

ANALYSIS OF DISSERTATION THESES PRESENTED TO DISSERTATION COUNCILS OF RUSSIA IN 1997–2008 (SPECIALITY 14.03.10 — “CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS”)

V.I. EVDOKIMOV

Federal State Institution of Health Care All-Russia A.M. Nikiforov Center of Emergency and Radiation
medicine, Ministry for Emergency Situations of Russia; Saint-Petersburg, Russia

Summary. Analysis of 269 dissertation theses (speciality 14.03.10 — “Clinical laboratory diagnostics”) presented to dissertation councils of Russia in 1997–2008 was performed. These represented 0,4% of all medical and 0,2% of all biological dissertation theses in Russia. Polynomial trend of dynamic changes of dissertations number in conditions of model prognostic value ($R^2 = 0,87$) and significant capability shows the annual growth. During the period examined (22 ± 4) works per year were presented, during the last 5 years (2004–2008) — (33 ± 2) works. Doctor of science thesis represented 17,5% of all works, ratio between Doctor of Science and Candidate of Science (PhD) dissertations theses was — 1 : 4,7. This ratio is a little bit higher than average indicator in medical and biological fields. Most of these theses were related to medical sciences — 83,3%, less — 16,7% — to biological ones. The dynamic changes of dissertations structure showed the trend to decrease of number of works, related to biological specialities. 53,9% of works were attributed to two specialities. The second speciality in 72,6% of cases concerned clinical medicine, in 15,8% — medical biological items, 9,5% — biological and 2,1% — other sciences.

Key words: science study, dissertation thesis, dissertation council, medical and biological dissertations, clinical laboratory diagnosis.

Введение

Диссертация (лат. «dissertatio» — рассуждение, исследование) — особый вид индивидуального исследовательского труда, который представляется для публичной защиты с целью получения ученой степени кандидата или доктора наук.

Основные требования, предъявляемые к диссертационным работам, содержит «Положение о порядке присуждения ученых степеней» [5]. Диссертация долж-

на быть написана единолично, содержать совокупность новых научных результатов и положений, иметь внутреннее единство и свидетельствовать о личном вкладе автора в науку. Таким образом, диссертация является не просто научной работой, но и квалификационной работой, в которой автор показывает свой научный и квалификационный вклад. Важным этапом подготовки диссертационной работы является составление автореферата диссертации. Значимость автореферата диссер-

тации обуславливается тем, что он за 1 месяц до защиты диссертации по списку рассылается в ведущие библиотеки страны, и судить о диссертации научные работники будут, как правило, на основании содержания автореферата.

В Номенклатуру специальностей научных работников специальность «Клиническая лабораторная диагностика» с шифром 14.00.46 введена в 1996 г. Первой диссертацией в России по указанной научной специальности была работа В.Л. Эмануэля [12], представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук. В 2010 г. в номенклатуру введены новые шифры специальностей по медицинским наукам (табл. 1) и пересмотрены паспорта научных специальностей.

Таблица 1

Извлечение из Номенклатуры специальностей научных работников (приказ Минобрнауки РФ от 25 февраля 2009 г. № 59) [6]

Шифр	Название специальности	Отрасль наук
14.00.00	Медицинские науки	
14.01.00	Клиническая медицина	
14.02.00	Профилактическая медицина	
14.03.00	Медико-биологические науки	
14.03.10	Клиническая лабораторная диагностика	Медицинские, биологические
14.04.00	Фармацевтические науки	

Шифр специальности: 14.03.10 — «Клиническая лабораторная диагностика».

Формула специальности. Клиническая лабораторная диагностика — научная специальность, занимающаяся разработкой лабораторных методов объективного химического и морфологического анализа биологических материалов (жидкостей, тканей, клеток) человеческого организма; оценкой с помощью этих методов состояния органов, физиологических систем организма и их резервных возможностей; выявлением отклонений от нормы и патологических нарушений в деятельности органов, систем организма человека; установлением диагнозов болезней и осуществлением лабораторного контроля за динамикой патологического процесса, результатами лечения и реабилитации. Совершенствование методов клинической лабораторной диагностики будет способствовать правильной диагностике и эффективности лечения заболеваний, обеспечивать сохранение здоровья населения, сокращение сроков временной нетрудоспособности и реабилитации заболевших.

