



№1 (37) апрель 2011

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

**Джавлах Е. С.**

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 ООО «ИПК «КОСТА»

Санкт-Петербург,  
Новочеркасский, д. 58  
Тираж 1000 экз.  
Заказ №



# КЛИНИКО - ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНСИЛИУМ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

**В июне 2011 года в Санкт-Петербурге будет проходить научно-практическая конференция «Биохимия, биофизика, информация – три кита лабораторной медицины».**

*Важнейшими особенностями нынешнего этапа познания человеком законов естествознания являются ориентация на решение глобальных общечеловеческих проблем и одновременный переход на уровень микромира.*

*Между данными направлениями научно-практической деятельности объективно складывается противоречие. С одной стороны, имеет место глобализация знаний, а с другой – усиление дифференциации знаний.*

*Если решать глобальные задачи на локальном уровне, то получится необъятная научная задача, решение которой достаточно сложно, в то время как сосредоточение на локальном уровне не обеспечит решение глобальных общечеловеческих проблем, поскольку приводит к методологической и методической замкнутости научно-практической деятельности.*

*В полной мере данное утверждение относится и к лабораторной медицине. По своему характеру лабораторная медицина является в высшей степени синкретической, глобально интегрируя закономерности диагностики различных заболеваний человека. Однако по своему содержанию лабораторная диагностика характеризуется все большей дифференциацией объекта (болезни больного) и методов диагностики.*

*Устранение противоречия между этими двумя современными тенденциями возможно только при междисциплинарном подходе к проблеме в целом и, безусловно, интеграция различных наук, в данном случае биохимии, биофизики и информационных технологий.*

*Конференция «Биохимия, биофизика, информация – три кита лабораторной медицины» является очень современной, а ее программа в полной мере отвечает современной тенденции интеграции научных усилий специалистов разных профилей. Можно надеяться, что такое объединение позволит плодотворно обсудить различные аспекты актуальных медицинских задач. Хотелось бы подчеркнуть, что лабораторная медицина сама по себе является интегрирующим звеном для врачей всех специальностей (лабораторная диагностика в кардиологии, неврологии, нефрологии, пульмонологии и т. д.). Таким образом, можно сказать, лабораторная медицина является основой эффективности врачебного искусства.*

Д. т. н., профессор, академик РАН, директор Института электрофизики и электроэнергетики РАН, профессор Петербургского государственного технического университета, член бюро Отделения энергетики, машиностроения, механики и процессов управления РАН, член Президиума Санкт-Петербургского научного центра РАН

Ф.Г. Рутберг

**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА  
«КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНСИЛИУМ»**

- Антонова И.Н.,**  
д. м. н., профессор,  
СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова
- Афанасьев Б.В.,**  
д. м. н., профессор,  
СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова
- Вавилова Т.В.,**  
д. м. н., СПбГМА им. И.И. Мечникова
- Власов Т.Д.,**  
д. м. н., профессор,  
СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова
- Звартау Э.Э.,**  
д. м. н., профессор,  
СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова
- Зыбина Н.Н.,**  
д. б. н., профессор,  
ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС  
(Санкт-Петербург)
- Зуева Е.Е.,**  
д. м. н., СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова
- Карпищенко А.И.,**  
д. м. н., профессор, СПб ГУЗ МИАЦ
- Ларионова В.И.,**  
д. м. н., профессор, СПбГМА им. И. И. Мечникова
- Лиознов Д.А.,**  
д. м. н., доцент, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова
- Матвеев С.В.,**  
д. м. н., профессор, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова
- Смирнов А.В.,**  
д. м. н., профессор, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова
- Сухоруков В.С.,**  
д. м. н., профессор,  
НИЛ общей патологии  
НИИ педиатрии и детской хирургии РАМН (Москва)
- Хоровская Л.А.,**  
д. м. н., СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова
- Чухловин А.Б.,**  
д. м. н., СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова
- Эмануэль В.Л.,**  
д. м. н., профессор,  
СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова
- Ягмуров О.Д.,**  
д. м. н., профессор, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова

**РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ ЖУРНАЛА  
«КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНСИЛИУМ»**

- Айламазян Э.А.,**  
д. м. н., профессор, академик РАМН, з. д. н. РФ,  
НИИ акушерства и гинекологии  
им. Д.О. Отта РАМН (Санкт-Петербург)
- Дидур М.Д.,**  
д. м. н., профессор, ФГУ «Федеральный центр сердца,  
крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова»  
(Санкт-Петербург)
- Дубина М.В.,**  
д. м. н., профессор, член-корреспондент РАН,  
СПбФТНОЦ РАН
- Дюк В.А.,**  
д. т. н., профессор, СПИИРАН (Санкт-Петербург)
- Каллер Андерс,**  
д. м. н., профессор, Каролинский госпиталь  
(Стокгольм, Швеция)
- Мазуров В.И.,**  
д. м. н., профессор, член-корреспондент РАМН,  
з. д. н. РФ, СПбМАПО
- Петришев Н.Н.,**  
д. м. н., профессор, академик МАНВШ, академик  
РАЕН, з. д. н. РФ, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова
- Сапрыгин Д.Б.,**  
д. м. н., профессор, РМАПО (Москва)
- Соколовский Е.В.,**  
д. м. н., профессор,  
СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова
- Стивен Хау Ян Вонг,**  
Ph. D., DABCC (TC), FACS,  
председатель секции протеомики  
и молекулярной патологии AACCC (США)
- Бринкманн Т.,**  
адъюнкт-профессор клинической биохимии  
медицинского факультета  
Университета Рура в Бохуме (Германия)
- Цыган В.Н.,**  
д. м. н., профессор, член-корреспондент РАЕН,  
ВМА им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург)
- Шляхто Е.В.,**  
д. м. н., профессор, член-корр. РАМН, з. д. н. РФ,  
ФГУ «Федеральный центр сердца, крови  
и эндокринологии им. В.А. Алмазова»  
(Санкт-Петербург)

### КОНСИЛИУМ У ПОСТЕЛИ БОЛЬНОГО

<i>Линн М. Микеш, Шейла И. Кроув, Грант Ц. Буллок, Нэнси И. Тейлор, Дэвид И. Брунс</i> ЦЕЛИАКИЯ, УСТОЙЧИВАЯ К БЕЗГЛЮТЕНОВОЙ ДИЕТЕ? .....	4
<i>Leann M. Mikesh, Sheila E. Crowe, Grant C. Bullock, Nancy E. Taylor, David E. Bruns</i> CELIAC DISEASE REFRACTORY TO A GLUTEN-FREE DIET? .....	10
<i>Н.В. Вохмянина</i> ЦЕЛИАКИЯ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ .....	15
<i>В.К. Яковлева</i> ЗНАЧЕНИЕ ДИАГНОСТИКИ ДИСБАКТЕРИОЗА КИШЕЧНИКА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ.....	20
<i>В.В. Вельков</i> ЦИСТАТИН С: НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ И НОВЫЕ ЗАДАЧИ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ (ЧАСТЬ 2) .....	27
<b>КОНСИЛИУМ У ПОСТЕЛИ БОЛЬНОГО</b>	
<i>М.В. Горчакова, К.Ю. Слободнюк, И.Ю. Сабурова, Г.Н. Салогуб, М.И. Зарайский, Е.Е. Зуева</i> ЭОЗИНОФИЛЬНЫЙ ЛЕЙКОЗ И Т-КЛЕТОЧНАЯ ЛИМФОМА: СОПОСТАВЛЕНИЕ ДАННЫХ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО И ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА .....	39
<i>В.И. Шилко, Ж.Л. Малахова, М.Ю. Зильбер</i> О РОЛИ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА — $\beta 1$ В РАЗВИТИИ ФЕТАЛЬНОГО АЛКОГОЛЬНОГО СИНДРОМА .....	46
<i>Н.М. Каргальцева, В.Л. Пастушенков, В.И. Кочеровец</i> КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ ПОДХОД К ОБСЛЕДОВАНИЮ АМБУЛАТОРНЫХ ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИЕЙ КРОВотоКА.....	49
<i>М.Н. Гусева</i> ОПЫТ УЧАСТИЯ РОССИИ В J-ПРОЕКТ .....	57
IV МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ ПО МЕДИКО-СОЦИАЛЬНЫМ АСПЕКТАМ В РЕАБИЛИТАЦИИ ИНВАЛИДОВ С РЕДКИМИ И ГЕНЕТИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ «ВРАЧИ МИРА — ПАЦИЕНТАМ».....	60

## КОНСИЛИУМ У ПОСТЕЛИ БОЛЬНОГО

### ЦЕЛИАКИЯ, УСТОЙЧИВАЯ К БЕЗГЛЮТЕНОВОЙ ДИЕТЕ?

ЛИНН М. МИКЕШ<sup>1</sup>, ШЕЙЛА И. КРОУВ<sup>2</sup>, ГРАНТ Ц. БУЛЛОК<sup>1</sup>, НЭНСИ И. ТЕЙЛОР<sup>1</sup>, ДЭВИД И. БРУНС<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Департамент патологии

<sup>2</sup> Отдел гастроэнтерологии и гепатологии, Департамент медицины, Университет Вирджинской медицинской школы, Шарлоттсвилль, ВА

*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: 2: 441–445 с разрешения издательства. Оригинальная публикация – 2008. При цитировании статьи необходимо ссылаться на оригинальную публикацию в журнале «Клиническая химия» ("Clinical Chemistry").*

## CONSILIUM AT PATIENT'S WARD

### CELIAC DISEASE REFRACTORY TO A GLUTEN-FREE DIET?

LEANN M. MIKESH<sup>1</sup>, SHEILA E. CROWE<sup>2</sup>, GRANT C. BULLOCK<sup>1</sup>, NANCY E. TAYLOR<sup>1</sup> AND DAVID E. BRUNS<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Pathology

<sup>2</sup> Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Medicine, University of Virginia School of Medicine, Charlottesville, VA

\* Address correspondence to this author at the Department of Pathology, Box 800214, University of Virginia Medical School, Charlottesville, VA 22908; e-mail deb6j@virginia.edu.

#### Клинический случай

75-летняя женщина была направлена на консультацию в связи с продолжающимися симптомами целиакии (глютеновой энтеропатии), которые сохранялись, несмотря на строгое соблюдение пациенткой безглютеновой диеты. Она предъявляла жалобы на избыточное газообразование, чувство распирания в кишечнике, потерю веса на 15 фунтов за последние несколько лет, бессонницу и сыпь на нижних конечностях. Пациентка прошла курс лечения в стационаре, получила курс внутривенных инъекций и терапию глюкокортикоидами в течение 6 месяцев.

Диагноз целиакии был поставлен 6 годами раньше на основании: (а) типичных гастроэнтерологических симптомов с отрицательными результатами бактериологического посева кала и теста на токсин *Clostridium difficile*; (б) положительных серологических реакций на целиакию; (в) результатов колоноскопии с биопсией без признаков патологии и (г) результатов биопсии тонкой кишки, которая выявила укорочение ворсинок слизистой и нарастающее хроническое воспаление клеток. Данные лабораторных исследований, выполненных в то

же самое время, были следующими: уровень антиглиадиновых Ig G антител (AGA Ig G) – 0,8 AU (при уровне нормальных значений <10 AU); AGA Ig A – 1,1 AU (<5 AU), Ig A к тканевой трансглутаминазе (tTG Ig A) – 9,2 AU (<4 AU); нормальные уровни общего Ig A и Ig A к эндомицию (ЕМА). Компьютерная томография не показала наличие лимфомы; рентгеноконтрастное исследование тонкого кишечника с барием также не выявило никакой патологии. Результаты биопсии, полученные при эндоскопии в течение предыдущих двух лет, указывали на продолжающуюся атрофию ворсинок кишечника и интраэпителиальную лимфоцитарную инфильтрацию. Незадолго до обращения пациентки специалистом нашего института по результатам нескольких биопсий было также подтверждено укорочение ворсинок кишечника и наличие усиливающегося хронического воспаления.

Пациентка, приятная сухоощавая пожилая женщина, в то время уже не работала (была на пенсии), была замужем и имела двоих детей. Она отрицала курение и прием спиртных напитков. Отсутствовали в семейном анамнезе и данные по наличию целиакии, заболеваниям

печени и раку толстого кишечника. Пятью годами раньше ей установили стент на сонную артерию. При физикальном осмотре была выявлена розеолезная сыпь с герпетическим дерматитом преимущественно на нижних конечностях.

**Объективные данные:** кровяное давление — 133/59 мм рт. столба; пульс — 51 удар в минуту; температура — 36,5 °С; вес — 59,4 кг. Лабораторные данные: витамин В12 — 245 нг/л (референсные интервалы (РИ): 251–911 нг/л); железо — 370 мкг/л (РИ: 400–1450 мкг/л); anti-tTG Ig A — 13 AU (РИ: 0–20 AU) и 5-нуклеотидаза — 22,1 Ед/л (РИ: 4,0–11,5 Е/л).

После консультации нутрицевта пациентка строго соблюдала рекомендованную диету (для элиминации глютена из организма). Ее состояние на некоторое время улучшилось, что проявилось в нормализации работы тонкого кишечника, однако вскоре все симптомы заболевания вернулись снова. Результаты последующих тестов исключили состояния, которые могут осложнять целиакию или ей сопутствовать (бактериальный рост, микроскопический колит и лактозная недостаточность). Поскольку симптомы заболевания оказались устойчивыми к терапии, был продолжен курс кортикостероидов и проведена эзофагогастроуденоскопия с дуоденальной биопсией. Фиксированные формалином биоптаты тонкого кишечника были отправлены в лабораторию молекулярной диагностики для дополнительного тестирования.

### Обсуждение

Целиакия — это Т-клеточное, мультифакторное хроническое воспаление тонкого кишечника, характеризующееся воспалением слизистой, атрофией кишечных ворсинок и гиперплазией крипт. Частота выявления заболевания в популяции составляет около 1%. Целиакия является уникальным представителем аутоиммунных заболеваний, поскольку в качестве причин возникновения выступают фактор внешней среды (глютен) и аутоантиген (тканевая трансглутаминаза) [1].

Основными пищевыми источниками глютена являются пшеница, рожь, ячмень и овес, однако глютен овса, как правило, заболевания не вызывает. Соляной кислотой и пищеварительными ферментами он расщепляется до маленьких пептидов. В кишечнике тканевая трансглутаминаза (tTG) трансформирует глютамин в глютаминую кислоту, тем самым увеличивая способность связывания глютенных пептидов с HLA молекулами класса II. Измененные пептиды не могут быть распознаны Т-хэлперами, вероятно, из-за способности к молекулярной мимикрии. Эта особенность иммуногенных пептидов генетически детерминирована [2, 3, 4]. У большинства пациентов с целиакией экспрессируются HLA-DQ2 (95% пациентов), у других — HLA-DQ8. Наличие HLA-DQ2 и/или HLA-DQ8 самого по себе недостаточно для развития заболевания; необходимо также при соединении таких факторов, как дополнительные

генетические локусы, стресс, воспаление и инфекция. Ключевым моментом лечения заболевания является строгая пожизненная безглютеновая диета.

### Диагностика целиакии

Диагноз заболевания ставится на основании совокупности результатов серологических тестов, биопсии тонкого кишечника и затухания симптомов при исключении из рациона продуктов, содержащих глютен [5, 6]. Серологические исследования при целиакии включают в себя определение anti-EMA Ig A, anti-tTG Ig A и Ig G. В настоящее время исследование на anti-AGA не рекомендуется из-за низкой чувствительности и специфичности теста (anti-AGA Ig A: чувствительность — 75–95%, специфичность — 80–95% [7]; anti-AGA Ig G: чувствительность — 57–100%, специфичность — 47–94% [8]).

В anti-EMA тестах антитела из сыворотки пациента связываются с соединительной тканью, окружающей клетки гладких мышц пищевода обезьян или человеческой пуповины, и детектируются методом иммунофлюоресценции. Идентификация EMA как tTG привела к появлению anti-tTG иммунологических тестов. В первых исследованиях применялась tTG гвинейских свиней; в настоящее время используется человеческая tTG: как нативная (из эритроцитов), так и рекомбинантная. Anti-tTG тесты менее трудоемки и более рентабельны по сравнению с anti-EMA тестами; к тому же результаты, полученные в них, объективны и количественны. Чувствительность этих тестов составляет 100% при специфичности более 90% (см. табл. 1) [7]. Тесты на антитела к дезаминированным пептидам глиадина с недавнего времени стали коммерчески доступными, однако публикаций на эту тему пока недостаточно.

Золотым стандартом диагностики является гистопатологическое исследование 4–8 биоптатов слизистой, взятых у пациента на фоне употребления в пищу продуктов, содержащих глютен.

### Случаи неудач проводимой терапии

Рассматриваемый клинический случай можно отнести к небольшой группе пациентов с целиакией, не отвечающих на соблюдение безглютеновой диеты. Тремя основными причинами неудач в таких случаях являются: (а) небрежное отношение пациентов к предписанной диете или ее намеренное нарушение; (б) другие сопутствующие или осложняющие течение основного заболевания состояния, а именно: усиленный бактериальный рост, непереносимость лактозы или микроскопический колит; (в) форма заболевания, устойчивая к безглютеновой диете. Пациентка, обсуждаемая здесь, строго придерживалась диеты, диагностическое обследование исключило у нее такие состояния, как лактозная недостаточность, микроскопический колит, избыточный бактериальный рост, язвенное воспаление тощей кишки и лимфому. Все это указывает на наличие именно рефрак-

**Таблица 1. Показатели чувствительности, специфичности и отношения правдоподобия общепринятых исследований при целиакии по Rostom A. и соавт., 2005\***

Тест	Чувствительность	Специфичность	Положительное отношение правдоподобия	Отрицательное отношение правдоподобия
IgA-EMA-ME	80–90%	99,5%	160–180	0,1–0,2
IgA-EMA-HU	92,5%	99,6%	231	0,1
IgA-tTG-GP	85–95%	95,4%	18–21	0,05–0,16
IgA-tTG-HR	90,2%	95,4%	20	0,1

\* Показатели определены с помощью метаанализа смешанной популяции взрослых и детей в зависимости от клинических показателей. EMA – антитела к эндомизию; ME – пищевод обезьяны; HU – человеческая пуповина; tTG – тканевая трансглутаминаза; GP – морская свинка; HR – человеческий рекомбинант.

терной формы заболевания, которая характеризуется персистирующей атрофией ворсинок и нарастающей интраэпителиальной лимфоцитарной инфильтрацией тонкого кишечника на фоне длительного соблюдения пациентом безглютеновой диеты. В обоих случаях (как чувствительной, так и рефрактерной форм) целиакии на фоне диеты количество антител в крови снижается и остается на уровне референсных значений в течение всего периода ее соблюдения.

Существует 2 типа устойчивых форм целиакии, которые отличаются друг от друга по типу Т-клеточных популяций в кишечной слизистой: поликлональные при I типе заболевания и клональные при II [9]. Хотя наличие такой клональной Т-клеточной популяции и называется «криптической интраэпителиальной лимфомой», это не обязательно подразумевает под собой присутствие злокачественного процесса. Однако в ряде случаев у таких пациентов развивается Т-клеточная лимфома тонкого кишечника.

### Перестройка TCR гена

В рассматриваемом клиническом случае для образцов биопсии было проведено молекулярное исследование на перестройку локусов Т-клеточных рецепторов (TCR), в котором определялось наличие клональной популяции Т-клеток.

Функционально человеческий TCR кодируется случайными перестройками 1 из 10 переменных (V) сегментов и 1 из 5 сцепленных (J) сегментов TCR гена. Во время созревания Т-клеток в костном мозге (V) и (J) сегменты соединяются случайным образом, чтобы сформировать функциональную TCR цепь.

Сегменты гена TCR  $\gamma$ -цепи расположены в 7p14 хромосоме, и каждый ген созревания Т-клеток одна или обе аллели подвергаются перестройке, в результате чего клональная Т-клеточная популяция приобретает одну (моноаллельную) или две (биаллельные) реаранжировки генов TCR цепи.

В тесте на клональные Т-клетки пара специфических ПЦР праймеров присоединяется к консервативным

участкам, фланкирующим (V) и (J) генетические сегменты. Неупорядоченные (V) и (J) сегменты в линии зародыша находятся далеко друг от друга, поэтому не ведут к накоплению ПЦР продуктов. Увеличение этих продуктов вызовут только трансформированные (перегруппированные) сегменты. Каждая специфическая перестройка (V) и (J) сегментов приводит к появлению ПЦР продукта определенного размера. У здоровых людей без целиакии будет много различных Т-клеток, каждая из которых будет содержать специфический TCR, что приведет к накоплению ПЦР продуктов раз-

### ► КЛЮЧЕВЫЕ МОМЕНТЫ

- Целиакия встречается с частотой 1%. Диагноз основывается на основании серологических тестов, биопсии тонкого кишечника и затухании симптомов заболевания при исключении из рациона продуктов, содержащих глютен. Пшеница, рожь и ячмень являются основными источниками глютена, который вызывает эту патологию. Глютен овса в развитии заболевания не участвует.
- Чувствительность теста на anti-human tTG антитела составляет 100%. Антиглиадиновые тесты в настоящее время не рекомендуются из-за их низкой чувствительности и специфичности. Некоторыми возможными причинами неудач терапии пациентов, которые не отвечают на введение безглютеновой диеты, являются: небрежность в ее соблюдении, некоторые сопутствующие состояния (избыточный бактериальный рост в тонком кишечнике, непереносимость лактозы, микроскопический колит) и наличие I или II типа рефрактерной формы заболевания.
- Подходящим тестом для таких рефрактерных случаев целиакии является исследование на перестройки TCR гена, в которых определяется присутствие в кишечной слизистой Т-клеточных клонов.

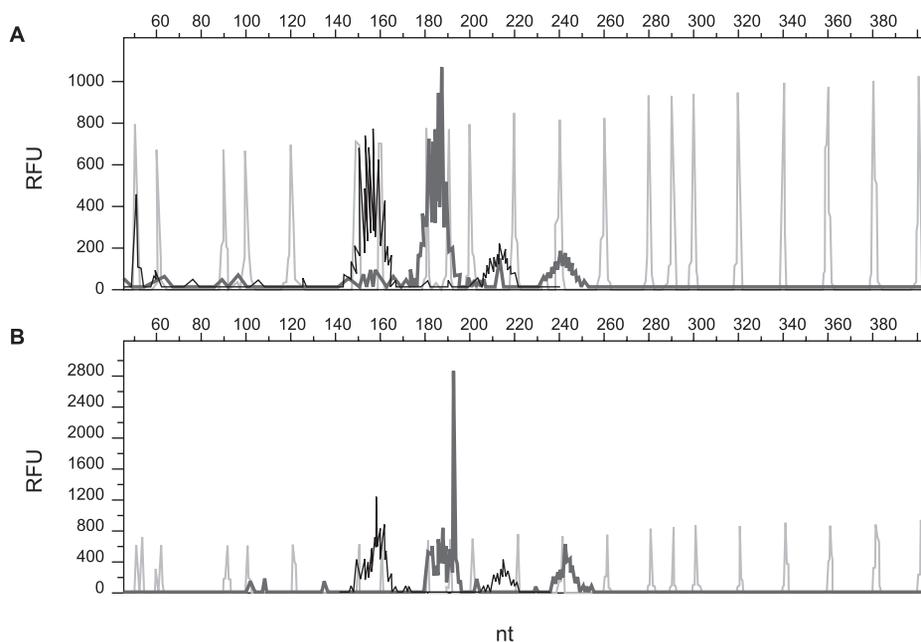


Рис. 1. Стадия перестройки TCR гена

Основанный на ПЦР TCR-генный клональный анализ показывает продукты 4 реакций амплификации, имеющих размеры от 145 до 255 нуклеотидов (нк). Мишенью в данном случае являются TCR V 1–8+10 и 4 из 5 J генных сегментов. Эти 4 участка — V 1–8 к J1.1/2.1 (230–255 нк, голубые); V 1–8 к J1.3/2.3 (195–230 нк, зеленые); V10 к J1.1/2.1 (175–195 нк, голубые) и V10 к J1.3/2.3 (145–175 нк, зеленые). Каждая клетка в клональной популяции T-клеток несет в себе одни и те же (V) и (J) перестройки, которые приводят к накоплению нуклеотидов специфических размеров, сопровождающемуся значительным увеличением флуоресценции по сравнению с фоновой поликлональной популяцией T-клеток. Эта находка указывает на то, что одна из популяций T-клеток пролиферирует и численно превосходит все остальные T-клетки. Распределение ПЦР-продуктов по размеру лимитировано используемой специфической парой праймеров и представляет собой Гауссово распределение. Один из этих праймеров помечается флуоресцентной меткой, что позволяет провести детекцию после капиллярного гель-электрофореза. Интенсивность флуоресценции указывает на относительное количество конкретного ПЦР продукта в сравнении с общей популяцией ПЦР-продуктов. Маркеры размеров показаны красным (А). Поликлональный контроль служит образцом ожидаемого поликлонального TCR-распределения. Поликлональная популяция флуоресцентных пиков показывает случайное распределение размеров этих пиков без каких-либо доминантных флуоресцентных сигналов (В). В кишечных биоптатах пациентки обнаружены доминирующие перестройки TCR-гена, амплифицированные с помощью праймеров, меченных V10 к J1.1/2.1 (175–195 нк, голубые). Доминирующий ампликон (192 нк) образует флуоресцентный пик с интенсивностью в 3 раза выше фоновой поликлональной флуоресценции.

личных размеров (рис. 1А). Для образцов биопсии в приведенном случае в этом тесте были выявлены биаллельные перестройки TCR гена (одна из которых показана на рис. 1В). Эта находка преобладающей клональной T-клеточной популяции в совокупности с укорочением кишечных ворсинок указывает на наличие у пациентки рефрактерной формы заболевания II типа.

### Прогноз и лечение II типа рефрактерной формы целиакии

5-летняя выживаемость для II типа рефрактерной формы заболевания составляет менее 50%. Наиболее частыми причинами смерти являются T-клеточная лимфома или инфекция. Терапия включает в себя кортикостероиды и иммуносупрессивные препараты, такие как тиопурины и инфликсимаб. Вызывает опасение тот факт, что иммуносупрессивная терапия может привести к прогрессированию лимфомы, но этот риск не подтверждается какими-либо данными. Проводятся эксперименты по использованию в терапии антител к IL-15 — цитокину, который улучшает состояние энтероцитов,

повреждаемых при целиакии, и трансплантации стволовых клеток.

На основании результатов TCR-тестов, упорной неэффективности строгой безглютеновой диеты и зависимости от стероидной терапии в течение нескольких месяцев, пациентке была назначена иммуносупрессивная терапия 6-меркаптопурином с целью снижения или полной отмены кортикостероидов. Со временем пациентка смогла полностью отказаться от стероидов и на момент написания статьи чувствовала себя хорошо только на 6-меркаптопурине.

### Поддержка фондов и гранты

- **L.M.M.:** постдокторские исследования в клинической химии и лабораторной медицине поддерживались Past Presidents' Scholarship из средств фонда Van Slyke Американской ассоциации клинической химии.
- **G.C.B.** оказывал поддержку Ruth L. Kirschstein National Research Service Award 1F32HL086046-01.

Мы благодарны Департаменту патологии за дополнительную поддержку L.M.M.

**Литература:**

1. Kagnoff M. Celiac disease: pathogenesis of model immunogenetic disease // J. Clin. Invest., 2007; 117: 41–9.
2. Shan L., Molberg O., Parrot I., Hausch F., Filiz F., Gray G. et al. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue // Science (Wash DC), 2002; 297: 2275–2279.
3. Kim S., Quarsten H., Bergseng E., Khosla S., Sollid L. Structural basis for HLA-DQ2-mediated presentation of gluten epitops in celiac disease // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2004; 101: 4175–4179.
4. Jabri B., Sollid L. Mechanisms of disease: immunopathogenesis of celiac disease // Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol., 2006; 3: 516–525.
5. Rostom A., Murray J., Kagnoff M. American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease // Gastroenterology, 2006; 131: 1981–2002.
6. NIH Consensus Development Program. NIH Consensus Development conference on celiac disease. <http://consensus.nih.gov/2004/2004CeliacDisease118main.htm> (accessed July 2007).
7. Rostom A., Dube C., Cranney A., Saloojee N., Sy R., Garrity S. et al. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review // Gastroenterology, 2005; 128: S38–46.
8. Hill I. What are the sensitivity and specificity of serologic tests for celiac disease? Do sensitivity and specificity vary in different populations? // Gastroenterology, 2005; 128: S25–32.
9. Cellier C., Delabesse E., Heimer C., Patey N., Matuchansky C., Jabri B. et al. Refractory sprue, celiac disease, and enteropathy associated T-cell lymphoma. French Coeliac Disease Study Group // Lancet, 2000; 356: 203–208.
10. Mention J., Ahmed M., Begue B., Barbe U., Verkerre V., Asnafi V. et al. Interleukin 15 a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in celiac disease // Gastroenterology, 2003; 125: 730–745.

**Комментарий**

**РОБЕРТ ДЖ. ЛОРЕНЦ\***

Университет Алабамы в Бирмингеме, Бирмингем, Алабама

**ROBERT J. LORENZ\***

University of Alabama at Birmingham, Birmingham, AL

\* Address correspondence to this author at: University of Alabama at Birmingham, 1825, University Blvd., SHEL 602, Birmingham, AL 35294-2182. Fax 205-996-9113. e-mail: rlorenz@uab.edu

Золотым стандартом диагностики целиакии являются дуоденальная биопсия, на которой видно укорочение кишечных ворсинок, гиперплазия крипт и возрастающее количество интраэпителиальных лимфоцитов, и последующая биопсия тонкого кишечника, которая показывает разрешение этих гистологических находок после того, как пациента переводят на безглютеновую диету [1]. Развитие новых серологических тестов, однако, привело к включению в диагностические стандарты определения Ig A к анти-тканевой трансглутаминазе (tTG), которая ответственна за образование антител к эндомизию. В данном случае диагноз был поставлен на основании данных биопсии и Ig A anti-tTG. Пациентка, однако, не отвечала на безглютеновую диету, что в первую очередь вызвало вопрос о тщательности ее соблюдения. Поскольку эти сомнения оказались безосновательными, в качестве следующих наиболее вероятных причин слабого ответа на терапию стали рассматривать серьезные осложнения данного заболевания: Т-клеточную лимфому или рефрактерную форму заболевания. Т-клеточная лимфома — это клональная пролиферация интраэпителиальных лимфоцитов; она исторически диагностировалась на основании данных биопсии и иммуногистохимических анализов, в которых обнаруживалось присутствие в кишечном эпителии патологи-

ческих Т-клеток. Описываемый случай — один из первых, в котором использовалась полимеразная цепная реакция для обнаружения перестроек в Т-клеточных рецепторах (TCR), характерных для Т-клеточных лимфом или рефрактерных форм целиакии, которая и выявила клональные перестройки в кишечных биоптатах.

Однако следует заметить, что олиго- и моноклональные популяции интраэпителиальных лимфоцитов определяются и в большинстве случаев рефрактерной целиакии (и при I, и при II типах заболевания), что ограничивает возможности дифференциального диагноза Т-клеточной лимфомы и рефрактерной целиакии по этому признаку [2]. Иммуногистохимический анализ поверхностных Т-клеточных рецепторов (CD3 и CD8) и гистология имеют наибольшее значение при постановке диагноза Т-клеточной лимфомы или рефрактерной формы целиакии. Серология эффективна только при постановке первичного диагноза.

**Поддержка фондов и гранты:** не заявлены.

**Финансовые интересы:** не заявлены.

**Литература**

1. Green P., Cellier C. Celiac disease // N. Engl. J. Med., 2007; 357: 1731–1743.
2. Al-toma A., Verbeek W., Mulder C. The management of complicated celiac disease // Dig. Dis., 2007; 25: 230–236.

**СЬЮЗАН Х. БАРТОН, ДЖОЗЕФ А. МЮРРЕЙ\***

Отделение гастроэнтерологии и гепатологии, Департамент внутренней медицины, клиника Мейо, Рочестер, MN

**SUSAN H. BARTON, JOSEPH A. MURREY\***

Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine, Mayo Clinic, Rochester, MN

\* Address correspondence to this author at: Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine, Mayo Clinic, Rochester, MN  
e-mail: murray.joseph@mayo.edu

Хотя рефрактерная целиакия подозревается нередко, дополнительный или альтернативный диагноз часто может объяснить симптомы пациента. В первую очередь, важно тщательно проверить первичный диагноз, особенно образцы биопсии и серологию. Отсутствие специфических генных пар, ассоциированных с риском целиакии, а именно DQA1\*05:DQB1\*02(DQ2) или DQA1\*03:DQB1\*0302(DQ8), делает заболевание маловероятным. Рефрактерная целиакия подразделяется на тип I (поликлональный фенотип) и тип II (клональная экспансия измененной Т-клеточной популяции). Моноклональный фенотип может быть детектирован с помощью иммуногистохимического анализа интраэпителиальных лимфоцитов, которые имеют цитоплазматические CD3, но недостаточное количество типичных поверхностных маркеров Т-клеток, включая CD8, CD4 и Т-клеточные рецепторы  $\beta$ F1. Перестройка генов Т-клеточных рецепторов, анализируемая с помощью метода ПЦР, в ДНК, экстрагированной из кишечных биоптатов, является альтернативным методом идентификации Т-клеточного клона, что и использовалось в приведенном случае. Хотя достаточное количество ДНК для ПЦР может быть получено из фиксированных биоптатов, мы обнаружили, что свежемороженые образцы дают больший выход ДНК, делая возможным проведение саузерн-блоттинга в дополнение к чувствительной, но менее специфичной ПЦР. Следует отметить, что экстракция ДНК разрушает тканевые блоки, поэтому иммуногистохимический анализ следует проводить в первую очередь. С недавнего времени идентификация клональной трансформации интраэпителиальных лимфоцитов методом проточной цитометрии стала использоваться в качестве альтернативного метода.

Диагностика II типа рефрактерной формы целиакии (RCD II) имеет очень важное клиническое значение. Т-клеточная клональная трансформация обычно рассматривается как первичная стадия в процессе, приво-

дящем к развитию кишечнoассоциированной Т-клеточной лимфомы (EATL). Развитие EATL характерно для пациентов со II типом рефрактерной целиакии и ассоциировано с высоким риском смертельного исхода. Использование иммуносупрессивной терапии у пациентов с RCD II является спорным из-за теоретического риска ускорения трансформации в лимфому. Современный агрессивный подход с использованием миелоаблативной химиотерапии с поддержкой аутогенными стволовыми клетками в лечении пациентов с RCD II дает первые обнадеживающие результаты. В последних публикациях отмечается высокая эффективность будесонида в снижении симптомов заболевания у пациентов с обеими формами рефрактерной целиакии и минимизация при назначении этого препарата побочных эффектов, ассоциированных с длительной иммуносупрессией. Несмотря на терапию, у пациентов с RCD II часто наблюдается ухудшение клинической картины заболевания (усиление синдрома мальадсорбции). Как показали Mikesh и соавторы, рефрактерная целиакия — тяжелое испытание для пациента.

