



**№ 4 (44) декабрь 2012**

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:

**Калимулина О. П.**

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)

Журнал издается при поддержке

**ООО «АкваТест СПб»**

Решением Методического Совета

СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова  
от 04.10.2010 журнал является  
учебно-методическим пособием  
для всех кафедр университета  
при реализации циклов повышения  
квалификации на ФПО.

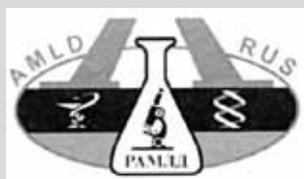
Подготовка к печати и печать:

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

Санкт-Петербург,  
Новочеркасский пр., д. 58

Тираж 2000 экз.

Заказ №



# КЛИНИКО - ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНСИЛИУМ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

*Дорогие читатели журнала  
«Клинико-лабораторный консилиум»!*

*Поздравляем Вас с наступающим праздником!*

Какая светлая зима!  
Зима надежд, зима удачи!  
Уже декабрь, а это значит,  
Что волшебство придет в дома.

Давайте радовать себя,  
Придумывать родным сюрпризы.  
Любимых выполнять капризы  
Сейчас и после декабря.

Чтоб жить с улыбкой десять дней!  
И десять лет, и десять жизней!  
Шампанское салютом брызнет...  
Встречаем Новый Год скорей!

*С наилучшими пожеланиями,  
Редколлегия журнала*

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

- |   |   |
|---|---|
| <b>Антонова И.Н.,</b><br>д. м. н., профессор,<br>СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова                    | <b>Кишкун А.А.,</b><br>д. м. н., профессор, Заслуженный врач РФ,<br>Российская ассоциация медицинской лабораторной<br>диагностики, Москва |
| <b>Афанасьев Б.В.,</b><br>д. м. н., профессор,<br>СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова                   | <b>Ларионова В.И.,</b><br>д. м. н., профессор, в. н. с. ФГБУ «НИДОИ<br>им. Г.И. Турнера» Минздравсоцразвития России                       |
| <b>Вавилова Т.В.,</b><br>д. м. н., СЗГМУ им. И. И. Мечникова, СПб                                 | <b>Лиознов Д.А.,</b><br>д. м. н., СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова   |
| <b>Власов Т.Д.,</b><br>д. м. н., профессор,<br>СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова                      | <b>Матвеев С.В.,</b><br>д. м. н., профессор, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова  |
| <b>Жлоба А.А.,</b><br>д. м. н., профессор,<br>СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова                       | <b>Смирнов А.В.,</b><br>д. м. н., профессор, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова  |
| <b>Звартау Э.Э.,</b><br>д. м. н., профессор,<br>СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова                     | <b>Сухоруков В.С.,</b><br>д. м. н., профессор,<br>НИЛ общей патологии<br>НИИ педиатрии и детской хирургии РАМН (Москва)                   |
| <b>Зыбина Н.Н.,</b><br>д. б. н., профессор,<br>ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС<br>(Санкт-Петербург) | <b>Хоровская Л.А.,</b><br>д. м. н., СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова   |
| <b>Зуева Е.Е.,</b><br>д. м. н., СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова                                     | <b>Чухловин А.Б.,</b><br>д. м. н., СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова  |
| <b>Карпищенко А.И.,</b><br>д. м. н., профессор, СПб ГУЗ МИАЦ                                      | <b>Эмануэль В.Л.,</b><br>д. м. н., профессор, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова   |
|   | <b>Ягмуров О.Д.,</b><br>д. м. н., профессор, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова  |

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

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

## Содержание

---

ВСТУПИТЕЛЬНОЕ СЛОВО .....	1
РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ, РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ .....	2
<i>Е. И. Бердникова, Ю. В. Ревюк, Т. Б. Ткаченко</i> МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА НА ФОНЕ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ .....	4
<i>А. Н. Пудов, А. Ю. Дробышев, Е. А. Спиридонова, И. Г. Бобринская, М. Б. Лагутин, А. А. Шилкин</i> ОЦЕНКА ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРОЙ ТРАВМОЙ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ .....	10
<i>А. В. Разыграев</i> ГОМОЦИСТЕИНПЕРОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА .....	16
<i>В. А. Дюк, А. А. Кончаков</i> ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ В МЕДИЦИНЕ .....	21
<i>М. А. Булатникова, А. А. Василишина, Е. А. Котелевская, В. И. Ларионова</i> ОБЗОР СИНДРОМОВ МИКРОДЕЛЕЦИЙ, ПРОТЕКАЮЩИХ С СИМПТОМАТИЧЕСКОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ. КОНСИЛИУМ У ПОСТЕЛИ БОЛЬНОГО .....	27
<i>В. В. Вельков</i> ЛИПОПРОТЕИН (a): НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ .....	37
<i>Н. В. Вохмянина</i> СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О ЦЕЛИАКИИ .....	49
XVI ФОРУМ «НАЦИОНАЛЬНЫЕ ДНИ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ РОССИИ – 2012». ПОСТ-РЕЛИЗ .....	54
СОСТАВ УЧАСТНИКОВ ФОРУМА .....	55
РЕШЕНИЕ ОБЩЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «РЕАЛЬНЫЕ КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ УСЛУГИ: СТЕПЕНЬ СООТВЕТСТВИЯ СТАНДАРТАМ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ, КАЧЕСТВО, СЕБЕСТОИМОСТЬ И ЦЕНА» (МОСКВА, 2–4 ОКТЯБРЯ 2012 Г.) .....	58
<i>А. З. Винаров, В. Л. Эмануэль</i> Дайджест о семинаре фирмы Beckmen Coulter на тему «СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ» .....	60

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА НА ФОНЕ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

Е. И. БЕРДНИКОВА, Ю. В. РЕВЮК, Т. Б. ТКАЧЕНКО

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург

**Резюме:** Авторы статьи приводят данные о результатах гистологического анализа 720 образцов слизистой оболочки полости рта (СОПР) погибших в возрасте от 25 до 84 лет без соматических заболеваний в результате травм, несовместимых с жизнью, полученных в ДТП, умерших от сердечно-сосудистой патологии и сердечно-сосудистой патологии в сочетании с хроническим алкоголизмом, а также умерших от онкологических заболеваний. В исследовании изучались срезы слизистой оболочки полости рта толщиной 5–7 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином, по методам Ван-Гизона, Маллори, Шпильмеера, импрегнировали по методу Фута, а также проводили непрямые иммунопероксидазные реакции, направленные на выявление лейкоцитов, — реакцию с общим лейкоцитарным антигеном (LCA), Т- и В-лимфоцитов (CD3 и CD20 соответственно), Т-хелперов (CD4), Т-супрессоров (CD8), натуральных киллеров (CD56). Для определения митотической активности подсчитывалось количество клеток в базальном слое и среди них клеток, давших положительную реакцию с К-67 с вычислением процента клеток в состоянии митотической активности. По результатам сравнения сделан вывод о специфических индивидуальных особенностях реакции СОПР на патологические процессы, протекающие в организме в целом, и о неоднозначном значении исследования биопсийного материала в рутинной практике стоматолога.

**Ключевые слова:** слизистая оболочка полости рта, морфология, висцеральная патология.

## MORPHOLOGICAL CHANGES OF ORAL MUCOSA IN PATIENTS WITH SOMATIC PATHOLOGICAL CONDITIONS

E. I. BERDNIKOVA, JU. V. REVUK, T. B. TKACHENKO

State budget educational institution of higher professional education "Saint-Petersburg Pavlov State Medical University, Ministry of Health Care", Saint-Petersburg

**Summary.** Article describes the results of histological analysis of 720 samples of oral mucosa (SOM) taken from subjects aged 25–84 years old who died due to different reasons: traumas and traffic accidents, cardiovascular diseases, cardiovascular diseases and chronic alcoholism, malignancies. The slices of mucosa 5–7 mkm were stained by hematoxylin-eosin, Van-Hison, Mallory, Spielmeier and Foot impregnation. Indirect immunoperoxidase reactions were also performed in order to reveal the white blood cells. The least included reaction with common leucocyte antigens (LCA), T and B lymphocytes (CD3 and CD20 respectively), CD4 cells, CD8 cells, natural killer cells (CD56). For evaluation of the mitotic activity number of cells in basal layer was calculated as well as the number of K-67-positive cells and percentage of cells with mitotic activity. The conclusion was made about the specific individual peculiarities of SOM reaction on different systemic pathologic reactions. The results of investigations confirm that the significance of biopsy material investigation in routine stomatological practice should be interpreted rather accurately.

**Key words:** oral mucosa, morphology, visceral diseases.

### Введение

Слизистая оболочка полости рта — одна из важнейших систем организма, которые осуществляют барьерную функцию в отношении действия патогенных биологических, физических и химических факторов [1, 2]. При этом слизистая оболочка данной локализации существенно отличается от других слизистых оболочек как морфологически, так и гистохимически.

Современный взгляд на изменения, происходящие в слизистой оболочке полости рта (СОПР) с возрастом,

на фоне стоматологических заболеваний и в результате поражения внутренних органов и систем, предполагает совершенствование экспресс-методик, которые всеобъемлюще охарактеризовали бы состояние слизистой оболочки (СО) [3, 4, 5, 6, 7, 8], однако «золотым стандартом» диагностики заболеваний СОПР продолжает оставаться биопсия.

В нашем исследовании оценивались результаты гистологического анализа секционного материала. Было изучено 720 образцов срезов СОПР, взятых у умерших

в возрасте от 25 до 84 лет. Забор секционного материала производили в судебно-медицинском морге больницы № 38 им. Н. А. Семашко в соответствии с договором о научном сотрудничестве больницы и СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.