Области исследований

1. Основы теории клинической лабораторной диагностики:

- определение качественных и количественных характеристик морфологических, химических и

других параметров биологических материалов для оценки функционального состояния тканей и систем организма;

- выявление физиологического напряжения, ранних продромальных отклонений, нарушений при патологических состояниях (инфекционных, воспалительных, некротических, опухолевых, иммунных, наследственных и др.);
- лабораторные исследования для диагностики и функциональной диагностики заболеваний, характеристики тяжести, периода и срока болезни, прогноза, контроля за лечением и его результатами;
- установление взаимосвязи структуры и функции клеток и тканей, их связи с клиническими симптомами;
- оценка физиологических лабораторных параметров организма и состава биожидкостей, биоритмов (суточных, сезонных, поясных), влияния различных факторов (социальных, биологических, механических, химических, физических) на возникновение и характер патологического процесса. Лабораторные критерии патологических, компенсаторных и адаптационных реакций и процессов, направленных на восстановление исходного состояния организма. Разработка на основании клиничко-лабораторных исследований теоретической базы для поисковых диагностических программ.

2. Химические исследования биологических жидкостей:

- эндогенные вещества: субстраты, метаболиты химических процессов в организме, ферменты и их кофакторы, гуморальные агенты, биологически активные вещества, витамины, факторы системы гемостаза и др.;
- экзогенные вещества и их производные в организме: токсические вещества (токсины, металлы, спирты), лекарственные соединения;
- лабораторные показатели, их соотношение при различных заболеваниях и зависимость от степени поражения органов, систем и клеток, течения патологического процесса;
- изучение закономерностей внутри- и межиндивидуальных колебаний химического и клеточно-го состава биоматериалов.

3. Морфологические (цитологические) исследования биоматериала:

- цитологические (гематологические) исследования клеточного состава крови, костного мозга, тканей и органов, секретов и экскретов организма, трансудатов и экссудатов;
- цитохимические маркеры клеток, их особенности;
- морфологические и цитохимические изменения клеток пунктатов органов, отпечатков тканей,

соскобов, отсосов, биожидкостей при инфекционных, аллергических, гематологических заболеваниях, коллагенозах, реактивных, иммунных, воспалительных, некротических, опухолевых и других патологических процессах.

4. Иммунологические исследования:

- антигены эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, белков плазмы, HLA-системы;
- иммунокомпетентные клетки;
- антитела естественные, иммунные и аутоиммунные, иммунные комплексы;
- медиаторы иммунитета;
- оценка иммунного статуса организма;
- патогенез возникновения и развития аутоиммунных и аллергических заболеваний, иммунодефицитных состояний;
- онкоиммунология;
- механизмы развития инфекционного иммунитета. Мониторинг иммунокорригирующей терапии.

5. Микробиологические исследования:

- изучение простейших, гельминтов, грибов и других возбудителей различных паразитарных заболеваний;
- взаимодействие микро- и макроорганизмов;
- бактериоскопические исследования на микобактерии туберкулеза, актиномицеты, эхинококк и др.;
- идентификация инфекционной патологии и определение чувствительности микрофлоры к лекарственным препаратам.

6. Цитогенетические и молекулярно-генетические методы исследований:

- исследования структуры хромосомного набора или отдельных хромосом делящихся соматических, мейотических или интерфазных клеток;
- выявление вариаций в структуре участка ДНК, расшифровка первичной последовательности оснований;
- цитогенетические исследования в акушерско-гинекологической практике, детской патологии, онкологии и гематологии;
- оценка мутагенных воздействий.