**Поддержка фондов и гранты:** S.H.B. была оказана поддержка NIH training grant T32 DK07198. J.A.M. была оказана поддержка NIH grants DK57892 и 071003.

**Финансовые интересы:** J.A.M. консультировал Astra Zeneca, Alvine Inc. и Novartis, а также проводил исследования для Alba Therapeutics and Dynagen Inc.

**Литература**

1. Al-toma A., Visser O.J., Van Roessel H.M., von Blomberg B.M., Verbeek W.H., Scholten P.E. et al. Autologous hematopoietic stem transplantation in refractory celiac disease with aberrant T-cells // *Blood*, 2007; 109: 2243–2249.
2. Daum S., Ipczynski R., Heine B., Schulzke J.D., Zeitz M., Ullrich R. Therapy with budesonide in patients with refractory sprue // *Digestion*, 2006; 73: 60–68.

## CELIAC DISEASE REFRACTORY TO A GLUTEN-FREE DIET?

LEANN M. MIKESH<sup>1</sup>, SHEILA E. CROWE<sup>2</sup>, GRANT C. BULLOCK<sup>1</sup>, NANCY E. TAYLOR<sup>1</sup>, AND DAVID E. BRUNS<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Pathology

<sup>2</sup> Division of Gastroenterology and Hepatology,

Department of Medicine, University of Virginia School of Medicine, Charlottesville, VA

\* Address correspondence to this author at the Department of Pathology, Box 800214, University of Virginia Medical School, Charlottesville, VA 22908; e-mail [deb6j@virginia.edu](mailto:deb6j@virginia.edu).

### CASE DESCRIPTION

A 75-year-old woman from an outside hospital was referred because of continued signs and symptoms of celiac disease (gluten-sensitive enteropathy) that persisted despite self-reported adherence to a gluten-free diet. The patient reported excessive gas, bowel distension, a 15-pound weight loss over the past few years, insomnia, and a rash over her lower extremities. The patient had required hospitalizations, intravenous fluids, and continuing therapy with corticosteroids for 6 months.

A diagnosis of celiac disease had been made 6 years previously, based on (a) typical gastrointestinal signs and symptoms with negative stool cultures and *Clostridium difficile* toxin assay, (b) positive serology for celiac disease, (c) unremarkable colonoscopy with normal random biopsy results, and (d) small-bowel biopsy results showing evidence of villous blunting with increased chronic inflammatory cells. At that time, the patient's laboratory results included antigliadin antibody (AGA) IgG 0.8 AU (<10 AU), anti-AGA IgA 1.1 AU (<5 AU), anti-tissue transglutaminase (tTG) IgA 9.2 AU (<4 AU), and normal total IgA and IgA antiendomysial antibody (EMA) values. A computed tomographic scan was negative for lymphoma, and an upper gastrointestinal series and small-bowel followthrough barium x-ray were normal. Endoscopic biopsy results obtained during the previous 2 years showed continued villous atrophy with intraepithelial lymphocytes. Shortly before the patient's referral, repeat biopsies showed villous blunting with increased chronic inflammation, findings confirmed by a gastrointestinal pathologist at our institution.

The patient, a pleasant, frail-looking, elderly woman in no acute distress, was retired and married with 2 adult children. She denied smoking and alcohol use and had no family history of celiac disease, liver disease, or colon cancer. Her medical history was remarkable for placement of a carotid artery stent 5 years earlier. Physical examination was unremarkable except for the presence of a maculopapular rash inconsistent with dermatitis herpetiformis and with dependent distribution over the lower legs.

The patient's blood pressure was 133/59 mmHg, pulse 51 beats/min, temperature 36.5°C, and weight 59.4 kg. Laboratory results since her referral included vitamin B<sub>12</sub>

245 ng/L [reference interval (RI), 251–911 ng/L], iron 370 ug/L (RI, 400–1450 ug/L), anti-tTG IgA 13 AU (RI, 0–20 AU), and 5'nucleotidase 22.1 U/L (RI, 4.0–11.5 U/L).

The patient met with a nutritionist and implemented recommended dietary changes to eliminate gluten. Her symptoms temporarily improved, with a return to normal bowel function, but after a short time her symptoms recurred. Results of further tests excluded conditions known to complicate or coexist with celiac disease, including bacterial overgrowth, microscopic colitis, and lactose intolerance. Because the patient's symptoms were refractory to treatment and required prolonged, continued use of corticosteroid therapy, esophagogastroduodenoscopy with duodenal biopsies was performed, and formalin-fixed smallbowel biopsy tissue samples were sent to the molecular diagnostic laboratory for additional testing.

### DISCUSSION

#### CELIAC DISEASE

Celiac disease is a T-cell driven, multifactorial chronic inflammatory disorder of the small intestine characterized by mucosal inflammation, villous atrophy, and crypt hyperplasia; it has a prevalence of approximately 1% in the population. Among autoimmune diseases, celiac disease is unique in that an environmental trigger (gluten) and an autoantigen (tissue transglutaminase) have been identified (1).

The main dietary sources of gluten are wheat, rye, barley, and oats, but the gluten in oats has not been found to contribute to celiac disease. Gluten is broken down into smaller peptides by gastric acid and digestive enzymes. In the intestine, tTG converts glutamine to glutamic acid, thereby increasing the affinity of the binding of gluten peptides in the cleft of HLA class II molecules. The modified peptides are inappropriately recognized by helper T cells, perhaps because of molecular mimicry of microbial peptides. The identity of these immunogenic peptides has been determined (2–4). Most individuals with celiac disease express HLA-DQ2 (95% of patients), and the others typically express HLA-DQ8. The presence of HLA-DQ2 and/or DQ8 alone, however, is not sufficient for disease, which is thought to involve other contributing factors such as additional ge-

netic loci, stress, inflammation, and infection. The key treatment for celiac disease is lifelong adherence to a strict gluten-free diet.

#### DIAGNOSIS OF CELIAC DISEASE

The diagnosis of celiac disease is based on concordance of serological tests, small-bowel biopsy, and resolution of symptoms on withdrawal of gluten from the diet (5, 6). Serological testing for celiac disease includes anti-EMA IgA and anti-tTG IgA and IgG. Anti-AGA tests are no longer recommended because of their lower sensitivity and specificity [anti-AGA IgA sensitivity 75–95%, specificity 80–95% (7); anti-AGA IgG sensitivity 57–100%, specificity 47–94% (8)].

In the anti-EMA test, antibodies from the patient's serum bind to connective tissue surrounding smooth muscle cells of either monkey esophagus or human umbilical cord and are detected by immunofluorescence. Identification of EMA as tTG led to the development of anti-tTG immunoassays. The first assays used guinea pig tTG; current assays use human tTG, either native (from erythrocytes) or recombinant. The anti-tTG test is easier to perform and more cost-effective than the anti-EMA test, and results are objective and quantitative. The test approaches 100% specificity and >90% sensitivity for celiac disease in a variety of clinical settings and populations (see Table 1) (7). A test for antibodies against a 9 amino-acid deamidated gliadin peptide has recently become commercially available, but few studies of its diagnostic accuracy have been published.

The gold standard for diagnosis is histopathologic assessment of 4–8 mucosal biopsy specimens of the small bowel obtained while the patient is on a diet containing gluten.

#### CAUSES OF FAILURE TO RESPOND TO TREATMENT

The case patient is among a small proportion of individuals with celiac disease whose illness does not respond to a gluten-free diet. The 3 main causes of treatment failure are (i) inadvertent or intentional failure to adhere to a strict gluten-free diet; (ii) other complicating or coexisting conditions such as small-bowel bacterial overgrowth, lactose in-

tolerance, or microscopic colitis; and (iii) disease refractoriness to a gluten-free diet. The patient described here was compliant with the diet, and diagnostic testing revealed no evidence of lactose intolerance, microscopic colitis, small bowel bacterial overgrowth, ulcerative jejunitis, or lymphoma. These findings suggest a diagnosis of refractory celiac disease, which is characterized by persistent villous atrophy with an increase of intraepithelial lymphocytes in the small bowel while the patient is on a long-term gluten-free diet. In both responsive and refractory celiac disease, celiac antibodies usually decrease with dietary therapy (as observed in this case) and remain within reference intervals unless individuals are reexposed to gluten.

Two types of refractory celiac disease occur and are differentiated by the type of T-cell populations in the intestinal mucosa, which are polyclonal in type I disease and clonal in type II disease (9). Although the presence of this clonal T-cell population is termed “cryptic intraepithelial lymphoma”, this finding does not imply a diagnosis of a malignant process, although enteropathy-associated T-cell lymphoma develops in a subset of these patients.

#### TCR $\gamma$ GENE REARRANGEMENT

In the case patient, a T-cell receptor  $\gamma$  locus (TCR $\gamma$ ) gene rearrangement assay was the molecular test performed on the intestinal biopsy specimens to test for the presence of a clonal population of T-cells.

Functional human TCR $\gamma$  is encoded by the random rearrangement of 1 of 10 variable (V) segments and 1 of 5 joining (J) segments of the TCR $\gamma$  gene. During T-cell maturation in the bone marrow, the (V) and (J) gene segments are randomly recombined to form a functional TCR $\gamma$  chain.

The TCR $\gamma$  chain gene segments are located on chromosome 7p14, and every T-cell carries 2 alleles (paternal and maternal) of this locus. During T-cell development one or both alleles undergo rearrangement, so a clonal T-cell population carries 1 (monoallelic) or 2 (biallelic) rearranged TCR $\gamma$  chain genes.

In the test for clonal T cells, pairs of specific PCR primers target the conserved regions flanking the (V) and (J) gene segments. Nonrearranged (V) and (J) segments in the

**Table 1. Sensitivity, specificity, and likelihood ratios of common serological tests for celiac disease\***

Test	Sensitivity	Specificity	Positive likelihood ratio	Negative likelihood ratio
IgA-EMA-ME	80–90%	99.5%	160–180	0.1–0.2
IgA-EMA-HU	92.5%	99.6%	231	0.1
IgA-tTG-GP	85–95%	95.4%	18–21	0.05–0.16
IgA-tTG-HR	90.2%	95.4%	20	0.1

\* Adapted from (7). Values shown are from a metaanalysis of mixed populations of adults and children in a variety of clinical settings. EMA, endomysial antibody; ME, monkey esophagus; HU, human umbilical cord; tTG, tissue transglutaminase; GP, guinea pig; HR, human recombinant.

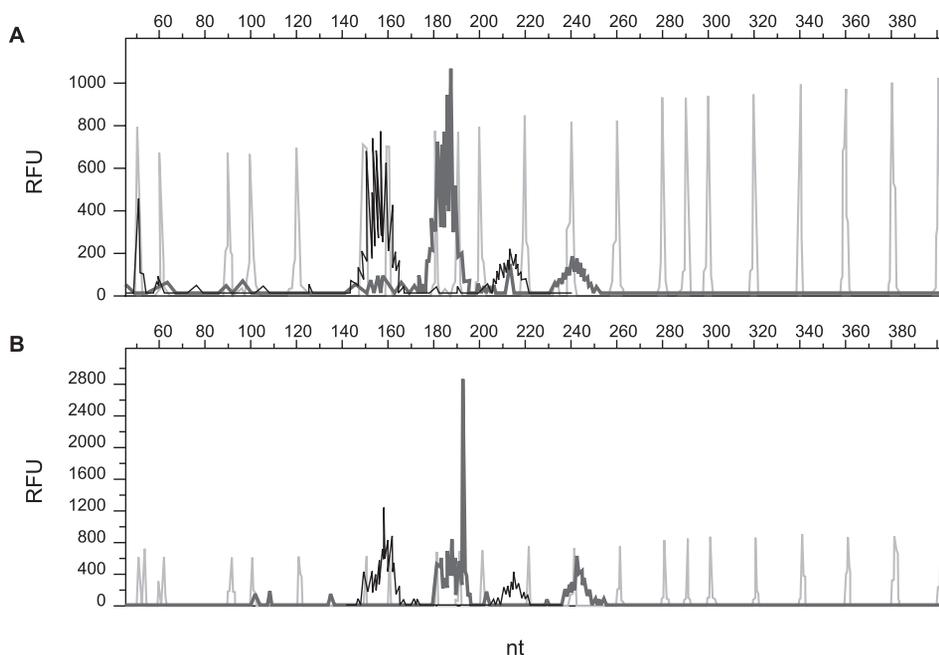


Fig. 1. TCR $\gamma$  Gene Rearrangement Study.

The PCR-based TCR $\gamma$  gene clonality assay shows the products of 4 amplification reactions ranging in size from 145–255 nucleotides (nt) targeting the TCR V $\gamma$  1–8 + 10 and 4 of the 5 J $\gamma$  gene segments. The 4 regions are V $\gamma$ 1–8 to J $\gamma$ 1.1/2.1 (230–255 nt, blue); V $\gamma$ 1–8 to J $\gamma$ 1.3/2.3 (195–230 nt, green); V $\gamma$ 10 to J $\gamma$ 1.1/2.1 (175–195 nt, blue); and V $\gamma$ 10 to J $\gamma$ 1.3/2.3 (145–175 nt, green). Every cell in a clonal population of T-cells carries the same (V) and (J) rearrangements, producing a predominant peak of a specific size with greater fluorescent intensity than the background polyclonal population of T-cells. This finding indicates that one population of T-cells has proliferated and outnumbered all other T-cells. The size distribution of the PCR products is limited by the specific primer pair used and shows a gaussian distribution across this primer-defined range of sizes. One of the primers is fluorescently tagged, allowing detection after capillary gel electrophoresis. The intensity of fluorescence indicates the relative amount of any given PCR product compared to the rest of the population of PCR products. Size markers are shown in red. (A). The polyclonal control produces the pattern expected for a polyclonal TCR distribution. The polyclonal population of fluorescent peaks shows a random distribution of peak sizes and heights without any dominant fluorescent signals. (B). The patient's intestinal biopsy tissue reveals a predominant TCR $\gamma$  gene rearrangement amplified by primers targeting V $\gamma$ 10 to J $\gamma$ 1.1/2.1 (175–195 nt, blue). The predominant amplicon (192 nt) produced a fluorescent peak height intensity more than 3 times greater than the mean polyclonal background peak height intensity

germ line configuration are far apart, and therefore do not give rise to PCR products. A PCR product will arise only from rearranged (V) and (J) segments. Each specific (V) and (J) rearrangement produces a PCR product of a characteristic size. Individuals without celiac disease will have many different T-cells, each with a specific TCR (a polyclonal population), leading to the formation of PCR products of many different sizes (Fig. 1A). This test revealed that the intestinal biopsy specimen from the case patient contained biallelic TCR gene rearrangements (one of which is shown in Fig. 1B). This finding of a predominant clonal T-cell population along with villous blunting observed by small bowel biopsy indicated a diagnosis of type II refractory celiac disease.

#### PROGNOSIS AND TREATMENT OF TYPE II REFRACTORY CELIAC DISEASE

The 5-year survival for type II refractory celiac disease is <50%, with the most common causes of death being T-cell lymphoma and infection. Treatment options include corticosteroids and immunosuppressive agents such as thiopurines and infliximab. There is concern that immunosuppressive therapy promotes progression to lymphoma, but no data confirm this risk. Therapies under investigation include

antibody to IL-15, a cytokine that leads to enhanced enterocyte killing in celiac disease (10), and stem cell transplantation.

Given the results of the TCR studies, repeated confirmation of the patient's strict adherence to a glutenfree diet, and the patient's continued dependence on steroids for a period of several months, immunosuppressive therapy was initiated with 6-mercaptopurine with the goal of decreasing or eliminating the need for corticosteroid therapy. The patient was able to discontinue corticosteroids and at the time of this report was doing well on 6-mercaptopurine alone.

**Grant/funding Support:** L.M.M.'s postdoctoral training in clinical chemistry and laboratory medicine is supported by a Past Presidents' Scholarship from the Van Slyke Foundation of the American Association for Clinical Chemistry. G.C.B. is supported by a Ruth L. Kirschstein National Research Service Award 1F32HL086046-01. We thank the Department of Pathology for additional support of L.M.M.

**Financial Interests:** None declared.

#### References

1. Kagnoff M. Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease // J. Clin. Invest., 2007; 117: 41–49.

2. Shan L., Molberg O., Parrot I., Hausch F., Filiz F., Gray G. et al. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue // *Science (Wash DC)*, 2002; 297: 2275–2279.

3. Kim C., Quarsten H., Bergseng E., Khosla C., Sollid L. Structural basis for HLA-DQ2-mediated presentation of gluten epitopes in celiac disease // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 4175–4179.

4. Jabri B., Sollid L. Mechanisms of disease: immunopathogenesis of celiac disease // *Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol.*, 2006; 3: 516–525.

5. Rostom A., Murray J., Kagnoff M. American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease // *Gastroenterology*, 2006; 131: 1981–2002.

6. NIH Consensus Development Program. NIH consensus development conference on celiac disease. <http://consensus.nih.gov/2004/2004CeliacDisease118main.htm> (Accessed July 2007).

7. Rostom A., Dube C., Cranney A., Saloojee N., Sy R., Garritty C. et al. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review // *Gastroenterology*, 2005; 128: S38–46.

8. Hill I. What are the sensitivity and specificity of serologic tests for celiac disease? Do sensitivity and specificity vary in different populations? // *Gastroenterology*, 2005; 128: S25–32.

9. Cellier C., Delabesse E., Helmer C., Patey N., Matuchansky C., Jabri B. et al. Refractory sprue, coeliac disease, and enteropathy-associated T-cell lymphoma. French Coeliac Disease Study Group // *Lancet*, 2000; 356: 203–208.

10. Mention J., Ahmed M., Begue B., Barbe U., Verkarre V., Asnafi V. et al. Interleukin 15: a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in celiac disease // *Gastroenterology*, 2003; 125: 730–745.

#### ► POINTS TO REMEMBER

- Celiac disease has a prevalence of 1%, and diagnosis is based on concordance of serologic tests, small bowel biopsy, and resolution of symptoms upon withdrawal of gluten from the diet.
- Wheat, rye, and barley are the main dietary sources of gluten that contribute to celiac disease. The gluten in oats does not seem to contribute to celiac disease.
- Testing for anti-human tTG antibodies provides a sensitivity approaching 100%. Antigliadin antibody testing is no longer recommended because of low sensitivity and specificity.
- Several possible explanations account for patient failure to respond to a gluten-free diet, including nonadherence, other coexisting conditions (such as small bowel bacterial overgrowth, lactose intolerance, and microscopic colitis), and the presence of type I or II refractory celiac disease.
- An appropriate test for refractory celiac disease for which adherence to a gluten-free diet has been verified is a TCR $\gamma$  gene-rearrangement study to determine if a prominent T-cell clone is present in the intestinal mucosa.

## Commentary

### ROBIN G. LORENZ

University of Alabama at Birmingham, Birmingham, AL.

Address correspondence to the author at: University of Alabama at Birmingham, 1825 University Blvd., SHEL 602, Birmingham, AL 35294-2182. Fax 205-996-9113; e-mail [rlorenz@uab.edu](mailto:rlorenz@uab.edu)

The gold standard for diagnosis of celiac disease (CD) requires both a duodenal biopsy showing villus blunting, crypt hyperplasia, and increased numbers of intraepithelial lymphocytes (IELs) and a subsequent small intestinal biopsy that shows resolution of these histological findings after the patient is put on a gluten-free diet (1). The development of new serological tests, however, have resulted in the current diagnostic standard of IgA anti-tissue transglutaminase (tTG), which is the autoantigen responsible for the development of endomysial antibodies.

In this case, the patient's original diagnosis was by a biopsy and IgA anti-tTG. She was refractory, however, to her gluten-free diet (a situation that could be attributable to nonadherence to the diet). When this possibility is ruled out, a more concerning reason for a poor clinical response is that the patient may have a serious complication of celiac disease, enteropathy-associated T-cell lymphoma (EATL) or refractory CD. EATL is a clonal proliferation of IELs that historically has been diagnosed on the basis of biopsy and immunohistochemical analysis to determine the presence of abnormal

T-cells in the intestinal epithelium. This case study is one of the first to investigate the use of polymerase chain reaction (PCR) for T-cell receptor (TCR) gene rearrangements in EATL/refractory CD and demonstrates that this approach will detect a clonal rearrangement in intestinal biopsies. It is critical to note, however, that oligo- or monoclonal IEL populations can also be detected in the large majority of refractory CD (both type I and type II), and therefore differentiation between EATL and refractory disease is of limited use (2). Immunohistochemical analysis for T-cell surface receptors (CD3 and CD8) and histological appearance are more useful in the diagnosis of EATL or refractory CD. Serology is useful only in the initial diagnosis.

**Grant/funding Support:** None declared.

**Financial Disclosures:** None declared.

#### References

1. Green P., Cellier C. Celiac disease // *N. Engl. J. Med.*, 2007; 357: 1731–1743.
2. Al-toma A., Verbeek W., Mulder C. The management of complicated celiac disease // *Dig. Dis.*, 2007; 25: 230–236.

**SUSAN H. BARTON AND JOSEPH A. MURRAY\***

**Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine, Mayo Clinic, Rochester, MN**

\* Address correspondence to this author at: Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine, Mayo Clinic, Rochester, MN.

e-mail murray.joseph@mayo.edu.

Previously published online at DOI: 10.1373/clinchem.2007.099358

Although refractory celiac disease (RCD) is frequently suspected, alternative or additional diagnoses can often explain the patient's symptoms. First, it is important to carefully review the original diagnosis, especially the biopsy slides and serology. The absence of the specific gene pairs associated with CD risk, DQA1\*05:DQB1\*02 (DQ2) or DQA1\*03:DQB1\*0302 (DQ8), makes CD unlikely. RCD is categorized into type I (polyclonal phenotype) and type II (clonal expansion of an aberrant intraepithelial T-cell population). The monoclonal phenotype can be detected by immunohistochemical analysis of intraepithelial lymphocytes, which will have cytoplasmic CD3 but lack the typical surface markers of T-cells, including CD8, CD4, and T-cell receptor- $\beta$ F1. T-cell receptor gene rearrangement analysis by PCR on extracted DNA from intestinal biopsies is an alternative method of identifying a T-cell clone, as in this case report. Although sufficient DNA for PCR can usually be obtained from fixed biopsies, we find that fresh frozen samples have a better yield of DNA, making possible Southern blotting in addition to the sensitive but less specific PCR technique. It also should be noted that DNA extraction destroys the tissue blocks, so immunohistochemical analysis should be performed first. Identification of clonal transformation of intraepithelial lymphocytes by flow cytometry has recently been used as an alternative method for diagnosis.

The diagnosis of type II RCD has significant clinical implications. T-cell clonal transformation is typically viewed as an initial step along a continuum leading to overt enteropathy-associated T-cell lymphoma (EATL). Development

of EATL is common among RCD II patients and is associated with a high mortality rate. The use of immunosuppressive drugs in RCD II patients is controversial because of the theoretical risk of accelerating the transformation to lymphoma. A recent aggressive approach using myeloablative chemotherapy followed by autologous stem cell support has been used in patients with RCD II with early results that appear encouraging. More recently, budesonide has been shown to improve overall clinical symptoms among both RCD I and II groups and to minimize the adverse side effects associated with chronic immunosuppression. Despite treatment, patients with RCD II frequently clinically deteriorate from complications of severe malnutrition. As aptly illustrated by Mikesch et al., nonresponsive celiac disease is a challenging condition.

**Grant/funding Support:** S.H.B. is supported by the NIH training grant T32 DK07198. J.A.M. is supported by NIH grants DK57892 and 071003.

**Financial Disclosures:** J.A.M. has been a consultant to Astra Zeneca, Alvine Inc., and Novartis and an investigator for Alba Therapeutics and Dynagen Inc.

**References**

1. Al-toma A., Visser O.J., van Roessel H.M., von Blomberg B.M., Verbeek W.H., Scholten P.E. et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in refractory celiac disease with aberrant T cells // *Blood*, 2007; 109: 2243–2249.
2. Daum S., Ipczynski R., Heine B., Schulzke J.D., Zeitz M., Ullrich R. Therapy with budesonide in patients with refractory sprue // *Digestion*, 2006; 73: 60–68.

## ЦЕЛИАКИЯ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ

Н.В. ВОХМЯНИНА

ГУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)», Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** В обзорной статье представлены метаболические нарушения, характерные для целиакии, которые формируют синдром мальабсорбции, сопровождающий заболевание. Рассмотрена взаимосвязь клинических проявлений с метаболическими нарушениями.

Отдельно выделены изменения в цитокиновом профиле как одном из аспектов иммунологических нарушений у больных целиакией, которые также способствуют развитию мультисистемного фенотипа.

**Ключевые слова:** целиакия, синдром мальабсорбции, метаболические нарушения, клинические проявления, изменения цитокинового профиля.

## CELIAC DISEASE AND METABOLIC DISTURBANCE

N.V. VOCHMIANINA

State health care institution «Medical genetic diagnostic center», Saint-Petersburg, Russia

**Summary.** The review discusses metabolic disturbances typical for celiac disease and the malabsorption syndrome. The correlation between clinical and metabolic disturbances is discussed.

Separate attention is devoted to cytokines profile peculiarities as one of the aspects of immunological disorders in celiac disease patients. These changes also lead to the development of multisystemic phenotype.

**Key words:** celiac disease, malabsorption syndrome, metabolic disorders, clinical manifestations, cytokines profile changes.

### Данные для корреспонденции:

Вохмянина Наталья Васильевна, к. м. н., заведующая биохимической лабораторией

ГУЗ ДЦ «Медико-генетический центр»,

194044, СПб., ул. Тобольская, 5, тел.: (812) 294-70-03, факс: (812) 294-70-01; e-mail: spbnat@yandex.ru

Целиакия (глютенчувствительная энтеропатия) — хроническое и прогрессирующее заболевание, характеризуется диффузной атрофией слизистой оболочки тонкой кишки, которая развивается в результате отсутствия толерантности к глютену (белок клейковины злаков) и является обратной в случае соблюдения безглютеновой диеты. Тяжесть заболевания оценивается в зависимости от продолжительности болезни и выраженности синдрома мальабсорбции (МА). Синдром нарушенного кишечного всасывания, или синдром мальабсорбции, как правило, сопровождается глютенчувствительную энтеропатию и характеризуется процессами нарушенного гидролиза и кишечного всасывания пищевых нутриентов, что становится причиной патологических нарушений во всех видах обменных процессов [18]. Самыми ранними и наиболее выраженными являются изменения в жировом (липидном) обмене, которые сопровождаются при целиакии снижением уровней холестерина, жирных кислот, общих липидов и их транспортных форм, фосфолипидов. Длительное время липидам отводили довольно скромную роль в жизнедеятельности клеток. Главным образом их рассматривали только как форму депонирования метаболического топлива. В настоящее время известно, что липиды являются важнейшими биологическими эффек-

торами и регуляторами в организме человека. Участие липидов практически во всех основных физиологических процессах (иммунный ответ, клеточный рост, регуляция сосудистого и мышечного тонуса, гемостаз, воспаление и т. д.), а также роль, которую они играют в качестве вторичных мессенджеров в ядерной трансдукции сигналов, объясняет важность и серьезность их нарушений [12]. У больных целиакией нарушения в липидном обмене прежде всего связаны с дефицитом жирных кислот, причиной которого является их низкая реабсорбция в тонком кишечнике, с последующим выведением жирных кислот из кишечника в виде нерастворимых кальциевых солей (мыла), конкурирующих с оксалатными солями кишечника. Низкая реабсорбция и выведение жирных кислот из кишечника становятся причинами измененного количественного состава жирных кислот у больных целиакией, что может отражаться, например, на увеличении простагландинов с усилением воспалительных процессов в слизистой тонкого кишечника в результате понижения линолевой кислоты [20]. Измененный количественный и качественный состав жирных кислот влияет на процессы  $\beta$ -окисления и изменяет энергетические ресурсы организма. Проведенные исследования показали, что больные целиакией вынужденно используют углеводы как энергетический



Рис. 1. Продукты метаболизма окиси азота

субстрат, что было подтверждено более высокими показателями окисления и потребления углеводов, по сравнению с жирами [7]. Синдром мальабсорбции также становится причиной вторичного дефицита карнитина, являющегося основным транспортером жирных кислот при  $\beta$ -окислении. Дефицит карнитина у больных целиакией усугубляется снижением активности ферментов, вовлеченных в карнитиновый цитозольный биосинтез. Уменьшение синтеза карнитина и его производных не только приводит к нарушениям в  $\beta$ -окислении жирных кислот, но и отражается на формировании оксидативного стресса, нарушает мембранную репарацию, проведение нервных импульсов, повышает активность воспалительных цитокинов и др.

Не менее значимые липидные нарушения происходят в биологических мембранах, где фосфолипиды под влиянием активных форм кислорода, образующихся при целиакии в большом количестве с участием оксида азота (NO), включаются в процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ). Оксид азота у больных целиакией продуцируется главным образом макрофагами после их активации провоспалительными цитокинами. Высокие концентрации окиси азота приводят к увеличению продуктов метаболизма NO — сильнейших оксидантов — пероксинитритного аниона и пероксинитритной кислоты (рис. 1). Помимо других химических реакций, пероксинитритный радикал, обладая высокой реакционной способностью, инициирует перекисное окисление липидов при непосредственном взаимодействии с фосфолипидами, представляющих для него избирательный субстрат [5, 11].

Увеличение свободных радикалов усиливает процессы перекисидации липидов, что приводит к изменению поверхностного заряда мембран и липопротеинов, уменьшению гидрофобного объема липидного слоя мембран с увеличением их микровязкости и отражается на окислительно-восстановительном потенциале клетки, а также на рецепторных функциях мембран кишечного эпителия [20].

Изучение липидного профиля у больных целиакией выявило также значительное увеличение липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), которое было отмечено у больных целиакией с низким уровнем альбумина и тяжелыми нарушениями в слизистой оболочке тонкой кишки [8].

Снижение уровня холестерина, входящего в структуру половых гормонов и желчных кислот, приводит к их уменьшенному синтезу. Низкая концентрация желчных кислот прерывает энтерогепатический (пор-

тально-билиарный) путь их поступления в печень и нарушает физиологическое соотношение между концентрацией холестерина и желчными кислотами в желчи. В результате образуется литогенная желчь, с последующим развитием калькулеза. Кроме того, дефицит желчных кислот в тонкой кишке нарушает эмульгирование жиров, снижает активность панкреатической липазы, что ухудшает гидролиз и всасывание жиров и становится причиной стеатореи. Усиливает этот процесс уменьшенная продукция гормонов кишечника (секретин, холецистокинин), которая снижает не только экзокринную функцию поджелудочной железы, но и сокращение желчного пузыря [10].

Что касается половых гормонов, то недостаточное количество холестерина является причиной уменьшения стероидных гормонов (эстроген, тестостерон, кортизол) и инициирует серьезные нарушения в репродуктивной функции, задержку полового созревания у детей.

Продукты окисления холестерина (оксистеролы) являются важными эндогенными регуляторами функциональной активности макрофагов и лимфоцитов, их взаимодействий в процессах иммуногенеза, что представляется существенным в развитии адекватного иммунного ответа у больных целиакией.

Следствием снижения липидов при глютенчувствительной энтеропатии является дефицит жирорастворимых витаминов (А, D, E, K), выполняющих функции антиоксидантов с возможностью воздействия, в том числе, и на синглетный кислород, который действует как мощный окислитель, усугубляя процессы перекисного окисления липидов.

Проведенные исследования установили связь между дефицитом витамина E у больных целиакией с развитием у них таких неврологических осложнений, как миопатия, полинейропатия, атаксия. Недостаток витамина D у детей нарушает процессы костной минерализации и приводит к рахиту, с последующим формированием процессов остеомалации. У взрослых дефицит витамина D определяет развитие раннего остеопороза. Дефицит витаминов A и E уменьшает влажность и эластичность кожи, способствуя обострению частых дерматологических нарушений при целиакии [15, 16]. Изучение осложнений дефицита витамина K у пациентов с глютенной энтеропатией показало его значение в изменении коагуляционного профиля, которое выражается в уменьшении VII, IX, X факторов свертывания и характеризуется значительным увеличением протромбинового и активизированного частичного тромбопластинного времени, с дальнейшим развитием коагулопатий [9].

Перечисленные нарушения липидного обмена при целиакии определяют такие частые клинические проявления целиакии как:

- печеночный калькулез, первичный билиарный цирроз, хронический персистирующий гепатит и гипертрансаминаземию;

- снижение репродуктивной функции, задержку полового созревания, бесплодие, самопроизвольные выкидыши, антенатальную, перинатальную гибель плода, рождение детей с низким весом, низкую сексуальную активность, дисменорею;
- почечные метаболические расстройства (образование почечных оксалатных камней из оксалатов кишечника) с присоединением мочевого инфекции;
- снижение экзокринной функции поджелудочной железы, с формированием хронического панкреатита;
- признаки повышенной кровоточивости (носовые кровотечения, экхимозы, пурпура, кровохарканье, гематурия);
- сухость, шелушение кожи, дерматиты.

Нарушение всасывания белков при целиакии определяет белковую недостаточность организма, которая приводит к следующим нарушениям, в частности:

- в печени — снижение интенсивности процессов дезаминирования, трансаминирования, биосинтеза аминокислот и связанные с этим нарушения в процессах ферментобразования, синтеза липопротеидов, альбуминов, глобулинов, снижение интенсивности синтеза мочевины;
- в почках — нарушение реабсорбции аминокислот, образования глюкозы и аммиака из аминокислот;
- в мышцах — изменения в окислительных процессах аминокислот и синтезе белка;
- в ЦНС — нарушение активного транспорта незаменимых аминокислот и синтеза нейромедиаторов;
- в соединительной ткани — нарушения в обмене протеогликанов.

Перечисленные белковые нарушения вызывают изменение антителообразования, гипопроteinемию, гипоферментемию, гиперазотемию, гипераминоацидурию, нарушение кислотно-основного состояния (КОС), изменение фракционного состава мышечной ткани, уменьшение АТФ-активности, снижение концентрации ГАМК (гамма-аминомасляная кислота), что определяет следующие клинические проявления целиакии [19]:

- уменьшение резистентности к инфекциям (частые ОРВИ, инфекционные заболевания);
- гипопроteinемические отеки;
- метаболические расстройства (метаболические заболевания почек, сердца, печени — алипотропное ожирение);
- аутоинтоксикация (рвота, снижение аппетита, вплоть до анорексии);
- нарушение сократительной активности мышечной ткани;
- нарушение регуляторной функции ЦНС, которое проявляется изменениями в настроении и пове-

дении в виде агрессивности, раздражительности, депрессии;

- психомоторная задержка развития, олигофрения, шизофрения, пресенильная деменция;
- энцефалопатии;
- уменьшение массы тела.