Объектом исследования был участок СОПР размером  $1 \times 3$  см, взятый на всю толщину (до кости) в области перехода прикрепленной слизистой оболочки альвеолярного отростка верхней или нижней челюсти в слизистую оболочку щеки или губы. Материал был зафиксирован в 10% нейтральном растворе формалина и после стандартной проводки залит в парафин, после чего были изготовлены срезы толщиной 5–7 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином по методам Ван-Гизона, Маллори, Шпильмеера, импрегнировали по методу Фута, а также проводили не прямые иммунопероксидазные реакции, направленные на выявление лейкоцитов, — реакцию с общим лейкоцитарным антигеном (LCA), Т- и В-лимфоцитов (CD3 и CD20 соответственно), Т-хелперов (CD4), Т-супрессоров (CD8), натуральных киллеров (CD56). Изучение и фотосъемка проводились с помощью видеосистемы фирмы Leica и видеотеста «Мастер Морфология». Для морфометрического исследования толщины эпителия с помощью системы Leica (микроскоп, фотокамера и компьютер) были сняты по пять полей зрения в каждом препарате, и в каждом поле зрения подсчитывались по пять максимальных и минимальных величин количества слоев и разница между ними ( $\Delta$ ). Для определения митотической активности было подсчитано количество клеток в базальном слое и среди них клеток, давших положительную реакцию с К-67, высчитывался процент клеток в состоянии митотической активности.

### Результаты исследования

В ходе светооптического изучения образцов оценивали общую толщину СОПР, количество рядов клеток эпителия, степень зрелости клеток на поверхности эпителиального пласта, сохранность и целостность базаль-

ной мембраны, толщину герментативного слоя, особенности архитектоники собственной пластинки слизистой оболочки, наличие или отсутствие клеточной инфильтрации в образце, количество митозов в эпителиальных клетках.

По толщине эпителия у погибших первой возрастной группы (21–30 лет) достоверных различий не наблюдалось (табл. 1), аналогичные данные получены и у одного погибшего в старшей возрастной группе (51–60 лет).

Во всех препаратах с не прямой иммунопероксидазной реакцией, направленной на выявление пролиферативной активности (К-67), были найдены эпителиоциты в различных стадиях митотической активности. У погибших возрастной группы 21–30 лет количество клеток в состоянии митоза составило 11,6 и 26,2%, а у умерших в старшей возрастной группе (51–60 лет) — лишь 6,9% клеток. Небольшое количество наблюдений не позволяет нам утверждать, что это закономерность, но наличие тенденции к снижению с возрастом митотической активности эпителия хотелось бы отметить. Во всех случаях хорошо были видны базальные слои эпителия, базальная поверхность во всех случаях значительно извита, ядра клеток эпителия сохранялись практически до поверхности слизистой. Собственная пластинка слизистой оболочки была выражена хорошо и представлена преимущественно коллагеновыми волокнами, среди которых умеренное количество сосудов типа артериол и венул без значимой периваскулярной инфильтрации (рис. 1). Только в одном из наблюдений (образец № 82) СО была значительно толще, чем во всех остальных случаях. Кроме этого, в данном наблюдении имели место резко выраженные явления акантоза и гиперкератоза — поверхность слизистой была покрыта несколькими слоями клеток, лишенных ядер (рис. 2), что, на наш взгляд, отчасти было связано с наличием включенных дефектов зубных рядов.

Исследование препаратов после проведения не прямых иммунопероксидазных реакций, направленных на выявление лейкоцитов, показало, что во всех случаях

**Таблица 1. Количество слоев эпителиоцитов и клеток эпителия в состоянии митоза в базальном слое в образцах слизистой оболочки полости рта умерших от травмы без сопутствующей соматической патологии**

Возрастная группа \ Показатель	№ иссл.	Минимальное количество слоев	Максимальное количество слоев	$\Delta$ значения количества слоев эпителия	Количество клеток эпителия в состоянии митоза в базальном слое, %
21–30 лет	41	$30,7 \pm 0,04$	$33,6 \pm 0,17$	2,9	$26,2 \pm 0,01$
	61	$21,6 \pm 0,7$	$26,2 \pm 0,6$	4,6	$12,1 \pm 0,01$
	89	$31,6 \pm 0,21$	$38,3 \pm 0,2$	6,7	$18,4 \pm 0,03$
51–60 лет	31	$22,9 \pm 0,03$	$33,5 \pm 0,016$	10,5	$6,9 \pm 0,06^*$
	82	$23,5 \pm 0,46$	$41,5 \pm 0,01$	18	$7,1 \pm 0,03^*$

\*  $p < 0,05$  по сравнению с показателем в образцах слизистой оболочки полости рта умерших в возрасте 21–30 лет.

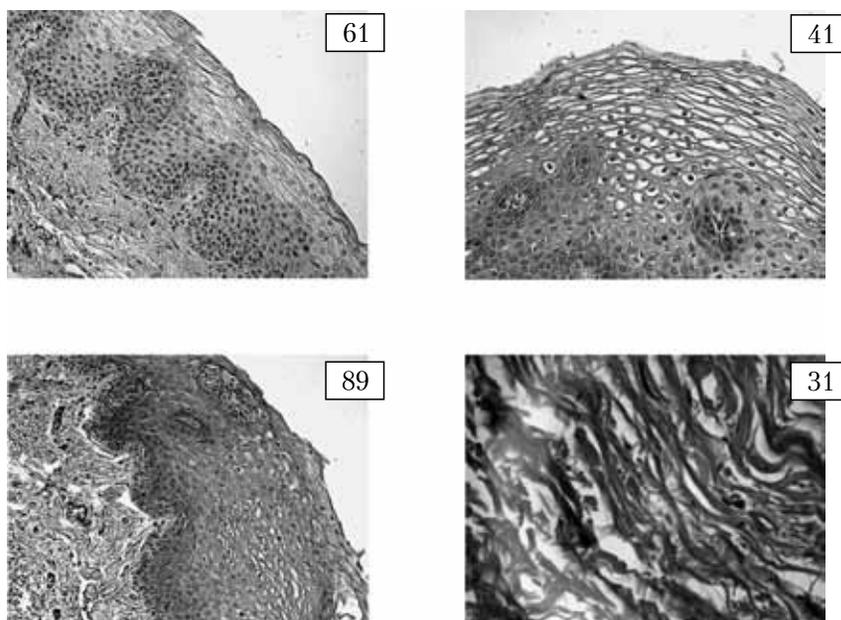


Рис. 1. Слизистая оболочка полости рта погибших (образцы № 61, 41, 89, 31).

№ 61, 41, 89 — окраска гематоксилином и эозином  $\times 400$  (во всех наблюдениях базальная поверхность извита, базальный слой четко отграничен, состоит из нескольких слоев эпителиоцитов); № 31 — окраска по методу Ван-Гизона с докраской эластических волокон арсеином  $\times 1000$  (собственная пластинка слизистой оболочки состоит из плотно упакованных коллагеновых волокон и единичных эластических волокон)

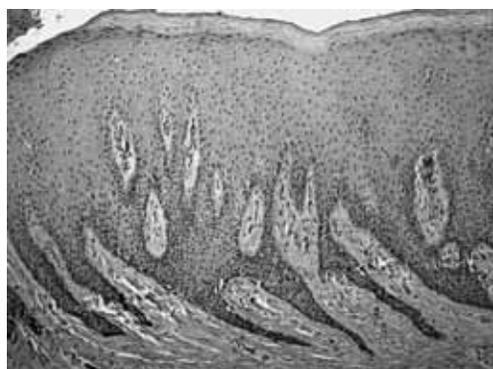


Рис. 2. Образец № 82 (эпителий утолщен с явлениями акантоза и гиперкератоза). Окраска гематоксилином и эозином  $\times 200$



Рис. 3. Непрямая иммунопероксидазная реакция CD68  $\times 400$  (умеренное количество макрофагов в собственной пластинке слизистой (образец № 31))

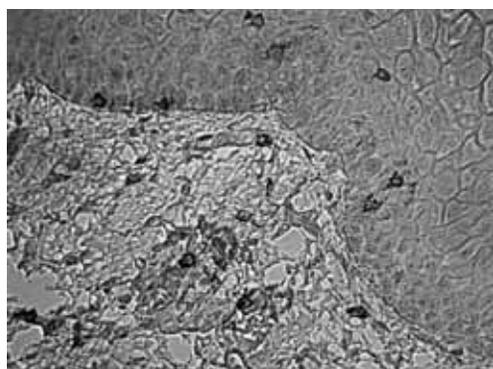


Рис. 4. Непрямая иммунопероксидазная реакция CD8  $\times 400$  (Т-супрессоры в подслизистой и между клетками эпителия (образец № 41))

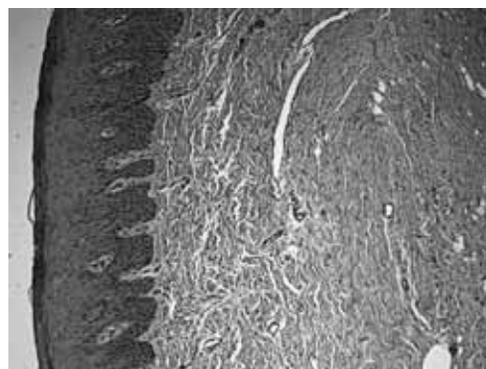


Рис. 5. Слизистая оболочка полости рта умершего в возрасте 88 лет (образец № 49).

Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ . Эпителий выражен хорошо, базальная мембрана извитая. Собственная пластинка слизистой оболочки плотная. Умеренное количество сосудов, без воспалительной инфильтрации

**Таблица 2. Количество слоев эпителиоцитов и клеток эпителия в состоянии митоза в базальном слое в образцах слизистой оболочки умерших от сердечно-сосудистой патологии**

Возрастная группа	№ образца	Минимальное количество слоев	Максимальное количество слоев	Δ значения количества слоев эпителия	Количество клеток эпителия в состоянии митоза в базальном слое (%)
51–60 лет	10, 25, 53, 13, 22, 43, 69	18,7 ± 0,7	23,4 ± 0,24	4,7	6,8 ± 0,07
61–70 лет	15, 35, 55, 6, 42, 40, 60	19,4 ± 0,86	27,4 ± 0,66	8	5,6 ± 0,3
71–80 лет	20, 1, 7, 16, 24, 12, 48, 27, 32, 44, 39, 51, 58, 54, 64, 67	15,9 ± 0,75	22,0 ± 0,8	6,1	7,0 ± 0,03
81 и старше	4, 8, 9, 19, 26, 11, 49, 14, 38, 37, 62, 63	15,76 ± 0,3	23,1 ± 0,4	7,34	4,8 ± 0,34*

\*  $p < 0,05$  по сравнению с показателями в возрастных группах 51–60 и 71–80 лет.