7. Методы лабораторной диагностики:

- оптимизация и разработка новых методов исследования химического и клеточного состава биоматериалов, определение требований и показателей к условиям их применения;
- установление референтных величин, предела колебаний каждого параметра биологических жидкостей и нормальных колебаний для отдельных контингентов (по возрасту, полу, роду занятий, среде обитания);
- определение диагностической информативности лабораторных тестов и их колебаний.

8. Основы организационного обеспечения клинической лабораторной диагностики:

- нормы организации и критерии оценки деятельности клинико-диагностической лаборатории;
- основы лабораторной информатики;
- факторы, влияющие на результаты лабораторных исследований, диагностические и лечебные мероприятия, биоритмы и др.;
- логические и вероятностные алгоритмы лабораторной диагностики, выявление внутри- и межлабораторных ошибок.

Отрасль наук: биологические науки, медицинские науки.

Решением ВАК Минобрнауки РФ по специальности 14.03.10 — «Клиническая лабораторная диагностика» имеют право принимать к защите диссертации на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук 5 диссертационных советов (табл. 2).

Таблица 2

Список диссертационных советов, принимающих к рассмотрению диссертации по специальности 14.03.10 — «Клиническая лабораторная диагностика» [9]

Шифр совета	Отрасль наук	Название учреждения, город
Д 205.001.01	Медицинские, биологические	Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никитина (Санкт-Петербург)
Д 215.002.08	Медицинские	Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург)
Д 208.071.04	Медицинские	Российская медицинская академия последипломного образования Росздрава (Москва)
Д 208.072.08	Медицинские	Российский государственный медицинский университет Росздрава (Москва)
Д 215.002.08	Медицинские	Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Росздрава (г. Саратов)

Материалы и методы

Целью настоящей работы явился анализ авторефератов диссертаций по специальности 14.03.10 — «Клиническая лабораторная диагностика», поступивших в порядке обязательного экземпляра в Российскую книжную палату (Москва), Российскую государственную

библиотеку (РГБ, Москва), Российскую национальную библиотеку (РНБ, Санкт-Петербург), Центральную научную медицинскую библиотеку (ЦНМБ, Москва) в 1997–2008 гг. В качестве показателей отраслевого потока диссертационных работ по медицинским и биологическим наукам в России взяты данные В.Н. Неволина [4] и Интернет-ресурса «Кадры высшей научной квалификации» [2].

Объект исследования составили базы данных библиографического указателя «Летопись авторефератов диссертаций» [3] и электронных каталогов перечисленных библиотек [8, 10, 11]. Указанные ранее учреждения входят в перечень обязательной рассылки авторефератов. По ряду причин их годовое количество в фондах хранения различается иногда до 10–15%.

Имеются также отличия в алгоритмах электронного поиска. Например, электронный каталог РГБ содержит каталог авторефератов диссертаций, электронный каталог РНБ в опции «Профессиональный поиск» позволяет задавать шифр специальности автореферата, аналогичный алгоритм поиска содержит электронная база данных «Российская медицина» ЦНМБ.

Результаты и их анализ

Динамика российского потока диссертаций по медицинским и биологическим наукам представлена на рисунке 1. Полиномиальный ряд динамики медицинских диссертаций, рассмотренных в диссертационных советах России, при высоком коэффициенте детерминации ($R^2 = 0,92$) и со статистической значимостью напоминает инвертированную U-кривую с наивысшими показателями в 2004–2006 гг. и прогнозирует их некоторое уменьшение на ближайшую перспективу. Полиномиальный ряд биологических диссертаций приближается к прямой линии. В 1997–2008 гг. ежегодно в диссоветах России рассматривались по (4400 ± 250) медицинских и по (1500 ± 75) биологических диссертаций.