Патология углеводного обмена при целиакии сводится к недостатку таких ферментов энтероцитов как лактаза, изомальтаза, сахараза, что приводит ко вторичным дисахаридазной и лактазной недостаточности. Мальабсорбция лактозы встречается при целиакии наиболее часто. При этом лактоза, не всасываясь, служит субстратом для активного размножения бактерий, результатом чего является образование водорода, органических кислот, трехуглеродистых соединений, раздражающих слизистую оболочку тонкого кишечника, вызывая метеоризм, боли, снижение РН, нарушение микрофлоры. Мальабсорбция лактозы, сахарозы может также способствовать развитию метаболического ацидоза и инициировать развитие дисбактериоза.

Другим характерным признаком нарушенного кишечного всасывания углеводов является осмотическая диарея, при которой не переваренные и не всосавшиеся углеводы, имея высокую осмотическую активность, способствуют выходу воды в просвет кишки. Кроме этого, углеводы, попадая в толстую кишку, метаболизируются бактериями до короткоцепочечных жирных кислот, которые в больших количествах повышают осмотическую активность содержимого толстой кишки, что также сопровождается выходом воды в просвет кишечника и усугубляет проявления осмотической диареи [6].

Нарушения в углеводном обмене характеризуют такие клинические проявления как диарея, метеоризм, боли в животе, дисбактериоз. Нужно отметить, что вынужденное потребление углеводов как энергетического субстрата больными глютенчувствительной энтеропатией приводит к повышенному их потреблению, усугубляя описанные выше нарушения и объясняя наиболее частую встречаемость клинических проявлений целиакии, связанных с нарушениями в углеводном обмене.

Минеральный обмен при целиакии связан с нарушенным всасыванием ионов различных металлов, микроэлементов. Особого внимания заслуживает фосфорно-кальциевый обмен, который по значимости и частоте клинических проявлений выступает на первый план. Снижение реабсорбции кальция и магния вместе с их выведением из кишечника в составе нерастворимых солей жирных кислот, дефицит фосфора, витамина D, половых гормонов приводит к таким клиническим проявлениям как остеопороз, остеомалация, гипоплазия зубной эмали с тенденцией к кариесу и формированием вторичного гиперпаратиреоза.

Важная роль отводится ионам кальция в регуляции клеточной возбудимости. Последние изучения механизмов апоптоза раскрыли еще одну ключевую функцию этого катиона, которая заключается в Са-зависимой

активации ферментов (эндонуклеазы, тканевые трансглутаминазы, протеазы), после которой апоптоз приобретает необратимый характер. Именно апоптозу при целиакии принадлежит ведущая роль в структурной перестройке слизистой тонкой кишки, приводящая к гиперрегенераторной атрофии слизистой. Было доказано, что при активной форме целиакии количество апоптозов резко возрастает. Важность этих процессов подчеркивает значение кальция для глютенковой энтеропатии [1].

К другим клиническим проявлениям минеральной недостаточности при целиакии относят:

- судороги, скрытую тетанию — как проявление гипокальциемии у больных с целиакией;
- уменьшение уровня секреторных антител и напряженность клеточного иммунитета, снижение активности ферментов щеточной каемки энтероцитов, кожные изменения, хейлит, низкорослость как дефицит такого важного элемента как цинк;
- анемии.

Анемии являются одним из частых проявлений глютенчувствительной энтеропатии и по данным зарубежной литературы регистрируются у 69% больных целиакией. На долю железодефицитной анемии приходится 46%, при более высокой распространенности у взрослых. Дефицит железа у больных целиакией связан прежде всего со сниженной абсорбцией железа в кишечнике, но может быть причиной скрытого кровотечения в желудочно-кишечном тракте, обнаруженного у 25–54% пациентов, в зависимости от степени ворсинчатой атрофии [14].

Дефицит фолиевой кислоты обычно тоже приводит к нарушениям нормального гемопоэза и сопровождается мегалобластной анемией. Тяжелый дефицит фолиевой кислоты может закончиться лейкоцитопенией и тромбоцитопенией и даже проявиться как тяжелая панцитопения. Кроме того, дефицит фолиевой кислоты приводит к повышению гомоцистеина, инициирующего развитие сердечно-сосудистой патологии.

Витамин В<sub>12</sub>, являясь кофактором многих биохимических процессов, включает синтез пуриновых и пиримидиновых оснований, нуклеозидов, а также синтез метионина, что предполагает серьезность биохимических нарушений при его дефиците. Установлено, что В<sub>12</sub>-дефицит может присутствовать у всех пациентов с целиакией, имеющих гематологические и неврологические отклонения. При глютенчувствительной энтеропатии В<sub>12</sub>-дефицит часто сочетается с дефицитом фолиевой кислоты.

Анемия у больных целиакией может быть также следствием мальабсорбции других микроэлементов, необходимых для нормального гемопоэза. Например, дефицит меди, описанный у детей с целиакией, заканчивался анемией и тромбоцитопенией. Дефициты витамина В<sub>6</sub>, пантотеновой кислоты и рибофлавина предпо-

ложительно тоже имеют отношение к развитию анемии у больных целиакией [14].

Нарушение всасывания других микроэлементов, витаминов, которые являются коферментами или их составной частью, приводит к гипоактивации ферментов, вызывает изменения в электролитном обмене, осморегуляции и усугубляет клиническую картину целиакии такими проявлениями как гипотония, тахикардия, экстрасистолия, расстройства сна, хейлиты, стоматиты, кровоточивость десен, снижение кишечной моторики, невриты и др.

Таким образом, метаболические нарушения, присутствующие при целиакии, обеспечивают широкий спектр клинических проявлений целиакии и отвечают за формирование мультисистемного фенотипа.

Триггером формирования мультисистемного фенотипа, как предполагают сегодня, являются активно экспрессирующиеся иммунные нарушения, которые сопровождают глютенковую энтеропатию и определяют ее как иммуноопосредованное заболевание. Одним из аспектов иммунных нарушений является гиперсекреция провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-2, IL-6, IL-15, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) и изменение цитокинового спектра [17].

Поиск научно доказанных фактов об определяющем участии цитокинов в различных патологических процессах объяснил их влияние на формирование установленных основных клинических проявлений целиакии. Так, механизмы атопического воспаления сегодня связывают с изменением некоторых аспектов регуляции на уровне провоспалительных цитокинов, что влияет на различные этапы дифференцировки В-лимфоцитов и межклеточные взаимодействия Т- и В-лимфоцитов, которые приводят к регрессивному уменьшению Т-лимфоцитов у больных глютенчувствительной энтеропатией [21]. Интересные данные получены при объяснении связи между измененным цитокиновым спектром и остеопорозом при воспалительных заболеваниях кишечника, включая целиакию. Полагают, что провоспалительные цитокины (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ), синтезируемые Т-клетками в процессе их активации, участвуют в регуляции функциональной активности остеобластов и остеокластов, стимулируя процессы резорбции костной ткани. Один из механизмов, который объясняет участие провоспалительных цитокинов в резорбции костной ткани, связан со способностью цитокинов увеличивать экспрессию сосудистой молекулы адгезии (ICAM-1) на остеобластах, что приводит к аккумуляции предшественников остеокластов в зоне формирования костной ткани [13].

Известна зависимость развития анемии при хронических заболеваниях от уровня провоспалительных цитокинов, которая показала, что провоспалительные цитокины, в частности IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , а также колониестимулирующие факторы влияют на гемопоэз, воздействуя на ранние этапы дифференцировки клеток, что способствует развитию анемии хронических заболе-

ваний. Кроме этого, экспериментальные исследования показали, что IL-1, TNF- $\alpha$  могут повышать синтез ферритина и подавлять экспрессию гена эритропоэтина (ЭПО) в клетках почек и печени и соответственно снижать содержание ЭПО в плазме крови [4].

Выявлена также гиперсекреция некоторых цитокинов (IL-1, IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) при развитии депрессии с доказательством значимой роли повышенной секреции цитокинов для дофаминовой, норадреналиновой и серотониновой нейротрансмиссии, с влиянием на гормоны гипоталамо-питуитарно-адреналовой системы [3].

Эти же цитокины (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) организуют активацию таких лейкоцитов, как полиморфно-ядерные нейтрофилы, которые выделяют разнообразные протеолитические ферменты из специфических и азурофильных гранул. Четыре из этих протеолитических ферментов — эластаза, катепсин G, желатиназа и коллагеназа — обладают наибольшим потенциалом к деструкции тканей, так как способны воздействовать на такие основные компоненты экстрацеллюлярного матрикса как коллагены, эластин, протеогликаны и гликопротеины [2].

Таким образом, изменение провоспалительного цитокинового профиля, который имеет место в патогенезе целиакии, может определять развитие клинического полиморфизма еще до формирования синдрома нарушенного кишечного всасывания и связанных с ним метаболических нарушений, что может объяснить существование, например, латентных, потенциальных форм целиакии, при которых отсутствуют деструктивные изменения в слизистой оболочке тонкого кишечника.

Понимание метаболических, иммунных расстройств, лежащих в основе клинических проявлений целиакии, способствует оптимизации и эффективности лечения.

#### Литература

1. Аруин, Л.И. Апоптоз при патологических процессах в органах пищеварения / Л.И. Аруин // Клиническая медицина. — 2000. — № 1. — С. 5–10.
2. Бельмер, С.В. Некоторые аспекты гуморальной регуляции функций желудочно-кишечного тракта при синдроме нарушенного кишечного всасывания (энтероэндокринные клетки и гормоны щитовидной железы) : автореф. дис. ... канд. мед. наук / С.В. Бельмер. — М., 1990. — 24 с.
3. Вельтищев, Д.Ю. Клинико-патогенетические закономерности ситуационных расстройств депрессивного спектра : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Д.Ю. Вельтищев. — М., 2000. — 42 с.
4. Долгов, В.В. Лабораторная диагностика анемий / В.В. Долгов, С.А. Луговская, В.Т. Морозова, М.Е. Почтарь. — Тверь: Губернская медицина, 2001. — 88 с.
5. Жлоба, А.А. Лабораторная диагностика нарушений свободно-радикального метаболизма : методическое пособие / А.А. Жлоба. — СПб.: СПбМГУ им. акад. И.П. Павлова, 2001. — 38 с.
6. Рысс, Е.С. Заболевания тонкой кишки / Е.С. Рысс // Внутренние болезни. — СПб.: Специальная литература, 2000. — 861 с.
7. Changes in body composition, substrate oxidation, and resting metabolic rate in adult celiac disease patients after a 1-y gluten-free diet treatment / E. Capristo [et al.] // Am. J. Clin. Nut. — 2009. — Vol. 72, N 1. — P. 76–81.
8. Change in lipid profile in celiac disease: beneficial effect of gluten-free diet / G.Y. Kwon [et al.] // Am. J. Med. — 2006. — Vol. 119, N 9. — P. 786–790.
9. Chen, C.S. Coagulopathy due to celiac disease presenting as intramuscular hemorrhage / C.S. Chen, E.U. Cumbler, A.T. Triebing // J. Gen. Intern. Med. — 2007. — Vol. 22, N 11. — P. 1608–1612.
10. El-Salhy, M. The nature and implication of intestinal endocrine cell changes in celiac disease / M. El-Salhy // Histol. Histopathol. — 1998. — Vol. 13, N 4. — P. 1069–1075.
11. Ertekin, V. Serum nitric oxide levels in children with celiac disease / V. Ertekin, M.A. Selimoglu, Y.A. Turkan // J. Clin. Gastroenterol. — 2005. — Vol. 39, N 9. — P. 782–785.
12. Eyster, K.M. The membrane and lipids as integral participants in signal transduction / K.M. Eyster // Adv. Physiol. Edu. — 2007. — Vol. 31. — P. 5–16.
13. Gut, inflammation and osteoporosis: basic and clinical concepts / H. Tilg [et al.] // Gut. — 2008. — Vol. 57, N 5. — P. 684–694.
14. Halfdanarson, T.R. Hematologic manifestations of celiac / T.R. Halfdanarson, M.R. Litzow, J.A. Murray // Blood. — 2007. — Vol. 109, N 2. — P. 412–421.
15. Holick, M.F. Vitamin D deficiency / M.F. Holick // N. Engl. J. Med. — 2009. — Vol. 357, N 3. — P. 266–281
16. Kleopa, K.A. Reversible inflammatory and vacuolar myopathy with vitamin E deficiency in celiac disease / K.A. Kleopa, K. Kyriacou, E. Zamba-Papanicolaou, T. Kyriakides // Muscle & Nerve. — 2008. — Vol. 31, N 2. — P. 260–265.
17. León, F. Cytokine production by intestinal intraepithelial lymphocyte subsets in celiac disease / F. León, L. Sánchez, C. Camarero, G. Roy // Dig. Dis. — 2009. — Vol. 50, N 3. — P. 593–600.
18. Metabolic and nutritional features in adult celiac patients / N. Malandrino [et al.] // Dig. Dis. — 2008. — Vol. 26. — P. 128–133.
19. Protein expression profile of celiac disease patient with aberrant T-cell by two-dimensional difference gel electrophoresis / V. De Re [et al.] // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 2007. — Vol. 1109. — P. 429–440.
20. Steel, D.M. Abnormal fatty acid pattern in intestinal mucosa of children with celiac disease is not reflected in serum phospholipids / D.M. Steel, W. Ryd, H. Ascher, B. Strandvik // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. — 2006. — Vol. 43, N 3. — P. 318–323.
21. Thomas, T. MacDonald and Giovanni Monteleone. Immunity, Inflammation and Allergy in the Gut / T. Thomas // Sci. — 2005. — Vol. 307. — P. 1920–1925.

## ЗНАЧЕНИЕ ДИАГНОСТИКИ ДИСБАКТЕРИОЗА КИШЕЧНИКА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

**В.К. ЯКОВЛЕВА**

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

**Резюме.** В настоящее время в мире отмечается тенденция к ежегодному увеличению частоты аллергических заболеваний. Известно, что атопические заболевания часто сопровождаются нарушениями биоценоза кишечника. В статье приводятся результаты длительного наблюдения за больными бронхиальной астмой после проведенной коррекции дисбактериоза кишечника.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, дисбактериоз, лямблиоз, аллергия.

## DIAGNOSTIC VALUE OF INTESTINAL DYSBIOSIS IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

**V.K. YAKOVLEVA**

State educational institution for higher professional education "Saint-Petersburg State Pavlov Medical University", Federal Agency for Health Care and Social Development, Saint-Petersburg, Russia

**Summary.** At present time, there is a tendency for steady annual increase in frequency of allergic diseases. It is known that atopic diseases are often accompanied by disturbances of intestinal biocenosis. The article presents results of long-term observation of the patients with bronchial asthma after correction the intestinal dysbiosis.

**Key words:** bronchial asthma, intestinal dysbiosis, giardiasis, allergy.

### Данные для корреспонденции:

Яковлева В.К., кафедра госпитальной терапии с клиникой им. М.В. Черноруцкого СПбГМУ им. И.П. Павлова, 197022, СПб., ул. Л. Толстого, 6/8, тел.: (812) 499-71-45

В настоящее время в мире отмечается тенденция к ежегодному увеличению частоты аллергических заболеваний. В среднем от 10 до 30% населения земного шара страдает различными формами аллергической патологии [6, 9]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), заболеваемость аллергией и бронхиальной астмой (БА) в ряде западных государств за 40 лет увеличилась в 2–3 раза и приобрела эпидемический характер [2].

Известно, что атопические заболевания часто сопровождаются нарушениями биоценоза кишечника. Дисбактериозу кишечника уделяют важное значение как фактору, который способствует развитию сенсibilизации организма к условно-патогенной флоре кишечника и отягощает клиническое течение БА. Известна роль иммуномодулирующего эффекта кишечной микрофлоры, обусловленная влиянием на дифференцировку Т-супрессоров в Пейеровых бляшках. Субпопуляция Th<sub>3</sub>, индуцируемая нормальной микрофлорой кишечника, синтезирует фактор роста опухоли — TGF-β, препятствующий развитию атопии, и противовоспалительный IL10, который переключает дифференцировку с Th<sub>2</sub> на Th<sub>1</sub>-иммунный ответ [1, 3].

Частота дисбактериоза различной степени выраженности у больных с атопическим синдромом при его активном выявлении достигает 90–98% [5]. По данным А.Е. Билева (2003) [7], при обострении БА формирует-

ся паразитарная система, которая характеризуется взаимосвязью дисбиотических изменений в микробиотопах кишечника и бронхолегочного аппарата по степени их тяжести, а также персистенцией одних и тех же микробов в легких и кишечнике у 49% больных.

### Материалы и методы исследования

Нами было отобрано 27 больных с дисбактериозом кишечника БА(д) различной степени тяжести, у 12 из них дисбактериоз сочетался с лямблиозом кишечника БА(д+л). В группу сравнения вошли 18 больных без дисбактериоза и паразитоза кишечника БА(–).

У обследованных больных с БА были определены основные клинико-патогенетические варианты БА (КПВ) согласно классификации А.Д. Адо и П.К. Булатова (1969) с дополнениями Г.Б. Федосеева (1982) [4]. Степень тяжести заболевания БА была установлена с учетом рекомендаций GINA пересмотра 2007 г. [8].

В группу БА(д) вошли больные в возрасте от 18 до 60 лет с длительностью БА 6,5±0,8 года, в группу БА(–) от 18 до 53 лет с длительностью БА 6,4±1,5 года.

Помимо стандартного клинико-лабораторного обследования всем больным БА проводилось исследование функции внешнего дыхания (ФВД), состояние пациентов также оценивалось по тесту контроля над астмой (Asthma Control Test — АСТ) [8].

С целью выявления нарушений микробиоценоза кишечника проводилось микробиологическое исследование кала: посев на среды. Полученные данные о качественном и количественном составе основной микрофлоры кишечника сопоставляли с нормальными показателями [10]. При исследовании микробиоценоза кишечника мы определяли количество бифидо- и лактобактерий, кишечной палочки с нормальной и сниженной ферментативной активностью, энтерококков, стафилококков, гемолизирующей кишечной палочки, условно-патогенных лактозонегативных энтеробактерий (клебсиелла, протей, энтеробактер, цитробактер и др.), дрожжеподобных и грибов рода *Candida*.

Исследование кала на дисбактериоз проводилось в научно-исследовательской лаборатории «Диагностика» института экспериментальной медицины РАМН (зав. лабораторией д. м. н. Суворов А.Н.).

Забор фекалий производили в стерильную посуду. От момента забора материала до момента исследования проходило не более 2 часов.

Микробиологическими критериями диагноза являлись [12]:

- нарастание количества условно патогенных микроорганизмов одного или нескольких видов в кишечнике при нормальном количестве бифидобактерий;
- нарастание одного или нескольких видов условно патогенных микроорганизмов при умеренном снижении концентрации бифидобактерий (на 1–2 порядка);
- снижение содержания облигатных представителей микробиоценоза (бифидобактерий и/или лактобацилл) без регистрируемого увеличения количества сапрофитной или условно патогенной микрофлоры кишечника;
- умеренное или значительное ( $<10^7$ ) снижение содержания бифидобактерий, сочетающееся с выраженными изменениями в аэробной микрофлоре — редукцией лактобацилл, появлением измененных форм кишечной палочки, обнаружением одного или нескольких представителей условно патогенных микроорганизмов в высоких титрах (до  $10^7$ – $10^8$  КОЕ/г).

Выделение ДНК для ПЦР — диагностики лямблий в кале проводилось с помощью набора «ДНК-экспресс» (НПФ «Литех», Москва). С выделенной ДНК проводили ПЦР с праймерами TRIA1/TRIA2, специфичными для лямблий группы А, и TRIB1/TRIB2, специфичными для лямблий группы В. Исследование проводилось в научно-исследовательской лаборатории «Диагностика», НИИ экспериментальной медицины РАМН (зав. лабораторией д. м. н. Суворов А.Н.).

Коррекцию дисбактериоза кишечника проводили в соответствии со степенью и характером выявленных нарушений, руководствуясь отраслевым стандартом «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечни-

ка» [12]. При выявлении избыточного роста условно-патогенной флоры назначался пробиотик из группы самоэлиминирующихся антагонистов Энтерол по 250 мг 2 раза в день в течение 10 дней, затем, в случае угнетения нормальной микрофлоры, назначался один из пробиотиков: Бифиформ по 2 капс. 2 раза в день, или Бион-3 по 1 таб. 1 раз в день, или Линекс по 2 капс. 3 раза в день в течение 14 дней. Далее для восстановительной терапии применялся Эубикор по 1 порошку 3 раза в день, или лактулоза (Дюфалак) 15 мл в сутки, или Хилак-форте по 40 капель 3 раза в день в течение 14 дней. При повторном выявлении условно-патогенной флоры назначался рифаксимин (Альфа нормикс) по 400 мг 3 раза в день в течение 7 дней. При угнетении нормальной микрофлоры последовательно назначался один из пробиотиков по ранее описанной схеме, а затем для восстановительной терапии применялся Эубикор по 1 порошку 3 раза в день, или лактулоза (Дюфалак) 15 мл в сутки, или Хилак-форте по 40 капель 3 раза в день в течение 14 дней.

Терапия лямблиоза включала прием препаратов, обладающих желчегонным действием (Хофитол, Одестон) в стандартных дозах с присоединением на 5–6-й день терапии одного из противопротозойных препаратов, таких как нифуратель (Макмирор) по 200 мг 3 раза в день в течение 7 дней, или орнидазол (Тиберал) по 1,5 г в сутки в течение 2 дней, или альбендазол (Немозол) 400 мг в сутки в один прием в течение 3 дней. После приема противопротозойного препарата назначался Энтерол по 250 мг 2 раза в день в течение 7 дней. Критерием эффективности антипаразитарного лечения считался отрицательный результат копрологического исследования на наличие лямблий методом ПЦР через 2 недели после окончания терапии. При повторном обнаружении паразита проводился повторный курс терапии со сменой противопротозойного препарата [11].

Исследуемые пациенты наблюдались в течение года. Им проводилось повторное обследование сразу после окончания терапии, через 6 и 12 месяцев.

Для математической обработки результатов исследований использованы методы вариационной статистики (Поллард Дж., 1982).

Достоверности различий между двумя средними величинами оценивались по критерию Стьюдента ( $t$ ), между абсолютными величинами — по критерию Пирсона ( $\chi^2$ ).

Статистическую обработку результатов проводили на компьютере IBM Pentium-4 с применением программы «SPSS Statistics 17.0». Полученные результаты исследований были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрической и непараметрической статистики. Вычисляли критерий  $\chi^2$ , критерий Манна–Уитни, критерий Мак-Немара. О достоверности отличий средних величин при нормальном распределении показателей судили по критерию Стьюдента ( $t$ ). Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

Таблица 1. Результаты АСТ-теста в обследуемых группах

	БА(-) n = 18	БА(д) n = 15	БА(д+л) n = 12
АСТ-тест, баллы	21,2±0,5	19,7±0,6*	18,6±0,6**
Ограничение объема работы	4,7±0,1	4,7±0,1	4,4±0,1
Затрудненное дыхание	3,8±0,1	3,6±0,1	3,8±0,2
Ночные симптомы	4,6±0,1	4,0±0,2*	3,5±0,2**
Потребность в короткодействующих препаратах	3,9±0,2	3,8±0,2	3,7±0,2
Самооценка контроля	4,2±0,1	3,6±0,1**	3,4±0,1***

\* Достоверное отличие от группы сравнения БА(-),  $p < 0,05$ .

\*\* Достоверное отличие от группы сравнения БА(-),  $p < 0,005$ .

\*\*\* Достоверное отличие от группы сравнения БА(-),  $p < 0,001$ .

### Результаты и обсуждение

При анализе функционального состояния ЖКТ выявлено, что симптомы метеоризма встречались у 6 больных (40,0%) в группе БА(д), у 3 больных (25,0%) в группе БА(д+л) и ни у одного больного в группе БА(-). Нарушения стула встречались у 4 больных (26,7%) в группе БА(д), у 4 больных (33,3%) в группе БА(д+л), в то время как в группе больных БА(-) эти симптомы отсутствовали.

Среди больных БА с выявленным дисбактериозом у 5 (18,5%) был выявлен дисбактериоз 1-й степени, у 17 (66,7%) – дисбактериоз 2-й степени, у 5 (18,5%) – дисбактериоз 3-й степени.

У всех больных с дисбактериозом выявлено угнетение роста факультативных анаэробов: бифидобактерий, лактобактерий и кишечной палочки изолированно или в сочетании. При дисбактериозе 3-й степени, кроме того, был выявлен рост условно-патогенной микрофлоры: цитробактера, энтеробактера, гемолитической *E. coli* и грибов рода *Candida*.

При оценке контроля над астмой в группе больных БА с дисбактериозом и сочетанием дисбактериоза и лямблиоза средние показатели контроля над астмой были достоверно ниже, чем в группе БА(-), преимущественно за счет большей частоты ночных симптомов и более низкой самооценки контроля (табл. 1).

Прирост ОФВ<sub>1</sub>, МОС<sub>25</sub>, МОС<sub>50</sub> при исследовании ФВД достоверно выше у больных БА при наличии дисбактериоза, при сочетании дисбактериоза и лямблиоза, чем в группе сравнения (табл. 2).

Всем пациентам, помимо стандартной базисной терапии основного заболевания согласно GINA 2007, проводилась коррекция выявленных нарушений. Контроль за состоянием пациента осуществлялся в течение года от начала лечения. У 5 пациентов с дисбактериозом после проведенного лечения сохранялись отклонения

в составе микрофлоры в виде снижения 1 или 2 показателей нормальной микрофлоры, условно-патогенные микроорганизмы не определялись. Все эти пациенты до начала терапии дисбактериоза имели 3-ю степень дисбиотических нарушений.

У более чем половины больных (15, или 55,6%), имевших к началу наблюдения дисбактериоз, уменьшилось количество обострений по сравнению с годом, предшествующим началу наблюдения. В группе БА(-) количество обострений уменьшилось только у 1 больного (табл. 3).

При оценке динамики контроля над астмой вне периода обострения с помощью Asthma Control Test выявлено достоверное улучшение контроля над астмой (табл. 4) по сравнению с исходными данными через 6 и 12 месяцев в группах БА(д) и БА(д+л) и отсутствие такового в группе БА(-). Улучшение контроля над астмой было достигнуто за счет снижения частоты эпизодов затрудненного дыхания, уменьшения ночных симптомов, уменьшения потребности в бронхолитиках короткого действия и улучшения самооценки контроля над заболеванием.

Исследование ФВД проводилось вне обострения до начала наблюдения, через 6 и 12 месяцев. В группе БА(-) достоверных изменений ФВД не выявлено. В группе БА(д) улучшились показатели ПОС, МОС<sub>25</sub>, МОС<sub>50</sub>. В группе БА(д+л) улучшились показатели МОС<sub>25</sub>, МОС<sub>50</sub>. Достоверных изменений ОФВ<sub>1</sub> не выявлено (табл. 5–7).

Таким образом, у больных БА, имевшим к началу наблюдения дисбактериоз кишечника и сочетание дисбактериоза с лямблиозом, на фоне комплексного лечения при наблюдении за больными в динамике улучшились показатели контроля над астмой, уменьшилось количество обострений и улучшились показатели ФВД.

Таблица 2. Сравнительная характеристика показателей ФВД

	БА(-), n = 18	БА (д), n = 12	БА(д+л), n = 12
<b>До бронхолитика</b>			
ОФВ <sub>1</sub>	96,5±2,9	81,5±4,3*	84,6±4,9*
ПОС	86,5±2,8	78,2±5,1	82,2±3,7
МОС <sub>25</sub>	72,7±3,9	53,9±5,1*	51,5±5,2*
МОС <sub>50</sub>	60,4±3,6	46,7±5,0*	51,5±4,9*
МОС <sub>75</sub>	58,2±3,8	51,4±5,6*	49,7±5,9*
СОС <sub>25-75</sub>	66,6±3,3	50,9±5,4	53,9±5,8
<b>После бронхолитика</b>			
ОФВ <sub>1</sub>	104,0±2,9	94,8±3,3*	99,5±3,6
ПОС	94,7±2,7	87,8±4,3	97,2±3,2
МОС <sub>25</sub>	88,6±3,4	75,3±6,5*	83,1±4,9
МОС <sub>50</sub>	74,9±3,7	71,0±7,3	74,3±4,1
МОС <sub>75</sub>	73,8±4,7	72,4±5,8	70,4±7,7
СОС <sub>25-75</sub>	81,2±3,5	74,6±6,3	72,8±6,7
<b>Прирост</b>			
ОФВ <sub>1</sub>	8,0±1,4	18,9±3,3*	20,4±5,5
ПОС	10,3±2,7	15,5±5,0	19,3±5,3
МОС <sub>25</sub>	23,8±3,7	42,2±5,1*	45,3±7,1*
МОС <sub>50</sub>	25,7±4,6	54,7±8,8*	34,2±4,0
МОС <sub>75</sub>	27,2±5,4	48,7±9,3*	42,6±9,5
СОС <sub>25-75</sub>	22,9±3,8	54,9±10,6*	38,7±6,2

\* Достоверность отличий, p < 0,05.

ОФВ<sub>1</sub> — объем форсированного выдоха за первую секунду, МОС<sub>25</sub> — максимальная объемная скорость экспираторного потока при выдохе 25% ФЖЕЛ, МОС<sub>50</sub> — мгновенная максимальная скорость при выдохе 50% ФЖЕЛ, МОС<sub>75</sub> — мгновенная максимальная скорость при выдохе 75% ФЖЕЛ, СОС<sub>25-75</sub> (объемная скорость потока между 25 и 75% ФЖЕЛ).

Таблица 3. Динамика количества обострений в подгруппах

	БА(-), n = 18	БА(д), n = 15	БА(д+л), n = 12
Количество обострений уменьшилось	1	12	3
Количество обострений увеличилось	1	2	3
Количество обострений не изменилось	13	2	6

Таблица 4. Результаты АСТ-теста в обследуемых группах через 6 и 12 месяцев от начала наблюдения в сравнении с исходными показателями

		БА(-) (n = 18)	БА(д) (n = 12)	БА(д+л) (n = 12)
АСТ-тест, баллы	0	21,2±0,5	19,7±0,6	18,6±0,6
	6 мес.	21,8±0,5	22,3±0,4*	22,0±0,9*
	12 мес.	21,0±0,4	22,1±0,5*	21,8±0,7*
Ограничение объема работы	0	4,7±0,1	4,7±0,1	4,4±0,1
	6 мес.	4,7±0,1	4,9±0,1	4,8±0,1
	12 мес.	4,6±0,1	4,8±0,1	4,8±0,1
Затрудненное дыхание	0	3,8±0,1	3,6±0,1	3,8±0,2
	6 мес.	4,1±0,1*	4,1±0,1*	4,1±0,2
	12 мес.	4,6±0,1*	4,0±0,1*	3,9±0,2
Ночные симптомы	0	4,6±0,1	4,0±0,2	3,5±0,2
	6 мес.	4,7±0,1	4,7±4,6*	4,6±0,2*
	12 мес.	4,6±0,1	4,6±0,1*	4,5±0,2*
Потребность в короткодействующих препаратах	0	3,9±0,2	3,8±0,2	3,7±0,2
	6 мес.	4,1±0,2	4,3±0,1*	4,3±0,4
	12 мес.	4,2±0,1	4,3±0,2*	4,3±0,2*
Самооценка контроля	0	4,2±0,1	3,6±0,1	3,4±0,1
	6 мес.	4,3±0,1	4,3±0,1*	4,2±0,2*
	12 мес.	4,1±0,1	4,3±0,2*	4,2±0,2*

\* Отличие от исходных показателей  $p < 0,05$ .

Таблица 5. Оценка показателей функции внешнего дыхания у больных в группе БА(-) в процессе наблюдения

	До лечения	Через 6 месяцев	Через 12 месяцев
<b>До бронхолитика</b>			
ОФВ <sub>1</sub>	96,5±2,9	95,1±2,5	96,2±2,9
ПОС	86,5±2,8	86,1±2,7	85,9±2,8
МОС <sub>25</sub>	72,7±3,9	75,0±3,0	73,7±3,3
МОС <sub>50</sub>	60,4±3,6	60,8±3,0	59,8±2,8
МОС <sub>75</sub>	58,2±3,8	57,9±3,2	59,0±3,6
СОС <sub>25-75</sub>	66,6±3,3	66,7±2,5	66,3±3,1
<b>После бронхолитика</b>			
ОФВ <sub>1</sub>	104,0±2,9	103,0±2,6	105,2±3,1
ПОС	94,7±2,4	96,4±2,3	98,3±2,6
МОС <sub>25</sub>	88,6±3,4	88,5±2,7	88,6±3,3
МОС <sub>50</sub>	74,9±3,7	76,3±3,2	75,0±3,6
МОС <sub>75</sub>	73,8±4,7	75,3±3,5	74,0±4,0
СОС <sub>25-75</sub>	81,2±3,5	81,1±2,7	80,9±3,3
<b>Прирост</b>			
ОФВ <sub>1</sub>	8,0±1,4	8,3±1,0	11,1±2,8
ПОС	10,3±2,7	12,7±2,1	15,4±2,4
МОС <sub>25</sub>	23,8±3,7	18,9±2,3	20,7±2,1
МОС <sub>50</sub>	25,7±4,6	27,4±4,6	26,2±3,9
МОС <sub>75</sub>	27,2±5,4	32,0±4,8	27,3±4,4
СОС <sub>25-75</sub>	22,9±3,8	21,9±2,0	22,7±2,1

\* Достоверное отличие от исходных значений,  $p < 0,05$ .

ОФВ<sub>1</sub> – объем форсированного выдоха за первую секунду, МОС<sub>25</sub> – максимальная объемная скорость экспираторного потока при выдохе 25% ФЖЕЛ, МОС<sub>50</sub> – мгновенная максимальная скорость при выдохе 50% ФЖЕЛ, МОС<sub>75</sub> – мгновенная максимальная скорость при выдохе 75% ФЖЕЛ, СОС<sub>25-75</sub> (объемная скорость потока между 25 и 75% ФЖЕЛ).