в собственной пластинке слизистой и в подслизистом слое имело место умеренное количество макрофагов (положительная реакция с CD68) (рис. 3) и Т-лимфоцитов (CD3), представленных преимущественно Т-супрессорами (CD8) (рис. 4), которые располагались не только в подслизистом слое, но и между клетками эпителия.

По анализу патологоанатомических заключений о причине смерти больных, основную группу выборки умерших в нашем исследовании составили скончавшиеся от сердечно-сосудистой патологии в возрасте от 41 до 80 лет.

Состояние слизистой оболочки полости рта при патологии сердечно-сосудистой системы во всех возрастных группах достоверно не отличалось. В 15% случаев состояние слизистой оболочки было расценено как нормальное (рис. 5).

В каждой возрастной группе было хотя бы одно наблюдение, где эпителий слизистой хорошо выражен (min – 27,6 слоя; max – 35,4 слоя), иногда даже с явлениями гиперкератоза (рис. 6 В).

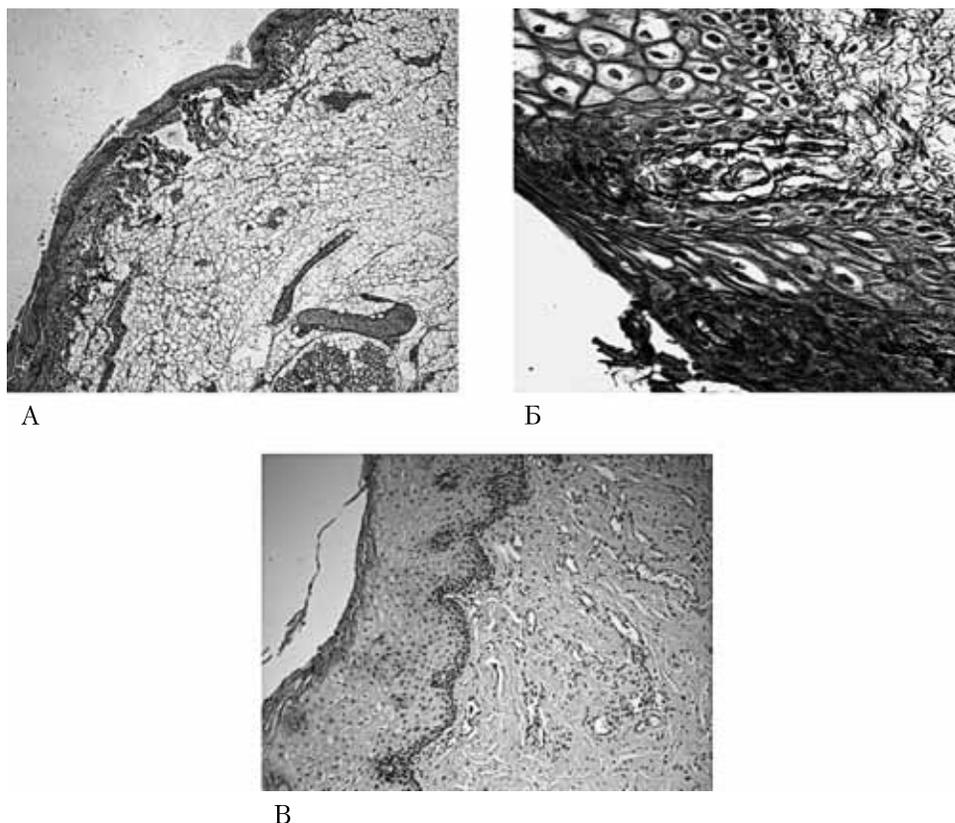
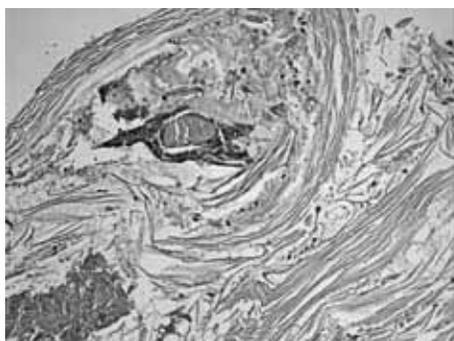
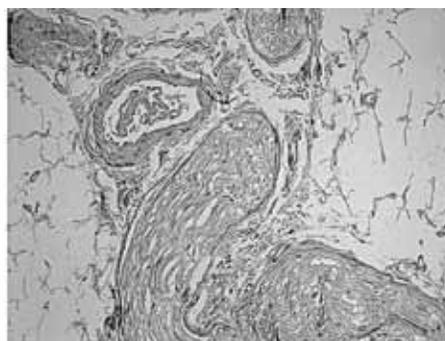


Рис. 6. А. Слизистая оболочка полости рта умершего от сердечно-сосудистой патологии. Образец № 42, окраска гематоксилином и эозином, ×25. Б. Слизистая оболочка полости рта умершего от сердечно-сосудистой патологии. Образец № 42 – импрегнация по методу Фута, ×400. Резко выраженная атрофия всех слоев слизистой оболочки, с сохранением извитости базальной мембраны. В. Слизистая оболочка полости рта умершего от сердечно-сосудистой патологии. Образец № 6. Окраска гематоксилином и эозином, ×200. Эпителий выражен хорошо, со слабовыраженными явлениями гиперкератоза

Особенностью изменения слизистой оболочки полости рта при алкоголизме является наличие в половине случаев некрозов, преимущественно в собственной пластинке



А



Б

Рис. 7. А. Слизистая оболочка полости рта умершего от сердечно-сосудистой патологии на фоне алкоголизма. Непрямая иммунопероксидазная реакция CD 68+,  $\times 400$ . Очаг некроза в глубоких отделах подслизистого слоя с большим количеством колоний микроорганизмов и единичными лейкоцитами и макрофагами среди некротических масс. Б. Слизистая оболочка полости рта умершего от сердечно-сосудистой патологии на фоне алкоголизма. Образец № 55 — краска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ . Повреждение и некроз миелиновых оболочек и аксонов. Гиалиноз стенок артериол

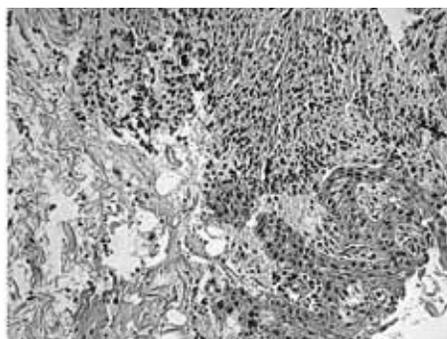
тинке слизистой оболочки, без выраженной воспалительной реакции в образцах. В связи с тем, что в образцах этих больных найдена выраженная аксоно- и миелинопатия, можно предположить, что некрозы носят нейротрофический характер (рис. 7).

У умерших от онкологической патологии в возрасте от 61 до 80 лет эпителий слизистой оболочки во всех

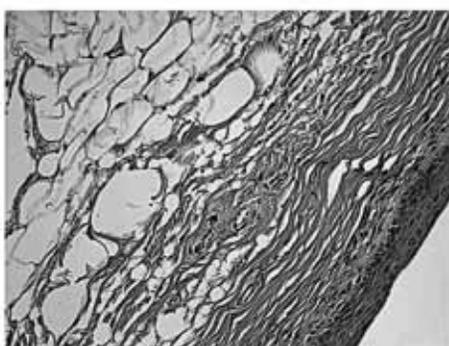
случаях был атрофирован, иногда значительно. Собственная пластинка слизистой оболочки была истончена, подслизистый слой представлен преимущественно рыхло расположенными аргирофильными волокнами (рис. 8). В 66,7% наблюдений имела место очаговая или диффузная воспалительная инфильтрация, преимущественно за счет лимфоцитов и макрофагов. Кроме того,



А



Б



В

Рис. 8. А. Слизистая оболочка полости рта умершего от онкологического заболевания. Образец № 5. Импрегнация по методу Фута,  $\times 400$ .

Строма подслизистого слоя представлена преимущественно аргирофильными волокнами.

Б. Слизистая оболочка полости рта умершего от онкологического заболевания. Образец № 17. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ . Диффузная лимфо-макрофагальная инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки, атрофия эпителия.

В. Слизистая оболочка полости рта умершего от онкологического заболевания. Образец № 5. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ . Выраженная атрофия эпителия и собственной пластинки слизистой оболочки

были выявлены дистрофические изменения в нервных волокнах и мышцах.

Таким образом, морфологическая характеристика дает четкое представление об происходящих изменениях СОПР с возрастом и при патологии, которые носят индивидуальный характер. Однако забор секционного материала (биопсия) выполняется только лишь по узкому кругу показаний и не может являться рутинным методом диагностики текущего состояния СОПР в клинике, что требует разработки новых диагностических подходов.

#### Литература

1. Банченко Г. В., Максимовский Ю. М., Гринин В. М. Язык — «зеркало» организма. М., 2000: 407.

2. Григорьев С. Г. и др. Многомерные методы статистического анализа категоризованных данных медицинских исследований. СПб.: ВМА, 2002: 103.

3. Алимов А. С. Строение поверхности слизистой оболочки протезного ложа в норме и у больных с последствиями мозгового инсульта под сканирующим электронным микроскопом // Стоматология. 2000; 2: 31–33.

4. Беленчук Т. А. Возрастные изменения слизистой оболочки полости рта // I съезд геронтологов и гериатров Украинской ССР: Тез. докл. Днепропетровск, 1988: 15.

5. Быков В. Л. Функциональная морфология эпителиального барьера слизистой оболочки полости рта // Стоматология. 1997; 3: 12–17.

6. Гемонов В. В., Кутвицкая С. А., Черв О. Е. и др. Некоторые особенности реактивности органов полости рта у животных с разными типами нервной системы // Стоматология. 1996; 1: 12–14.

7. Данилевский Н. Ф., Леонтьев В. К., Несин А. Ф., Рахний Ж. И. Заболевания слизистой оболочки полости рта. М.: ОАО «Стоматология», 2001: 271.