Из общего количества российских медицинских (около 53 тыс.) и биологических (17,7 тыс.) авторефератов диссертаций за 1997–2008 гг. изучены 269 работ по специальности 14.03.10 — «Клиническая лабораторная диагностика» [1]. Динамика авторефератов представлена на рисунке 2. Полиномиальный тренд динамики авторефератов диссертаций по специальности в 1997–2008 гг. при прогностичности модели ($R^2 = 0,87$) и достоверной способности показывает их ежегодный рост, а в 2002–2008 гг. — относительную стабилизацию количества рассматриваемых работ. Ежегодно в 1997–2008 гг. представлялись к защите по (22 ± 4) диссертационных работы, в пятилетие (2004–2008 гг.) — по (33 ± 2) работы.

Структура диссертационных работ по специальности 14.03.10 показывает (рис. 3), что в 1997–2008 гг. на соискание ученой степени кандидата наук подготовлены 82,5% диссертаций, доктора наук — 17,5%. За пятилетие в 2004–2008 гг. ежегодно рассматривались (29 ± 2) дис-

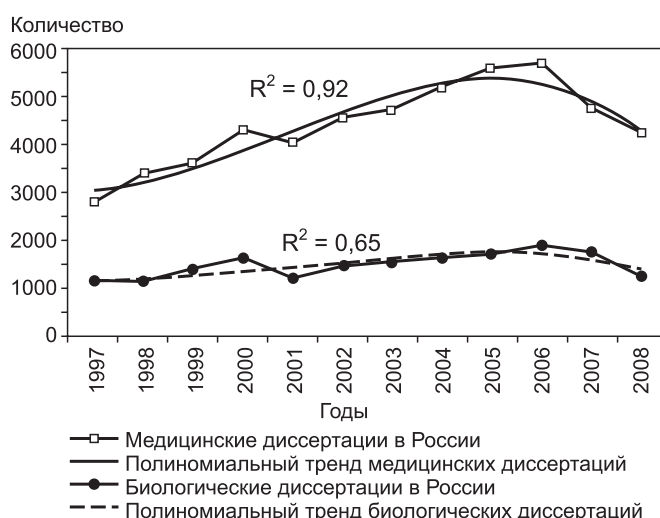


Рис. 1. Динамика количества медицинских и биологических диссертаций, представленных в диссертационные советы России



Рис. 2. Динамика диссертаций в 1997–2008 гг. по специальности 14.03.10 — «Клиническая лабораторная диагностика»

сертации на соискание ученой степени кандидата наук и (5 ± 1) диссертация — доктора наук. Отношение докторских и кандидатских диссертаций составило 1 : 4,7, что несколько выше отраслевых данных. Например, в 1997–2008 гг. в отраслевом диссертационном медицинском потоке в России докторских диссертаций было 16,2%, в отраслевом биологическом потоке — 16,7%, а соотношение кандидатских и докторских соответственно 1 : 5,2 и 1 : 5,0.

В рассмотренном потоке диссертаций работ, отнесенных к медицинским наукам, было 83,3%, к биологическим наукам — 16,7% (см. рис. 3). Медицинские диссертации по специальности 14.03.10 — «Клиническая лабораторная диагностика» — составляли 0,4% работ отраслевого потока диссертаций в России, а биологические — около 0,3%. Обобщенная структура диссертаций, включающая ученую степень и отрасль науки, показана на рисунке 4.

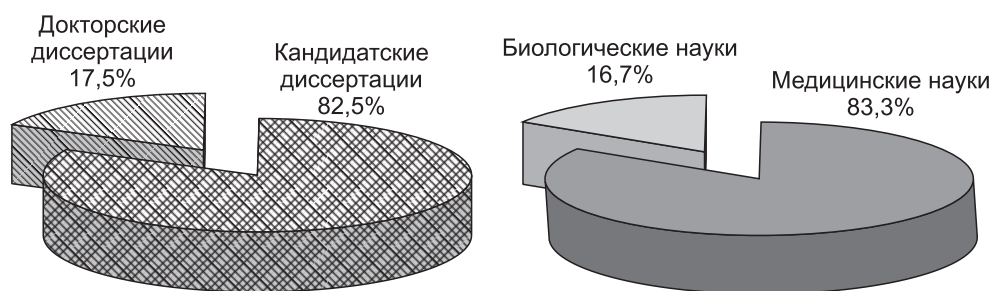


Рис. 3. Структура диссертаций по специальности 14.03.10 в 1997–2008 гг.