Таблица 6. Оценка показателей функции внешнего дыхания у больных БА(Δ) в процессе наблюдения

	До лечения	Через 6 месяцев	Через 12 месяцев
<b>До бронхолитика</b>			
ОФВ <sub>1</sub>	81,5 ± 4,3	86,6 ± 3,1	87,3 ± 3,0
ПОС	78,2 ± 5,1	83,5 ± 3,8	84,9 ± 3,8*
МОС <sub>25</sub>	53,9 ± 5,1	62,3 ± 4,4*	62,7 ± 4,2*
МОС <sub>50</sub>	46,7 ± 5,0	56,7 ± 4,3*	55,7 ± 5,9*
МОС <sub>75</sub>	51,4 ± 5,6	58,5 ± 4,6	59,1 ± 4,6
СОС <sub>25-75</sub>	50,9 ± 5,4	60,5 ± 4,2	61,3 ± 4,3
<b>После бронхолитика</b>			
ОФВ <sub>1</sub>	94,8 ± 3,3	98,1 ± 3,0	99,2 ± 2,3
ПОС	87,8 ± 4,3	92,9 ± 3,5	95,9 ± 3,1*
МОС <sub>25</sub>	75,3 ± 6,5	82,8 ± 5,5*	82,8 ± 5,0*
МОС <sub>50</sub>	71,0 ± 7,3	75,3 ± 5,6	78,7 ± 5,2
МОС <sub>75</sub>	72,4 ± 5,8	75,7 ± 5,9	77,3 ± 5,5
СОС <sub>25-75</sub>	74,6 ± 6,3	78,7 ± 5,6	79,3 ± 4,6
<b>Прирост</b>			
ОФВ <sub>1</sub>	18,1 ± 3,1	13,7 ± 1,3	14,3 ± 2,2
ПОС	15,5 ± 5,0	12,0 ± 1,5	14,0 ± 2,0
МОС <sub>25</sub>	42,2 ± 5,1	33,5 ± 3,0*	33,3 ± 3,7
МОС <sub>50</sub>	54,7 ± 8,8	34,3 ± 6,2*	36,7 ± 7,0*
МОС <sub>75</sub>	48,1 ± 9,3	29,8 ± 5,4	32,8 ± 6,0
СОС <sub>25-75</sub>	54,9 ± 10,6	30,5 ± 3,9	31,3 ± 4,9

\* Достоверные различия с исходным значением  $p < 0,05$ .

ОФВ<sub>1</sub> — объем форсированного выдоха за первую секунду, МОС<sub>25</sub> — максимальная объемная скорость экспираторного потока при выдохе 25% ФЖЕЛ, МОС<sub>50</sub> — мгновенная максимальная скорость при выдохе 50% ФЖЕЛ, МОС<sub>75</sub> — мгновенная максимальная скорость при выдохе 75% ФЖЕЛ, СОС<sub>25-75</sub> (объемная скорость потока между 25 и 75% ФЖЕЛ).

Таблица 7. Оценка показателей функции внешнего дыхания у больных БА(Δ+Λ) в процессе наблюдения

	До лечения	Через 6 месяцев	Через 12 месяцев
<b>До бронхолитика</b>			
ОФВ <sub>1</sub>	84,6 ± 4,8	87,3 ± 4,2	88,3 ± 4,2
ПОС	82,2 ± 3,7	84,6 ± 2,9	85,7 ± 2,7
МОС <sub>25</sub>	83,1 ± 4,9	83,7 ± 5,3*	86,5 ± 5,1*
МОС <sub>50</sub>	51,5 ± 4,9	56,7 ± 4,8	61,5 ± 3,9*
МОС <sub>75</sub>	49,7 ± 5,9	52,5 ± 5,3	55,2 ± 4,0
СОС <sub>25-75</sub>	53,9 ± 5,8	58,3 ± 4,7	60,9 ± 4,4
<b>После бронхолитика</b>			
ОФВ <sub>1</sub>	99,5 ± 3,6	97,3 ± 4,5	99,9 ± 3,4
ПОС	97,2 ± 97,8	97,8 ± 1,7	97,5 ± 2,8
МОС <sub>25</sub>	83,1 ± 4,9	83,7 ± 5,3	86,5 ± 5,1
МОС <sub>50</sub>	70,1 ± 6,6	69,8 ± 5,9	78,3 ± 4,4
МОС <sub>75</sub>	70,4 ± 7,6	67,5 ± 6,4	75,3 ± 4,6
СОС <sub>25-75</sub>	72,8 ± 6,7	74,7 ± 5,8	79,5 ± 5,2
<b>Прирост</b>			
ОФВ <sub>1</sub>	20,4 ± 5,5	11,8 ± 2,9	14,3 ± 2,2
ПОС	19,3 ± 5,3	17,0 ± 4,7	14,0 ± 2,1
МОС <sub>25</sub>	45,3 ± 7,1	29,3 ± 6,4	29,3 ± 3,4*
МОС <sub>50</sub>	34,2 ± 4,0	22,9 ± 4,1	28,3 ± 3,4
МОС <sub>75</sub>	42,6 ± 9,5	30,4 ± 5,9	39,3 ± 6,0
СОС <sub>25-75</sub>	38,7 ± 6,2	28,6 ± 4,7	31,4 ± 3,4

\* Достоверные различия с исходным значением  $p < 0,05$ .

ОФВ<sub>1</sub> — объем форсированного выдоха за первую секунду, МОС<sub>25</sub> — максимальная объемная скорость экспираторного потока при выдохе 25% ФЖЕЛ, МОС<sub>50</sub> — мгновенная максимальная скорость при выдохе 50% ФЖЕЛ, МОС<sub>75</sub> — мгновенная максимальная скорость при выдохе 75% ФЖЕЛ, СОС<sub>25-75</sub> (объемная скорость потока между 25 и 75% ФЖЕЛ).

## Выводы

1. У больных при наличии дисбактериоза или при сочетании дисбактериоза с лямблиозом утяжеляется течение заболевания, что проявляется ухудшением контроля над астмой, учащением ночных симптомов, более низкой самооценкой контроля, ухудшением показателей ФВД.

2. После проведенного лечения при оценке отдаленных результатов (через 6 и 12 месяцев) у больных с бронхиальной астмой, имевших дисбактериоз и сочетание дисбактериоза с лямблиозом, улучшился контроль над заболеванием, улучшились показатели ФВД, что позволило у части больных уменьшить объем получаемой базисной терапии; у больных, получавших лечение лямблиоза, изменений в течении заболевания не произошло.

## Литература

1. Isolauri E., Arvola T., Sutas Y., Moilanen E., Salminen S. Probiotics in the management of atopic eczema // *Clin. Exp. Allergy*. — 2000. — Vol. 30, N 11. — P. 1604–1610.
2. Johansson S.G.O., Haahtela T. World Allergy Organization Guidelines for Prevention of Allergy and Allergic Asthma // *Int. Arch. Allergy Immunol.* — 2004. — Vol. 135. — P. 83–92.
3. Perdigon G., Fuller R., Raya R. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system // *Curr. Iss. Intest. Microbiol.* — 2001. — Vol. 2, N 1. — P. 27–42.
4. Адо А.Д., Федосеев Г.Б. К вопросу о развитии представлений о бронхиальной астме и её классификации по Адо А.Д. и Булатову П.К. // *Тер. архив*. — 1984. — № 3. — С. 11–15.
5. Балкарова Е.О., Чучалин А.Г., Грачева Н. М. и др. Вирусно-бактериальный дисбиоз и клинико-морфологические изменения респираторного и желудочно-кишечного тракта при atopическом синдроме // *Пульмонология*. — 1998. — № 2. — С. 47–53.
6. Баранов А.А., Балаболкин И.И. Детская аллергология: Руководство для врачей. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — 688 с.
7. Билев А.Е. Нарушения микробной экологии при бронхиальной астме и хроническом обструктивном бронхите (эпидемиологические и клинические аспекты): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — СПб., 2003. — 40 с.
8. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (GINA), пересмотр 2007 г.: Пер. с англ. — М.: Атмосфера, 2008. — 108 с.
9. Гушин И.С., Ильина Н.И., Польшнер С.А. Аллергический ринит: Пособие для врачей. — М., 2002. — 72 с.
10. Дисбиоз кишечника: Руководство по диагностике и лечению / Под ред. проф. Е.И. Ткаченко, проф. А.Н. Суворова. — СПб.: Спецлит, 2007. — 238 с.
11. Дерматозы и паразитарные болезни у детей и подростков: Аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики: Практ. пособие для врачей педиатров, дерматовенерологов, аллергологов / Н.П. Торопова, Н.А. Сафронова, О.А. Синявская и др.; 2-е изд., перераб. и доп. — Екатеринбург, 2004. — 60 с.
12. Отраслевой Стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» ОСТ 91500.11.0004–2003. Приказ Министерства здравоохранения РФ № 231 от 09.06.2003.

## ЦИСТАТИН С: НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ И НОВЫЕ ЗАДАЧИ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ (ЧАСТЬ 2)

**В.В. ВЕЛЬКОВ**

ЗАО «ДИАКОН», г. Пушкино, Московская область, Россия

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

В статье приводятся данные многочисленных исследований, отражающих уровни цистатина С в сыворотке крови в состоянии здоровья и при развитии патологического процесса. 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 уровень цистатина С в крови повышается. Чем тяжелее ренальная патология, тем хуже цистатин С фильтруется в почках и тем выше его уровень в крови.

Цистатин С представлен как 1) самый точный эндогенный маркер скорости клубочковой фильтрации, 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.

**Ключевые слова:** цистатин С, скорость клубочковой фильтрации, сердечно-сосудистые заболевания, заболевания почек, почечная недостаточность.

## CYSTATIN C: THE NEW OPPORTUNITIES AND NEW GOALS FOR LABORATORY DIAGNOSTICS (PART 2)

**V.V. VELKOV**

ZAO "DIAKON", Pushchino, Moscow region, Russia

**Summary.** The review concerns the use of cystatin C in laboratory diagnosis of renal diseases and their cardiovascular and other complications. The results of numerous investigations devoted to the influence of pathological process on serum cystatin C are discussed. The normal values of cystatin C reflects: 1. constant velocity of its synthesis, which doesn't depend on the age, sex and weight and 2. constant velocity of its excretion, determined mostly by the renal functions. In pathologic conditions the cystatin C level is elevated. The increase of renal disease severity leads to worse filtration of cystatin C in kidneys and increase of its level in blood. Thus, cystatin C is: 1. the best endogenous marker of glomerular filtration rate having higher than creatinin diagnostic significance. 2. highly sensitive marker of cardiovascular diseases, which is independent on other cardiac markers as cardiac troponins, natriuretic peptides, C-reactive protein etc. 3. early marker of preeclampsy and perspective marker of the invasion degree of the malignancies.

**Key words:** cystatin C, glomerular filtration rate, cardiovascular diseases, renal diseases, renal failure.

### Данные для корреспонденции:

Вельков Василий Васильевич, к.б.н., директор по науке ЗАО «ДИАКОН»,  
142290, Московская обл., г. Пушкино, пр. Науки, 5, тел.: (905) 501-82-05, e-mail: vvv@diakonlab.ru

В №5 (36) за 2010 год рассматривались вопросы, значимости определения цистатина С в крови.

### Следует ли измерять цистатин С в моче?

Как уже неоднократно отмечалось, цистатин С свободно экскретируется путем клубочковой фильтрации, а затем подвергается полной канальцевой реабсорбции и катаболизации (без секреции). И поэтому, как ранее полагалось, цистатин С в значимых количествах в моче

обнаруживаться не должен. Оказалось, что в действительности это не так, при нарушении канальцевой функции концентрации цистатина С в моче (u-CysC, u — urinary, мочевой) могут возрастать в 200 раз — особенно при остром повреждении почек (ОПП), ранее эта патология называлась острой почечной недостаточностью (ОПН).

Впервые уровни u-цистатина С были определены в 1979 г. и составляли  $0,095 \pm 0,057$  мг/л [67].

Подвержены ли уровни  $\alpha$ -цистатина С колебаниям в течение суток? Как показали специальные измерения  $\alpha$ -цистатина С у 11 здоровых лиц, проводимые каждые два часа, референтный интервал составлял  $0,03-0,18$  мг/л и не зависел от времени суток. Таким образом, измерение  $\alpha$ -цистатина С в суточной моче (если это необходимо) является корректным [122].

Экскрецию  $\alpha$ -цистатина С в мочу изучали при наблюдении 1670 здоровых лиц и 217 пациентов с протеинурией, также определяли уровни  $\alpha$ -цистатина С у 52 больных с ХПН. Обнаружена хорошая корреляция между уровнями  $\alpha$ -цистатина С и концентрацией креатинина в моче. Такая же закономерность обнаружена и у пациентов с персистирующей протеинурией, но без повреждений тубулярных клеток. Средние уровни креатинина в моче возрастали с возрастом и зависели от мышечной массы. В противоположность этому уровни  $\alpha$ -цистатина С не зависели от мышечной массы и возраста. Существенно, что уровни  $\alpha$ -цистатина С были хорошим показателем, отражающим эффективность реабсорбции цистатина С в проксимальных канальцах. Авторы сделали вывод, что «соотношение уровней цистатина С и креатинина в моче может быть маркером тубулярной дисфункции. В том случае, если это соотношение находится в нормальном диапазоне, то  $\alpha$ -цистатин С точно отражает фильтрационные функции клубочков» [123].

В другом исследовании измерение  $\alpha$ -цистатина С проводили у 102 пациентов с различными ренальными заболеваниями и в контрольной группе из 102 здоровых лиц. Показано, что верхний референтный предел для  $\alpha$ -цистатина С составлял  $0,28$  мг/л, и он не зависел ни от пола, ни от возраста. Точность и линейность были «отличными». Интраиндивидуальная вариация составляла  $\leq 4,8\%$ , а межиндивидуальная —  $\leq 5,2\%$ . Интерференций с альбумином, билирубином и гемоглобином не наблюдалось. При этом цистатин С в образцах мочи был стабилен при pH  $\geq 5$ , при  $-20^\circ\text{C}$  и при  $4^\circ\text{C}$  — 7 дней, а при  $+20^\circ\text{C}$  — 48 ч. Замораживание и оттаивание образцов мочи на уровни  $\alpha$ -цистатина С не влияли, адсорбции к пластику не наблюдалось. Авторы полагают, что «измерение  $\alpha$ -цистатина С является точным. Высокая стабильность и отсутствие интерференций делают измерение  $\alpha$ -цистатина С рутинным биохимическим тестом» [124].

Острый тубулярный некроз (ОТН) связан с высокой смертностью, особенно у пациентов, нуждающихся в ренальной заместительной терапии (РЗТ). Наблюдались 73 пациента с ОТН, исходно не имевших олигоурии. На начальных стадиях развития ОТН в моче измерялись альфа-1 и бета-2 микроглобулины,  $\alpha$ -цистатин С,  $\alpha$ -креатинин. 26 пациентов (36%) в среднем через 4 дня после обнаружения протеинурии и энзимурии нуждались в РЗТ. У таких пациентов были самые высокие уровни  $\alpha$ -цистатина С и альфа-1-микроглобулина, которые составляли: для цистатина С —  $1,7$  ( $1,2-4,1$ ) мг/л против  $0,1$  ( $0,02-0,5$ ) мг/л у пациентов, не нуждавшихся в РЗТ;

для альфа-1-микроглобулина —  $34,5$  ( $26,6-45,1$ ) г/моль креатинина против  $8,0$  ( $5,0-17,5$ ) г/моль креатинина. Авторы считают, что «у пациентов с ОТН без олигоурии повышенная экскреция  $\alpha$ -цистатина С и альфа-1-микроглобулина может предсказывать неблагоприятные исходы, приводящие к необходимости РЗТ» [126].

При наблюдении 72 детей и взрослых с различными ренальными нарушениями было найдено, что соотношение  $\alpha$ -цистатин С/ $\alpha$ -креатинин  $\geq 11,3$  мг/моль было диагностическим для тубулярной протеинурии, тубулоинтерстициальных заболеваний и тяжелой протеинурии [127].

В другом исследовании при наблюдении 12 детей с идиопатическим нефротическим синдромом, 12 детей с ремиссией этого заболевания и 12 здоровых детей было обнаружено, что повышенные уровни  $\alpha$ -цистатина С связаны с нефротическим синдромом и с тяжелой протеинурией [128].

#### **Уровни $\alpha$ -цистатина С при тубулярных и гломерулярных заболеваниях**

При измерении  $\alpha$ -цистатина С в свежесобранной моче было обнаружено, что: 1) при тубулярных заболеваниях они составляли  $4,31 \pm 3,85$  мг/л (52 пациента); 2) при гломерулярных заболеваниях —  $0,106 \pm 0,133$  мг/л (47 пациентов); 3) в контроле —  $0,096 \pm 0,044$  мг/л (наблюдение 60 лиц). Авторы полагают, что «измерение  $\alpha$ -цистатина С может быть адекватным и точным методом для диагностики и мониторинга тубулярной дисфункции, даже в случаях смешанных гломерулярных/тубулярных заболеваний», и отмечают, что «поскольку измерение  $\alpha$ -цистатина С возможно проводить на автоматических биохимических анализаторах, его определение можно легко применять в комплексе со стандартными панелями, которые используются для выявления ренальных патологий, даже в неотложных ситуациях» [129].

#### **Следует ли нормировать уровни $\alpha$ -цистатина С на концентрации $\alpha$ -креатинина?**

Нормирование уровней биомаркеров, определяемых в моче, на концентрацию  $\alpha$ -креатинина — методика общепринятая. Однако уровни  $\alpha$ -креатинина отражают одновременно и СКФ, и эффективность тубулярной секреции. При этом, когда  $\alpha$ -креатинин применяется как специфический маркер клубочковых функций, то молчаливо (и часто неоправданно) предполагается, что тубулярная секреция отсутствует. Поэтому нормирование любого тубулярного маркера на  $\alpha$ -креатинин, особенно у пациентов с острой и даже умеренной почечной недостаточностью, может привести к некорректности.

У 120 реципиентов трансплантированной почки ежедневно измеряли уровни  $\alpha$ -цистатина С, который использовали как тубулярный маркер, и уровни  $\alpha$ -креатинина [130] и вычисляли значения соотношений  $\alpha$ -цистатин С/ $\alpha$ -креатинин. Как оказалось, положитель-

ные протоколы биопсии почки всегда были связаны с уровнями *u*-цистатина  $C > 0,18$  мг/л. Однако у 9 реципиентов обнаружилось несоответствие между данными биопсии и значениями соотношения *u*-цистатин *C*/*u*-креатинин (4 ложноположительных результата, 5 ложноотрицательных результатов), а у двух пациентов наблюдалась сильная вариабельность уровней *u*-креатинина, которая приводила к несоответствию значений *u*-цистатин *C*/*u*-креатинин и данных биопсии.

При использовании значений *u*-цистатин *C*/*u*-креатинин как предикторов степени ренального повреждения отрицательное предиктивное значение составляло 85,7%, что могло привести к ошибкам в клинической интерпретации результатов. Однако этих ошибок можно избежать, если степень тубулярного повреждения определять только по цистатину *C*; в этом случае отрицательное предиктивное значение составляло 100%.

Авторы рекомендуют «для оценки степени тубулярных нарушений использовать уровни *u*-цистатина *C*» и полагают, что полученные ими результаты о несогласовании значений *u*-цистатин *C*/*u*-креатинин с результатами биопсии могут быть распространены и на любой маркер тубулярной функции. «Нормирование уровней мочевого маркера, специфического для тубулярных нарушений, на уровни второго маркера, которые сильно зависят от клубочковых или от других ренальных или неренальных условий, может приводить к неправильной клинической интерпретации». Нормирование уровней мочевых маркеров на *u*-креатинин может быть сделано только в случаях «чистой» гломеруллопатии, когда измеряются специфические маркеры клубочковой функции (например, альбумин в моче). Во всех других случаях ренальных заболеваний нормирование уровней мочевых маркеров на концентрацию *u*-креатинина неправомерно и этого следует избегать [130].

#### ***U*-цистатин *C* — маркер фетальной дисфункции почек**

Фетальные обструктивные уропатии — наиболее частые аномалии, выявляемые с помощью пренатальной ультразвуковой диагностики. Терапия таких патологий зависит от точности определения ренальных функций. Хотя в унилатеральных случаях прогноз может быть благоприятным, в случаях билатеральных уропатий может иметь место перинатальная смерть от пульмонарной гипоплазии и терминальной ренальной недостаточности. Креатинин нельзя использовать как маркер фетальной СКФ, так как он проходит через плацентарный барьер и подвергается материнскому клиренсу.

Цистатин *C*, как уже упоминалось, через плаценту не проходит. Могут ли фетальные уровни *u*-цистатина *C* предсказывать уровни сывороточного креатинина у детей (в возрасте 1 года), имевших пренатальный диагноз билатеральной обструктивной уропатии? После измерения уровня *u*-цистатина *C* в 71 образце мочи пациенты были разделены на три группы согласно тя-

жести ренальной дисфункции. Первая группа: тяжелая ренальная недостаточность с летальными исходами (19 случаев), 17 прерываний беременности из-за олигогидроамниоза с гиперэхогенной паренхимой и 2 неонатальные смерти из-за острой пульмонарной гипоплазии и почечной недостаточности. Вторая группа: умеренная ренальная недостаточность, сывороточный креатинин в возрасте 1 года  $> 50$  ммоль/л (19 случаев). Третья группа: нормальная ренальная функция, сывороточный креатинин  $< 50$  ммоль/л (33 случая). Как оказалось, *u*-цистатин *C* был значительно повышен в первой группе (тяжелая почечная недостаточность) —  $4,1 \pm 0,76$  (0,45–13,1) мг/л, несколько повышен во второй группе —  $0,47 \pm 0,27$  (0,05–4,75) мг/л и нормален в третьей группе —  $0,5 \pm 0,05$  (0,05–1,09) мг/л. Наилучшую предиктивную чувствительность (84%) и специфичность (84%) по отношению к тяжелой фетальной почечной недостаточности имел пограничный уровень *u*-цистатина *C*, составлявший 1 мг/л. Авторы полагают, что «фетальный *u*-цистатин *C* — скорее маркер фетальной ренальной дисфункции, чем маркер СКФ» [131].

#### ***u*-Цистатин *C* — маркер острого поражения почек**

Острое поражение почек (ОПП). Традиционно диагностика ОПП основана на серийном измерении сывороточного креатинина или креатинина мочи, что диагностирует ОПП через 24–48 ч после реального отказа функции почек. Другие стандартные мочевые маркеры также не чувствительны к раннему обнаружению ОПП, что не позволяет проводить эффективные превентивные мероприятия. В настоящее время ведется поиск новых мочевых маркеров, которые должны иметь высокую чувствительность и специфичность как для ранней диагностики ОПП, так и для оценки его тяжести. Наиболее перспективными являются цистатин *C*, NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin — липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов) и мочевая кислота.

В данный момент мочевые маркеры ОПП классифицированы на 4 группы:

- 1) ферменты, высвобождаемые из поврежденных тубулярных клеток: щелочная фосфатаза, гаммаглутамилтранспептидаза (ГГТ), аланинамино-пептидаза, изоферменты глутатионтрансферазы, *N*-ацетил-β-D-глюкозаминидаза (NAG);
- 2) белки с низкой молекулярной массой: цистатин *C*, альфа-1-микроглобулин, β-2-микроглобулин, ретинол-связывающий белок;
- 3) специфические белки, продуцируемые почками и связанные с развитием ОПП: белок 61, богатый цистеином (cysteine-rich protein 61), NGAL, молекула поражения почек-1 (KIM-1), цитокины и хемокины (Gro-alpha, ИЛ-18);
- 4) структурные и функциональные белки ренальных канальцев: F-actin, Na(+)/H(+) exchange isoform 3.

Особые надежды возлагаются на использование многомаркерных панелей для диагностики ОПП [132].

Данные о том, что повышение сывороточных уровней цистатина С диагностирует ОПП на 24–48 ч раньше, чем сывороточный креатинин, многочисленны. Однако следует иметь в виду, что сывороточный цистатин С не является специфическим маркером по отношению к типу ОПП, так как он является маркером нарушенной клубочковой фильтрации, но не тубулярной дисфункции [133, 134].

Может быть, одновременное измерение цистатина С в сыворотке (нарушение функции клубочков) и в моче (повреждение канальцев) будет более оптимальным для диагностики ОПП?

Кинетику уровней креатинина и цистатина С в плазме и в моче в течение 72 ч измеряли у 72 пациентов, подвергшихся элективной кардиохирургии (у 34 из них впоследствии развилось ОПП). Оказалось, что плазменные уровни цистатина С и креатинина не могут служить предикторами ОПП и только *и*-цистатин С может выполнять эту роль. Так, через 6 ч после операции у больных без последующего ОПП уровни *и*-цистатина С повышались в 8 раз, а у больных с будущим ОПП — более, чем в 147 раз (!), в то время как уровни сывороточного цистатина С у больных без ОПП составляли 1,47 мг/л против 1,76 мг/л у пациентов с развивающимся ОПП [135].

*и*-Цистатин С — также весьма эффективный показатель ОПП при ренальном синдроме, связанном с геморрагической лихорадкой, и по своим диагностическим характеристикам он превосходит сывороточный цистатин С [136].

В другом исследовании наблюдались 444 пациента, поступившие в отделение неотложной терапии, у которых измеряли *и*-цистатин С и креатинин плазмы. 81 пациент (18%) имел сепсис, 198 (45%) — ОПП, 64 пациента из них умерли в течение 30 дней. После учета всех поправок наивысшей диагностической значимостью, как оказалось, обладал *и*-цистатин С, его уровни были самыми высокими при ОПП и при сепсисе и являлись предикторами смертности в течение 30 дней.

При сепсисе уровни *и*-цистатина С были 2,45 (0,26–10,7) мг/л, без такового — 0,08 (0,03–0,23) мг/л; пограничный уровень *и*-цистатина С для дискриминации пациентов с сепсисом и без такового составлял 0,24 мг/л.

При ОПП уровни *и*-цистатина С составляли — 0,45 (0,09–2,54) мг/л, а без ОПП — 0,07 (0,03–0,28) мг/л, оптимальный пограничный уровень — 0,12 мг/л.

При смертности в течение 30 дней уровни *и*-цистатина С составляли 0,32 (0,08–2,21) мг/л против 0,08 (0,04–0,68) мг/л у выживших; оптимальный пограничный уровень 0,09 мг/л.

При одновременном сепсисе и ОПП — 5,48 (0,85–13,05) мг/л против 0,06 (0,02–0,15) мг/л у лиц без сеп-

сиса и без ОПП. Сывороточные цистатин С и креатинин подобными диагностическими характеристиками не обладали.

Авторы делают вывод, что *у пациентов, поступивших в отделение неотложной терапии «и-цистатин С независимо связан с ОПП, сепсисом и смертностью в течение 30 дней»* [137].

Однако для экстренной диагностики пациентов, поступающих в отделения неотложной терапии, многочисленные исследования рекомендуют определять уровни именно сывороточного цистатина С. Связано ли это с тем, что сывороточный цистатин С диагностирует ОПП, связанные с клубочковыми патологиями, а *и*-цистатин С с канальцевыми?

У 55 критических пациентов, которые не имели ХПН, но имели риск ренальной дисфункции, определяли сывороточные уровни цистатина С, креатинин, а также клиренс креатинина. Уровни маркеров составляли: креатинина —  $1,00 \pm 0,85$  (0,40–5,61) мг/дл; цистатина С —  $1,19 \pm 0,79$  (0,49–4,70) мг/л, клиренс креатинина составлял  $92,74 \pm 52,74$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>. Для развития ОПП диагностическая ценность у сывороточного цистатина С были значительно выше, чем у сывороточного креатинина, и AUC ROC составлял 0,927 и 0,694 соответственно. У половины пациентов была ОПП, но только у пяти из них (20%) был высокий креатинин, а высокий сывороточный цистатин С был у 76% пациентов [138].

При наблюдении 442 пациентов, поступивших в отделение неотложной терапии, было обнаружено, что у пациентов, у которых развивалось ОПП, уровни плазменного цистатина С возрастали на 12–24 ч раньше, чем плазменного креатинина. Авторы полагают, что *«в общей популяции пациентов отделений неотложной терапии плазменный цистатин С — более эффективный и ранний маркер снижения ренальной функции, чем креатинин плазмы»* [139].

В заключение этого раздела процитируем общие рекомендации по диагностике ренальных функций с помощью цистатина С: *«Измерение уровней цистатина С в сыворотке и в моче позволит врачу провести быстрый скрининг ренальных функций, так как измерение цистатина С в сыворотке с большой чувствительностью и специфичностью отражает СКФ, а измерение цистатина С в моче — это хорошее отражение тубулярных функций. Все это позволяет врачу назначать измерение цистатина С в моче в неотложных ситуациях, когда сбор суточной мочи невозможен из-за срочной необходимости получения результатов»* [129].

Однако, как уже говорилось, цистатин С — это не только точный маркер СКФ, но и предиктор сердечно-сосудистых осложнений, связанных с нарушением ренальной функции, а также и маркер тяжести сердечной недостаточности (СН) и острых коронарных синдромов (ОКС) [140].

### Цистатин С — маркер тяжести сердечно-сосудистых событий

Весьма часто врач сталкивается с пациентами, у которых почечная недостаточность сопутствует сердечной. Вместе эти патологии ведут к неблагоприятным исходам быстрее, чем по отдельности. Одновременное наличие обеих недостаточностей — более плохой прогноз, чем наличие одной.

Согласно современным клиническим рекомендациям, тяжесть протеинурии и степень СКФ являются независимым фактором риска ССЗ [141]. Чем больше ухудшение этих показателей, тем хуже прогноз: 1) при ОКС [142]; 2) после чрескожных кардиоинтервенционных процедур [143]; 3) после коронарного шунтирования [144]; 4) при системной тромболитической терапии [145]. И хотя тяжесть ренальной дисфункции в большей степени предсказывает общую смертность, патология почек играет важную роль также и в повышении смертности от прогрессирующей СН [146]. Более того, при госпитализации по поводу СН ухудшение ренальных функций является более значимым фактором риска неблагоприятного прогноза, чем исходные показатели СН, измеренные при поступлении [147–149].

Так каков же механизм взаимосвязи между ренальными и сердечно-сосудистыми патологиями? Почему даже небольшая дисфункция почек значительно утяжеляет течение кардиальной патологии, повышая частоту осложнений и риск смерти? И наоборот, почему снижение сократительной функции миокарда отражается на работе почек самым отрицательным образом?

Такое взаимное влияние патологии сердечно-сосудистой системы и ренальной дисфункции названо «кардиоренальным синдромом» (КРС).

Центральный патофизиологический процесс, характерный для КРС, — это параллельное и взаимосвязанное развитие и прогрессирование коронарного и некоронарного атеросклероза и развитие и прогрессирование гломерулосклероза, что приводит к одновременному повышению риска сердечно-сосудистых и почечных осложнений (табл. 1) [150–155].

### Снижение СКФ — маркер кардиоренального синдрома и его исходов

Измерение СКФ позволяет оценить тяжесть коронарных событий. Действительно, даже небольшое ухудшение почечной функции на фоне острой коронарной патологии приводит к повышению летальности на 10–20% [156]. Так, повышение сывороточного креатинина на  $\geq 0,5$  мг/дл в течение первых суток после поступления по поводу ОИМ увеличивает риск смерти в течение последующих 12 месяцев [157]. При наблюдении 11 774 больных с ИМ с подъемом ST-сегмента, с ИМ без зубца Q и с нестабильной стенокардией было обнаружено, что снижение СКФ в диапазоне 30–60 мл/мин увеличивало риск смерти в 2,09 раза, а при СКФ < 30 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> вероятность неблагоприятного исхода возрастала почти в 4 раза [158]. В другом исследовании (13 307 пациентов, ОКС без подъема ST-сегмента) показано, что снижение СКФ повышало смертность в течение последующих 30 дней на 19%, а в течение первых 6 месяцев — на 16% [159].

Какова количественная связь между снижением СКФ и долгосрочными исходами при ИМ с повышением ST-сегмента и с ИМ без такового? Наблюдали 19 029 пациентов с ИМ с повышенным ST-сегментом (из них 30,5% имели сниженные показатели СКФ по креати-

Таблица 1. Классификация кардиоренального синдрома

Тип	Определение	Патофизиологическая характеристика	Нозологические формы и синдромы
I	Острый кардиоренальный синдром	Резкое ухудшение функции сердца, ведущее к повреждению почек	ОИМ, осложненный кардиогенным шоком, декомпенсация ХСН
II	Хронический кардиоренальный синдром	Хронические нарушения кровообращения, вызывающие прогрессирующую и потенциально перманентную ХПН	ХПН
III	Острый ренокардиальный синдром	Резкое ухудшение функции почек, вызывающее острое нарушение работы сердца (ОСН, нарушения ритма сердца, ишемия миокарда)	Ишемия почек, острый гломерулонефрит
IV	Хронический ренокардиальный синдром	Хроническое заболевание почек, вносящее вклад в ухудшение функции сердца, гипертрофию миокарда и/или в увеличение риска осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы	Хронический гломерулонефрит, врожденная патология почек
V	Вторичный кардиоренальный синдром	Системное заболевание, вызывающее дисфункцию как почек, так и сердца	Сепсис, аутоиммунная патология

нину) и 30 462 пациентов с ИМ без повышенного ST-сегмента (из них 42,9% имели сниженную СКФ). Оказалось, что пациенты с более тяжелой ренальной дисфункцией имели более высокий уровень смертности вне зависимости от типа ИМ [160]. С другой стороны, было обнаружено, что через три недели после неосложненного ОИМ происходит снижение СКФ в 1,5 раза (показано с помощью экзогенного маркера) [161].

СКФ — предиктор осложнений после реваскуляризации миокарда. Снижение функции почек связано с неблагоприятными исходами и при реваскуляризации миокарда. Так, интраоперационная смертность при АКШ у больных со стойким ухудшением функции почек возрастает более чем в 7 раз [162]. Негативное влияние снижения СКФ на смертность больных, перенесших АКШ, остается значимым и при длительном (более 15 лет) наблюдении [163].

СКФ — показатель эффективности антикоагулянтной терапии после ОКС. Действительно, ренальная дисфункция, как показано, повышает риск кровотечений [164, 165], что очень важно учитывать при оценке баланса между безопасностью и эффективностью подбора и применения антитромботических агентов [166].

Итак, снижение ренальной функции связано с развитием сердечно-сосудистых осложнений, а цистатин С на данный момент — один из самых точных маркеров патологии почек.

### **Цистатин С — маркер ССЗ, связанных с ренальной патологией**

Многочисленные исследования показали, что повышенные уровни цистатина С связаны с повышением риска летальности и такими сердечно-сосудистыми событиями, как инфаркт миокарда (ИМ), ишемический инсульт, сердечная недостаточность, а также с заболеваниями периферических артерий и с метаболическим синдромом. При этом в большинстве исследований обнаружено, что цистатин С и в этих случаях как маркер по точности превосходит креатинин [167–181]. Повышение сердечно-сосудистого риска, связанного с повышением сывороточного цистатина С, особенно характерно для лиц пожилого возраста [182], у которых, как правило, происходит ежегодное снижение СКФ [183]. Причем такое снижение СКФ является независимым фактором риска повышенной смертности [184]. Поскольку связь сывороточных уровней цистатина С с долгосрочными исходами ССЗ более сильная, чем связь с таковыми исходами при снижении СКФ, было высказано предположение, что повышенные уровни цистатина могут быть связаны с повышенной кардиоваскулярной летальностью *независимо от ухудшения ренальных функций* [185, 186].

Таким образом, уж не является ли повышенный цистатин С фактором сердечно-сосудистого риска сам по себе, а не просто метаболически нейтральным маркером СКФ?

При наблюдении общей популяции из 4663 лиц в возрасте 65 лет и старше у 1004 лиц (22%) были диагностированы ХБП. После поправок на традиционные факторы сердечно-сосудистых рисков, инсульты, сердечную недостаточность, заболевания коронарных артерий обнаружилось, что *лица, не имевшие ХБП, но с высокими уровнями цистатина С имели повышенный риск неблагоприятных исходов указанных сердечно-сосудистых событий и 50% вероятность летальности* [187].