8. Johnson H. A. Relations between normal aging and disease. N. York, 1985: 256.

#### Данные для корреспонденции:

Ткаченко Татьяна Борисовна, д. м. н.,

профессор кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний,  
заместитель директора НПЦ стоматологии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова,  
СПб., ул. Льва Толстого, 6/8, тел. 8-921-919-75-07,  
e-mail: tanjusha72@mail.ru

## ОЦЕНКА ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРОЙ ТРАВМОЙ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

А. Н. ПУДОВ<sup>1</sup>, А. Ю. ДРОБЫШЕВ<sup>2</sup>, Е. А. СПИРИДОНОВА<sup>3, 4</sup>, И. Г. БОБРИНСКАЯ<sup>4</sup>, М. Б. ЛАГУТИН<sup>5</sup>, А. А. ШИЛКИН<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Центр стоматологии и челюстно-лицевой хирургии,

Московский государственный медико-стоматологический университет, Москва

<sup>2</sup> Кафедра госпитальной хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии

Московского государственного медико-стоматологического университета, Москва

<sup>3</sup> Кафедра скорой медицинской помощи и интенсивной терапии УНЦ Управления делами

Президента РФ, Федеральный научный клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии Минздравсоцразвития РФ, Москва

<sup>4</sup> Кафедра анестезиологии-реаниматологии

Московского государственного медико-стоматологического университета, Москва

<sup>5</sup> Кафедра математической статистики и случайных процессов

механико-математического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва

**Резюме.** Пациенты с острой травмой нижней челюсти характеризуются рядом особенностей: высокая частота развития воспаления и интоксикации. Среди других особенностей следует указать на высокую распространенность у пациентов данной группы хронической алкогольной интоксикации. Было выполнено исследование, направленное на изучение влияния факторов возраста и хронической алкогольной интоксикации на степень выраженности воспаления и интоксикации.

**Ключевые слова:** острая травма, нижняя челюсть, воспаление, интоксикация, возраст, хроническая алкогольная интоксикация, влияние, исследование.

## EVALUATION OF LABORATORY INDICATORS IN PATIENTS WITH ACUTE TRAUMA OF LOWER JAW

A. N. PUDOV<sup>1</sup>, A. YU. DROBISHEV<sup>2</sup>, E. A. SPIRIDONOVA<sup>3, 4</sup>, I. G. BOBRINSKAYA<sup>4</sup>, M. B. LAGUTIN<sup>5</sup>, A. A. SHILKIN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Center of Stomatology and Maxillofacial Surgery, Moscow State Medical Dental University, Moscow

<sup>2</sup> Hospital Surgical Stomatology and Maxillofacial Surgery Department, Moscow State Medical Dental University, Moscow

<sup>3</sup> Emergency Medical Care and Intensive Therapy, TRC of Russian Federation President Affairs

Department; Federal Scientific Clinical center of pediatric hematology, oncology and immunology, Ministry of Health Care of Russian Federation, Moscow

<sup>4</sup> Anesthesiology and Resuscitation Department, Moscow State Medical Dental University, Moscow

<sup>5</sup> Mathematic statistic and accidental processes Department, Mechanic Mathematic Faculty of Moscow M. V. Lomonosov State University

**Summary.** Patients with acute trauma of lower jaw are characterized by some peculiarities, including high rate of inflammation and intoxication development. Among other features high prevalence of chronic alcoholic toxicity should be mentioned. Present investigation concerned the influence of growth factors and chronic alcohol toxicity on degree of inflammation and intoxication syndrome.

**Key words:** acute trauma, lower jaw, inflammation, intoxication, age, chronic alcohol intoxication, impact, research.

### Введение

Целью назначения и выполнения клинических лабораторных исследований является получение достоверной и своевременной лабораторной информации

об изменении состояния определенных физиологических систем и органов пациента, имеющих причинно-следственную связь с предполагаемым или развившимся патологическим процессом. Результаты клинических

лабораторных исследований используют для выявления патологии, установления диагноза болезни, выбора необходимых лечебных мероприятий и контроля эффективности лечения, а также определения прогноза заболевания [1].

Пациенты с острой травмой нижней челюсти характеризуются рядом особенностей, из которых следует выделить следующие: высокая частота встречаемости инфекционно-воспалительных осложнений и значительная выявляемость среди пациентов данной группы хронической алкогольной интоксикации [2, 3].

Развитие инфекционно-воспалительных осложнений при переломе определяется анатомо-физиологическими особенностями самой нижней челюсти и окружающих ее мягких тканей, а также наличием высокого риска активизации условно-патогенной микрофлоры полости рта. Вследствие длительной иммобилизации нижней челюсти страдает функция слюнных желез, ферменты которых обладают бактерицидным действием. Наличие металлических конструкций во рту, неподвижность нижней челюсти, невозможность открытия рта затрудняют гигиенический уход; металлические фиксирующие лигатуры в области шеек зубов приводят к развитию парадонтита. Следует особо отметить, что рядом авторов переломы нижней челюсти считаются первично осложненными из-за инфицирования костной раны патогенной микрофлорой [3, 4, 5].

Хроническая алкогольная интоксикация (ХАИ) приводит к развитию алкогольной болезни, проявляющейся развитием физической зависимости, различными нарушениями психики и различными функциональными и морфологическими нарушениями со стороны органов и систем [6, 7].

Патогенетические механизмы воздействия алкоголя на организм опосредованы воздействием этанола и продукта его окисления — ацетальдегида. Основным патогенетическим звеном психоактивного действия алкоголя является активация различных нейромедиаторных систем, в частности, системы биогенных моноаминов (норадреналин, серотонин); токсическое действие этанол оказывает на стенки сосудов, ткани печени, нервные клетки [8, 9, 10]. Кроме того, хроническое употребление алкоголя приводит к атрофии слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и развитию авитаминоза, отмечается большая степень потери минеральной плотности кости [11], выявляются выраженные изменения слизистой оболочки языка и поражение слюнных желез [12], развиваются нарушения иммунологической реактивности организма [13].

Все эти особенности должны иметь свое отражение в клинико-лабораторной картине и существенно влиять на оценку состояния пациентов с острой травмой нижней челюсти.

**Целью** исследования являлось изучение клинико-лабораторных показателей у пациентов с острой травмой нижней челюсти и их клинический анализ.

Были поставлены следующие **задачи**:

1. Оценка частоты встречаемости воспалительного процесса;
2. Выявление выраженности и характера интоксикационного синдрома;
3. Оценка влияния возраста и хронической алкогольной интоксикации на клинико-лабораторные показатели, воспалительный процесс и интоксикационный синдром.

### Материалы и методы

Проведен анализ результатов клинического наблюдения и данных медицинской документации 117 больных с острым переломом нижней челюсти, находившихся на стационарном лечении в отделении челюстно-лицевой хирургии взрослых Центра стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Московского государственного медико-стоматологического университета им. А. И. Евдокимова (давность травмы менее 15 суток).

В центральной лаборатории ЦС и ЧЛХ МГМСУ проведено определение показателей: концентрация гемоглобина, количество лейкоцитов, количество тромбоцитов, лейкоцитарная формула, концентрация общего белка, мочевины, креатинина, калия, натрия, глюкозы, общего билирубина, АСТ, АЛТ, лейкоцитарный индекс интоксикации в модификации В. К. Островского (ЛИИм), индекс соотношения лейкоцитов и СОЭ (ИЛ-СОЭ), ядерный индекс Г. Д. Даштаянца (ЯИ), индекс резистентности организма (ИРО) и лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ИЛГ).

Такие показатели как ЛИИм, ИЛСОЭ, ЯИ, ИРО и ИЛГ являются расчетными.

Лейкоцитоз сверх нормальных показателей указывает на возможность развития в организме воспалительного или гнойно-деструктивного процесса. Однако оценка этих данных часто бывает субъективной, в связи с чем для выражения степени тяжести интоксикации был предложен ряд индексов, в которых использованы показатели лейкоцитарной формулы, т. е. по изменениям лейкоцитарной формулы с учетом других гематологических показателей можно судить о выраженности воспалительного процесса и эффективности проводимой терапии. Лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) представляет собой соотношение уровней клеток, повышающихся при воспалительных и гнойных процессах (нейтрофильные лейкоциты — миелоциты, метамиелоциты — юные, палочкоядерные, сегментоядерные), к клеткам, количество которых при этих процессах может снижаться (лимфоциты, моноциты, эозинофилы). Таким образом, получается количественное выражение сдвига лейкоцитарной формулы в сторону нейтрофилов. Следует указать на прогностическое значение данного индекса: при правильной лечебной тактике ЛИИ снижается, и наоборот — увеличение ЛИИ, даже при положительной динамике общего состояния больного, говорит о недостаточной эффективности лечения. Описано

несколько модификаций расчета ЛИИ: модифицированный лейкоцитарный индекс интоксикации Б. А. Рейса (ЛИИр), модифицированный лейкоцитарный индекс интоксикации В. К. Островского (ЛИИм) и др. В данном исследовании был использован модифицированный лейкоцитарный индекс интоксикации В. К. Островского (ЛИИм), так как в нем используется соотношение уровня всех клеток крови, число которых повышается и снижается при воспалительных заболеваниях, без каких-либо дополнительных коэффициентов, что объективно отражает суть происходящих процессов.

Средний возраст больных составил  $38,9 \pm 12,8$  года: минимальный — 16 лет, максимальный — 69 лет. Гендерное распределение: 106 больных (90,6%) мужского пола и 11 (9,4%) — женского.

С целью изучения влияния факторов возраста и хронической алкогольной интоксикации на степень выраженности воспалительного процесса и интоксикационного синдрома было проведено распределение пациентов по группам по следующим принципам:

1) по возрасту (классификация возраста ООН и ВОЗ, 1999) [14];

2) по наличию указаний на хроническую алкогольную интоксикацию среди сопутствующих соматических заболеваний (2 и более баллов по опроснику CAGE) [9, 10].