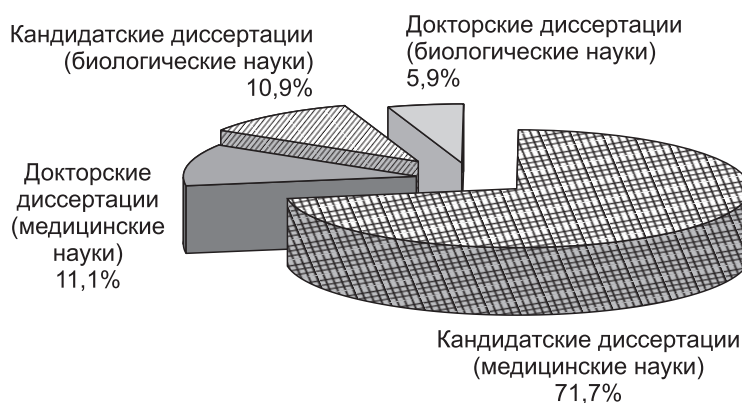


Рис. 4. Обобщенная структура диссертаций по специальности 14.03.10

Анализ динамики структуры медицинских и биологических диссертаций, рассмотренных в диссертационных советах по специальности 14.03.10, выявил уменьшение вклада биологических диссертаций, что указывает на недостаточное обращение диссертантов к фундаментальным проблемам лабораторной диагностики живых систем (рис. 5).

Для того чтобы сравнить количественную динамику работ, рассмотренных в диссертационных советах в России по медицинским и биологическим наукам и по

специальности 14.03.10 — «Клиническая лабораторная диагностика», абсолютные показатели количества диссертаций переведены в относительные — проценты. За 100% взяты данные диссертаций, рассмотренных в относительно стабильный период (2000 г.).

Данные процентной динамики суммы диссертаций по медицинским и биологическим наукам в России и медицинских и биологических диссертаций по специальности 14.03.10 — «Клиническая лабораторная диагностика» показали статистически значимую сопряжен-



Рис. 5. Динамика структуры медицинских и биологических диссертаций по специальности 14.03.10

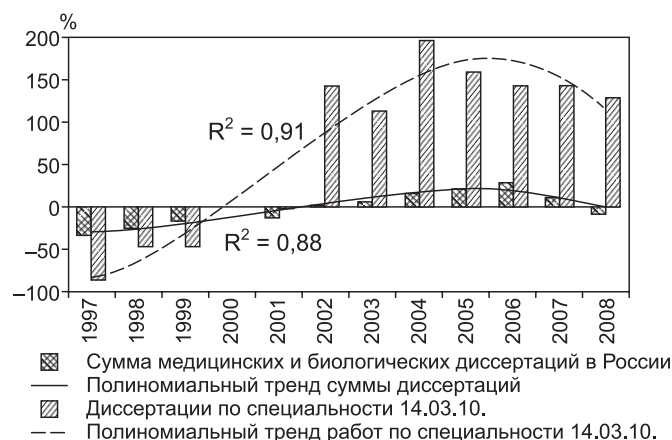


Рис. 6. Динамика суммы диссертаций по медицинским и биологическим наукам в России и по специальности 14.03.10 (2000 г. — 100%)