Вот результаты другого исследования, включавшего 3044 пациента в возрасте 70–79 лет. Срок наблюдения составлял 6 лет. По уровням сывороточного цистатина С (мг/л) когорту разделили на три группы: 1) с низким уровнем цистатина С (<0,84 мг/л); 2) с умеренным уровнем (0,84–1,18); 3) с высоким уровнем ( $\geq 1,19$ ). За время наблюдения произошли 242 случая сердечно-сосудистой смерти (у 69 из умерших сердечно-сосудистых событий ранее не наблюдалось) и 294 случая сердечно-сосудистых событий (135 случаев ИМ и 163 случая инсультов). Относительный риск сердечно-сосудистой смерти составлял по сравнению с лицами с низким уровнем цистатина С: 1) у пациентов с умеренно повышенными уровнями — 1,70; 2) у пациентов с высокими уровнями — 2,24. Существенно, что при этом *достоверной связи между сниженными значениями СКФ и риском сердечно-сосудистых событий выявлено не было*. Наиболее тесная связь между повышенными уровнями цистатина С и риском сердечно-сосудистых событий была у лиц, ранее не имевших таковых событий в анамнезе [177].

Весьма впечатляют результаты наблюдения в течение 9,3 года 3569 пожилых лиц, ранее не имевших ХБП. Оказалось, цистатин С — более сильный предиктор риска сердечно-сосудистых событий и смертности, чем повышенные показатели креатинина и пониженная СКФ. В верхней квартили цистатина С риск смертности от ССЗ был в 8 раз выше по сравнению с нижней, а риск смертности от всех причин — в 6 раз выше. Исходно у данной когорты средние уровни цистатина С составляли 1,0 мг/л, креатинина — 9,6 мкмоль/л, средний показатель СКФ — 83 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>. Авторы полагают, что *пациенты с СКФ выше, чем 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, но с уровнем цистатина С выше, чем 1,0 мг/л представляют группу с прегипертензией и преддиабетом* [169].

В другом исследовании при наблюдении 990 амбулаторных пациентов с заболеваниями коронарных артерий выяснилось, что повышенные уровни цистатина С *независимо от традиционных факторов риска* предсказывают сердечно-сосудистые события и смертность от всех причин. При этом 25% лиц, имевших уровни цистатина С в верхней квартили, не имели показателей СКФ < 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>. И, что особенно принципиально, *высокие уровни цистатина С имели сходные предиктивные значения по отношению к указанным исходам, как*

при низких значениях СКФ, так и при высоких, как при альбуминурии, так и без нее [173].

В целом, повышенные уровни циркулирующего цистатина С связаны с повышением риска ССЗ, гипертензии, дислипидемии и смертности. Многочисленные проспективные исследования показали, что лица с повышенным уровнем цистатина С имеют высокий риск развития ССЗ и ХБП при различных клинических сценариях. Особую ценность определение уровня цистатина С имеет для выявления пациентов с высоким риском сердечно-сосудистых событий среди лиц с нормальными значениями СКФ и креатинина и поэтому неправомерно включаемых в категорию с низкими уровнями риска ССЗ и ХБП. *Повышенные концентрации цистатина С, таким образом, являются индикатором преклинических заболеваний почек, связанных с риском ССЗ, и предиктором их неблагоприятных исходов* [188].

### Цистатин С — фактор атерогенеза

Структурная целостность и нормальное функционирование стенок сосудов в большой степени зависят от таких белков внеклеточного матрикса, как эластин и коллаген. Так, патогенез аневризмы абдоминальной аорты (ААА) в значительной степени является результатом протеолиза этих белков, осуществляемого матриксными метало-протеиназами, сериновыми протеиназами и в особенности цистеиновыми протеиназами. В норме именно цистатин С, будучи ингибитором цистеиновых протеиназ, предотвращает развитие атеросклеротических повреждений и ААА. Поэтому, как было показано, нарушение баланса между активностями указанных протеиназ и их ингибитором цистатином С ведет к атерогенезу [189, 190]. Действительно, в составе нормальных артерий цистатин С легко обнаруживается, но в атеросклеротических повреждениях и в ААА его уровни сильно понижены, а уровни таких протеиназ, как, в частности, катепсины К и S, сильно повышены. При этом при ААА сывороточные уровни цистатина С снижены [191–193].

Для выяснения роли цистатина С в образовании атеросклеротических бляшек были использованы трансгенные мыши, имевшие генетическую предрасположенность к атеросклерозу, но не имевшие гена, кодирующего цистатин С. Было найдено, что дефицитность по цистатину С действительно приводила: 1) к повышению содержания коллагена в бляшках; 2) к накоплению гладкомышечных клеток; 3) к увеличению размера бляшек и 4) к повышению их инфильтрации макрофагами [194].

Таким образом, согласно простой логике, повышенные уровни цистатина С должны оказывать *анти*-атерогенное действие. Увы. Если цистатин С в сыворотке повышен, все происходит «с точностью до наоборот»: чем выше сывороточный цистатин С в сыворотке, тем ниже его концентрация в артериях, и тем выше неблагоприятные кардиоваскулярные исходы. Весьма показа-

тельны в этом отношении данные об участии катепсина S и цистатина С в развитии атеросклеротических бляшек. При наблюдении 98 пациентов как с нестабильной стенокардией (НС), так и со стабильной стенокардией (СС) было обнаружено, что плазменные уровни катепсина S и цистатина С у пациентов со стенокардией были выше, чем в контрольной группе, и составляли при разных типах стенокардии: катепсин S при НС —  $0,422 \pm 0,121$  нмоль/л и при СС —  $0,355 \pm 0,099$  нмоль/л, цистатин С при НС —  $0,95 \pm 0,23$  мг/л и при СС —  $0,84 \pm 0,22$  мг/л. При этом концентрации катепсина S положительно коррелировали с индексом ремоделирования ( $r = 0,402$ ), а уровни цистатина С в группе с НС положительно коррелировали с размером бляшек ( $r = 0,467$ ) и с их количеством ( $r = 0,395$ ), в группе со СС такой закономерности не наблюдалось. Авторы приходят к выводу, что «уровни катепсина S и цистатина С в плазме пациентов с НС повышены. У пациентов со стенокардией повышенный уровень катепсина S может свидетельствовать о наличии уязвимых бляшек, а *повышенный уровень цистатина С может свидетельствовать об атеросклеротических бляшках большего размера*» [195]. По мнению некоторых авторов, «контр-интуитивная связь» между повышенным уровнем цистатина С в крови и его низкой концентрацией в атеросклеротических повреждениях указывает на компенсаторный механизм, представляющий собой «безуспешную попытку» снижения *про*-атерогенной активности цистеиновых протеиназ в стенках артерий за счет повышения циркулирующих уровней цистатина С [194, 196]. Чем-то эта ситуация напоминает гиперинсулинемию при инсулинорезистентности. «Хотели как лучше, а получилось...».

Таким образом, высокие уровни цистатина С могут быть фактором сердечно-сосудистого риска, связанного с размерами атеросклеротических бляшек *независимо* от ренальной дисфункции.

И каково же раздельное влияние альбуминурии (и снижения СКФ) и повышенного цистатина С (при нормальной ренальной функции, установленной с помощью определения СКФ) на риск ССЗ и смертность?

В специальном исследовании 3291 пожилой пациент наблюдался в течение 8,3 года (медианное значение), при этом измерялись: 1) соотношение альбумин/креатинин (А/К) в моче; 2) цистатин С в сыворотке и 3) СКФ по креатинину (MDRD) [71]. На основе показателей микроальбуминурии (А/К > 30 мг/г) всех пациентов разделили на группы:

- с нормальными ренальными функциями: цистатин С < 1,0 мг/л, СКФ > 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>;
- с клиническими заболеваниями почек: цистатин С > 1,0 мг/л, СКФ > 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>;
- с хроническими заболеваниями почек: СКФ < 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>.

Оказалось, что: 1) 1050 пациентов (34,9%) имели нормальные ренальные функции, из них 12,2% имели микроальбуминурию (МАУ); 2) 1518 (46,1%) имели

преклинические заболевания почек (17,9% с МАУ) и 3) 622 (18,9%) имели ХБП (47% с МАУ).

После необходимых поправок было установлено, что:

- наличие преκληических заболеваний почек или МАУ было связано с увеличением риска смертности на 50%,
- при наличии преκληических заболеваний почек и МАУ одновременно риск смертности возрастал в 2,4 раза,
- при наличии ХБП и МАУ риск смертности возрастал в 4 раза.

Авторы делают важный вывод: «Цистатин С и альбуминурия идентифицируют разные группы риска в популяции пожилых лиц и являются независимыми факторами риска ССЗ и смертности» [197]. И, добавим, отражают нарушения разных факторов, один из которых связан с ренальной дисфункцией и развивается по пути КРС, а другой связан с участием цистатина С в ремоделировании коронарных сосудов.

### **Цистатин С и ишемия**

При наблюдении 906 больных с установленными заболеваниями коронарных артерий была найдена линейная связь между повышением цистатина С и тяжестью ишемии [198]. В другом исследовании при наблюдении 899 пациентов со стабильными заболеваниями коронарных артерий было подтверждено, что повышенные уровни цистатина С независимо от других факторов связаны с тяжестью индуцируемой ишемии [199].

### **Цистатин С – ранний маркер сердечной недостаточности**

Согласно современной точке зрения, СН – это, скорее, не первичный диагноз, а комплексный синдром, который рассматривается как конечная стадия развития всех сердечно-сосудистых расстройств. СН – первая причина смертности от ССЗ пациентов с ХБП и с терминальными болезнями почек (ТСБП). Пациенты, страдающие от СН, ХБП и ТСБП, обычно имеют плохой прогноз и поэтому биомаркеры, которые бы количественно оценивали тяжесть и скорость прогрессирования СН, весьма полезны для назначения адекватной терапии и мониторинга ее эффективности [200]. Комплекс таких маркеров должен как оценивать тяжесть ренальной патологии, так и прогнозировать развитие СН. Может быть, эту задачу может выполнить один маркер, например, цистатин С?

Считается твердо установленным, что цистатин С – сильный и независимый предиктор кардиальной смертности у пациентов, госпитализированных с тяжелой СН и имеющих нормальные или мягко нарушенные ренальные функции. Полагается, что в этих случаях цистатин С может значительно улучшить стратификацию рисков при поступлении пациентов с ОСН [201]. Посмотрим, что говорят проспективные исследования.

Когорта из 4384 лиц в возрасте 65 лет и старше, ранее не имевших случаев СН, наблюдалась 8,3 года (медианное значение). Средние сывороточные уровни цистатина С и креатинина составляли:  $1,10 \pm 0,33$  мг/л и  $1,01 \pm 0,39$  мг/дл соответственно. За время наблюдения у 763 лиц (17%) развилась СН. После необходимых поправок установлено, что относительный риск СН возрастает ступенчато согласно квинтилям цистатина С и составляет: в первой квинтиль – 1,0, во второй – 1,30, в третьей – 1,44, в четвертой – 1,58 и в пятой – 2,16. Что касается аналогичных значений для креатинина, то они составляли в первой квинтиль – 1,0, во второй – 0,77, в третьей – 0,85, в четвертой – 0,97 и в пятой – 1,14. Авторы делают вывод: «Концентрация цистатина С – независимый фактор риска СН у пожилых лиц, измерение которого обеспечивает лучшую оценку риска СН, чем измерение креатинина» [202].

При наблюдении 220 пациентов с СН показано, что относительный риск СН возрастает с тертилями цистатина С и составляет 1,15 во второй тертиль и 1,78 – в третьей. Однако поправка на систолическое давление и на случаи гипертензии в анамнезе указанную связь уменьшили. Более того, у гипертензивных пациентов с уровнями цистатина С во второй и в третьей тертиль риск СН возрастал в 4 раза. Авторы считают, что «повышенные уровни цистатина С связаны с повышенным риском СН и эта связь может быть ограничена гипертензивными индивидами» [181].

Следующее наблюдение 4453 лиц, не имевших ранее СН, проводилось в течение 8 лет. Случаи СН классифицировались согласно фракции выброса (ЕF) как диастолическая СН (ДСН) (EF  $\geq$  50%) или как систолическая СН (ССН) (EF < 50%). В течение наблюдения у 167 лиц произошла ДСН, а у 206 – ССН. Оказалось, что квинтили сывороточного цистатина С последовательно связаны с повышенным риском ССН: в первой квинтиль относительный риск – 1,0, во второй – 1,99, в третьей – 2,32 и в четвертой – 3,17. Риск ДСН был связан только с верхней квинтилью, в первой квинтиль он составлял 1,0, во второй – 1,09, в третьей – 1,08 и в четвертой – 1,83. Авторы считают, что «уровни цистатина С линейно связаны с риском систолической СН, а диастолическую СН предсказывают только самые высокие концентрации цистатина С» [203].

### **Цистатин С и острый коронарный синдром**

Ранняя стратификация коронарных рисков особенно важна в случаях острых коронарных синдромов (ОКС) без элевации ST-сегмента. Традиционно такие риски определяются на основании ЭКГ и таких маркеров, как кардиальные тропонины, NT-proBNP (терминальный фрагмент натрийуретического пептида), С-реактивный белок (СРБ). Многократные исследования показали, что определение степени нарушения ренальных функций в таких случаях дает независимую от указанных параметров прогностическую информацию. Так, была

показана достоверная связь между уровнем сывороточного цистатина С и первым ишемическим коронарным событием [204]. Существенно, что связь между уровнем цистатина С и сердечно-сосудистым риском линейна. В частности, это было показано в исследовании 726 пациентов, поступивших с ОКС без подъема ST-сегмента, у которых измеряли уровень цистатина С. Было обнаружено, что у пациентов, у которых в течение 40 месяцев имели место ИМ и смерть, относительный риск указанных событий составлял во второй квантили цистатина С — 1,8, в третьей и четвертой — 3,2. Кумулятивная вероятность смерти в верхней квантили составляла 55,6% (цистатин С  $\geq 1,25$  мг/л; СКФ по цистатину С  $< 58$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) против 6,8% в нижней квантили (цистатин С  $< 0,83$  мг/л; СКФ  $> 98$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>). Верхний референтный уровень цистатина С в возрасте  $\leq 65$  лет составлял 1,12 мг/л, при возрасте  $> 65$  лет — 1,21 мг/л и делил пациентов с ОКС без элевации ST-сегмента на группу низкого и высокого риска смертности в течение 35 месяцев, составлявшей 10 и 44% соответственно. А когда прогностические значения цистатина С были соотнесены с таковыми для креатинина плазмы и для клиренса креатинина, вычисляемого по формуле Кокрофта–Гаулта, то именно цистатин С оказался наилучшим маркером, отличающим пациентов с высокими шансами выживания от пациентов без таковых. При уровнях цистатина С в четвертой квантили риск летальности был в 12 раз выше, чем при цистатине С в первой квантили, в то время как для верхних квантилей клиренса креатинина и уровня креатинина риск летальности был только в 6 и в 3 раза выше, чем в нижних квантилях. Авторы полагают, что «*однократное измерение цистатина С существенно улучшает раннюю стратификацию рисков у пациентов с подозреваемым или подтвержденным ОКС без подъема ST-сегмента*» [168].

Весьма показательны результаты наблюдения в течение 1 года 525 пациентов, поступивших с ОКС без элевации ST-сегмента, которые после измерения цистатина С в плазме были разделены согласно его квантилям (мг/л) на группы: Q1  $< 0,81$ ; Q2 = 0,81 – 0,92; Q3 = 0,93 – 1,10 и Q4  $\geq 1,11$ . СКФ определялся по MDRD. Только 0,8% больных имели нарушенные ренальные функции (СКФ  $< 30$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>). У 157 пациентов (30%) были зафиксированы неблагоприятные события (кардиальная смерть, нефатальные ИМ, нестабильная стенокардия). Пациенты групп Q3 и Q4 имели самую высокую вероятность указанных неблагоприятных исходов, по сравнению с больными групп Q1 и Q2. При этом традиционные маркеры почечной патологии (сывороточный креатинин и СКФ) предикторными характеристиками не обладали. Авторы сделали вывод: «*Повышенные уровни цистатина С — независимый предиктор кардиальных событий у пациентов с ОКС без подъема ST-сегмента*» [205].

Итак, многочисленные данные указывают на то, что: 1) *повышенные уровни цистатина С — эффективный*

*маркер стратификации пациентов с ОКС без подъема ST-сегмента и 2) в этих случаях кардиальные последствия ОКС могут быть не связаны с нарушением ренальных функций.*

### **Цистатин С и гипертрофия левого желудочка**

Показано, что у детей с ХБП часто развиваются нарушения структуры и функций левого желудочка (ЛЖ) [206, 207]. Существенно, что у детей и у взрослых гипертрофия ЛЖ — это наиболее важный независимый маркер сердечно-сосудистого риска, связанного с ренальной патологией [208]. Так, при наблюдении 57 пациентов в возрасте от 6 лет до 21 года, страдавших ХБП второй — четвертой стадии тяжести, было выяснено, что, в отличие от уровней креатинина и показателей СКФ, с диастолической дисфункцией были связаны только повышенные уровни цистатина С [209]. В другом исследовании взрослые пациенты, у которых уровни цистатина С находились в диапазоне от 0,56 до 6,55 мг/л, также подвергались функциональной диагностике с помощью МРТ. После всех необходимых поправок и учета СКФ (по креатинину) оказалось, что уровни цистатина С были независимо от других параметров связаны с массой ЛЖ и с концентрической гипертрофией миокарда и с толщиной стенки. По мнению авторов, это указывает на то, что «*цистатин С может применяться для выявления лиц с преκληническими структурными нарушениями сердца*» [210].

### **Цистатин С и инфаркт миокарда**

Напомним, что цистатин С — наиболее мощный циркулирующий в плазме ингибитор протеиназ. Как ранее отмечалось, пациенты с аневризмой абдоминальной аорты имеют низкие сывороточные уровни цистатина С и степень их снижения коррелирует с увеличением повреждений в ранних аневризмах, определяемых с помощью ультрасонографии [191, 192]. В сравнительно раннем исследовании было обнаружено, что у пациентов, поступивших с ИМ, плазменные уровни цистатина С были *ниже* таковых у больных с НС и, что было более неожиданным, даже *ниже, чем у лиц контрольной группы*. Через неделю после ИМ уровни цистатина С приходили в норму [211]. В более позднем исследовании наблюдались 72 пациента, подвергшихся через 24 ч после начала болевого синдрома чрезкожному коронарному вмешательству по поводу ИМ с повышением ST-сегмента. Согласно уровням цистатина С всех больных классифицировали на две группы: 1) с высоким цистатином С ( $\geq 0,96$  мг/л), 33 пациента и 2) с низким цистатином С ( $< 0,96$  мг/л), 38 больных. Пациенты из группы с высоким цистатином С имели более высокую внутрибольничную смертность — 15,2% против 2,6% в группе с низким цистатином С. При наблюдении в течение  $5,6 \pm 2,8$  месяцев разницы между указанными группами больных в отношении смертности, повторных ИМ, инсультов и реваскуляризации отмечено не было.

Однако у пациентов с высокими при поступлении уровнями цистатина С были частые случаи регоспитализации по поводу застойной СН (15,2% против 0%). Авторы полагают, что «цистатин С может быть связан с повышенным количеством случаев регоспитализации по поводу застойной СН, развившейся после чрезкожной коронарной интервенции, проведенной у пациентов с ИМ с повышением ST-сегмента» [212].

### **Цистатин С и инсульт**

Связаны ли с цистатином С риск ишемического инсульта и тяжесть его последствий? При наблюдении в течение 3 лет 1004 пациентов с асимптомным атеросклерозом каротидных артерий у 311 больных было зафиксировано 346 сердечно-сосудистых событий, риск которых был связан с повышением цистатина С. Для уровней креатинина и показателей СКФ такой закономерности не обнаружено [213]. Отметим, что ранее при наблюдении в течение 1 года 821 пациента, перенесшего острый инсульт (ишемический или геморрагический), было показано, что снижение СКФ — сильный и независимый предиктор неблагоприятных исходов инсультов [214].

### **Цистатин С в многомаркерных кардиопанелях**

Насколько оправдано применение многомаркерных панелей для стратификации сердечно-сосудистых рисков? Не будут ли несколько маркеров в сумме говорить то же самое, что каждый по отдельности? А если будут говорить больше, то насколько? И каков будет «голос» цистатина С в таких случаях? Будет ли он только «подпевать» или вести «собственную партию»?

Применение многомаркерных панелей основано на том, что разные маркеры отражают тяжесть разных патологических процессов, которые во взаимодействии обуславливают единую патологию. Например, уровни ЛПНП и ЛПВП отражают нарушения прямого и обратного транспорта холестерина, hsCRP — дисфункцию эндотелия, и все эти показатели вместе — тяжесть атеросклероза, уровни кардиальных тропонинов отражают тяжесть некроза миокарда, уровни NT-proBNP — дисфункцию ЛЖ и оба показателя в комплексе — тяжесть ОКС. Что нового может добавить к этому цистатин С? Прежде всего, свидетельство о масштабах атеросклеротических повреждений, о размерах бляшек и об их вкладе в тяжесть коронарного события.

### **Цистатин С и NT-proBNP**

Какова прогностическая ценность сочетанного определения цистатина С и NT-proBNP при ОСН?

В многоцентровом исследовании у 480 пациентов с ОСН измеряли уровни цистатина С и NT-proBNP. Наблюдение проводилось 12 месяцев. За это время смертность от всех причин составила 25,4%. При уровне цистатина С выше медианного (1,3 мг/л) отмечался наиболее высокий относительный риск смертности — 3,2. При этом смертность возрастала в каждой тертилии цистатина С и

в каждой тертилии NT-proBNP. Сочетанное определение уровней обоих маркеров в каждой тертилии еще больше улучшало стратификацию рисков. Более того, у пациентов с нормальным креатинином повышенный цистатин С был связан с повышенным риском смертности в течение года. Если креатинин и цистатин С были нормальными, смертность составляла 12,6%, если был повышен только цистатин С — 40,4% [215].

У 880 клинически стабильных пациентов с ССЗ измеряли уровни цистатина С, креатинина и NT-proBNP в сыворотке. Как оказалось, с уровнями NT-proBNP более сильно коррелировали уровни цистатина С ( $r = 0,60$ ), но не креатинина ( $r = 0,46$ ). Определение клиренса креатинина в образцах мочи 160 пациентов показало, что значения СКФ по цистатину С совпадали со значениями, полученными по клиренсу креатинина, и были *независимы* от уровней NT-proBNP. Более того, как оказалось, определение СКФ на основе клиренса креатинина дает ложно заниженные значения СКФ как при низких (от 12 до 238 пг/мл), так и при средних (от 241 до 990 пг/мл) уровнях NT-proBNP. Авторы приходят к выводу, что «у пациентов без тяжелой СН, установленной согласно низким сывороточным уровням NT-proBNP, определение СКФ по формулам, основанным на креатинине, занижает ренальные функции». Авторы полагают, что «прогностическое значение уровня цистатина С для кардиальных пациентов может быть как результатом его сильной корреляции с уровнем NT-proBNP, так и его высокой способности предсказывать ренальные функции у пациентов как с СН, так и без нее» [216]. Отметим, однако, что в данной работе измерение СКФ по экзогенным маркерам не проводилось.

В другом исследовании при наблюдении 451 пациента старше 75 лет с когнитивными нарушениями и деменцией оказалось, что повышенные уровни гомоцистеина, цистатина С и NT-proBNP были связаны с наличием СН, сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний и с их тяжестью [217].

У 464 пациентов (средний возраст — 74 года), поступивших с симптомами СН, проводились эхокардиография и сочетанное измерение цистатина С и NT-proBNP. Срок наблюдения составлял 10 лет. Как оказалось, пациенты с цистатином С в верхней квартили имели отношение рисков кардиоваскулярной смертности, равное 3,92 (1,23–4,90). Если при этом и NT-proBNP тоже был в верхней квартили, то риски составляли: в течение первых пяти лет — 17,04 (1,80–163,39), а в течение 10 лет — 13,61 (2,56–72,24)! Как полагают авторы: «сочетанное измерение цистатина С и NT-proBNP — это **мощная** комбинация биомаркеров для предсказания кардиоваскулярной смертности у пожилых пациентов с сердечной недостаточностью» [218].

### **Цистатин С и тропонин Т**

Улучшит ли цистатин С стратификацию рисков у пациентов с ОКС без подъема ST, но с повышенным

тропонином Т? В течение 4 лет у 1128 таких пациентов фиксировались летальные случаи, в течение 3 лет — ИМ. Согласно тертилям цистатина С смертность составляла: в первой тертиль — 3,4%, во второй — 6, 2%, в третьей — 13,5%; риск ИМ составлял: 5,5, 7,5 и 9,8%, относительный риск смертности в верхней тертиль цистатина С составлял 2,04, а ИМ — 1,95. Авторы считают, что *«у пациентов с ОКС без подъема ST-сегмента и повышенным тропонином Т мягкая и умеренная ренальная дисфункция связаны с риском смертности и ИМ. Измерение цистатина С у таких пациентов может улучшить стратификацию рисков»* [219].

### **Цистатин С, NT-proBNP и тропонины**

У 452 пациентов, поступивших с сердечным приступом и с ЭКГ, не подтверждающей ОИМ, измерялись цистатин С, NT-proBNP, клиренс креатинина и также проводились серийные измерения тропонина I (сTnI). Как оказалось, цистатин С и NT-proBNP, измеренные через 2 ч после поступления, и сTnI, измеренный через 24 ч у пациентов с сердечной болью, были сильными предикторами ОИМ и смертности. При этом пограничные уровни составляли: 1) цистатин С  $\geq 1,28$  мг/л (через 2 ч), 2) NT-proBNP  $\geq 550$  нг/л и 3) сTnI  $\geq 0,1$  мкг/л (через 24 ч) [220].

Поскольку дисфункция ЛЖ — основная причина неблагоприятных исходов при ИМ с повышением ST-сегмента, в специальном исследовании выясняли, какие именно биомаркеры наиболее тесно связаны с тяжестью дисфункции ЛЖ. У 150 поступивших больных измеряли уровни цистатина С, NT-proBNP, СРБ и сTnI. Тяжесть дисфункции ЛЖ оценивали с помощью эхокардиографии. Срок наблюдения пациентов составлял 6 месяцев. Наибольшими предиктивными значениями по отношению к развитию дисфункции ЛЖ и к неблагоприятным исходам (смертность, регоспитализация по поводу СН, рецидив ишемических событий) обладали по мере убывания СРБ, NT-proBNP и, затем, цистатин С [221].

При наблюдении в течение 261 дня (161–449 дней) 138 пациентов (в возрасте 67–80 лет), госпитализированных с СН, у которых при поступлении измерялись креатинин, СКФ, цистатин С, тропонин Т и NT-proBNP, у 60 лиц (43,5%) зафиксированы неблагоприятные исходы (смерть и/или повторное поступление с ОИМ). Цистатин С в верхней кватили ( $> 1,50$  мг/л) являлся, в отличие от креатинина и СКФ, независимым предиктором неблагоприятных исходов с показателем относительного риска, составлявшим 3,08. Применение многомаркерной панели, включающей цистатин С, NT-proBNP и тропонин Т, показало, что пациенты с двумя и тремя одновременно повышенными маркерами имели более высокий риск [222].

### **Цистатин С, NT-proBNP, тропонин I и hsСРБ**

В каких комбинациях эти маркеры будут наиболее эффективно диагностировать: 1) поражение клеток

миокарда, 2) дисфункцию ЛЖ, 3) воспалительный процесс в эндотелии и 4) ренальную дисфункцию?

Для ответа на эти вопросы в течение 10 лет наблюдали 1135 пациентов (средний возраст 71 год), 315 из которых за это время умерли от коронарных и сосудистых событий. Как оказалось, каждый из указанных маркеров был достоверным предиктором неблагоприятного исхода. Вот какими были пограничные уровни этих маркеров и связанные с ними относительные риски: 1) тропонин I  $> 0,035$  мкг/л, относительный риск — 4,8; 2) NT-proBNP  $> 309$  нг/л — 4,10; 3) цистатин С  $> 1,50$  мг/л — 2,04 и 4) hsСРБ  $\geq 4,6$  мг/л — 2,19. А если одновременно повышены любые два из четырех маркеров? В таких случаях риск сердечно-сосудистой смертности возрастал в 3 раза, по сравнению с таковым для одного маркера. Если были повышены три — более, чем в семь раз, а если сразу четыре — более, чем в 16 раз [176]!

При проспективном наблюдении (в течение 151 дня) 203 пациентов, поступивших с ОКС, наряду с уровнями цистатина С измеряли уровни сTnI, hsСРБ, показатели СКФ (по формуле MDRD). Согласно уровням цистатина С всех пациентов разделили на группы (выше или ниже 0,95 мг/л цистатина С). Оказалось, что 90 больных (44,3%) имели цистатин С  $\leq 0,95$  мг/л и 113 (55,7%)  $> 0,95$  мг/л. В группе с высоким цистатином С встречались более частые неблагоприятные исходы: 1) СН — 51,3% против 13,3% в группе с низким цистатином С и 2) внутрибольничная смертность — 22,0% против 5,6%. После поправок на возраст, фракцию выброса, уровни тропонина I и hsСРБ, цистатин С, как оказалось, был наиболее сильным и независимым предиктором кардиоваскулярных событий. При этом у пациентов с СКФ  $> 60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> и с уровнями цистатина С  $> 0,95$  мг/л риск сердечно-сосудистых осложнений был выше, чем у пациентов с СКФ  $> 60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> и цистатином С  $< 0,95$  мг/л. Авторы считают, что *«определение цистатина С у пациентов с ОКС может быть клинически полезным для стратификации рисков при госпитализации, особенно у пациентов с нормальной СКФ»* [204].

Показательны результаты сравнения диагностической эффективности цистатина С, креатинина, hsСРБ, NT-proBNP при наблюдении в течение 12 месяцев 160 пациентов, поступивших с ОКС (возраст  $60 \pm 10$  лет). За время наблюдения у 42 больных (26%) имели место неблагоприятные исходы (кардиальная смерть, нефатальные ИМ, сердечные приступы). Цистатин С оказался наиболее сильным предиктором указанных событий [223].

В другом исследовании наблюдали 126 пациентов с заболеваниями коронарных артерий (ЗКА), у 34 из них была диагностирована стабильная стенокардия, у 56 — нестабильная стенокардия, у 36 пациентов был ОИМ, контрольная группа составляла 34 здоровых индивида. В плазме измерялись: цистатин С, hsСРБ, общий холестерин (ОХ), ЛПНП, ЛПВП, триглицериды и мочевая

кислота, наблюдение велось 6 месяцев. Уровни цистатина С при нестабильной стенокардии были выше, чем при стабильной, и составляли:  $2013,83 \pm 633,85$  нг/мл против  $1348,41 \pm 369,62$  нг/мл соответственно против  $1509,99 \pm 408,65$  нг/мл в контроле. При ОИМ уровни цистатина С составляли  $2873,55 \pm 1149,48$  нг/мл против  $1509,99 \pm 408,65$  нг/мл в контроле. Высокие уровни СРБ были у больных с нестабильной стенокардией ( $1,58 \pm 2,81$  мг/л) и у пациентов с ОИМ ( $20,68 \pm 18,98$  мг/л). Статистическая обработка с необходимыми поправками показала, что *уровни цистатина С положительно коррелируют с возрастом, hsСРБ, количеством лейкоцитов, креатинином и мочевой кислотой и отрицательно — с ЛПВП*. За 6 месяцев у 26 пациентов произошли неблагоприятные сердечно-сосудистые события, при этом у 22 из них при поступлении были самые высокие уровни цистатина С —  $2356,73 \pm 897,64$  нг/мл против  $1469,51 \pm 574,835$  нг/мл в контроле [224].

Итак, цистатин С — это не только высокочувствительный и точный индикатор скорости клубочковой фильтрации, способный диагностировать ранние стадии ренальной дисфункции, но и высокоэффективный прогностический маркер сердечно-сосудистых заболеваний, наиболее клинически значимый для стратификации коронарных рисков при сочетанном применении с NT-proBNP, тропонинами и hsСРБ.

Есть еще одна область применения цистатина С, важная для кардиологов и для кардиохирургов.

#### ***Цистатин С — маркер для выявления ренальной дисфункции после кардиохирургии***

Вряд ли можно переоценить важность оценки ренальных функций у пациентов, подвергающихся аортокоронарному шунтированию (АКШ). Традиционно такая оценка проводится с помощью креатинина, и, как правило, ее результаты сильно запаздывают. Насколько цистатин С может быть пригоден для ранней оценки изменения СКФ после АКШ? Показатели СКФ, определенные у 61 пациента, подвергшегося АКШ, с помощью сывороточных цистатина С и креатинина сравнивали с таковыми, полученными с помощью «золотого стандарта», и с клиренсом креатинина (за 24 ч). Как оказалось, с реальными значениями СКФ наиболее сильно коррелировали значения СКФ, определенные с помощью цистатина С. Более того, значения СКФ (по

цистатину С) значительно превосходили по точности значения СКФ по креатинину, особенно в диапазоне СКФ  $< 80$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>. При расчетных значениях СКФ  $< 80$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> цистатин С имел чувствительность 89% и специфичность 96%, а для СКФ  $< 60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> — чувствительность 86% и специфичность 96%. Авторы полагают, что *«цистатин С — лучший маркер для выявления малых изменений СКФ у пациентов, подвергшихся АКШ. Это может обеспечить лучшее выявление пациентов с нарушением ренальных функций»* [225].

При наблюдении 50 пациентов, перенесших кардиохирургическое вмешательство с использованием аппарата искусственного кровообращения (АИК), уровни цистатина С и креатинина измерялись до и после операции. СКФ определяли по креатинину и цистатину С. Найдено, что наиболее чувствительными ранними показателями ренальной дисфункции после АИК были сывороточный цистатин С и СКФ, определенная с его помощью [226].

У 150 лиц, перенесших операции с АИК, уровни цистатина С определяли до операции и через 2, 24 и 48 ч после операции. ОПН диагностировалась как повышение сывороточного креатинина  $\geq 50\%$  или  $\geq 0,3$  мг/дл через 3 дня после операции. ОПН была диагностирована у 47 пациентов (31,3%), именно у этих пациентов в каждом измерении уровни цистатина С были повышены (по сравнению с пациентами без ОПН). Авторы полагают, что *«повышение цистатина С, измеряемое после операции с применением АИК, коррелирует с развитием ОПН»* [227].

При наблюдении 374 детей, перенесших операции с АИК, уровни цистатина С измеряли через 2, 12 и 24 ч после операции. ОПН развилась у 119 педиатрических пациентов (32%). Как оказалось, максимальная чувствительность цистатина С для диагностики ОПН наблюдалась через 12 ч после операции, пограничный уровень был 1,16 мг/л. При этом уровень цистатина С в этой точке сильно коррелировал с тяжестью и длительностью ОПН и со сроками госпитализации. Авторы считают, что *«сывороточный цистатин С — это ранний предиктивный биомаркер ОПН и ее клинических исходов у педиатрических пациентов, перенесших АИК»* [228].