При возрастном распределении пациентов исходно было выделено 3 подгруппы: молодой возраст (16–44 года), средний возраст (45–58 лет), старший возраст (59–74 года). Распределение по возрастным группам было следующим: молодой возраст — 72 больных (61,5%). В связи с малочисленностью лиц старшего возраста и для увеличения достоверности результатов исследования пациенты среднего и старшего возрастов были сведены в одну возрастную подгруппу (от 45 лет до 75) — 45 человек (38,5%): средний возраст — 36 больных (30,8%) и старший возраст — 9 больных (7,7%). В группе пациентов молодого возраста ( $N = 72$ ) средний возраст равнялся  $30,6 \pm 7,9$  года (медиана — 29 лет). Средний возраст, рассчитанный для больных, отнесенных к старшему и среднему возрастам ( $N = 45$ ), составил  $52,4 \pm 5,4$  года (медиана — 52 года).

Группа пациентов с острой травмой нижней челюсти, имевших указание на наличие хронической алкогольной интоксикации (ХАИ), составила 47 человек (40,2%). В состав контрольной группы — пациенты без наличия хронической алкогольной интоксикации — было включено 70 больных (59,8%). Группа пациентов, имевших сочетание острой травмы нижней челюсти и хронической алкогольной интоксикации ( $N = 47$ ), характеризовалась следующими показателями: средний возраст —  $40,7 \pm 10,5$  года (медиана — 41); минимальный — 22 года, максимальный — 63 года. В подгруппе пациентов с острой травмой нижней челюсти, не имевших указаний на наличие хронической алкогольной интоксикации ( $N = 70$ ), средний возраст —  $37,8 \pm 14,1$  года (медиана —

36 лет), при минимальном возрасте — 16 лет и максимальном — 69 лет.

Данные были получены методом ретроспективной экспертной оценки и статистического анализа. Статистическая обработка результатов была выполнена с помощью статистических компьютерных программ: Microsoft Excel, Excel STAT-Pro и SPSS (Statistical Package for Social Science). Целью статистической обработки данных являлись оценка достоверности различий полученных данных, поиск корреляционных взаимодействий. Использовались такие статистические показатели, как коэффициент корреляции Пирсона, ранговый коэффициент Спирмена, диаграммы рассеяния. Однородность групп проверялась с помощью точного одностороннего критерия Манна–Уитни.

## Результаты

По результатам лабораторных исследований было установлено, что показатель гемоглобина находился в интервале нормальных значений в 82,0% случаев ( $N = 96$ ). Анемия была выявлена у 5,1% больных ( $N = 6$ ), из них в 2 случаях (1,7%), она имела выраженный характер (гемоглобин  $< 85$  г/л). Повышенный уровень гемоглобина отмечен у 12,8% ( $N = 15$ ) больных с острой травмой нижней челюсти и был связан с гемоконцентрацией (гематокрит  $> 54\%$ ). Значение уровня тромбоцитов соответствовало норме у 79,5% ( $N = 93$ ) пациентов с переломами нижней челюсти. Показатель тромбоцитов ниже 180 трлн кл. был зарегистрирован в 15,4% ( $N = 18$ ) случаев, а выше 360 трлн кл. — у 5,1% больных ( $N = 6$ ). В 66,7% ( $N = 78$ ) уровень лейкоцитов превысил верхнюю границу нормы, а в остальных 33,3% он остался в пределах нормальных значений.

Концентрация общего белка была в пределах нормы у 111 пациентов (94,9%), а ниже нормы — в 6 случаях (5,1%). Концентрации общего белка ниже 60,0 г/л выявлено не было. Концентрация сывороточного альбумина соответствовала интервалу нормальных значений в 108 случаях (92,3%), и лишь 9 пациентов (7,7%) имели гипоальбуминемия (менее 35 г/л). Концентрация общего билирубина у 8 больных (6,8%) превысила верхнюю границу нормы, у остальных 109 больных (93,2%) повышения концентрации общего билирубина не было. У 6 больных (5,1%) было отмечено повышение концентрации мочевины от 7 до 11,2 ммоль/л. Гиперкалиемия была установлена у 2 больных (1,7%), гипернатриемия — у 42 больных (35,9%); гипергликемия была зафиксирована у 18 больных (15,4%), гипогликемия — у 3 больных (2,6%). Повышенный уровень концентрации трансаминаз (аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза) выявлен у 57 больных (48,7%).

Далее было выполнено вычисление расчетных лабораторных показателей, характеризующих воспалительный процесс и интоксикационный синдром.

Повышение показателя модифицированного лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИм) было заре-

гистрировано у 93 пациентов (79,5%) и свидетельствовало о наличии интоксикационного синдрома [15]. Уровень модифицированного лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИм) имел следующее распределение: 2–4 – 47,0% ( $N = 55$ ); 5–9 – 29,0% ( $N = 34$ ) и >9 – 3,4% больных ( $N = 4$ ).

Повышение ядерного индекса Г. А. Даштаянца (ЯИ) (ядерный индекс > 0,1), отмеченное у 25 (21,4%) пациентов, кроме подтверждения наличия интоксикации позволяет оценить тяжесть состояния пациентов с острой травмой нижней челюсти [16]. Так, легкую степень выраженности интоксикации (ядерный индекс от 0,1 до 0,3) имели 17 человек (14,5%), а среднюю степень тяжести (ядерный индекс от 0,3 до 1,0) – 8 пациентов (6,8%). Значений ядерного индекса > 1,0 зафиксировано не было.

В ходе исследования было установлено, что показатель соотношения лейкоцитов и СОЭ (ИЛСОЭ) был снижен у 55 пациентов (47%), а в 17 случаях (14,5%) зафиксировано повышение его уровня. Значения лимфоцитарно-гранулоцитарного индекса (ИЛГ) имели следующее распределение: ниже нормы – у 97 (82,9%) больных, выше нормы – 11 (9,4%) больных.

В 88% ( $N = 103$ ) случаев значение индекса резистентности организма (ИРО) у пациентов с острой травмой нижней челюсти было нормальным.

**Обсуждение.** Итак, на основании полученных данных было установлено, что у 79,5% больных с острой травмой нижней челюсти регистрировался интоксикационный синдром. Интоксикационный синдром может быть связан как с аутоинтоксикацией, обусловленной продуктами распада травмированных тканей и метабо-

лическими нарушениями, так и с микробной интоксикацией, развитием инфекционно-воспалительных осложнений. Ряд зарубежных авторов считает переломы нижней челюсти первично осложненными из-за инфицирования костной раны патогенной микрофлорой, чему особенно способствуют анатомо-физиологические особенности как самой нижней челюсти, так и окружающих ее мягких тканей, а также наличие в полости рта значительного количества условно-патогенной микрофлоры и условий для ее активизации [2, 4]. Следует сказать, что острая травма челюстно-лицевой области, несмотря на незначительную площадь повреждения, определяет в посттравматическом периоде системное угнетение аэробных и активацию анаэробных процессов, развитие изменений кислотно-щелочного и электролитного гомеостаза, диспротеинемии, гиперферментемии, гиперкоагуляции [17]. Все эти факторы и обуславливают развитие интоксикационного синдрома, что подтверждается полученными данными.

Кроме модифицированного лейкоцитарного индекса интоксикации, подтверждением интоксикации можно считать наличие отклонений от нормы показателей соотношения лейкоцитов и СОЭ (ИЛСОЭ) и лимфоцитарно-гранулоцитарного индекса (ИЛГ), позволяющих дифференцировать характер интоксикации: воспалительный процесс и аутоинтоксикацию. Их повышение, по отношению к норме, свидетельствует об аутоинтоксикации, а понижение – о наличии инфекционно-воспалительного процесса [18]. Отклонение от коридора нормальных значений, т. е. выше или ниже нормы, для показателя соотношения лейкоцитов и СОЭ (ИЛСОЭ) составило – 72 больных (61,5%) и для лимфоцитарно-

**Таблица 1. Результаты определенных лабораторных показателей у пациентов с острой травмой нижней челюсти ( $p < 0,05$ )**

Лабораторный показатель	Норма	Общая группа больных ( $N = 117$ )	Молодой возраст ( $N = 72$ )	Средний и старший возраст ( $N = 45$ )	Больные с ХАИ ( $N = 47$ )	Больные без ХАИ ( $N = 70$ )
Общий белок	>65	74,6±0,8	76,7±0,8	72,7±1,0	73,6±0,9	76,3±0,9
Общий билирубин	<21,0	9,8±0,9	8,6±0,6	9,8±1,1	9,2±0,9	8,9±0,7
АлАт	<38	33,6±2,0	31,5±2,2	37,1±4,0	34,4±3,6	33,1±2,5
АсАт	<38	40,0±2,4	36,2±2,3	42,5±3,5	38,4±3,5	38,7±2,3
Мочевина	<8,0	4,6±0,2	4,3±0,2	5,1±0,3	4,8±0,2	4,4±0,2
Креатинин	<130	95,0±1,8	94,7±2,2	95,6±3,1	98,1±2,5	93,0±2,4
Калий	3,5–5,5	4,6±0,1	4,5±0,1	4,7±0,1	4,5±0,1	4,6±0,1
Натрий	136–144	142,3±1,1	142,9±0,4	144,1±0,5	144,1±0,5	142,9±0,4
Глюкоза	3,5–5,5	5,0±0,1	4,8±0,1	5,1±0,1	4,9±0,1	4,9±0,1
Гемоглобин	120–160	144,3±1,5	148,3±2,0	137,9±2,2	143,2±2,3	145,0±2,0
Тромбоциты	180–360	248,5±6,2	247,0±7,4	252,0±10,9	235±10,1	257,7±7,6
Лейкоциты	4–9	10,6±0,3	10,9±0,4	10,1±0,4	10,5±0,5	10,6±0,4

гранулоцитарного индекса (ИЛГ) — 108 больных (92,3%). Было установлено, что на долю аутоинтоксикации пришлось от 9,4 (по ИЛГ) до 14,5% (по ИЛСОЭ) случаев, в то время как инфекционно-воспалительный процесс преобладал в 47,0% (по ИЛСОЭ) и 82,9% (по ИЛГ) случаев.

Оценка степени интоксикации проводилась по уровню модифицированного лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИм). Зафиксировано, что преобладали легкая и средняя степени выраженности интоксикационного синдрома. Установленные по уровню показателей легкая и средние степени интоксикации составили: 47,0 и 29,0%.

Для определения уровня общей реактивности организма больных был использован показатель индекса резистентности организма, снижение которого было отмечено лишь у 12% ( $N = 14$ ) больных с переломами нижней челюсти.