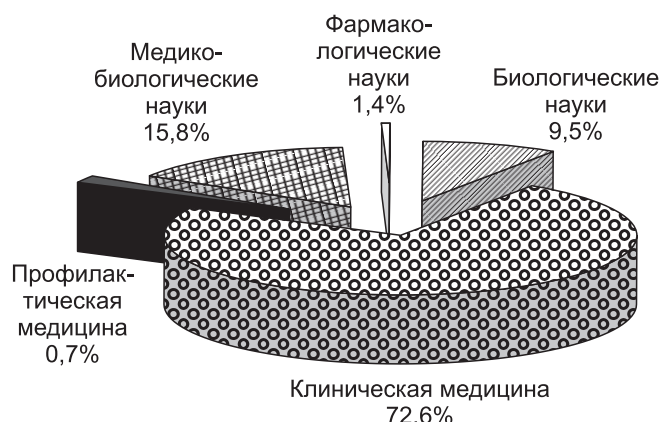


Рис. 7. Обобщенная структура диссертационных работ, выполненных на стыке наук

ность ($r=0,81$; $p<0,01$). На рисунке 6 видно, что в отличие от отраслевых работ диссертации по специальности 14.03.10 имеют более выраженную положительную количественную динамику.

Диссертаций по одной специальности (14.03.10 — «Клиническая лабораторная диагностика») за исследуемый период было 46,1%, на стыке наук (по двум специальностям) — 53,9%. Специальности, при которых диссертации выполнены на стыке наук, представлены в таблице 3.

Структура диссертационных работ, выполненных в 1997–2008 гг., на стыке наук по обобщенным группам специальностей номенклатуры (ред. 2010 г.), представлена на рисунке 7. Как и следовало ожидать, наибольшее количество диссертаций, рассматриваемых на стыке наук, относились к клинической медицине (72,6%).

На рисунке 8 представлена динамика вклада диссертаций, выполненных на стыке наук, в общее количество диссертаций. Полиномиальный тренд динамики диссертаций, выполненных на стыке наук, при прогностичности модели ($R^2 = 0,89$) и достоверной способности показывает увеличение их вклада в структуру диссертаций 14.03.10. Например, в 2008 г. в общей структуре диссертаций около 77% составляли работы на стыке наук.

Значительное количество диссертаций, подготовленных на стыке наук, стирает грани специальности «Клиническая лабораторная диагностика», превращая ее в сугубо прикладную науку. Например, этот феномен явился одной из причин исключения медицинских и биологических диссертаций в 2010 г. из отраслей наук, по которым могут представляться диссертации по специальности 05.13.01 — «Системный анализ, управление и обработка информации».

Возможно, указанное явление могло возникнуть в результате незначительного количества диссертационных советов, которым было предоставлено право рассматривать диссертационные работы по специальности 14.03.10 — «Клиническая лабораторная диагностика», в связи с чем диссертанту приходилось «изыски-



Рис. 8. Структура динамики диссертаций, выполненных по специальности 14.03.10 — «Клиническая лабораторная диагностика»

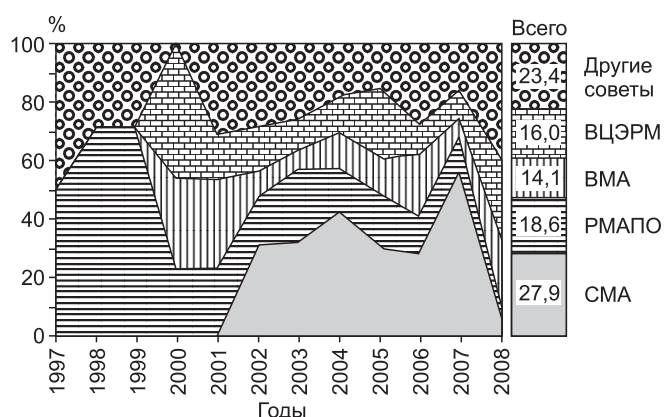


Рис. 9. Динамика диссертаций по специальности 14.03.10, рассмотренных в диссертационных советах России

вать» вторую специальность в территориально близком диссертационном совете.

На рисунке 9 представлена динамика количества диссертаций по специальности 14.03.10 — «Клиническая лабораторная диагностика», рассмотренных в диссертационных советах России. Оказалось, что около 28% диссертационных работ были рассмотрены в диссертационном совете при Саратовском медицинском университете им. В.И. Разумовского (СМУ), около 19% — в Российской медицинской академии последипломного образования (РМАПО), 16% — во Всероссийском центре экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России (ВЦЭРМ), 14% — в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (ВМА), более 23% — в других диссертационных советах России.