*Список литературы имеется в редакции.*

## КОНСИЛИУМ У ПОСТЕЛИ БОЛЬНОГО

### ЭОЗИНОФИЛЬНЫЙ ЛЕЙКОЗ И Т-КЛЕТОЧНАЯ ЛИМФОМА: СОПОСТАВЛЕНИЕ ДАННЫХ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО И ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

М.В. ГОРЧАКОВА, К.Ю. СЛОБОДНЮК, И.Ю. САБУРОВА, Г.Н. САЛОГУБ,  
М.И. ЗАРАЙСКИЙ, Е.Е. ЗУЕВА

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

**Резюме.** Представлен редкий клинический случай сочетанного поражения миелоидного и лимфоидного кроветворных ростков у пациентки с идиопатическим гиперэозинофильным синдромом и Т-клеточной лимфомой. В статье сопоставляются данные молекулярно-генетического и иммунологического анализа и проводится оценка их значимости для верификации диагноза при сочетанных поражениях. При иммунофенотипировании костного мозга были выявлены лимфоидные клетки с суммарным фенотипом CD2+CD3+CD4+CD5+ и профиль эозинофилов CD13+CD15+CD33+, что свидетельствует о Т-клеточной пролиферации и эозинофильном синдроме. При молекулярно-генетическом анализе был подтвержден миелоидный вариант гиперэозинофильного синдрома с транслокацией FIP/PDGFRa и установлено наличие моноклональности Т-клеточного рецептора. Нормальный уровень ИЛ-5 у пациентки свидетельствует о клональном миелопролиферативном характере гиперэозинофилии.

**Ключевые слова:** эозинофильный лейкоз, Т-клеточная лимфома, лимфоидная клетка, моноклональность Т-клеточного рецептора.

## CONSILIUM AT PATIENT'S WARD

### EOSINOPHILIC LEUKEMIA AND T-CELLS LYMPHOMA: CORRELATION BETWEEN MOLECULAR-GENETIC AND IMMUNOLOGICAL ANALYSIS

M.V. GORCHAKOVA, K.JU. SLOBODNJUK, I.JU. SABUROVA, G.N. SALOGUB,  
M.I. ZARAIKI, E.E. ZUEVA

State educational institution for higher professional education "Saint-Petersburg State Pavlov Medical University", Federal Agency for Health Care and Social Development, Saint-Petersburg, Russia

**Summary.** The article presents a rare case of association between the myeloid and lymphoid stem affection in female patient with idiopathic hypereosinophilic syndrome and T-cell lymphoma. The correlation between results of molecular genetic and immunological analyses, as well as their significance for diagnosis verification in diseases associations are discussed. Immune phenotyping of bone marrow revealed lymphoid cells with phenotype CD2+CD3+CD4+CD5+ and eosinophils profile CD13+CD15+CD33+, which confirms the T-cellular proliferation and hypereosinophilic syndrome. Molecular genetic analysis confirmed myeloid variant of hypereosinophilic syndrome with FIP/PDGFRa translocation as well as stated the presence of monoclonal origin of T-cellular receptor. Normal IL-5 level in patient confirms the clonal myeloproliferative origin of hypereosinophilia.

**Key words:** eosinophilic leukemia, T-cells lymphoma, lymphoid cell, monoclonal origin of T-cellular receptor.

#### Данные для корреспонденции:

Зуева Екатерина Евгеньевна, д. м. н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, заведующая лабораторией клинической иммунологии и молекулярной диагностики ЦЛД СПбГМУ им. И.П. Павлова, 197022, СПб., ул. Л. Толстого, 6/8, к. 11, тел.: (812)234-34-07, факс: (812) 233-97-26, e-mail: immunology.spbgmu@gmail.com

#### Введение

Гиперэозинофильный синдром (ГЭС) является гетерогенной группой заболеваний, характеризующихся существенным повышением уровня эозинофилов в крови и тканях, которое приводит к различным органным

повреждениям [1]. В зависимости от патогенеза гиперэозинофилии подразделяют на первичные (идиопатические) и вторичные (реактивные). Диагностика идиопатического ГЭС проводится путем исключения реактивных гиперэозинофилий. В 1975 г. Chusid и соавт.

установили критерии диагностики идиопатического ГЭС: 1) эозинофилия в крови на протяжении не менее 6 месяцев; 2) отсутствие других причин гиперэозинофилии, несмотря на тщательное обследование; 3) наличие поражения или нарушения функции органов, связанных с эозинофилией [2, 3].

Согласно классификации ВОЗ [4] за 2008 год ГЭС подразделяется на две большие подгруппы: миелолиферативный вариант и лимфопролиферативный вариант.

По мере накопления опыта лечения ГЭС было отмечено, что у части пациентов заболевание, имеющее признаки миелолиферативных нарушений, характеризуется наиболее агрессивным течением, отличается отсутствием ответа на стероидную терапию и плохим прогнозом. Было также отмечено, что такие пациенты хорошо отвечают на лечение иматинибом. Эти наблюдения стали предпосылкой к обнаружению химерного продукта FIP1L1-PDGFR $\alpha$ , тирозин-киназы, выявляющейся в большинстве случаев ГЭС, чувствительного к иматинибу [5]. PDGFR $\alpha$ -ассоциированный ГЭС связан с небольшой интерстициальной делецией 4 хромосомы, del(4)(q12q12), которая не определяется стандартными цитогенетическими методами. Локализация точечных разрывов в гене FIP1L1 может варьировать, но наиболее часто представлена участком 40 кб 7–10 интронов. Напротив, в гене PDGFR $\alpha$  точечные разрывы ограничены экзоном 12, кодирующим WW-подобный участок юкстамембранного домена. Подтверждение диагноза PDGFR $\alpha$ -ассоциированного ГЭС основано на обнаружении химерного гена с помощью полимеразно-цепной реакции с обратной транскриптазой или флюоресцентной гибридизации in situ (FISH). Заподозрить PDGFR $\alpha$ -ассоциированный ГЭС можно также на основании клинических и лабораторных данных.

После описания пациента с клиническими проявлениями ГЭС и наличием клональной популяции Т-клеток с aberrантным фенотипом в периферической крови в 1994 Соган и соавт. был выделен лимфопролиферативный вариант ГЭС [6]. У таких пациентов гиперэозинофилия обусловлена продукцией эозинопоэтических цитокинов, в частности интерлейкина 5 (ИЛ-5), популяцией активированных Т-лимфоцитов. Диагноз лимфопролиферативного ГЭС подтверждается при выявлении в периферической крови популяции Т-клеток с aberrантным фенотипом, наиболее часто CD3–CD4+CD8–, с помощью проточной цитометрии. Доказательство Т-клональности в данном случае не является обязательным, однако подтверждает диагноз лимфопролиферативного ГЭС. К другим диагностически важным признакам относится повышение сывороточной концентрации IgE и тимусного активирующего хемокина (TARC) [7].

Таким образом, благодаря прогрессу в области молекулярной биологии и иммунологии были выявлены отдельные подтипы ГЭС, имеющие различную эпиде-

миологию, патогенез и прогноз. Возможность дифференциальной диагностики данных подтипов, а также появление новых методов лечения, включая ингибиторы тирозинкиназ и моноклональные антитела, которые направлены на специфические звенья патогенеза заболевания, существенно изменили подход к диагностике и терапии ГЭС.

### Т-клеточная лимфома

Т-клеточные лимфомы представляют собой гетерогенную по клиническим, гистологическим, иммунофенотипическим и цитогенетическим характеристикам группу лимфопролиферативных заболеваний, характеризующуюся клональной пролиферацией Т-лимфоцитов. Т-клеточные лимфомы составляют до 10% всех неходжкинских лимфом [9].

Большинство Т-клеточных лимфопролиферативных заболеваний агрессивны и характеризуются более плохим прогнозом по сравнению с В-клеточными лимфомами. Классификация Т-клеточных лимфом главным образом основана на гистоморфологических, иммунофенотипических особенностях и клинических параметрах. Популяция трансформированных Т-клеток при помощи проточной цитометрии может быть идентифицирована на основании потери или снижения экспрессии одного или нескольких пан-Т-клеточных антигенов.

### Описание клинического случая

Пациентка 51 года, поступила в Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова на гематологическое отделение клиники факультетской терапии в сентябре 2008 года. На момент поступления отмечались жалобы на выраженную общую слабость, постоянное повышение температуры тела до 38,5–39 °С, слабость в правой верхней и нижней конечностях с нарушением их функции, постоянный мучительный сухой кашель, сопровождающийся непроизвольным мочеиспусканием, и выраженное покраснение, шелушение и зуд кожи лица, груди и живота. В клиническом анализе крови эритроциты  $3,4 \times 10^{12}$  /л, гемоглобин 96 г/л, ЦП 0,85, тромбоциты  $359 \times 10^9$  /л, лейкоциты  $24,3 \times 10^9$  /л, п/я 6%, с/я 22%, эозинофилы 37% ( $9 \times 10^9$  /л), базофилы 2%, лимфоциты 28% ( $10 \times 10^9$  /л), моноциты 5%, СОЭ 13 мм/ч. Из анамнеза известно, что в мае 2008 года появились покраснение, шелушение, зуд кожи шеи, зоны декольте. При стационарном обследовании в клинике дерматологии ВМА (май 2008 года) в клиническом анализе крови отклонений не выявлено, по результатам биопсии кожи груди данные за лимфопролиферативное заболевание отсутствуют, отмечаются признаки токсикодермии. Во время госпитализации в ВМА проводилась десенсибилизирующая терапия, результатом которой стало уменьшение гиперемии, зуда, шелушения.

С начала августа пациентка отмечала ухудшение самочувствия, а именно появление лихорадки до 38,5 °С,

нарастание общей слабости, появление сухого мучительного кашля, усиление кожных проявлений в виде эритемы, зуда, шелушения кожи лица, туловища, конечностей. В то же время развилась лимфаденопатия (надключичные, подмышечные, паховые лимфатические узлы). В конце августа пациентка была госпитализирована в клинику микологии. В клиническом анализе крови лейкоциты —  $30,3 \times 10^9/\text{л}$ , п/я 1%, с/я 28%, эозинофилы — 25% ( $7,5 \times 10^9/\text{л}$ ), лимфоциты — 43% ( $13 \times 10^9/\text{л}$ ), моноциты — 2%, гемоглобин — 122 г/л, СОЭ 13 мм/ч. ЭКГ — без значимых отклонений от нормы. После гистологического исследования биопсийного материала из надключичного лимфоузла гематологом высказано предположение о лимфопролиферативном заболевании.

В начале сентября 2008 года пациентка стала отмечать резкое нарастание слабости, потерю силы в правой руке, а затем в правой ноге, неврологом не осматривалась. Пациентка самостоятельно обратилась на консультацию в СПбГМУ и была направлена на отделение гематологии с предварительным диагнозом: «Т-клеточная лимфома с поражением кожи, эритродермическая форма, гиперэозинофильный синдром». При объективном осмотре на момент госпитализации были обнаружены значимая периферическая лимфаденопатия, глубокий правосторонний гемипарез до плечии в руке, стволовой парез зрения, изменения на коже в виде диффузной гиперемии и шелушения. В клиническом анализе крови лейкоциты —  $21,9 \times 10^9/\text{л}$ , с/я — 47%, эозинофилы — 17% ( $3,7 \times 10^9/\text{л}$ ), лимфоциты — 28% ( $6,1 \times 10^9/\text{л}$ ), моноциты — 8%, гемоглобин — 96 г/л, СОЭ — 32 мм/ч. В миелограмме — до 44% эозинофилов. По данным МРТ выявлено очаговое поражение головного мозга, возможно, как проявление диссеминированного лейкоэнцефалита или васкулита. На рентгенограмме органов грудной клетки определялось диффузное усиление легочного рисунка, мелкие очагоподобные тени во всех отделах, что могло соответствовать картине васкулита. По данным УЗИ брюшной полости отмечена гепатомегалия (КВР 15,4 см), очаговое образование печени (гемангиома?), а также диффузные изменения ткани печени и поджелудочной железы. На ЭКГ — картина очаговых изменений в области заднедиафрагмальной стенки левого желудочка. Отмечено повышение уровня тропонина I до 2,76 нг/мл. При гистологическом исследовании костного мозга установлена резко выраженная гиперплазия эозинофильного гранулоцитарного ростка за счет зрелых клеток при резко выраженном ограничении эритропоэза. При гистологическом исследовании лимфатического узла получены данные за лимфому, предположительно, Т-клеточную. По результатам гистологического и иммуногистохимического исследования лимфатического узла установлен диагноз лимфома из клеток с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD5+, CD7+/-).

Для окончательной верификации диагноза было рекомендовано иммунофенотипирование.

На основании диагноза направления было проведено иммунофенотипирование лимфоидных клеток костного мозга. Оценка экспрессии маркеров была проведена среди фракции мононуклеаров, выделенных на градиенте плотности.

По результатам анализа отмечалось изменение картины костного мозга. По экспрессии панлейкоцитарного маркера CD45 выявлен значительный лимфоцитоз (более 40%) и 4,9% CD45 dim blastов, что допустимо для костного мозга (рис. 1А).

Лимфоцитоз в основном за счет Т-клеток (рис. 1Б), В-клетки и натуральные киллеры представлены незначительно — 1,0% и 5,9% соответственно среди всех лимфоцитов (рис. 1Б, 1Г).

Основная масса Т-клеток несет маркер Т-хелперов CD4. Кроме того, значительная часть Т-клеток обладает ранним тимическим фенотипом CD4+CD8+. Цитотоксические Т-лимфоциты CD8+ представлены незначительно (рис. 1В). Все Т-лимфоциты несут маркеры CD2 и CD5 (рис. 2А и 2Б).

Таким образом, Т-клетки обладают фенотипом CD2+CD3+CD4+CD5+, что не позволяет расценить их как нормальные.

По результатам иммунофенотипирования не было выявлено В-клеток с aberrантным фенотипом. Все они несут маркеры CD19+CD20+ и их относительное количество резко снижено (рис. 2Б и 2В).

Маркер стволовых клеток CD34 (рис. 2Г) присутствует исключительно на CD45 dim blastах. Среди Т-клеток он не выявлен.

Таким образом, был получен следующий ответ:

Параметры	Среди всех лимфоцитов, %
<b>CD3+CD19-</b>	<b>71,5</b>
CD3-CD19+	1,0
<b>CD3+CD4+</b>	<b>57,1</b>
CD3+CD8+	5,0
CD3+CD(16+56)+	2,3
CD3-CD(16+56)+	5,9
<b>CD2+CD3-</b>	<b>4,9</b>
CD2+CD3+	71,6
CD45+CD34+	4,9
CD3+CD38+	0,2
CD3-CD38+	не выявлено
<b>CD3+CD38-</b>	<b>73,0</b>
CD3-HLA-DR+	6,7
CD3+HLA-DR+	2,5
<b>CD3+HLA-DR-</b>	<b>70,6</b>
CD10+CD19+	не выявлено
<b>CD5+CD20-</b>	<b>70,4</b>
CD5-CD20+	0,9
CD5+CD20+	0,3
Среди всех CD3+ клеток	
CD3+CD8+	5,5
<b>CD3+CD4+</b>	<b>93,7</b>
<b>CD4+CD8+</b>	<b>20,6</b>
CD45+CD34+	не выявлено
Среди всех CD45dim+ клеток	
CD34+	32,5

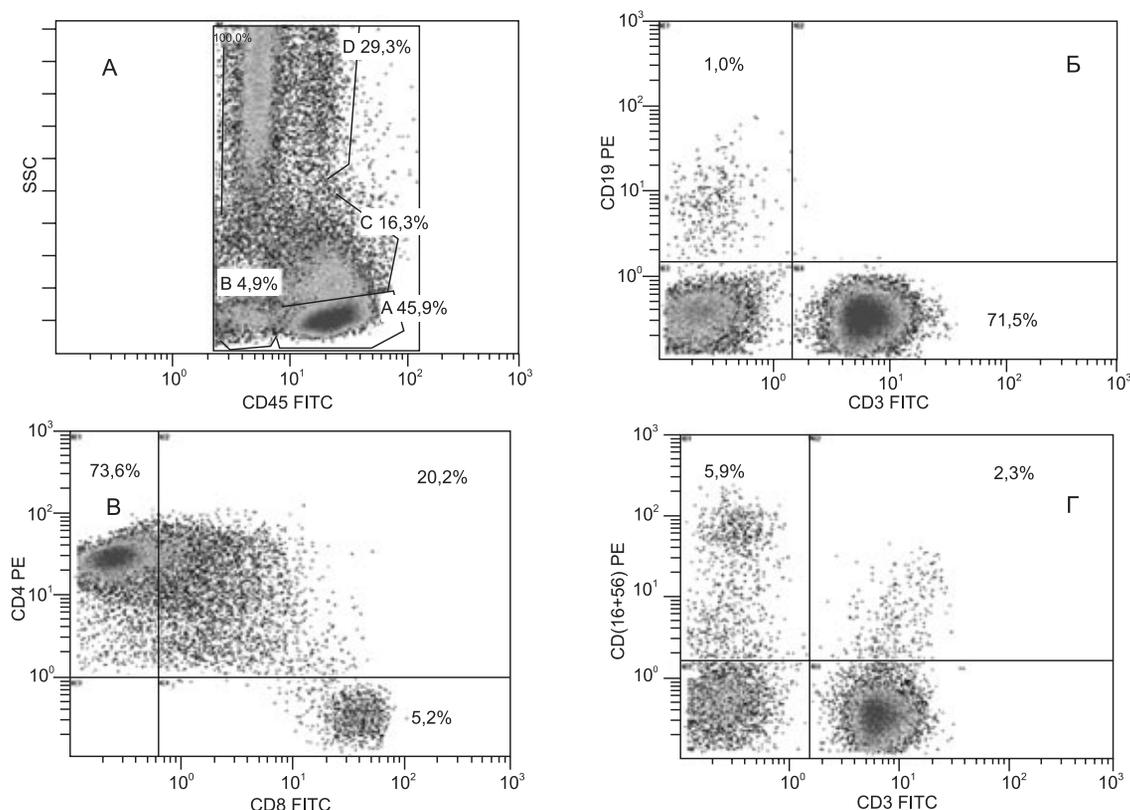


Рис. 1.

**А.** По горизонтальной оси — экспрессия маркера CD45, по вертикальной — боковое светорассеяние SSC, отражающее гранулярность клеток. Картина костного мозга изменена за счет лимфоцитоза более 40% — гейт А. Выявлена популяция бластов со сниженной экспрессией CD45, в количестве 4,9% среди всех ядросодержащих событий костного мозга — гейт В. Моноциты (гейт С) и неотмытые гранулоциты (гейт D) составляют 16,3% и 29,3% соответственно.

**Б.** По горизонтальной оси — экспрессия маркера CD3, по вертикальной — экспрессия маркера CD19. К гистограмме приложен гейт, содержащий лимфоциты. Количество Т-клеток составляет 71,5%, В-клетки составляют около 1%.

**В.** По горизонтальной оси — экспрессия маркера CD8, по вертикальной — экспрессия маркера CD4. К гистограмме приложен гейт, содержащий Т-клетки. Относительное количество CD4+ Т-клеток составляет 73,6%, CD8+ Т-клеток — 5,2%, двойных позитивных Т-клеток — 20,2%.

**Г.** По горизонтальной оси — экспрессия маркера CD3, по вертикальной — экспрессия маркера CD(16+56). К гистограмме приложен гейт, содержащий лимфоциты. Относительное количество CD3+CD(16+56)+ Т-киллеров составляет 2,3%, CD3–CD(16+56)+ натуральных киллеров — 5,9%

По данным иммунофенотипирования основная масса лимфоидных клеток костного мозга представлена гомогенной популяцией клеток с суммарным фенотипом CD2+CD3+CD4+CD5+. Кроме того, значительная часть Т-клеток обладает ранним тимическим фенотипом CD4+CD8+.

**Заключение:** Т-клеточное лимфопрлиферативное заболевание, лейкемическая форма. Необходимо уточнить клональность Т-клеточного рецептора и его форму (альфа-бета или гамма-дельта). Учитывая диагноз направления, рекомендовано ИФТ клеток эозинофильного ряда.

Далее цельный костный мозг из двух точек был исследован на эозинофильный синдром. В образцах из обеих точек выявлено одинаковое соотношение популяций ядросодержащих клеток: эозинофилы составляли 43,3% всех ядросодержащих клеток костного мозга (рис. 3А).

Эозинофилы имели маркеры миелоидной линии дифференцировки CD33, CD13, CD15 (рис. 3Б и 3В), однако при этом отсутствовала характерная для сохран-

ных эозинофилов экспрессия CD117 и низкоаффинного рецептора IgE — маркера CD23 (рис. 3Г).

Таким образом, был получен следующий ответ:

Параметры	Среди лимфоцитов, %	Среди эозинофилов, %
<b>CD3+CD19–</b>	<b>93,0</b>	<b>не выявлено</b>
CD3–CD19+	3,5	не выявлено
<b>CD3+CD4+</b>	<b>90,0</b>	<b>не выявлено</b>
CD3+CD8+	8,1	не выявлено
CD3+CD(16+56)+	0,4	0,6
CD3–CD(16+56)+	0,9	70,9
CD3–HLA–DR+	0,4	0,5
CD3+HLA–DR+	0,1	0,2
<b>CD3+HLA–DR–</b>	<b>92,5</b>	<b>0,1</b>
<b>CD15+</b>	<b>не выявлено</b>	<b>95,0 градиентная экспрессия</b>
<b>CD33+</b>	<b>не выявлено</b>	<b>100,0</b>
<b>CD33+CD13+</b>	<b>не выявлено</b>	<b>79,0</b>
CD117+	не выявлено	не выявлено
CD23+	не выявлено	не выявлено
CD45+CD34+	0,2	0,2

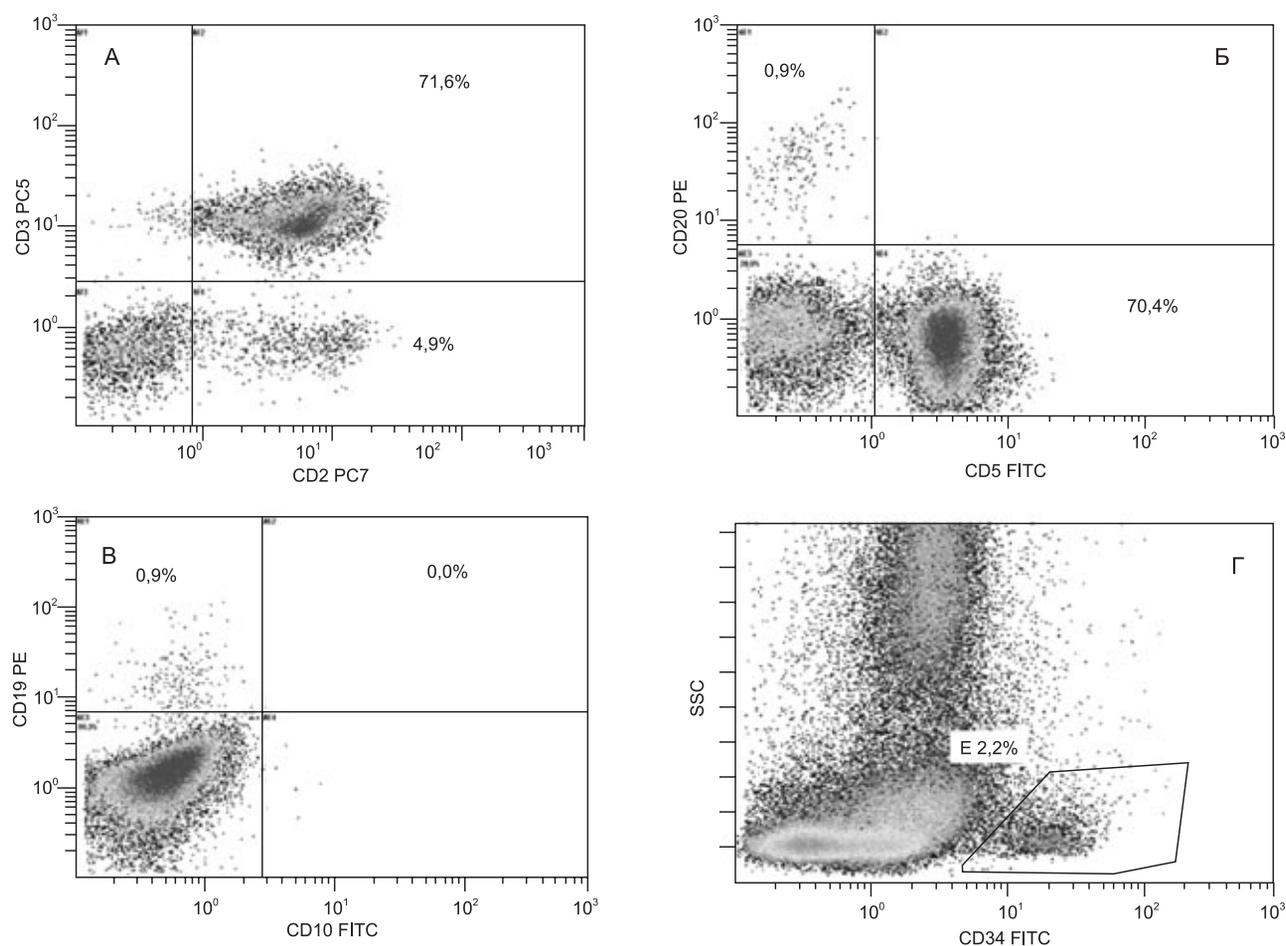


Рис. 2.

**А.** По горизонтальной оси — экспрессия маркера CD2, по вертикальной — экспрессия маркера CD3. К гистограмме приложен гейт, содержащий лимфоциты. Количество Т-клеток, несущих одновременно маркеры CD2 и CD3, составляет 71,6%, Т-клетки CD3–CD2+ составляют около 5%.

**Б.** По горизонтальной оси — экспрессия маркера CD5, по вертикальной — экспрессия маркера CD20. К гистограмме приложен гейт, содержащий лимфоциты. Количество клеток, несущих CD20, совпадает с количеством В-клеток (0,9%). Все Т-клетки несут маркер CD5. В-клетки с aberrantным фенотипом CD5+CD20+ не выявлены.

**В.** По горизонтальной оси — экспрессия маркера CD10, по вертикальной — экспрессия маркера CD19. К гистограмме приложен гейт, содержащий лимфоциты. В-клетки с aberrantным фенотипом CD19+CD10+ не выявлены.

**Г.** По горизонтальной оси — экспрессия маркера CD34, по вертикальной — боковое светорассеяние, отражающее гранулярность клеток. К гистограмме не приложены гейты, клетки, экспрессирующие маркер CD34, составляют 2,2%.

Имунофенотипический профиль эозинофилов представлен маркерами миелоидного направления дифференцировки CD13+CD15+CD33+. Отсутствует характерная для сохранных эозинофилов экспрессия CD117 и низкоаффинного рецептора IgE маркера CD23.

Выявленные в костном мозге эозинофилы морфологически сохранны (по данным проточной цитометрии), но фенотип их не соответствует нормальным эозинофилам, что не позволяет исключить эозинофильный синдром.

**Заключение:** Т-клеточное лимфопролиферативное заболевание, лейкомическая форма. Эозинофильный синдром. Имунофенотипическое исследование костного мозга подтвердило оба диагноза направления.

#### Данные молекулярно-генетического исследования

Исследование наличия транскрипта химерного гена FIP1L1/PDGFRa было выполнено методом ПЦР диагностики. Выделение РНК и получение кДНК из костного мозга и периферической крови осуществлялось по стандартным методикам. С полученным материалом проводилась ПЦР гнезным методом по стандартной двухпраймерной схеме [8]. Оценка результатов проводилась по электрофорезу в полиакриламидном геле. В качестве отрицательного контроля использовалась кДНК здоровых доноров.

В результате амплификации был получен ПЦР продукт, соответствующий по размеру химерному продукту; результат у донора был отрицательным.

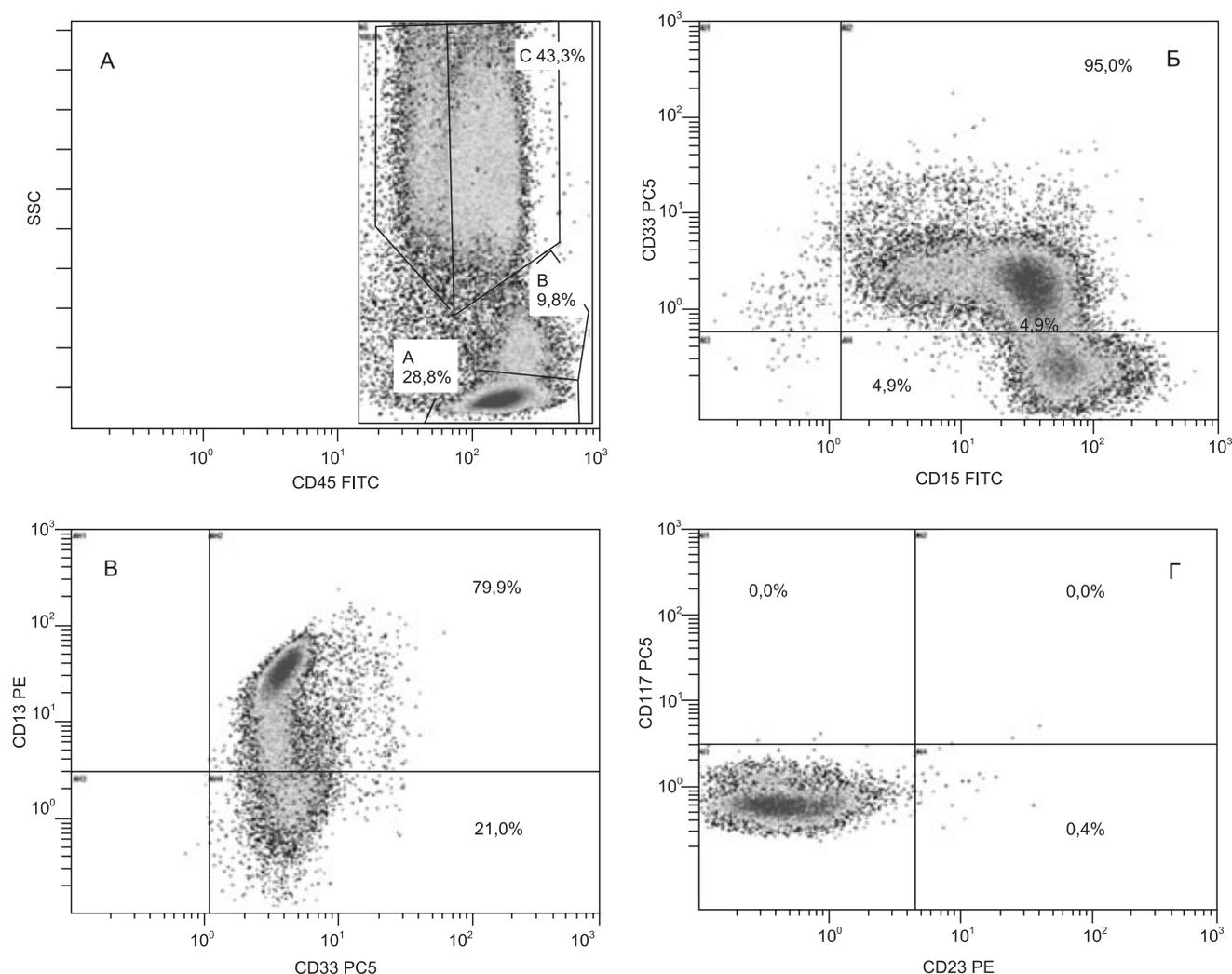


Рис. 3.

- А.** По горизонтальной оси — экспрессия маркера CD45, по вертикальной — боковое светорассеяние SSC, отражающее гранулярность клеток. К гистограмме приложен гейт, содержащий CD45 позитивные события. Относительное количество лимфоцитов составляет 28,8%, моноцитов — около 10%. Эозинофилы составляют 43,3% всех ядросодержащих событий костного мозга.
- Б.** По горизонтальной оси — экспрессия маркера CD15, по вертикальной — экспрессия маркера CD33. К гистограмме приложен гейт, содержащий эозинофилы. Все клетки несут маркер CD33. Около 95% клеток несут маркер CD15, его экспрессия градиентная.
- В.** По горизонтальной оси — экспрессия маркера CD33, по вертикальной — экспрессия маркера CD13. К гистограмме приложен гейт, содержащий эозинофилы. Клетки с фенотипом CD13+CD33+ составляют 79,9%. Клетки с фенотипом CD13–CD33+ — 21,0%.
- Г.** По горизонтальной оси — экспрессия маркера CD23, по вертикальной — экспрессия маркера CD117. К гистограмме приложен гейт, содержащий эозинофилы. Не выявлены клетки, экспрессирующие маркер CD117 и CD23

Исследование наличия клональности Т-клеточного рецептора также было выполнено методом ПЦР диагностики. Выделение ДНК из костного мозга и периферической крови осуществлялось по стандартным методикам. С полученным материалом проводилась ПЦР. Оценка результатов проводилась по электрофорезу в полиакриламидном геле методом гетеродуплексного анализа. В качестве отрицательного контроля использовалось кДНК здоровых доноров.

В результате амплификации получен результат, свидетельствующий о наличии моноклональности Т-клеточного рецептора; результат донора свидетель-

ствовал о поликлональности Т-клеточного рецептора.

Исследование уровня экспрессии интерлейкина-5 было выполнено методом ПЦР в реальном времени. Выделение РНК и получение кДНК из костного мозга и периферической крови осуществлялось по стандартным методикам. С полученным материалом проводилась ПЦР по стандартной двухпраймерной схеме. Оценка результатов выполнялась автоматически по циклу выхода по сравнению с контрольной группой. В качестве отрицательного контроля использовалось кДНК 10 здоровых доноров.

В результате исследования был получен результат, свидетельствующий о нормальной экспрессии уровня ИЛ-5 у пациентки по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, по данным молекулярно-биологического исследования были выявлены транскрипт химерного гена FIP1L1/PDGRF $\alpha$  и моноклональность Т-клеточного рецептора. Уровень экспрессии мРНК гена интерлейкина-5 не превышал значений контрольной группы. Транскриптит химерного гена Vcr/Abl не выявлен.

Общий IgE был резко повышен и составил 1284 МЕ/л (норма 20–100 МЕ/л).

### Заключение

Данные иммунофенотипирования костного мозга свидетельствовали о Т-клеточной пролиферации и эозинофильном синдроме. Данные молекулярно-генетического анализа подтвердили миелоидный вариант гиперэозинофильного синдрома с транслокацией FIP/PDGRF $\alpha$  и наличие моноклональности Т-клеточного рецептора. Нормальный уровень ИЛ-5 у пациентки свидетельствовал о клональном миелопролиферативном характере гиперэозинофилии.