Оценка данных общего клинического и биохимического анализов крови показала, что: повышение гемоглобина (12,8%) было связано с гемоконцентрацией (гематокрит > 54%); тромбоцитопения (15,4%) и гипербилирубинемия (6,8%) — не сопровождалась повышенной интраоперационной кровопотерей; гипопропротеинемия отмечена только в 5,1% случаев; повышение уровня трансаминаз (48,7%) расценено как реакция повреждения, связанная с самой травмой; повышение уровня мочевины крови (5,1%) не коррелировало с гиперкалиемией (1,7%). Среди зарегистрированных показателей обращают на себя внимание гипернатриемия, установленная у 35,9% пациентов, и гипергликемия — у 15,4% больных. Если повышение уровня глюкозы крови может быть объяснено как результат стресс-реакции на травму [19], то повышение уровня натрия встречалось даже у пациентов с нормальной гемоконцентрацией ( $p < 0,05$ ).

Сравнительный статистический анализ результатов исследований лабораторных показателей в зависимости от возрастного критерия выявил достоверные различия в возрастных группах по следующим показателям: белок общий, аспаратаминотрансфераза, мочевины, калий, натрий, гемоглобин, индекс резистентности организма ( $p < 0,05$ ). Однако при этом все значения данных параметров находились в пределах нормы. По таким показателям как индекс интоксикации в модификации В. К. Островского (ЛИИм), индекс соотношения лейкоцитов и СОЭ (ИЛСОЭ), ядерный индекс Г. Д. Даштаянца (ЯИ) и лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ИЛГ) группа лиц молодого возраста и лица среднего/старшего возрастов были однородны. Однако индекс резистентности организма у больных среднего/старшего возрастов имел более низкие значения, чем у больных молодого возраста: 130,9 против 407,1 ( $r = 0,024$ ).

В ходе сравнения групп больных, имевших указание на наличие хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) и без хронической алкогольной интоксикации (без ХАИ), была установлена неоднородность групп по признакам: белок общий, мочевины, натрий, тромбоциты. Однако, как и в предыдущем случае, результаты не вышли за пределы коридоров нормальных значений. В отношении показателей: индекс интоксикации в модификации В. К. Островского (ЛИИм), индекс соотношения лейкоцитов и СОЭ (ИЛСОЭ), ядерный индекс Г. Д. Даштаянца (ЯИ), индекс резистентности организма (ИРО) и лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ИЛГ) — группы больных с хронической алкогольной интоксикацией (ХАИ) и без хронической алкогольной интоксикации (без ХАИ) значимо не различались.

Таким образом, на основании полученных данных сделаны следующие **выводы**:

1. Интоксикационный синдром характерен для пациентов с острой травмой нижней челюсти;

**Таблица 2. Результаты расчетных лабораторных показателей у пациентов с острой травмой нижней челюсти ( $p < 0,05$ )**

Лабораторный показатель	Норма	Общая группа больных ( $N = 117$ )	Молодой возраст ( $N = 72$ )	Средний и старший возраст ( $N = 45$ )	Больные с ХАИ ( $N = 47$ )	Больные без ХАИ ( $N = 70$ )
Лейкоцитарный индекс интоксикации по Островскому (ЛИИм)	<2	3,6 ± 0,4	3,5 ± 0,3	3,9 ± 0,4	3,7 ± 0,4	3,6 ± 0,3
Ядерный индекс Даштаянца (ЯИ)	0,05–0,08	0,058 ± 0,05	0,054 ± 0,005	0,062 ± 0,007	0,061 ± 0,006	0,054 ± 0,005
Индекс резистентности организма (ИРО)	50–100	388,6 ± 168,3	407,1 ± 67,7	130,9 ± 14,2	316,0 ± 65,2	290,7 ± 58,9
Индекс соотношения лейкоцитов и СОЭ (ИЛСОЭ)	1–2,5	1,5 ± 0,18	1,3 ± 0,16	1,6 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,16
Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ИЛГ)	4–5	2,9 ± 0,4	3,2 ± 0,4	2,5 ± 0,3	2,9 ± 0,4	2,9 ± 0,3

2. При острой травме нижней челюсти преобладают легкая и средняя степени выраженности интоксикационного синдрома;
3. Развитие инфекционно-воспалительного процесса — крайне часто встречаемое осложнение у больных с острыми переломами нижней челюсти;
4. У больных с острыми переломами нижней челюсти велика вероятность наличия гипернатриемии;
5. Клинически значимое влияние фактора возраста у пациентов с острой травмой нижней челюсти проявляется снижением общей реактивности организма у больных среднего/старшего возрастов.
6. Влияние ХАИ на развитие воспалительного процесса и степень выраженности интоксикационного синдрома у пациентов с острой травмой нижней челюсти не было установлено.

Следует сказать, что результаты работы требуют дальнейшего подтверждения в большей выборке больных, с анализом возможной градации соответствующих биологических реакций по возрасту, полу и срокам после травмы.

#### Литература

1. ГОСТ Р 53079.3.-2008. Национальный Стандарт Российской Федерации: Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований.
2. Powers D. B., Will M. J., Bourgeois S. L. Jr, Hatt H. D. Maxillofacial trauma treatment protocol // *Oral Maxillofacial Surg. Clin. North Am.* 2005; 17 (3): 341–355.
3. Малышев В. А., Кабаков Б. Д. Переломы челюстей. СПб.: СпецЛит., 2005: 224.
4. Kruger E., Shelli W., Worthington P. Oral and maxillofacial traumatology. Chicago; London; Berlin: Quintessence Publishing Co., Inc., 1986: 43.
5. Бернадский Ю. И. Травматология и восстановительная хирургия черепно-челюстно-лицевой области. 3-е издание, перераб. и доп. М.: Медицинская литература, 1999: 456.
6. Петров Д. В. Диагностика, лечение и профилактика расстройств, вызванных употреблением алкоголя. Ярославль: ЯГМА, 2003: 84–86.
7. Немцов А. В. Алкогольная смертность в России, 1980–90-е годы. М., 2001: 60.
8. Хазанов А. И., Васильев А. П., Пехташев С. Г., Плюснин С. В., Павлов А. И., Белякин С. А., Бобров А. Н. Хроническая интоксикация алкоголем и заболевания печени // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2009; 1: 43–52.
9. Огурицов П. П., Покровский А. Б., Успенский А. Е. Эпидемиология алкоголизма // *Материалы Всероссийского форума «Алкоголь и здоровье населения России 1900–2000».* М., 1998: 167–173.
10. Костюкевич О. И. Алкогольное поражение печени: социальное звучание, клинические последствия и аспекты патогенетической терапии // *Русский Медицинский Журнал: болезни органов пищеварения.* М., 2011; 2: 62–68.
11. Пиголкин Ю. И., Арутюнов С. А., Мамсурова Т. С. Судебно-медицинская диагностика хронической алкогольной интоксикации по состоянию минеральной плотности кости посткраниального скелета и пародонтального комплекса // *Судебно-медицинская экспертиза.* М., 2010; 6: 4–8.
12. Пиголкин Ю. И., Должанский О. В. и соавт. Судебно-медицинская диагностика хронической алкогольной интоксикации по гистологическим изменениям мягких тканей полости рта и слюнных желез // *Судебно-медицинская экспертиза.* 2011; 3: 10–12.
13. Шпагина Л. А., Локтин Е. М. и соавт. Острая и хроническая алкогольная интоксикация — причина иммунологической реактивности у больных с распространенным перитонитом // *Вестник Российской Академии медицинских наук.* 2009; 6: 19–23.
14. Levy P. S., Lemeshow S. Sampling of Populations: Methods and Applications. Fourth Edition. Publisher: Wiley, John & Sons, Incorporated, 2008.
15. Островский В. К., Мащенко А. В. и соавт. Показатели крови и лейкоцитарного индекса интоксикации в оценке тяжести и определении прогноза при воспалительных, гнойных и гнойно-деструктивных заболеваниях // *Клинико-лабораторная диагностика.* М., 2006; 6: 50–53.
16. Даштаянц Г. А. Клиническая гематология. Киев, 1978: 230.
17. Воложин А. И., Порядин Г. В. Патологическая физиология: в 2 томах. М.: МЕДпресс, 2000: 1001.
18. Меньшиков В. В. Лекарственная терапия и результаты лабораторных исследований // *Клинико-лабораторная диагностика.* М., 2001; 1: 21–36.
19. Smythe G. A., Pascoe W. S., Storlien L. H. Hypothalamic noradrenergic and sympatho-adrenal control of glycemia after stress // *Am. J. Physiol.* 1989; 256: 231–235.

#### Данные для корреспонденции:

Пудов Андрей Николаевич, врач анестезиолог-реаниматолог, Центр стоматологии и челюстно-лицевой хирургии МГМСУ, г. Москва, ул. Вучетича, дом № 9А, 8-(916)-279-25-53, andrej-pudov@yandex.ru

## ГОМОЦИСТЕИНПЕРОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

**А. В. РАЗЫГРАЕВ**

НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН, Санкт-Петербург

**Резюме.** В предыдущем исследовании было установлено, что плазма крови человека способна ускорять пероксидзависимую убыль гомоцистеина в реакционной смеси, состоящей из трис-НСl-буфера (рН 8,5), этилендиаминтетраацетата,  $\text{NaN}_3$ , D, L-гомоцистеина и  $\text{H}_2\text{O}_2$ , что служит свидетельством в пользу существования гомоцистеинпероксидазной активности в плазме. В настоящем исследовании было установлено, что выявленная активность принадлежит белковой фракции сыворотки крови (фракция выделяется в диапазоне насыщения  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , равном 0–35%), при этом наблюдается возрастание удельной активности. Установлено, что уровень обусловленного присутствием биоматериала пероксидзависимого расхода гомоцистеина соответствует стехиометрии гомоцистеин: $\text{H}_2\text{O}_2$ -оксидоредуктазной реакции, т. е. на 1 моль пероксида водорода приходится 2 моля гомоцистеина. Зависимость между концентрацией пероксида водорода и начальной скоростью реакции (измерено при начальной концентрации гомоцистеина, равной 0,25 мМ) имеет характер насыщения и может быть линеаризована с использованием двойных обратных координат. Кажущаяся  $K_m$  по пероксиду водорода в используемых условиях составила приблизительно 6,5 мкМ. Результаты, полученные в настоящем исследовании, указывают на ферментативный характер реакции и являются весомым подтверждением наличия гомоцистеинпероксидазной активности в сыворотке крови человека. Данная активность не является проявлением обнаруженной ранее тиолпероксидазной активности сывороточного альбумина. Исследование обнаруженной активности может иметь практическую ценность в медицине, поскольку в данном процессе происходит элиминация как пероксида водорода, так и свободной SH-формы гомоцистеина, служащей предшественником в образовании других, в том числе токсичных, форм данного аминотиола.