Заключение

Анализ авторефератов диссертаций показал, что по специальности 14.03.10 — «Клиническая лабораторная диагностика» в 1997–2008 гг. были рассмотрены в дис-

Специальности, при которых диссертации выполнены на стыке наук

Шифр специальности		Специальность	Год												Всего, п (%)
новый	старый		1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	
03.01.04	03.00.04	Биохимия	1					1	1	2	1			1	7 (5)
03.02.03	03.00.07	Микробиология										2	2	1	5 (3)
03.03.01	03.00.13	Физиология						1							1 (1)
05.26.02	05.26.02	Безопасность в чрезвычайных ситуациях				1									1 (1)
14.01.01	14.00.01	Акушерство и гинекология				3			3	1		1	1	1	10 (7)
14.01.02	14.00.03	Эндокринология		1											1 (1)
14.01.03	14.00.04	Болезни уха, горла, носа												1	1 (1)
14.01.04	14.00.05	Внутренние болезни				1	1	1			1				4 (3)
14.01.05	14.00.06	Кардиология						1			2			2	5 (3)
14.01.07	14.00.08	Глазные болезни			1		1	1		1					4 (3)
14.01.08	14.00.09	Педиатрия						1		1		1	1	1	5 (3)
14.01.09	14.00.10	Инфекционные болезни							2	2				2	6 (4)
14.01.10	14.00.11	Кожные и венерические болезни					2		1	1	2	2	2	2	12 (8)
14.01.11	14.00.13	Нервные болезни						3	3	2	1	1	1	1	12 (8)
14.01.12	14.00.14	Онкология									2	1	1		4 (3)
14.03.02	14.00.15	Патологическая анатомия								1		2			3 (2)
14.03.03	14.00.16	Патологическая физиология					3			1					4 (3)
14.01.14	14.00.21	Стоматология										1	1		2 (1)
14.03.05	14.00.24	Судебная медицина								1					1 (1)
14.03.06	14.00.25	Фармакология, клиническая фармакология			1							1	1	1	4 (3)
14.01.16	14.00.26	Фтизиатрия								1				1	2 (1)
14.01.17	14.00.27	Хирургия								2	1	3	3		9 (6)
14.01.21	14.00.29	Гематология и переливание крови						2	1			2	2	2	9 (6)
14.02.03	14.00.33	Общественное здоровье и здравоохранение											1	1	2 (1)
14.01.19	14.00.35	Детская хирургия							1						1 (1)
14.03.09	14.00.36	Клиническая иммунология и аллергология						1		2	2	1	1	2	9 (6)
14.01.22	14.00.39	Ревматология												1	1 (1)
14.01.23	14.00.40	Урология												1	1 (1)
14.01.24	14.00.41	Трансплантология и искусственные органы							2		1	1	1		5 (3)
14.01.25	14.00.43	Пульмонология		1						2		1	1		5 (3)
14.01.27	14.00.45	Наркология						1							1 (1)
14.01.26	14.00.44	Сердечно-сосудистая хирургия								2					2 (1)
14.01.28	14.00.47	Гастроэнтерология												1	1 (1)
14.03.11	14.00.51	Восстановительная медицина, курортология и физиотерапия							1		1				2 (1)
14.01.30	14.00.53	Геронтология и гериатрия						1						1	2 (1)
14.04.02	15.00.02	Фармацевтическая химия, фармакогнозия							1						1 (1)
Итого															145 (100)

сертационных советах 269 диссертаций, которые составили 0,4% всех медицинских и около 0,3% биологических диссертаций в России.

Полиномиальный тренд динамики диссертаций при прогностичности модели ($R^2 = 0,87$) и достоверной способности показывает их ежегодный рост. Ежегодно за изученный период представлялось к защите (22 ± 4) диссертационных работы, в последнее пятилетие (2004–2008 гг.) — (33 ± 2) работы. Докторские диссертации составили 17,5%, отношение докторских и кандидатских диссертаций — 1 : 4,7, что несколько выше отраслевых данных. Диссертаций, отнесенных к медицинским наукам, было 83,3%, к биологическим наукам — 16,7%. Динамика отраслевой структуры диссертаций в послед-

ние годы показывает некоторое уменьшение вклада биологических диссертаций.