На основании вышеперечисленных данных был установлен диагноз хронический эозинофильный лейкоз, Т-клеточная лимфома неуточненная IVA ст., осложнения: эозинофильный васкулит с поражением головного мозга, миокарда, коронарных артерий, кожи, легких; ОНМК с правосторонним гемипарезом; перенесенный заднедиафрагмальный инфаркт миокарда.

Было начато лечение дексаметазоном (12–24 мг внутривенно капельно) и гливеком (100 мг/сут), проводилась дезинтоксикационная, десенсибилизирующая и поддерживающая терапия. На фоне лечения в клиническом анализе крови лейкоциты —  $11,0 \times 10^9$ /л, п/я — 5%, с/я — 85%, эозинофилы — 0%, лимфоциты — 7%, моноциты — 2%, гемоглобин — 106 г/л, СОЭ 23 мм/ч.

Однако впоследствии у пациентки произошел отрыв хорд задней створки митрального клапана с развитием острой митральной недостаточности III–IV ст. Несмотря на проводимую терапию, состояние пациентки прогрессивно ухудшалось, развились острая левожелудочковая сердечная недостаточность, пароксизм фибрилляции предсердий, ишемическое ОНМК вследствие тромбоэмболии ЦНС. Через непродолжительное время пациентка умерла от отека головного мозга с дислокацией ствола.

### Литература

1. Weller P.F., Buble G.J. The idiopathic hypereosinophilic syndrome // *Blood*, 1994; 83: 2759–2779.
2. Chusid M.J., Dale D.C., West B.C., Wolff S.M. The hypereosinophilic syndrome: analysis of fourteen cases with review of the literature // *Medicine*, 1975; 54: 1–27.
3. Tefferi A., Vardiman J.W. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms // *Leukemia*, 2008 Jan; 22 (1): 14–22. Epub. 2007 Sep. 20.
4. Simon H.U., Plotz S.G., Dummer R., Blaser K. Abnormal clones of T cells producing interleukin-5 in idiopathic eosinophilia // *N. Engl. J. Med.*, 1999; 341: 1112–1120.
5. Roufosse F., Cogan E., Goldman M. Recent advances in pathogenesis and management of hypereosinophilic syndromes // *Allergy*, 2004; 59: 673–689.
6. Klion A.D., Noel P., Akin C., Law M.A., Gilliland D.G., Cools J., Metcalfe D.D., Nutman T.B. Elevated serum tryptase levels identify a subset of patients with a myeloproliferative variant of idiopathic hypereosinophilic syndrome associated with tissue fibrosis, poor prognosis, and imatinib responsiveness // *Blood*, 2003 Jun 15; 101 (12): 4660–6. Epub 2003 Apr 3.
7. Klion A.D. Recent advances in the diagnosis and treatment of hypereosinophilic syndromes // *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program.*, 2005; 209–214.
8. Klion A.D. // *Blood*, 2003. — Vol. 101, N 12.
9. Gorczyca W. Flow cytometry in neoplastic hematology, Taylor and Francis, 2006.

## О РОЛИ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА — $\beta 1$ В РАЗВИТИИ ФЕТАЛЬНОГО АЛКОГОЛЬНОГО СИНДРОМА

**В.И. ШИЛКО, Ж.Л. МАЛАХОВА, М.Ю. ЗИЛЬБЕР**

Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург, Россия

**Резюме.** Представлены данные концентрации трансформирующего фактора роста (TGF- $\beta 1$ ) в крови беременных женщин, злоупотребляющих алкоголем, и в контрольной группе (71,7 нг/мл и 6,6 нг/мл соответственно). Параллельное экспериментальное исследование на крысах также показало высокие концентрации TGF- $\beta 1$  у алкоголизированных беременных животных: опытная группа 189 нг/мл, контрольная — 129,7 нг/мл. Сравнительные результаты исследования могут свидетельствовать о недостаточности рецепторов к фактору роста TGF- $\beta 1$ , сопряженной с воздействием этанола и объясняющей проявления фетоплацентарной недостаточности и задержку внутриутробного развития плода при фетальном алкогольном синдроме.

**Ключевые слова:** дети, плод, алкогольные эффекты плода, факторы роста.

## ROLE OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR — $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$ ) IN DEVELOPMENT OF FETAL ALCOHOL SYNDROME

**V.I. SHILKO, ZH.L. MALACHOVA, M.J. ZILBER**

Urals State Medical Academy, Ekaterinburg, Russia

**Summary.** The article presents the results of transforming growth factor (TGF- $\beta 1$ ) level investigation in blood of pregnant alcohol misusing women and control group (71.7 ng/ml and 6.6 ng/ml respectively). The simultaneous experimental investigations with rats also demonstrate the same results. High concentration of TGF- $\beta 1$  in blood was revealed in pregnant animals treated by alcohol (189 ng/ml), whereas in rats in a control group the level was 129.7 ng/ml. The results can be explained by lack of TGF- $\beta 1$  receptors, which is related to ethanol use and can explain the fetoplacental insufficiency and in utero fetal development delay in fetal alcohol syndrome.

**Key words:** children, fetus, alcohol, alcohol effects of fetus, growth factors.

### Данные для корреспонденции:

Шилко Владимир Иванович, д. м. н., профессор, заведующий кафедрой детских болезней лечебно-профилактического факультета ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» Росздрава, 620028, Екатеринбург, ул. Репина, 3, тел.: (343) 374-07-08

Бедственное состояние результатов всех антиалкогольных программ тянет за собой цепочку других проблем. Однако ни одна из этих проблем не является столь животрепещущей, как женский алкоголизм и такое последствие этого явления как развитие фетального алкогольного синдрома (ФАС) у детей.

Следует отметить, что хотя и имеется в МКБ-10 рубрика, фиксирующая ФАС (Q-86), в широкой врачебной среде этот диагноз используется крайне редко. Данный факт объясняется отсутствием четких и законченных критериев диагностики, неясностью многих сторон патогенеза, разбросом эпидемиологических данных.

В результате серии зарубежных исследований предложена и наиболее часто используется следующая диагностическая система ФАС–ИОМ [1–4]. Последняя базируется на документировании лицевых отклонений (сглаженный носогубный желобок, тонкая кайма верх-

ней губы, короткая глазная щель), наличии дефицита веса и роста, доказательствах структурно-функциональных отклонений со стороны центральной нервной системы, данных употребления матерью алкоголя во время беременности. Большинство детей с ФАС имеют задержку физического, нервно-психического развития. По литературным данным, именно ФАС занимает лидирующую позицию в списке известных причин задержки умственного развития [5].

В медицинской литературе имеется ряд гипотез, объясняющих механизм развития ФАС. Это, прежде всего, тератогенное действие этанола на эмбрион и плод и генетическая особенность биотрансформационных систем в отношении этанола у беременных [6]. Большая часть детей, рожденных от пьющих женщин, имеют малую массу при рождении и в дальнейшем отстают в физическом развитии, формируя группу детей с гипотрофией, которая резистентна к проводимой терапии.

В связи с этим представляет большой интерес изучение факторов роста (ФР), которые определяют будущую морфологию (развитие) как плаценты, так и плода. В результате наметилось новое направление в изучении патогенеза ФАС [7]. Есть основания считать его перспективным, поскольку ФР — клеточные полипептиды, способные стимулировать или тормозить рост тканей. Изменение их уровня можно считать одним из ведущих механизмов таких клинических проявлений как отставание в физическом развитии внутриутробно (ЗВУРП) и в постнатальном периоде; морфологические и клинические признаки недоразвития центральной нервной системы, мозгового и лицевого черепа, зрительного и слухового анализаторов, что, как уже говорилось, составляет клиническую основу ФАС. По нашему мнению, большой интерес представляет трансформирующий фактор роста  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ), оказывающий множественное влияние на большое число типов клеток. Так, TGF- $\beta 1$  участвует в регуляции роста клеток, их дифференцировки и апоптозе, а также в модуляции иммунной системы.

Все вышесказанное явилось обоснованием цели нашего исследования: выявление возможных различий содержания трансформирующего фактора роста  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) в сыворотке крови беременных женщин, злоупотребляющих алкоголем, и не принимающих спиртные напитки.

#### Материалы и методы исследования

Было обследовано 28 беременных женщин. Из них I группу (основную) составили 8 женщин (имеющих в анамнезе указания на пристрастие к алкоголю), II группу (контрольную) — 20. Определение уровня TGF- $\beta 1$  производилось на 11–14 неделе беременности. Для определения TGF- $\beta 1$  использовали метод гетерогенного твердофазного иммуноферментного анализа (тест-система Human TGF- $\beta 1$  ELISA BMS249/2 and BMS249/2TEN, Bender MedSystems, Австрия).

Учитывая особенности течения периода беременности у обследуемых женщин (гестозы, экстрагенитальная патология и заболевания гинекологические), было решено провести параллельное исследование TGF- $\beta 1$  у крыс. Исследования проводились в осенне-зимний период на 26 крысах стадного разведения линии Вистар в возрасте 1–2 месяцев, массой 280–300 г. Животные содержались при комнатной температуре в условиях свободного доступа к пище. Они были разделены на две группы: I — основная (13 животных, получавших вместо воды в течение 1 месяца до беременности и в течение всей беременности 15% раствор спирта), II — контрольная (13 интактных крыс). Для определения TGF- $\beta 1$  использовали метод гетерогенного твердофазного иммуноферментного анализа (тест-система Rat TGF- $\beta 1$  ELISA BMS623 and BMS623TEN, Bender MedSystems, Австрия). Учет результатов производился с использованием фотометра STAT FAX.

Статистическая обработка фактического материала осуществлялась на персональном компьютере при помощи программы Microsoft® Excel 2002 (10.3506.2625), в приложении Microsoft Office 2002, с использованием метода альтернативного варьирования с определением t-критерия.

#### Результаты и их обсуждение

В первой группе (8 беременных женщин) средний возраст составил 33,5 года (смотри таблицу). Среди генитальной патологии обращает на себя внимание наличие хронической внутриматочной инфекции, указания на мертворожденных детей у 2 женщин. Каждая вторая беременная, помимо употребления алкоголя, являлась никотинзависимой.

Вторая группа была представлена 20 женщинами, средний возраст которых составил 31,6 года. Среди экстрагенитальной патологии обращало на себя внимание, также как и у пациенток I группы, наличие хронических соматических заболеваний, у 7 беременных имелись

Таблица. Состояние здоровья обследуемых женщин

№ п/п	Клинико-лабораторная характеристика	Группа	I группа (n = 8)	II группа (n = 21)	
1	Внутриматочная инфекция		6	13	P > 0,5
2	Мертворождения в анамнезе		2	—	P > 0,5
3	Выкидыши в анамнезе		1	7	P > 0,5
4	Заболевания сердечно-сосудистой системы		5	9	P > 0,5
5	Заболевания ЖКТ		3	6	P > 0,5
6	Заболевания мочеполовой системы		1	7	P > 0,5
7	Заболевания щитовидной железы		1	3	P > 0,5
8	Никотиновая зависимость		4	2	P > 0,5
9	TGF- $\beta 1$		M = 71,7 нг/мл	M = 6,6 нг/мл	<b>P &lt; 0,05</b>

в анамнезе указания на прерывания предыдущих беременностей в ранние сроки. Однако основная и контрольная группы не имели статистически значимых отличий репродуктивного статуса и соматического здоровья.

Напротив, средний показатель TGF- $\beta$ 1 в I группе составил 71,7 нг/мл, во II группе — 6,6 нг/мл ( $t = 2,18$ ,  $p < 0,05$ ). Референтные значения TGF- $\beta$ 1 0–3,46 нг/мл. Логически следовало бы ожидать снижения фактора роста в первой группе, но напротив, в результате проведенного исследования мы получили увеличение его в несколько раз, что требует своего объяснения. Кроме алкоголизации, мы имели практически одинаковый спектр воздействий на течение беременности и развитие плода. Все вышесказанное подвигло нас провести экспериментальную часть работы на здоровых животных. При этом при сопоставлении естественно исключались генетическая и экстрагенитальная патология, имевшие место у беременных женщин, бытовые и стрессовые влияния (никотин и т. п.). Как было сказано в разделе «Материалы и методы исследования», крысы были разделены на две группы — пьющие и непьющие, т. е. получавшие только алкоголь или только воду. В результате были также получены статистически значимые различия в значениях TGF- $\beta$ 1: в опытной группе  $M = 187,9$  нг/мл, в контрольной  $M = 129,7$  нг/мл,  $t = 2,68$ ,  $p < 0,02$ . И хотя этот вопрос мало изучен и требует дальнейшего осмысления, параллелизм показателей фактора роста у беременных женщин и опытных животных позволяет

высказаться о дефектности рецепторного аппарата клеток-мишеней. По данным ряда авторов, накопление этого фактора в крови [8] может быть связано с блокированием TGF- $\beta$ 1-рецепторов развивающихся клеток алкоголем, в результате чего нарушаются рост и миграция клеток и активизируется апоптоз.

Также TGF- $\beta$ 1 ингибирует пролиферацию клеток цитотрофобласта нормальной плаценты [9], что при повышении концентрации данного фактора роста может привести к первичной плацентарной недостаточности, а это, в свою очередь, к развитию синдрома задержки внутриутробного развития плода, который является одним из диагностических критериев ФАС.

### Заключение

Полученные данные — повышение концентрации TGF- $\beta$ 1 у женщин, принимавших алкоголь во время беременности, и подобная тенденция в эксперименте у алкоголизованных беременных крыс — позволяют высказаться о имеющемся блоке рецепторов к фактору роста, связанном с действием этанола. Возможно, в этих условиях реализуется обратная связь. На основе этих положений становится возможным объяснение комплекса клинических данных, свойственных новорожденным с ФАС: ЗВУРП, фациальные отклонения, изменения со стороны ЦНС, а также патология плаценты у алкоголизованных родильниц.

### Литература

1. Institute of Medicine (IOM), Stratton, K.R., Howe, C.J., & Battaglia, F.C. (1996). Fetal Alcohol Syndrome: Diagnosis, Epidemiology, Prevention, and Treatment. Washington, DC: National Academy Press.
2. Пальчик А.Б., Федорова Л.А., Легонькова С.В. Фетальный алкогольный синдром: методические рекомендации. — СПб., 2006. — 24 с.
3. Пальчик А.Б., Шабалов Н.П. Токсические энцефалопатии новорожденных. — М.: МЕДпрессинформ, 2009. — 156 с.
4. Шилко В.И., Малахова Ж.Л., Бубнов А.А., Сергеева Л.М. Фетальный алкогольный спектр нарушений среди воспитанников домов ребенка // Наркология, 2008. — № 11. — С. 53–56.
5. Schonfeld A.M., Mattson S.N., Lang A.R., Delis D.S., Riley E.P. Verbal and nonverbal fluency in children with heavy prenatal alcohol exposure // J. Stud. Alcohol., 2001; 62: 239–246 [Medline].
6. Zuba D. et al. Ethanol and other volatile compounds. Kinetics in alcohol dependent patients with ethanol // Toxicol. Clin. Toxicol., 2001; 3: 229–230.
7. Cao Y.H., Lindel P., Shima D. et al. In vivo angiogenic activity and hypoxia induction of heterodimers of placenta growth factor vascular endothelial growth factor // J. Clin. Invest., 1996; 98: 11: 2507–2511.
8. Bredensen D.E. Keeping neurons alive: The molecular control of apoptosis (Part 1, Part II) // The Neuroscientist, 1996; 2: 181–190 (211–216).
9. Ogura Y., Takakura N., Yoshida H., Nishikawa S. Essential role of platelet — derived growth factor receptor Alpha in the development of the intraplacental yolk sac sinus of Duval in mouse placenta // Biol. Reprod., 1998; 58: 1: 65–72.

## КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ ПОДХОД К ОБСЛЕДОВАНИЮ АМБУЛАТОРНЫХ ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИЕЙ КРОВОТОКА

Н.М. КАРГАЛЬЦЕВА, В.Л. ПАСТУШЕНКОВ, В.И. КОЧЕРОВЕЦ

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Инфекция кровотока (ИК) означает состояние пребывания микроорганизмов в крови, сопровождающееся клиническими симптомами. В современных условиях необходимо объединить в логическую цепь больного, исследование материала и клинического врача для интерпретации полученных результатов и подбора целевой антимикробной терапии. При сборе анамнеза амбулаторных пациентов характерными жалобами ИК являются: субфебрильная температура тела, озноб, хронические заболевания ВДП, гнойничковые высыпания на коже и нестабильность стула. Эти клинические симптомы сопровождаются отклонениями гематологических (76,5%) и иммунологических (93,3%) показателей. Наличие микроорганизмов в крови было подтверждено микробиологическими методами: микроскопическим (98,5%) и культуральным (55,2%). Предложенный экспресс-метод приемлем как для лаборатории, так и для амбулаторного пациента.

**Ключевые слова:** клинические симптомы, клинический и иммунологический анализы крови, микроскопия мазка крови, посев крови.

## CLINICAL LABORATORY APPROACH TO OBSERVATION OF THE OUT-PATIENTS WITH BLOOD SYSTEM INFECTIONS

N.M. CARGALTSEVA, V.L. PASTUSHENKOV, V.P. COCHEROVETZ

S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia

**Summary.** Blood system infection is presence of microorganisms in blood accompanied by the development of clinical symptoms. In modern conditions the logic chain consisting of the patient, investigation of biological materials and clinical specialist who interprets the results and chooses the target antimicrobial therapy should be formed. Case taking in out-patients reveals some complaints which are typical for blood infection. They include subfebrile fever, chills, chronic diseases of upper respiratory tract, purulent skin infections and stools instability. These symptoms are accompanied by the changes in hematological (76,5%) and immunological (93,3%) changes. Presence of microorganisms in blood was confirmed by microbiological methods including microscopic (98,5%) and cultural (55,2%). The suggested express method can be used both for laboratory and for out-patients.

**Key words:** clinical symptoms, clinical and immunological blood analysis, blood smear microscopy, blood culture.

### Данные для корреспонденции:

Каргальцева Наталья Михайловна, к. м. н., преподаватель кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ, 194044, СПб., Пироговская наб., 1, тел.: (812) 292-32-25, e-mail: kargaltseva@mail.ru

### Введение

Инфекционные заболевания продолжают играть ведущую роль в патологии человека несмотря на значительное количество антибиотиков, применяемых в настоящее время. Такие терапевтические заболевания, как язвенная болезнь, заболевания сердечно-сосудистой системы, в настоящее время рассматриваются как имеющие существенный инфекционный компонент, в их диагностике обязательным является обнаружение возбудителя и проведение антимикробной терапии. В современных условиях изменился статус врача-микробиолога. В настоящее время ему отведена роль клинического микробиолога. В связи с этим в его обязанности входит соединить в единую логическую цепь больного, диагностическое исследование материала от больного и врача-клинициста для решения главного

вопроса — подбора рациональной терапии для больного.

С термином «инфекция кровотока» связывают состояние пребывания микроорганизмов в крови, сопровождающееся клиническими симптомами. Эти состояния могут иметь частные названия: бактериемия, фунгемия, паразитемия, вирусемия, т. к. ассоциированы с типом микроорганизма, находящегося в кровеносном русле. В практической работе чаще имеем место с бактериемией и фунгемией.

В настоящее время в России проблема инфекции в крови озвучена как проблема госпитальной инфекции и подлежит регистрации. В письме от 2 октября 2007 года Г.Г. Онищенко не отмечал позитивных изменений по стране в работе по учету и регистрации внутрибольничных инфекций. Ежегодно все виды внутрибольничных

инфекций переносят 2 млн человек, при этом на долю амбулаторно-поликлинических учреждений приходится 8,0% случаев. Согласно высказываниям Главного санитарного врача страны, смертность при гнойно-септических заболеваниях по причине септических осложнений остается актуальной проблемой здравоохранения и свидетельствует о сохраняющихся недостатках в диагностике [1]. В Европе была создана исследовательская группа по нозокомиальным инфекциям, которая начала работу с ведущей госпитальной инфекции — инфекции кровотока [2]. В США ежегодно бактериемия и фунгемиа развиваются у 200 000 больных, и летальность достигает 50% случаев. Проблема летальности конкретно при инфекции кровотока напрямую зависит от скорости обнаружения возбудителя. Трехлетний анализ летальных исходов показал, что в 62% случаев микроорганизмы были выделены после смерти больных, так как не были применены методы экспресс-диагностики бактериемии [3].

До 1960 года не ставили диагноз «кандидемия» или «инвазивная, диссеминированная кандидозная инфекция» [4]. В настоящее время кандидоз вошел в число нозокомиальных инфекций и занимает четвертое место в этом списке. По данным Американского центра контроля и профилактики заболеваний, число нозокомиальных кандидемий выросло до 15% от всех септицемий [5]. Подобная ситуация была и в странах Европы. Летальность при кандидемии находится в пределах 25–60%. Выжившие больные длительно пребывают в стационаре (более 30 дней). Кандидемия является жизнеугрожающим заболеванием и увеличивает количество койко-дней [6].

#### Материалы и методы

Для обследования амбулаторных пациентов была разработана специальная анкета — опросник, по которому собирали клинические симптомы от пациентов с предполагаемой инфекцией в крови. Всего было опрошено 204 амбулаторных пациента. Большую часть обследованных пациентов составляли люди трудоспособного возраста, т. е. от 30 до 60 лет. Из числа опрошенных амбулаторных пациентов женщин было 137 (67,2%) и мужчин — 67 (32,8%) человек. По результатам анкетирования пациенту рекомендовалось проведение лабораторных исследований с целью уточнения диагноза и назначения целевой антибактериальной терапии. Несмотря на то, что 85,3% пациентов ранее обращались за медицинской помощью в различные лечебно-профилактические учреждения и имели предварительное лечение, основные жалобы сохранились.

Клинические и иммунологические анализы крови выполнены по общепринятым методикам для амбулаторно-поликлинических учреждений. Общий анализ крови включал: количественный и качественный состав форменных элементов крови, определение числа эритроцитов, содержание гемоглобина, определение обще-

го числа лейкоцитов и процентное соотношение отдельных форм среди них (лейкоцитарная формула), исследование СОЭ. Клинические анализы крови были выполнены по общепринятой методике в клинико-диагностических лабораториях учреждений Санкт-Петербурга согласно приказу МЗ СССР от 21.11.79 № 1175 «Об унификации клинических лабораторных методов исследования» (вместе с «Методическими указаниями по применению унифицированных клинических лабораторных методов исследования»). Показатели клинического исследования крови были оценены согласно стандартным нормам [7]. Титр комплемента определяли по 100% гемолизу. Циркулирующие иммунные комплексы — методом преципитации с полиэтиленгликолем и выражали в единицах оптической плотности. Иммуноглобулины определялись классическим методом по Манчини. Общее количество Т- и В-лимфоцитов в периферической крови исследовали методом розеткообразования. Подвижность лейкоцитов, характеризующая общую систему реактивности организма, определялась в реакции торможения миграции лейкоцитов капиллярным тестом. НСТ-тест (тест восстановления нитросинего тетразолия), цитохимическое исследование лейкоцитов, характеризующее фагоцитарную и метаболическую функции гранулоцитов по образованию в цитоплазме гранул формазана. Субпопуляции Т-лимфоцитов: супрессоры, хелперы, киллеры, отличающиеся друг от друга специфическими рецепторами и по которым они детерминируются в общем пуле лимфоцитов, определялись по методу А.А. Тотоляна и И.С. Фрейдлин. Реакция бластотрансформации лейкоцитов (РБТЛ) используется для определения иммунологической активности лейкоцитов и является показателем активности клеточного иммунитета организма. Было выполнено 217 клинических анализов крови по 11 показателям, в результате чего было получено 1836 гематологических показателей крови. При выполнении 207 иммунологических анализов крови по 18 показателям иммунитета получили 2856 показателей иммунного статуса пациентов.

Было выполнено микроскопическое исследование мазка периферической крови и культуральное исследование крови — экспресс-методом [8, 9]. Кровь забирали в «шприц-пробирки» промышленного производства, содержащие антикоагулянт (лимонно-кислый натрий), и доставляли в лабораторию. В лаборатории смесь центрифугировали, пастеровской пипеткой удаляли плазму до уровня лейкоцитарного слоя, который лежал на эритроцитах. Этот слой являлся исследуемым материалом для микроскопии и посева. Капли наносили на предметные стекла для приготовления «тонких мазков» крови и на свежеприготовленный обогащенный магар в чашки Петри методом «рассева» для получения изолированных колоний. Чашки с засеянной кровью инкубировали в аэробных и анаэробных газовых условиях. Всего было просмотрено 270 мазков крови и сделано 324 посева пробы крови.

## Результаты работы

Наибольшее число пациентов ( $72,1 \pm 3,1\%$ ) жаловалось на появление гнойничков, мелких красных «прыщиков» и фурункулов кратковременно или постоянно в течение длительного времени. В  $63,7 \pm 3,4\%$  случаев пациенты имели хронические заболевания верхних дыхательных путей. Частыми жалобами также были: наличие субфебрильной температуры тела ( $49,0 \pm 3,5\%$ ), озноба ( $53,9 \pm 3,5\%$ ) и нестабильного стула ( $53,9 \pm 3,5\%$ ). Повышение температуры тела и озноб чаще случались в вечернее время суток. Жалоб на озноб было больше, поэтому озноб имел также клиническое значение. Женщины чаще мужчин жаловались на повышенную температуру тела ( $54,01 \pm 4,2\%$  и  $38,81 \pm 5,9\%$  соответственно,  $p < 0,05$ ) и озноб ( $60,58 \pm 4,2\%$  и  $40,3 \pm 5,9\%$  соответственно,  $p < 0,01$ ). Нестабильность стула отмечали больше половины пациентов ( $53,9\%$ ) и среди них большинство составляли женщины ( $57,66 \pm 4,2\%$ ). Расстройство стула у мужчин чаще проявлялось в виде диареи ( $61,3 \pm 5,9\%$ ), а у женщин — в виде запора ( $74,7 \pm 3,7\%$ ). Как мужчины, так и женщины в равной степени жаловались на появление гнойничков ( $71,6$  и  $72,2\%$  соответственно) и отмечали хронические заболевания ВДП ( $64,2$  и  $63,5\%$  соответственно). Гнойничковые высыпания на коже в большинстве случаев имели место при любом отклонении характера стула: диарея или запор. При запоре гнойники появлялись чаще. Мужчины и женщины в большинстве случаев ( $68,66$  и  $62,77\%$  соответственно) не указывали на изменение цифр кровяного давления. Имевшие место незначительные изменения кровяного давления у мужчин проявлялись повышенными показателями, а у женщин — пониженными ( $66,7$  и  $82,35\%$  соответственно).

Из 217 клинических анализов крови 166 имели отклонения в гематологических показателях, что составляло  $76,5 \pm 2,8\%$  случая. Из числа обследованных пациентов 118 ( $77,1 \pm 3,4\%$ ) имели сдвиги во всех показателях крови от  $3,4\%$  до  $62,7\%$  случаев. Наиболее часто это случалось у пациентов в показателях количества лимфоцитов, СОЭ, сегментоядерных нейтрофилов и концентрации гемоглобина ( $62,7 \pm 4,4\%$ ,  $34,7 \pm 4,4\%$ ,  $33,1 \pm 4,3\%$  и  $28,0 \pm 4,1\%$  соответственно). Сдвиги показателей клинического анализа крови характеризовались в сторону повышения или понижения. Большинство отклонений концентрации гемоглобина, цветового показателя, количества эритроцитов и сегментоядерных нейтрофилов характеризовалось снижением по отношению к показателям нормы ( $84,8$ ,  $83,3$ ,  $78,3$  и  $72,7\%$  соответственно), а сдвиги в показателях лейкоцитов и лимфоцитов — в сторону повышения ( $91,3$  и  $66,7\%$  случаев соответственно). Измененные уровни показателей: СОЭ, палочкоядерные нейтрофилы, моноциты, эозинофилы и базофилы характеризовались в  $100\%$  случаев повышенными уровнями. Можно предполагать наличие анемии, обозначенной как «анемия при хронических заболеваниях» (сниженные показатели гемоглобина, эритроци-

тов и цветового показателя) и активности воспалительного процесса (повышенные значения СОЭ, лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов на фоне снижения числа сегментоядерных нейтрофилов) [10, 11].

Иммунологическое исследование крови не только является показателем иммунологического статуса организма, но и демонстрирует иммунологический ответ на воспаление в виде его адекватности или дефицита. В  $93,3 \pm 1,8\%$  случаев показатели иммунитета отклонялись от нормальных цифр. Анализ представленных данных показал высокий процент отклонений в показателях иммуноглобулинов: М ( $91,86 \pm 2,9\%$ ), А ( $87,21 \pm 3,6\%$ ) и G ( $69,77 \pm 4,9\%$ ) и НСТ ( $56,08 \pm 3,6\%$ ). На основании этого можно предполагать наличие воспалительного процесса у обследованных амбулаторных пациентов. Чуть менее половины пациентов имели отклонения в показателях Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов ( $41,54 \pm 3,5\%$  и  $42,56 \pm 3,5\%$  соответственно), треть пациентов — в РТМЛ и иммунорегуляторном индексе ( $CD4 / CD8$ ) ( $37,04 \pm 3,5\%$  и  $35,33 \pm 3,5\%$  соответственно). Показатели иммунологического анализа отклонялись от показателей нормы в сторону увеличения или уменьшения. Представленные особенности сдвигов в иммунограммах имели практическое значение для оценки иммунного статуса пациентов, который характеризовался совокупностью показателей. Снижение и повышение показателей Т-лимфоцитов в равных количествах ( $55$  и  $45\%$  соответственно) соответствовало наличию воспалительного процесса с затяжным хроническим течением. Пониженные показатели В-лимфоцитов ( $98\%$ ), повышенные показатели: титра комплемента ( $79\%$ ), НСТ ( $97\%$ ) и IgA ( $87\%$ ) также подтвердили имеющееся воспаление у амбулаторных пациентов с пребыванием возбудителя в крови и на слизистых оболочках. Отклонения в показателях иммунограмм также свидетельствовали о состоянии иммунитета и его реакции на воспаление. Измененные показатели РТМЛ ( $36,0 \pm 3,3\%$ ) в сторону повышения в  $100\%$  случаев свидетельствуют о снижении уровня клеточного иммунитета у одной трети пациентов. На относительный дефицит гуморальной системы указывали отклонения показателей IgM в сторону уменьшения ( $94,7 \pm 2,5\%$ ). Повышенные цифры показателей CD8 ( $78,38 \pm 6,7\%$ ) и сниженные показатели индекса CD4/CD8 ( $95,65 \pm 2,4\%$ ) подтвердили наличие воспаления на фоне относительного общего иммунодефицита. Сниженные показатели НК-субпопуляции ( $82,14 \pm 7,2\%$ ) указывали на снижение функции неспецифических факторов иммунитета. Все иммунограммы имели заключение врача-иммунолога.

Микроскопический метод исследования крови позволяет быстро обнаружить возбудитель при прямом выявлении его в крови с помощью различных приемов. Микроскопия мазков крови была выполнена у всех пациентов, и возбудители инфекции кровотока были обнаружены в  $98,5 \pm 0,7\%$  случаев. Из 924 обнаруженных микроскопическим методом морфологических форм

649 относились к бактериям и 275 – к грибам ( $70,24 \pm 1,5\%$  и  $29,76 \pm 1,5\%$  соответственно). Из 649 бактериальных форм грамположительных было обнаружено 540 и грамотрицательных – 109 форм ( $83,2 \pm 1,5\%$  и  $16,8 \pm 1,5\%$  соответственно). Преобладали грамположительные микроорганизмы. Среди грамположительных чаще обнаруживали микроорганизмы кокковой формы, чем палочковой ( $80,74 \pm 1,7\%$  и  $19,26 \pm 1,7\%$  соответственно). Наиболее часто обнаруживаемыми морфологическими формами в мазках крови были грамположительные кокки, среди грамотрицательной флоры – палочки и дрожжевые клетки. Из 316 мазков крови с положительными результатами в 55 были обнаружены микроорганизмы одной морфологии и в 261 – несколько морфологических форм ( $17,4 \pm 2,1\%$  и  $82,6 \pm 2,1\%$  соответственно). Большинство обнаруженных микроорганизмов находились в мазке в виде ассоциаций, число которых доходило до семи ассоциантов в одном мазке крови. Наибольшее число ассоциаций состояло из 2, 3 и 4 ассоциантов ( $24,7$ ,  $24,1$  и  $20,2\%$  соответственно). Ассоциации представляли собой сочетание бактерий с бактериями и бактерий с грибами. При микроскопии мазка периферической крови у амбулаторных пациентов чаще обнаруживались бактериально-грибковые ассоциации, чем бактериально-бактериальные ( $80,5 \pm 2,4\%$  и  $19,5 \pm 2,4\%$  соответственно).

Бактериологическое обследование амбулаторных пациентов включало также культуральный метод исследования крови. Посев крови проводили экспресс-методом. Возбудители инфекции кровотока были выделены в  $55,2 \pm 3,0\%$  случаев. Из полученных 244 штаммов микроорганизмов  $97,5 \pm 0,9\%$  относились к бактериям и  $2,5 \pm 0,9\%$  – к грибам. Число грамположительных возбудителей значительно превышало число выделенных грамотрицательных микроорганизмов ( $86,5 \pm 2,2\%$  и  $13,4 \pm 2,2\%$  соответственно). Среди грамположительных выделенных возбудителей преобладали микроорганизмы кокковой формы ( $54,8 \pm 3,4\%$ ), а среди грамотрицательных – палочки ( $96,8 \pm 3,1\%$ ). Выделенные штаммы были дифференцированы на 45 видов микроорганизмов. Полученные гемокультуры содержали моновозбудитель ( $64,3 \pm 3,6\%$ ) и ассоциации микроорганизмов ( $35,7 \pm 3,6\%$ ). Среди выделенных ассоциаций преобладали гемокультуры с двумя возбудителями ( $28,6\%$ ). Наличие трех или

четырёх ассоциантов-возбудителей ( $4,7$  и  $2,4\%$  соответственно) в одной гемокультуре осложняло подбор адекватной антимикробной терапии. Выделенные ассоциации возбудителей инфекции кровотока характеризовались тремя видами ассоциаций: аэроб+аэроб, аэроб+анаэроб и анаэроб+анаэроб. Половина выделенных ассоциаций микроорганизмов ( $50,0\%$ ) представляла собой сочетание аэробных микроорганизмов разных видов. Значительное число ассоциаций ( $46,7 \pm 6,4\%$ ) характеризовалось набором аэробных и анаэробных микроорганизмов. Ассоциаций, состоящих только из анаэробных микроорганизмов, было незначительное количество ( $3,3\%$ ).

Была проанализирована патогенетическая связь полученных лабораторных данных с наиболее часто встречаемыми жалобами на 153 амбулаторных пациентах с клиническими анализами крови и анкетированными жалобами.