**Ключевые слова:** аминотиол, гомоцистеин:  $\text{H}_2\text{O}_2$ -оксидоредуктаза, фермент, стехиометрия, реактив Элмана, 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойная кислота).

## HOMOCYSTEINE PEROXIDASE ACTIVITY IN HUMAN SERUM

**A. V. RAZYGRAEV**

D. O. Ott Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS, St. Petersburg

**Summary.** In a previous study it was found that the human plasma is able to accelerate the  $\text{H}_2\text{O}_2$ -dependent homocysteine decline in a reaction mixture consisting of Tris-HCl-buffer (pH 8,5), EDTA,  $\text{NaN}_3$ , D, L-homocysteine and  $\text{H}_2\text{O}_2$ . This fact can be considered as evidence of the existence of homocysteine peroxidase activity in plasma. In the present study it has been found that the activity belongs to the identified protein fraction of serum (the fraction precipitated in the range of ammonium sulfate saturation, equal to 0–35%). The increase in specific activity, which is a result of isolation of fraction has been observed. The level of the  $\text{H}_2\text{O}_2$ -dependent homocysteine decline corresponds to the stoichiometry of homocysteine:  $\text{H}_2\text{O}_2$ -oxidoreductase reaction, i. e. to 1:2 mole ratio between hydrogen peroxide and homocysteine, respectively. The relation between the concentration of hydrogen peroxide and rate (measured at fixed homocysteine initial concentration, equal to 0.25 mM) has a saturation character and can be successfully linearised by conversion of data to double-reciprocal form. The apparent Michaelis constant value for hydrogen peroxide was approximately 6.5 microM at 0.25 mM homocysteine. The results obtained in this study indicate the enzymatic character of the reaction and provide considerable evidence of the presence of homocysteine peroxidase activity in human serum. This activity is not serum albumin thiol peroxidase activity. Further study of homocysteine peroxidase activity may be useful in medicine, because the activity is the elimination of hydrogen peroxide and free SH-form of homocysteine, whereas homocysteine SH-form is a precursor in the formation of others, including toxic forms of this aminothiols.

**Key words:** aminothiols, homocysteine:  $\text{H}_2\text{O}_2$ -oxidoreductase, enzyme, stoichiometry, Ellman's reagent, 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid).

Повышенные уровни гомоцистеина в организме в настоящее время рассматриваются как важный фактор развития ряда патологических состояний, таких как атеросклероз, тромбозы, ишемическая болезнь сердца, воз-

растные деменции. Для гипергомоцистеинемии во время беременности хорошо известны токсические эффекты, проявляющиеся в нарушениях развития плода [1–3]. Гомоцистеин циркулирует в организме в виде разных

форм, токсическое влияние которых может различаться, в связи с чем большое значение приобретают исследования, направленные на выяснение механизмов регуляции уровней отдельных форм гомоцистеина. В этом отношении особый интерес представляет известная способность SH-формы гомоцистеина участвовать в ферментативном восстановлении органических гидроперекисей [4], поскольку на основании такого факта можно предполагать существование общего механизма регуляции уровней SH-формы гомоцистеина и соединений, содержащих пероксидные группы.

Недавно нами были получены данные, свидетельствующие в пользу того, что не только органические пероксиды, но и пероксид водорода способен участвовать в ферментативной утилизации свободной SH-формы гомоцистеина [5]. Добавление плазмы крови в реакционную смесь, содержащую SH-форму гомоцистеина, а также трис-HCl-буфер (pH 8,5), хелатирующий агент (этилендиаминтетраацетат, ЭДТА) и ингибитор гемопротеинов (азид натрия), приводило к ускорению убыли гомоцистеина, инициированной внесением пероксида водорода. Скорость реакции в присутствии биоматериала статистически значимо превышала скорость неферментативного окисления гомоцистеина пероксидом водорода, также наблюдаемого при используемых концентрациях реагирующих соединений. В период преинкубации с плазмой (перед добавлением перекиси) отсутствовали значительные изменения начальной концентрации аминотиола, т.е. наблюдаемая убыль гомоцистеина является истинно пероксидзависимой. Это позволяет говорить о наличии в плазме крови активности, устраняющей гомоцистеин с участием  $H_2O_2$  (предположительно гомоцистеин:  $H_2O_2$ -оксидоредуктазная, или гомоцистеинпероксидазная, активность).

Из предположения о том, что обнаруженная активность является гомоцистеинпероксидазной, исходит ряд следствий, подлежащих проверке: 1) обнаруженная активность должна принадлежать к белковой фракции плазмы, 2) должно наблюдаться соответствие между стехиометрией гомоцистеин:  $H_2O_2$ -оксидоредуктазной реакции и наблюдаемым уровнем пероксидзависимого расхода концентрации гомоцистеина, происходящего вследствие присутствия материала плазмы крови в реакционной смеси, 3) возможна оценка свойственных для ферментативных реакций характеристик, а именно  $K_M$  и  $V_{max}$ , т.е. кинетических констант фермента по соответствующему субстрату реакции (в данном случае  $K_M$  — кажущаяся  $K_M$  для двухсубстратной реакции). Соответственно, в задачи настоящего исследования вошла проверка каждого из этих следствий с использованием сыворотки крови в качестве биоматериала.

### Материалы и методы

В данном исследовании была использована сыворотка крови небеременных женщин-доноров (возрастной диапазон 20–31 лет). На стадии планирования исследо-

вания было определено необходимое их число. Для обоснования принадлежности изучаемой активности к белковой фракции сыворотки было решено использовать 1) смешанный образец сыворотки от 5 доноров (возраст 26,0 [21, 30] лет, Me [min; max]) для выделения нескольких белковых фракций с выбором фракции, сохраняющей исследуемую активность, 2) индивидуальные образцы от 6 доноров (27,0 [20, 31] лет) для работы с выбранной конкретной белковой фракцией; данное количество было определено как минимально необходимое в связи с выбором метода статистического сравнения групп. Ввиду того, что характер распределения изучаемого признака неизвестен, было решено использовать непараметрический критерий для статистического сравнения. Статистическому сравнению планировалось подвергнуть 2 группы (первая — значения удельной активности для выбранной белковой фракции; вторая группа — значения удельной активности для образцов сыворотки, из которых выбранная фракция была выделена); при таком условии может быть использован парный W-критерий Уилкоксона. Применение данного критерия для обнаружения статистически значимых различий на 5%-м уровне значимости требует как минимум 6 вариант в каждой из двух групп (соответственно, необходимо использовать как минимум 6 доноров) [6]. Те же 6 образцов выделенной фракции использовались для определения максимального расхода гомоцистеина в исследуемой реакции для оценки ее стехиометрии. Для оценки кинетических констант был использована белковая фракция, выделенная из смешанного образца сыворотки от 6 женщин (27,5 [22, 29] лет). Все смешанные образцы готовились путем объединения равных по объему аликвот из индивидуальных образцов.

Венозную кровь брали натощак из локтевой вены в вакуумные пробирки Vacuette Premium с активатором образования сгустка и гелем для отделения сыворотки (объем 4 мл). Сыворотку получали посредством центрифугирования при 1600 g в течение 10 мин. Для выделения белковых фракций использовали раствор сульфата аммония различной степени насыщенности (при комнатной температуре) [7]. Вначале из смешанного образца выделяли фракции в следующих диапазонах насыщения сульфатом аммония: 0–30, 30–40, 40–50, 50–60, 60–80%. После обнаружения исследуемой активности лишь в первых двух фракциях (с выраженным максимумом в диапазоне 0–30%) при последующей работе с индивидуальными образцами и смешанным образцом сыворотки использовали насыщение до 35% (т.е. диапазон 0–35%). Пробы с осажденной фракцией центрифугировали 10 мин при 10 000 g при 10 °C. Белковый осадок промывали водным раствором  $(NH_4)_2SO_4$  с насыщением 35% с повторным центрифугированием в тех же условиях. Отмытый осадок растворяли в физиологическом растворе (0,9% NaCl (вес/объем)): к осадку, полученному из 450 мкл индивидуального образца, добавляли 70 мкл физиологического раствора и переме-

шивали до полного растворения; полученный раствор белковой фракции в дальнейшем использовали для определения изучаемой активности в одной серии с соответствующим образцом сыворотки. В случае выделения той же фракции из смешанного образца (для последующей оценки кинетических характеристик) из 4,5 мл сыворотки было приготовлено приблизительно 2,6 мл раствора белковой фракции. Образцы сыворотки и выделенных белковых фракций замораживали при  $-85^{\circ}\text{C}$ , после размораживания использовали для исследования.

Определение активности проводили при  $37^{\circ}\text{C}$  в реакционной смеси (объем 416 мкл), содержащей 0,084 М трис-НСI-буфер (рН 8,5), 0,28 мМ ЭДТА, 9,6 мМ  $\text{NaN}_3$ , 0,25 мМ D, L-гомоцистеин, 39,7 мкМ  $\text{H}_2\text{O}_2$  и биоматериал (сыворотка либо выделенная из сыворотки белковая фракция). В случае оценки кинетических характеристик использовали несколько концентраций пероксида водорода в диапазоне 0–79,4 мкМ. К 360 мкл раствора гомоцистеина на трис-НСI-буфере с ЭДТА и азидом натрия добавляли 40 мкл биоматериала. Для оценки уровня неферментативного окисления вместо биоматериала в реакционную смесь вносили дистиллированную воду (40 мкл). После добавления 40 мкл биоматериала (либо дистиллированной воды) в пробы сразу же (0 с), либо через 40 с добавляли 16 мкл 1,032 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ , что позволяло учесть возможные изменения начальной концентрации гомоцистеина, вызванные исключительно присутствием биоматериала. Время инкубации с перекисью составляло 0 и 40 с (0 и 30 с в случае оценки кинетических характеристик). Реакцию останавливали добавлением 80 мкл 30% (масса/объем) трихлоруксусной кислоты (ТХУ).