На стыке наук (по двум специальностям) было 53,9% работ, что стирает границы специальности, превращая ее в сугубо прикладную науку. Вторые специальности в 72,6% относились к клинической медицине, в 15,8% — к медико-биологическим, 9,5% — к биологическим, 2,1% — к другим наукам.

Наиболее оптимальным алгоритмом нахождения библиографических сведений об авторефератах диссертаций является анализ их поиска в электронных каталогах трех библиотек (РГБ, РНБ, ЦНМБ), входящих в перечень обязательной рассылки авторефератов.

Литература

1. Евдокимов В.И. Клиническая лабораторная диагностика : библиогр. указ. дис. (1997–2008) / Всерос. центр экстрен. и радиацион. медицины им. А.М. Никитина МЧС России. — СПб. : Политехника-сервис, 2009. — 76 с.
2. Кадров высшей научной квалификации [Электронный ресурс]. — <http://science-expert.ru>, вход свободный.
3. Летопись авторефератов диссертаций : гос. библиогр. указ. / Рос. кн. палата. — М. — 1997–2008 ; 2009. — № 1–6.
4. Неволин В.Н. О некоторых тенденциях в аттестации кадров высшей научной квалификации // Вестн. Минобразования РФ. — 2005. — № 5. — С. 2–6.
5. Об утверждении Единого реестра ученых степеней и ученых званий и Положения о порядке присуждения ученых степеней : постановление Правительства РФ от 30 янв. 2002 г. № 74 (в ред. постановлений Правительства РФ от 12.08.2003 № 490, от 20.04.2006 № 227, от 04.05.2008 № 330, от 02.06.2008 № 424) [Электронный ресурс] / ВАК Минобрнауки РФ. — <http://vak.ed.gov.ru/ru/docs/>, вход свободный.
6. Об утверждении номенклатуры специальностей научных работников : приказ Минобрнауки РФ от 25.02.2009 № 59 (в ред. приказа от 16.11.2009) [Электронный ресурс] / ВАК Минобрнауки РФ. — <http://vak.ed.gov.ru/ru/docs/>, вход свободный.
7. Паспорт специальности 14.03.10 — «Клиническая лабораторная диагностика» [Электронный ресурс] / ВАК Минобрнауки РФ. — <http://www.extech.ru/library/spravo/vak/>, вход свободный.

8. Российская медицина [Электронный ресурс] / Моск. гос. мед. акад. им. И.М. Сеченова, Центр. науч. мед. б-ка. — <http://www.scsml.rssi.ru>, вход свободный.

9. Список советов по защите докторских и кандидатских диссертаций, полномочия которых продлены приказами Рособнадзора на период действия Номенклатуры специальностей научных работников, утвержденной приказом Минобрнауки России от 25.02.2009 № 59 [на 7.12.2009 г.] [Электронный ресурс] // ВАК Минобрнауки РФ. — <http://vak.ed.gov.ru/ru/dissovet/>, вход свободный.

10. Электронный каталог [Электронный ресурс] / Рос. гос. б-ка. — <http://www.rsl.ru/ru/s97/s339/>, вход свободный.

11. Электронный каталог [Электронный ресурс] / Рос. нац. б-ка. — <http://www.nlr.ru/poisk/>, вход свободный.

12. Эмануэль В.Л. Комплексная оценка трахеобронхиального содержимого и диагностика ренальных дисфункций у больных хроническими неспецифическими заболеваниями легких : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : спец. 14.00.46 «Клинич. лаб. диагностика» / Эмануэль Владимир Леонидович ; [С.-Петерб. гос. мед. ун-т им. И.П. Павлова, Рос. мед. акад. постдиплом. образования]. — СПб., 1997. — 61 с.