Больше чем у половины амбулаторных пациентов с клиническими анализами крови жалобы на лихорадку, озноб, заболевания ВДП, неустойчивый стул и гнойничковые поражения кожи присутствовали (от  $54,2$  до  $69,3\%$ ). У 118 пациентов данной группы в клинических анализах крови были выявлены отклонения гематологических показателей крови, что составило  $77,1\%$  случаев. В анализ включили гематологические показатели, характеризующие состояние анемии и воспалительного процесса. Изменения показателей характеризовались в сторону повышения и понижения уровней.

Представленные данные демонстрируют пониженные уровни показателей концентрации гемоглобина и количества эритроцитов ( $78,8$  и  $68,8\%$  соответственно), что характерно для состояния анемии, и сниженные значения количества сегментоядерных с одновременно повышенными показателями палочкоядерных нейтрофилов ( $71,8$  и  $100,0\%$  соответственно), так называемый «сдвиг лейкоцитарной формулы влево». Кроме того, повышенные цифры СОЭ и количества лейкоцитов ( $100,0$  и  $94,1\%$  соответственно) также подтверждают наличие воспалительного процесса. Сопоставление измененных гематологических показателей с имеющимися жалобами пациентов показано в таблице 3.

Наиболее часто встречаемые жалобы амбулаторных пациентов (повышенная температура тела, озноб, забо-

**Таблица 1. Наиболее часто встречаемые жалобы амбулаторных пациентов в обследованной группе (n = 153)**

Жалобы	Наличие клинического симптома			Отсутствие клинического симптома		
	Кол-во	%	± m	Кол-во	%	± m
Лихорадка	83	54,2	4,0	70	45,8	4,0
Озноб	89	58,2	3,9	64	41,8	3,9
Заболевания ВДП	97	63,4	3,9	56	36,6	3,9
Неустойчивый стул	85	55,6	4,0	68	44,4	4,0
Гнойнички	106	69,3	3,7	47	30,7	3,7

левания ВДП, неустойчивый стул и гнойнички на коже) сопровождалась в большинстве случаев измененными показателями в клиническом анализе крови, характерными для состояния анемии и воспалительного процесса. Анализируемые гематологические показатели имели изменения при указанных выше жалобах у большинства амбулаторных пациентов. При определенных жалобах наблюдались изменения определенных показателей. При повышенной температуре тела значительно увеличивалось количество лейкоцитов и палочкоядерных нейтрофилов (62,5 и 72,7% соответственно). При ознобе выявили увеличение количества лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов и высокое СОЭ (68,7, 72,7 и 68,3%

соответственно). В клиническом анализе крови у пациентов с хроническими заболеваниями ВДП имелись изменения показателей: снижение числа эритроцитов и сегментоядерных нейтрофилов с одномоментным увеличением числа лейкоцитов и палочкоядерных нейтрофилов (72,7, 67,8, 75,0 и 68,2% соответственно). В жалобу на неустойчивый стул входили клинические симптомы диареи и запора. При длительном состоянии таких симптомов наступали сдвиги в клинической картине крови: сниженные показатели гемоглобина и эритроцитов, характеризующие анемию и лейкоцитоз вместе со сдвигом лейкоцитарной формулы «влево», т. е. увеличение числа палочкоядерных и снижение числа

**Таблица 2. Сдвиги гематологических показателей клинического анализа крови у амбулаторных пациентов (n = 118)**

Гематологические показатели	Пациенты			Повышенные значения			Пониженные значения		
	Кол-во	%	± m	Кол-во	%	± m	Кол-во	%	± m
Гемоглобин	33	28,0	4,1	7	21,2	7,1	26	78,8	7,1
Кол-во эритроцитов	16	13,6	3,1	5	31,2	11,5	11	68,8	11,5
СОЭ	41	34,7	4,3	41	100,0	0	0	0	0
Лейкоциты	17	14,4	3,2	16	94,1	5,7	1	5,9	5,7
Палочкоядерные	22	18,6	3,5	22	100,0	0	0	0	0
Сегментоядерные	39	33,1	4,3	11	28,2	7,2	28	71,8	7,2

**Таблица 3. Особенность взаимосвязи измененных гематологических показателей с клиническими симптомами**

Измененные гематологические показатели		Клинические симптомы				
		Лихорадка	Озноб	Заб. ВДП	Неуст. стул	Гнойнички
Гемоглобин (уменьш.) (n = 26)	кол-во	15	15	14	17	13
	%	57,7	57,7	53,8	65,4	50,0
	± m	9,6	9,6	9,7	9,3	9,8
Кол-во эритроцитов (уменьш.) (n = 11)	кол-во	5	6	8	8	7
	%	45,5	54,5	72,7	72,7	63,6
	± m	15,0	15,0	13,4	13,4	14,5
СОЭ (увелич.) (n = 41)	кол-во	23	28	23	19	26
	%	56,1	68,3	56,1	46,3	63,4
	± m	7,7	7,2	7,7	7,7	7,5
Палочкоядерн. нейтрофилы (увелич.) (n = 22)	кол-во	16	16	15	16	14
	%	72,7	72,7	68,2	72,7	63,6
	± m	9,4	9,4	9,9	9,4	10,2
Лейкоциты (увелич.) (n = 16)	кол-во	10	11	12	10	11
	%	62,5	68,7	75,0	62,5	68,7
	± m	12,1	11,5	10,8	12,1	11,5
Сегментоядерные нейтрофилы (уменьш.) (n = 28)	кол-во	14	13	19	17	17
	%	50	46,4	67,8	60,7	60,7
	± m	9,4	9,4	8,8	9,2	9,2

сегментоядерных нейтрофилов (65,4, 72,7, 62,5, 72,7 и 60,7% соответственно). Гнойничкового характера высыпания на коже вызывали реакцию со стороны крови в виде снижения количества эритроцитов и повышения показателей СОЭ и лейкоцитов на фоне увеличения палочкоядерных и снижения сегментоядерных нейтрофилов (63,6, 63,45, 68,7, 63,6 и 60,7% соответственно).

Представляется интересной замеченная зависимость между микроскопически обнаруженными микроорганизмами в мазках крови и определенными состояниями нестабильного стула. Так, у пациентов с диареей было обнаружено 11 разнообразных морфологических форм, среди которых грибковых было больше, чем бактериальных. У пациентов с жалобами на запор обнаружили только 2 вида морфологий: грамположительные кокки и грибы с преобладанием бактерий (66,7 и 33,3% соответственно).

У пациентов с ознобом гемокультуры были получены чаще (62,5%), чем у пациентов с субфебрилитетом (53,1%). У пациентов без этих клинических симптомов микроорганизмы также были выделены из крови (51,3%). Этот факт можно расценивать как: состояние бессимптомной бактериемии, транзиторной бактериемии или общего иммунодефицита с отсутствием ответной реакции в виде повышения температуры тела или озноба, поэтому отсутствие жалоб у пациентов на субфебрилитет и озноб не является причиной отказа в посевах крови. Гемокультуры были получены в 62,5% случаев у пациентов с заболеваниями верхних дыхательных путей, неустойчивым стулом и в 63,3% случаев у пациентов с жалобами на гнойничковые поражения кожи. Микроорганизмы высеивались чаще из крови при диарее, чем при запоре (66,7 и 60,0% соответственно).

### Обсуждение

Известно, что наиболее частой жалобой, с которой обращаются пациенты в поликлинику, является повышенная температура тела в виде моносимптома или в сочетании с другими жалобами и проявлениями. Среди заболеваний, сопровождающихся лихорадкой, на долю инфекционных приходится 60%. Кроме лихорадки пациенты, как правило, отмечают озноб. Согласно литературным данным, лихорадка неблагоприятно влияет на деятельность желудочно-кишечного тракта, что проявляется в виде синдрома нарушения всасывания (диарея) и запоров [10]. Ведущими жалобами обследованных пациентов были: субфебрильная температура тела, озноб, гнойнички на коже, неустойчивый стул и хронические заболевания ВДП. Гнойнички на коже пациентов чаще возникали при диарее и запоре (61,5 и 74,6% соответственно). Представленные жалобы амбулаторных пациентов косвенно служили признаками и индикаторами ИК, поэтому целесообразно их учитывать при диагностике инфекции в крови или любого вялотекущего воспалительного заболевания амбулаторных пациентов.

Известен факт наличия анемии до 100% случаев при хронических инфекционных заболеваниях, которая характеризуется сниженными показателями концентрации гемоглобина, количества эритроцитов и цветового показателя [11]. Сдвиги в клиническом анализе крови: лейкопения, лейкоцитоз, палочкоядерный сдвиг влево, увеличение СОЭ сопровождают очаговую или генерализованную инфекцию. Установлено, что лейкоцитоз, повышенное количество палочек и СОЭ ассоциированы с положительной гемокультурой при ИК [12,13]. Показатели анемии и повышенные цифры СОЭ расценивали как лабораторные индикаторы воспаления [14]. У обследованных пациентов отклонения в клинических анализах крови показали наличие анемии (от 85,0% до 100%) на фоне воспалительной реакции организма (до 100%). Отклонения в клинических анализах крови у пациентов с вышеперечисленными жалобами свидетельствовали о взаимосвязи клинических симптомов воспаления с реакцией крови на это воспаление, что служило диагностическим приемом при анализе заболевания. Сдвиги показателей клинического анализа крови подтвердили наличие воспалительного состояния на фоне анемии у пациентов с инфекцией в крови.

При инфекции в крови реакцию иммунной системы оценивают по показателям иммунограммы. Хронические заболевания ВДП часто связаны с носительством стрептококка гр. А. При изучении иммунитета у таких пациентов оказалось содержание в крови IgM, IgG и IgA более высоким по отношению к показателям у лиц, не являющихся носителями этого микроорганизма [15]. Установлено, что при наличии бактериальной инфекции в крови повышаются уровни грэнзимов (GrA и GrB) в плазме крови (98 и 55% соответственно), которые являются маркерами активации клеток — Т-лимфоцитов и натуральных киллеров (NK) — и прогнозируют состояние больного при ИК [16]. Показана высокая корреляция между низким уровнем CD4/CD8 индекса и тяжестью инфекции. Пониженные показатели CD4-клеток и повышенные — CD8-клеток свидетельствуют об активном размножении микроорганизмов [17, 18]. По мнению Т.П. Марковой, следующие заболевания вызывают развитие и сопровождают вторичный иммунодефицит: инфекции кожи, хронические заболевания респираторного тракта, лихорадки неясной этиологии. При хроническом бронхите нарушения иммунологических показателей периферической крови развиваются постепенно [19]. Полученные результаты иммунологических исследований крови амбулаторных пациентов определили снижение активности клеточного и гуморального звеньев иммунитета, что характерно для хронического воспаления, связанного с длительным пребыванием микроорганизмов в кровяном русле. Затяжное пребывание микроорганизмов в крови ведет не только к снижению активности иммунной системы, но и к появлению иммунодефицитных состояний. Каждая иммунограмма имела заключение врача-иммунолога.

Таблица 4. Заключение по иммунограммам

Вид заключения	Количество обследованных пациентов	Количество пациентов с признаком	%
Воспалительный процесс есть	195	187	95,9
Адекватная реакция иммунной системы	195	89	45,6
Иммунодефицит есть	195	106	54,4

Оценку иммунолог проводил на основе комплексного аналитического подхода к показателям иммунограмм. Заключение врача-иммунолога давало ответы на три вопроса: имеются ли показания на наличие воспалительного процесса, адекватная ли реакция иммунной системы на него и требуется ли иммунокоррекция лекарственными препаратами. На основании полученных заключений было выявлено, что у обследованных амбулаторных пациентов имел место воспалительный процесс в 95,65% случаев, который в результате хронического течения привел к относительному иммунодефициту у 54,4% пациентов. Отклонения в показателях иммунограмм подтвердили наличие воспалительного процесса у амбулаторных пациентов, связанного с пребыванием возбудителя в кровеносном русле и на слизистых оболочках. Воспаление имело хроническое течение, что привело к снижению активности клеточного и гуморального иммунитета до уровня относительного общего иммунодефицита.

Микроскопическое исследование мазков периферической крови в 98,5% случаев выполнило задачу раннего обнаружения возбудителя в крови, т. е. до получения результатов гемокультуры, что позволяло назначить целевую антимикробную терапию и снизить риск летальности при инфекции в крови. Техника приготовления мазка из лейкоцита обладала преимуществом в обнаружении микроорганизмов по сравнению с общепринятой техникой приготовления тонкого мазка из капли крови. По результатам микроскопического исследования мазка периферической пробы крови, приготовленного из лейкоцита данной пробы крови, этиология современного течения инфекции кровотока у амбулаторных пациентов характеризовалась полимикробностью, где преимущественно встречались ассоциации бактерий с грибами.

Экспресс-метод культурального исследования крови обеспечил диагностику ИК в 55,2% случаев. Ведущие возбудители ИК относились к грамположительным коккам и грамотрицательным палочкам. Среди выделенных возбудителей инфекции кровотока были аэробные и анаэробные микроорганизмы (72,54 и 27,46% соответственно). Полученные гемокультуры содержали моно-возбудитель (64,3%) и ассоциации микроорганизмов (35,7%). Экспресс-метод микробиологического исследования крови рассматривается как альтернативный, экономически менее затратный для лаборатории и более

щадящий способ забора крови для амбулаторных пациентов.

#### Выводы

Жалобы пациентов на повышенную температуру тела, озноб, хронические заболевания ВДП, гнойничковое поражение кожи и неустойчивый стул следует учитывать при сборе анамнеза и при наличии их оценивать в качестве индикаторов ИК. Изменения в показателях общего клинического анализа крови, характерные для состояния анемии и хронического воспалительного процесса, необходимо учитывать как косвенные диагностические признаки инфекции в крови. Измененные показатели иммунограммы, т. е. повышенные уровни количества иммуноглобулинов всех классов, показателей НСТ, РТМЛ и пониженные показатели количества субпопуляций Т-лимфоцитов (CD4) и иммунорегуляторного индекса (CD4/CD8) учитывать как показатели наличия воспаления и снижения функциональной активности иммунитета. При диагностике ИК целесообразно применять микроскопическое исследование мазка периферической крови, т. к. данный метод позволяет обнаружить микроорганизмы в кровотоке в 98,5% случаев до момента получения их в гемокультурах и диагностирует трудно получаемые в гемокультурах грибы. Экспресс-метод культивирования крови является оптимальным методом микробиологической диагностики инфекции в крови, имеющим эффективность выделения возбудителя в 55,2%.

Залогом успеха диагностики инфекции в крови для успешного лечения амбулаторного больного является комплексный подход врача-клинициста и клинического микробиолога в обследовании, постановке диагноза и назначении целевой антимикробной терапии.

#### Литература

1. Онищенко Г.Г. О заболеваемости ВБИ в Российской Федерации, №0100/9938-07-32 от 02.10.2007, Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
2. Bouza E., Perez-Molina J., Munoz P. Report of ESGNI-001 and ESGNI-002. Bloodstream infections in Europe // Clin. Microbiol. Infect., 1999. — N 5. — P. 2s1–2s12.
3. Pedersen G., Schonheyder H.C. Patients with bacteremia dying before notification of positive blood cultures, 3-year clinical study // Scand. J. Inf. Dis., 1997. — 29. — 2. — P. 169–173.
4. Елинов Н.П. *Candida species* и кандидемия. Состояние проблемы (обзор) // Проблемы мед. микологии. — 2000. — Т. 3, №1. — С. 4–13.

5. Horan T., Culver D., Jarvis W.R. Pathogens causing nosocomial infections: preliminary data from the national nosocomial infections surveillance system // Antimicrob. Newslett. — 1988. — Vol. 5. — N 1.
6. Voss A. Therapeutic approach to the patient with candidemia // Clin. Microb. Inf. — 1999. — N 5. — P. 51–57.
7. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. — М.: Медицина, 1987. — С. 106–136.
8. Каргальцева Н.М., Кочеровец В.И., Кафтырева Л.А., Пастушенков В.Л. и соавт. Микробиологические методы диагностики инфекции кровотока: Методические рекомендации. — 2010. — 40 с.
9. Каргальцева Н.М. Способ диагностики бактериемии. Патент 2098486, Россия, № 95/10928/13 от 21.06.95, бюлл. № 34.
10. Дворецкий Л.И. Лихорадящий больной в амбулаторной практике: Справочник поликлинического врача. — 2002.
11. Луговская С.А. Патогенез и диагностика анемий при хронических заболеваниях // Кл. лаб. диагн. — 1997. — № 12. — С. 19–22.
12. Walling H.W., Manian F.A. Predictive value of leukocytosis and neutrophilia for bloodstream infection // Infect. Dis. in clinical practice. — 2004. — N 1. — P. 2–6.
13. Tommasi Ch., Equitani F., Masala M., Ballardini M. et al. Diagnostic difficulties of Lactobacillus casei bacteraemia in immunocompetent patients: a case report // J. of Medical Case Report. — 2008. — N 2. — P. 315.
14. McConnell Th.H. Nature of Disease. Pathology for the Health Professions. — 2007. — USA. — P. 36–47.
15. Брикo Н.И., Дмитриева Н.Ф., Ещина А.С., Дынга Л.О., Шевелев Б.И., Соболев В.И., Вылегжанина Е.С., Куксюк П.П. Носительство стрептококка гр. А: новые данные по характеристике биологии возбудителя и иммунного ответа хозяина // ЖМЭИ. — 1994. — Прилож. авг.-сент. — С. 51–55.
16. Tach A.N., Wolbink A.M., Hack C.E., Groeneveld A.B.J. Circulating Granzymes are associated with bloodstream infection and death in febrile medical patients // Am. J. of Infect. Dis. — 2007. — V. 3. — P. 17–23.
17. Andrzejewska E., Niewiadomska H., Nawrot E. Mechanism of impaired immunologic response to bacterial antigens in burn wounds in children // Pediatric Surgery international. — 2000. — V. 16, N 1–2. — P. 85–88.
18. Абраменко И.В., Глузман Д.Ф., Сверстюк А.Е., Барышников А.Ю., Филатов А.В., Бачурин П.С. Изучение субпопуляций лимфоцитов периферической крови больных mielomной болезнью иммуноцитохимическим ПАП-методом с использованием моноклональных антител // Гематология и трансфузиология. — 1988. — № 8. — С. 38–41.
19. Маркова Т.П. Нарушение иммуногенеза // Мед. вестник. — 2009. — № 1–2. — С. 470–471.

**ИЗДАТЕЛЬСКО-ПОЛИГРАФИЧЕСКАЯ КОМПАНИЯ**  
**КОСТА**

*Мы сделали  
Вашу рукопись Книгой*

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

За эти годы мы приобрели большой опыт подготовки специальной, и в частности, медицинской литературы. Среди подготовленных нами книг — работы в области кардиологии, неврологии, хирургии, генетики и других областях медицины.

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

Собственная полиграфическая база позволяет оперативно отпечатать любую полиграфическую продукцию. Кроме того, наши дизайнеры разработают для Вас визитки, наклейки, рекламные листовки, обложки книг.

Не тратьте драгоценное время Ваших специалистов — приходите к нам.

**Сделать Вашу рукопись книгой — наша специальность.**

**Издательско-полиграфическая компания «КОСТА»**  
**(812) 445-10-02 www.kostaprint.ru**

## ОПЫТ УЧАСТИЯ РОССИИ В J-PROJECT

М.Н. ГУСЕВА

Российский координатор J-project ESID, КДЦ клиники ГОУ ВПО СПбГПМА,  
Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** С 2004 г. в восточно-европейских странах проходит долгосрочная информационная кампания J-Project. Она включает конференции в различных странах и проводится Восточно-Европейским центром педиатрической и инфекционной иммунологии (ECE IPI CTR) в сотрудничестве с отделением инфекционной и педиатрической иммунологии Университета в Дебрецене (Венгрия) (University of Debrecen Medical and Health Science Centre) и иммунологическими сообществами.

Данный проект объединяет специалистов-иммунологов из разных стран, способствует изучению первичных иммунодефицитов, обучению специалистов другим специальностям диагностики и ведению больных с этой патологией.

**Ключевые слова:** J-Project, первичный иммунодефицит, диагностика, педиатрия.

## EXPERIENCE OF RUSSIA PARTICIPATING IN THE J-PROJECT

M.N. GUSEVA

Russian coordinator of J-Project ESID, State Educational Institution of Higher Professional Education "Saint-Petersburg State Pediatric Medical Academy", Federal Agency for Health Care and Social Development

**Summary.** Since 2004 the countries of Eastern Europe are realizing the long-lasting information project called "J-Project". It is conducted by the Eastern European Center of Pediatric and Infectious Immunology (ECE IPI CTR) in collaboration with the department of infectious and pediatric immunology of Debrecen Medical and Health Science Centre (Hungary) and immunological associations. The project includes the organization of conferences in different countries. Its aims are promoting the cooperation between the immunologists of different countries, investigations of the primary immune deficiency syndromes. The project is also oriented on the education of the specialists in different fields of medicine in order to improve the diagnosis and treatment of patients with primary immune deficiency syndromes.

**Key words:** J-Project, primary immune deficiency, diagnosis, pediatrics.

### Данные для корреспонденции:

Гусева Марина Николаевна, педиатр-аллерголог-иммунолог КДЦ клиники ГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия» Минздравсоцразвития России, Российский координатор J-project ESID, 194100, СПб., ул. А. Матросова, 22, тел.: (812) 295-18-64, e-mail: gusevamarina@mail.ru

О росте количества J-Project Meeting в странах Центральной и Восточной Европы свидетельствуют данные диаграммы (рис. 1).

Первый J-project в России прошел 30 мая 2007 года как часть XI Российского научного форума с международным участием «Дни иммунологии» в Санкт-Петербурге. Это был первый педиатрический симпозиум в Санкт-Петербурге, на котором специалисты нашего города обменялись опытом в ведении пациентов с первичными иммунодефицитами (ПИД).

Н.П. Шабалов, Н.М. Калинина, Е.С. Нишева, А.Н. Мушкин, М.Н. Гусева раскрыли опыт диагностики и ведения больных с ПИД в Санкт-Петербурге, А.В. Поляков — возможности молекулярной диагностики ПИД в Москве, Т.Е. Прокофьева — опыт в Латвии.

Сообщения профессора Ласло Мароди и Мелинды Эрдос из университета Дебрецена (Венгрия) показали

последние научные достижения в молекулярной диагностике XLP синдрома и дефектов рецепторов хемокинов.

Форум способствовал созданию новых профессиональных международных отношений, открытию новых возможностей диагностики и обмену практическим опытом.

Второй J-project прошел в Санкт-Петербурге 9–10 июня 2009 года.

Основные цели этой конференции — ранняя диагностика первичных иммунодефицитных состояний и улучшение качества жизни пациентов с этими заболеваниями.

На круглом столе «Пациенты с первичными иммунодефицитными состояниями и организации пациентов» своим опытом и планами в этой области поделились председатель ИРОПИ (Международная организация па-

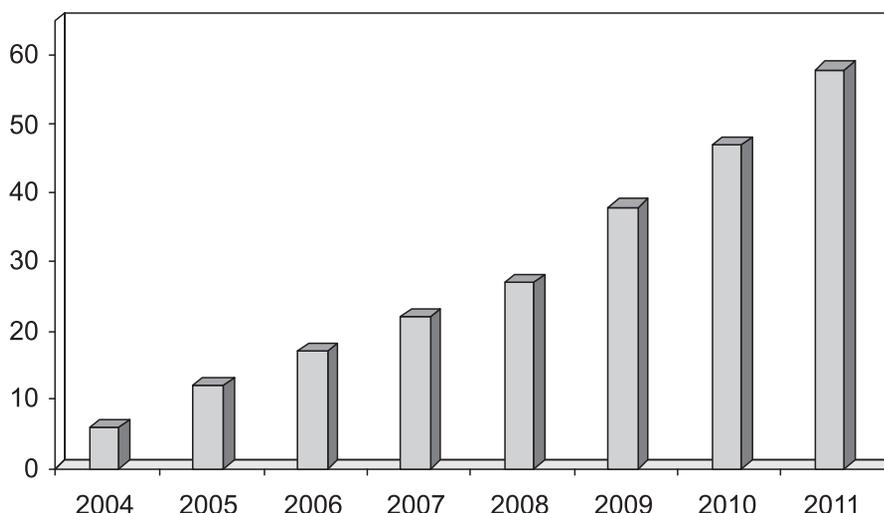


Рис. 1. Рост количества J-Project Meeting в странах Центральной и Восточной Европы

циентов с первичными иммунодефицитами) Josse Drabwell, представители «Национальной ассоциации “Генетика”» (Санкт-Петербург) и «Добровольного общества помощи пациентам с нарушениями PID<sup>1</sup>» (Москва).

Общие аспекты диагностики первичных иммунодефицитов и их лечения были представлены в докладе профессора А.А. Соколова и М.Н. Гусевой «Редкие болезни и осиротевшие медицинские технологии — новые парадигмы современной медицины».

Информационный портал ([www.rarediseases.ru](http://www.rarediseases.ru)) был представлен в двух презентациях: информация для пациентов и информация для врачей.

На трех сессиях конференции рассматривались важные вопросы ПИД. Так, Ласло Мароди рассказал о J-проекте и о новых концепциях в области изучения иммунодефицитов, А.П. Продеус (Москва) — о диагностике и ведении больных с первичными иммунодефицитами в России, И.А. Тузанкина — о регистре больных PID в Свердловской области России, вопросах диагностики ПИД, ведении пациентов и организации иммунологической службы региона, А.В. Поляков — о ДНК-диагностике наследственных иммунодефицитов.

На конференции были представлены также доклады врачей из основных больниц Санкт-Петербурга и Москвы:

- Н.М. Калинина, М.Н. Гусева «Функциональные расстройства полиморфноядерных нейтрофилов. Клинический случай хронической грануломатозной болезни»;
- Е.С. Нишева «Дефекты фагоцитоза в качестве возможных причин атопических заболеваний»;
- Н.Л. Волкова, М.О. Ревнова, Л.В. Эрман, М.Н. Гусева, А.Н. Галустян «Клинический случай синдрома Оменна»;

<sup>1</sup> PID — Primary Immunodeficiency (первичный иммунодефицит).

- М.Н. Гусева, Е.Н. Кожевников, О.В. Калашникова, В.И. Ларионова, Е.Л. Матвеева, Н.В. Бычкова, Н.И. Давыдова, Н.Е. Соколова «Сложность выявления редких форм PID. Кожноглазная форма альбинизма с PID»;
- Н.В. Шабашова «Иммунодефициты с хроническим кандидозом кожи и слизистых оболочек»;
- М.Н. Ярцев «Гипер Ig E синдром: эволюция (от синдрома Иова до дефекта гена STAT 3)»;
- О.В. Баранова, К.Е. Коноплева «Синдром Маршала»;
- С.С. Сабирова, А.Ю. Щербина «Молекулярно-генетическая и клиническая характеристика группы пациентов с синдромом Вискотта–Олдрича»;
- Н.С. Полтавец «Исследование молекулярно-генетической природы и FHL XLP синдрома в группе русских пациентов».

Три доклада были посвящены вопросам использования иммуноглобулинов:

- А.П. Продеус «Имуноглобулины. Что это значит? Вопросы диагностики, назначения, применения, фармакоэкономика»;
- А.А. Бологов, Э.В. Родина, Ю.А. Дерипапа, И.В. Кондратенко «Рациональная терапия иммуноглобулинами при первичных иммунодефицитах»;
- Ю.П. Резников «Лабораторное мониторингирование иммунокорректирующей терапии на основе препаратов иммуноглобулинов».

Гости из Белоруссии сообщили об организации медицинской помощи детям с первичными иммунодефицитами в Белоруссии, об информационно-аналитической системе раннего выявления больных с PID (Белевцев М.) и о лабораторной диагностике PID, роли проточной цитометрии в диагностике PID (Шарапова С.О.).

Конференция, несомненно, улучшила положение в области диагностики и лечения больных с первичными иммунодефицитами в Санкт-Петербурге.

В июле 2010 года в Санкт-Петербурге проходил Международный симпозиум по первичным иммунодефицитам на V Международной конференции по редким заболеваниям.

В симпозиуме участвовали врачи из Санкт-Петербурга, Москвы и Белоруссии, которые занимаются проблемами диагностики и лечения больных первичными иммунодефицитами.

С 29 января по 5 февраля 2011 г. в Пушкинских Горах проходила II Всероссийская школа по клинической иммунологии, в работе которой приняли участие слушатели из 23 регионов России, Латвии, Белоруссии. В программу Школы органично влился J-project. Предварительные лекции по разделам фундаментальной иммунологии способствовали подготовке слушателей к восприятию новых сведений о первичных иммунодефицитах.

Тематические доклады профессора Л. Мароди были посвящены гипер-Ig E синдрому и XLP (X-сцепленный лимфолифферативный синдром). В них были освещены современные клинические и молекулярно-генетические аспекты этих заболеваний.

Познавательными были доклады профессора Алессандро Плебани (Brescia, Italy) «Клинико-иммунологическая и молекулярная характеристика пациентов ПИД с дефектами синтеза антител» и «Совершенствование

знаний о первичных иммунодефицитах среди практических врачей. Итальянская модель организации сети».

Профессор Плебани поделился опытом выявляемости и ведения пациентов с первичными иммунодефицитами в Италии. Государственная поддержка правительством Италии в ведении этой группы пациентов способствует улучшению качества их жизни. Создана компьютерная программа динамичного наблюдения за этими пациентами (регистр ПИД), кооперация между иммунологическими центрами Италии.

Доклады профессора И.В. Кондратенко (Москва, РДКБ) построены на большом клиническом опыте и продемонстрировали как глубокие теоретические знания, так и практический опыт ведения пациентов с ПИД.

В докладе профессора А.П. Продеуса (Москва) продемонстрированы скрининговые программы для диагностики иммунодефицитов в США, освещены современные методы тестирования иммуноглобулинов.

Доклад профессора И.А. Тузанкиной (Екатеринбург, Центр клинической иммунологии) был посвящен патоморфологической интерпретации ПИД и продемонстрировал опыт диагностики и ведения пациентов с ПИД в данном регионе.

Доклад из Санкт-Петербурга представил деятельность рабочей группы ESID.

В целом участие России в кампании J-Project, безусловно, способствует распространению знаний о ПИД среди врачей различных специальностей и лучшей выявляемости пациентов с ПИД.

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ  
КОНСИЛИУМ

## ПО ВОПРОСАМ СОТРУДНИЧЕСТВА И РАЗМЕЩЕНИЯ РЕКЛАМЫ

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

**Эмануэль Владимир Леонидович**

e-mail: [vladimirem1@gmail.com](mailto:vladimirem1@gmail.com)

моб. тел. 8-905-229-60-22

**Чередниченко Денис Владимирович**

e-mail: [cheredni1@gmail.com](mailto:cheredni1@gmail.com)

тел./факс (812) 233-97-26

## ВРАЧИ МИРА — ПАЦИЕНТАМ

IV МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ  
ПО МЕДИКО-СОЦИАЛЬНЫМ АСПЕКТАМ В РЕАБИЛИТАЦИИ  
ИНВАЛИДОВ С РЕДКИМИ И ГЕНЕТИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ



4–7 сентября 2011 г.

Россия, Санкт-Петербург, отель «Холидей ИНН Московские ворота»,  
Московский проспект, 97а

### Председатели организационного комитета:

*Баранов В.С.*, д.м.н., проф., член-корреспондент РАМН, главный специалист по медицинской генетике Санкт-Петербурга

*Урманчеева М.А.*, президент Санкт-Петербургской ассоциации общественных объединений родителей детей-инвалидов «ГАООРДИ»

К участию в конференции приглашаются врачи, ученые — ведущие российские и зарубежные специалисты в области диагностики и лечения редких и наследственных болезней; общественные организации, оказывающие поддержку семьям, имеющим пациентов с редкими и генетическими заболеваниями; представители федеральных и региональных органов законодательной и исполнительной власти и фармацевтические компании.

В рамках конференции «Врачи мира — пациентам» пройдут школы для врачей всех специальностей детского и взрослого профиля «Современные подходы к диагностике и лечению наследственных заболеваний»:

1. НБО у новорожденных, неонатальные катастрофы, диагностика и лечение.
2. Нейрометаболические заболевания от младенчества до взрослого возраста, клиническая картина и лечение.
3. Митохондриальные и нервно-мышечные заболевания в возрастном аспекте. Сложности диагностики и лечения. Будущее в терапии.
4. Лизосомные заболевания. Успехи диагностики и лечения.
5. Кардиологические аспекты наследственных болезней обмена.
6. Наследственные болезни обмена в нефрологии. Особенности диагностики и современные подходы к лечению.
7. Молекулярные и метаболические основы наследственных болезней в эндокринологии.
8. Вопросы наследственной патологии в неонкологической гематологии.
9. Диагностика и лечение наследственных болезней ЖКТ.
10. Развитие лабораторной диагностики наследственных болезней в России.
11. Наследственные заболевания костного метаболизма и соединительной ткани.
12. Муковисцидоз.
13. Клиническое питание как основной метод лечения наследственных болезней обмена. Возрастные аспекты.
14. Хромосомные заболевания. Современные методы диагностики и лечения.
15. Нейродегенеративные заболевания.
16. Наследственные заболевания липидного обмена. Структура возрастной патологии, лечение.

### Научный руководитель школ для врачей:

д. м. н., проф. *Ларионова Валентина Ильинична*

Важным событием конференции являются школы для родителей и пациентов: «Медицинские и социально-правовые аспекты в реабилитации пациентов с редкими и генетическими заболеваниями».

### Координатор школ для родителей:

*Хвостикова Елена Аркадьевна*

**Целевая аудитория:** педиатры, неонатологи, реаниматологи, кардиологи, терапевты, генетики, врачи функциональной, лабораторной и лучевой диагностики, нефрологи, гематологи, офтальмологи, эндокринологи, невропатологи, психиатры, гастроэнтерологи, гепатологи, пульмонологи, диетологи, морфологи, ортопеды, ревматологи, пациенты, их родители, специалисты образования социальной сферы, общественные организации.

### Исполнительный директор:

*Смирнова Ольга Владимировна*

### Контактное лицо:

*Мазур Наталья* +7 (812) 362 7679 или e-mail: [info@genconf.ru](mailto:info@genconf.ru)

Дополнительную информацию о проведении конференции Вы можете найти на интернет-сайте [www.genconf.ru](http://www.genconf.ru). Анкету участника, заявку на участие в конференции, а также заявку на проживание и питание можно скачать с сайта в разделе «Регистрация участников».

Заполненные анкеты и заявки участника принимаются до 31 июля 2011 года по факсу: (812) 362 7275 или по e-mail: [info@genconf.ru](mailto:info@genconf.ru)

### Оргкомитет конференции:

тел.: +7 (812) 362 7678, +7 (812) 362 7679,  
факс: +7 (812) 362 7275, e-mail: [info@genconf.ru](mailto:info@genconf.ru)

### Работа со СМИ:

тел.: +7 (812) 362 7678, +7 (812) 362 7679, +7 (812) 304 5525,  
e-mail: [pr@gaoordi.ru](mailto:pr@gaoordi.ru) (*Шведовченко Наталья*)