Концентрированные растворы белковой фракции, полученные из шести индивидуальных образцов сыворотки, перед внесением в реакционную смесь разбавляли в 5 раз во избежание преждевременного полного расхода одного из реагирующих соединений (т.е.  $\text{H}_2\text{O}_2$ , взятого в недостатке по отношению к гомоцистеину). В другой серии определений растворы белковой фракции вносили в реакционную смесь в неразбавленном виде, что приводило к пятикратному ускорению реакции и, соответственно, к максимально возможному расходу перекиси. Величина сопряженного с этим максимально возможного в данных условиях расхода гомоцистеина использовалась для сопоставления с величиной максимального расхода, рассчитанной на основании стехиометрии гомоцистеинпероксидазной реакции.

После добавления ТХУ пробы центрифугировали при 1000 g (10 мин), супернатант использовали для определения содержания непрореагировавшего гомоцистеина с применением реактива Элмана (5,5'-дитиобис-(2-нитробензойная кислота), ДТНБ). Для этого к 360 мкл супернатанта добавляли 1,73 мл 0,1 М трис-НСI-буфера с 0,34 мМ ЭДТА (рН 8,5), через 7,5 мин вносили 15 мкл раствора ДТНБ в метаноле (4 мг/мл

абсолютного метанола). Каждую пробу фотометрировали через следующие 7,5 мин при 412 нм. Для расчетов концентрации гомоцистеина использовали коэффициент молярного поглощения 2-нитро-5-меркаптобензоата при 412 нм для растворов в щелочных буферах, равный  $14150 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (по стехиометрии реакции на 1 моль образующегося 2-нитро-5-меркаптобензоата приходится 1 моль прореагировавшего с ДТНБ гомоцистеина) [8].

Исследование кинетики заключалось в оценке кинетических констант по пероксиду водорода при фиксированной начальной концентрации гомоцистеина (0,25 мМ) при помощи линеаризации с использованием двойных обратных координат.

Концентрацию белка в биоматериале определяли по методу Лоури [9].

### Результаты и обсуждение

На смешанном образце сыворотки от 5 доноров была установлена принадлежность исследуемой активности белковым фракциям, осаждаемым в двух смежных диапазонах насыщения сульфатом аммония, а именно 0–30 и 30–40%, с максимумом в диапазоне 0–30%. В последующем исследовании образцов белковой фракции, выделенной насыщением шести индивидуальных образцов сыворотки сульфатом аммония до 35%, были получены следующие значения удельной каталитической активности (нмоль израсходованного гомоцистеина/(мин · мг белка)):

36,16; 42,05; 46,73; 48,60; 53,23; 58,98 (Me – 47,665).

Им соответствуют следующие значения удельной активности в сыворотке (упорядочены по предыдущему ряду, т.к. варианты попарно связаны):

6,07; 7,13; 5,96; 6,60; 5,92; 6,53 (Me – 6,300).

Очевидно, что удельная активность возрастает в результате выделения данной белковой фракции. В W-тесте Уилкоксона выявлены только положительные разности между попарно связанными вариантами. Поскольку минусовые разности не выявлены (т.е. в каждом отдельном случае удельная активность для белковой фракции выше, чем для сыворотки, из которой данная фракция была выделена), нулевая гипотеза о случайном характере выявленных различий опровергается на более высоком уровне значимости, чем 0,05 (вероятность ошибки I рода составляет 3,125%). Это означает, что различия в удельной активности между белковой фракцией и сывороткой являются статистически значимыми.

Предполагаемая схема гомоцистеинпероксидазной реакции (по аналогии с реакцией, которую катализирует глутатионпероксидаза) со стехиометрическими коэффициентами выглядит следующим образом:



где HScu-SH – собственно гомоцистеин (свободная SH-форма), HScu-S-S-HScu – окисленная форма гомоцистеина (гомоцистин).

По стехиометрии реакции ожидаемый максимальный расход концентрации гомоцистеина в два раза превосходит начальную концентрацию  $H_2O_2$ , которая равна 39,7 мкМ (т. е. должен быть равен приблизительно 80 мкМ) при условии, что весь пероксид водорода утилизируется в реакционной смеси по гомоцистеин:  $H_2O_2$ -оксидоредуктазному пути. Пятикратное увеличение содержания белковой фракции (выделенной из тех же 6 индивидуальных образцов) в реакционной смеси позволило оценить максимальный расход гомоцистеина при выбранной концентрации  $H_2O_2$ . Значения разницы в оптической плотности, полученной для проб с длительностью инкубации в присутствии пероксида водорода, равной 0 и 40 с ( $\Delta OD_{412\text{ нм}}$ ), в данных условиях составили (в единицах оптической плотности):

0,154; 0,155; 0,163; 0,164; 0,167; 0,168 (Me — 0,1635).

Концентрации гомоцистеина в первичной реакционной смеси, равной 0,25 мМ, соответствует значение оптической плотности во вторичной реакционной смеси, равное 0,507 (определено по известному значению коэффициента молярного поглощения 2-нитро-5-меркаптобензоата с пересчетом на разведение). Следовательно, значение  $\Delta OD$ , равное 0,1635, соответствует убыли концентрации гомоцистеина, равной 80,6 мкМ. Данное значение, представляющее максимальный расход концентрации гомоцистеина в используемых реакционных средах, практически совпадает со значением 80 мкМ, предсказанным на основании стехиометрии гомоцистеинпероксидазной реакции.

Исследование зависимости начальной скорости реакции от концентрации пероксида водорода при фиксированном значении концентрации гомоцистеина с последующей линеаризацией (рис. 1) позволило оценить кажущуюся  $K_m$  по пероксиду водорода. Значение кажущейся  $K_m$  по пероксиду водорода составило приблизительно 6,5 мкМ (значение  $V_{max}$  для данного конкретного смешанного образца — 45,83 нмоль гомоцистеина/(мин · мг белка)). Полученный результат по кинетическим характеристикам, безусловно, носит лишь ориентировочный и предварительный характер, и его ценность в контексте данного исследования заключается в первую очередь в подтверждении ферментативного характера исследуемого процесса.

Результаты проведенного исследования указывают на ферментативную природу катализа окисления гомоцистеина пероксидом водорода, обусловленного присутствием сыворотки крови. Поскольку уровень расхода гомоцистеина в данной реакции соответствует стехиометрии окисления гомоцистеина по гомоцистеин:  $H_2O_2$ -оксидоредуктазному пути, данный фермент может быть обозначен как гомоцистеинпероксидаза, причем независимо от возможной принадлежности данной активности какому-либо другому белку-ферменту с иными функциями. В связи с этим можно заметить, что данная

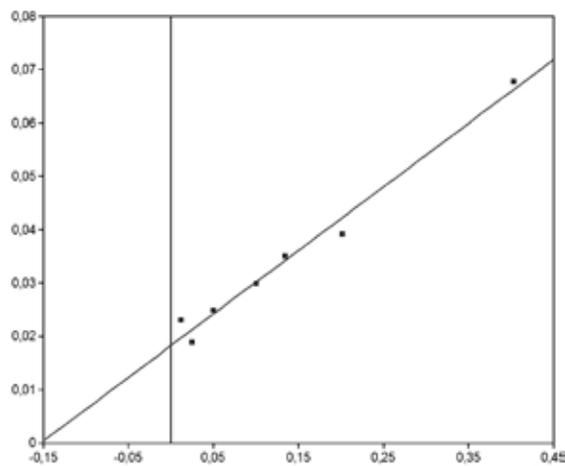


Рис. 1. Зависимость начальной скорости реакции от концентрации пероксида водорода, линеаризованная с использованием двойных обратных координат (начальная концентрация гомоцистеина — 0,25 мМ, содержание белка в реакционной смеси — 1,19 мг/мл).

Ось абсцисс —  $1/[H_2O_2]$ , 1/мкМ; ось ординат —  $1/V_0$ , 1/(мкМ гомоцистеина/мин).

Обозначения:  $[H_2O_2]$  — концентрация пероксида водорода,  $V_0$  — начальная скорость

активность не связана с альбуминовой фракцией<sup>1</sup>, т. е. не является еще одним проявлением тиолпероксидазной активности сывороточного альбумина, обнаруженной ранее с использованием гидроперекиси фосфолипида [4].

Изучение обнаруженной активности в контексте медицинских исследований представляется весьма важным, поскольку может способствовать выяснению причин гипергомоцистеинемии и возможностей коррекции данного патологического состояния. Свободная SH-форма, устраняемая в гомоцистеинпероксидазной реакции, является предшественником гомоцистеинтиолактона, считающегося одной из наиболее токсичных форм гомоцистеина [1]. По различным данным, всего 1–2,5% общего гомоцистеина плазмы крови находится в виде свободной SH-формы, тогда как основную долю циркулирующего гомоцистеина составляют окисленные формы, главным образом связанные с белками [1, 10, 11]. Не исключено, что гомоцистеинпероксидазная активность вносит определенный вклад в поддержание низкой концентрации свободной SH-формы гомоцистеина, образуя его дисульфидную форму и тем самым препятствуя ее превращению в гомоцистеинтиолактон. В случае нарушения утилизации гомоцистеина по гомоцистеинпероксидазному пути можно предполагать усиление токсических эффектов гипергомоцистеинемии.

<sup>1</sup> Альбумины сыворотки крови выпадают в осадок лишь при высоком насыщении сульфатом аммония, и в настоящем исследовании интенсивное образование преципитата, соответствующего альбуминовой фракции, наблюдалось только в результате более чем 60%-го насыщения.

Автор выражает благодарность руководителю лаборатории биохимии профессору А. В. Арутюняну, врачам лабораторной диагностики Ж. Н. Тумасовой и Н. М. Булдаковой за содействие в проведении данного исследования и руководителю отдела биохимии СПбГМУ им. И. П. Павлова, профессору А. А. Жлобе за полезные рекомендации.

#### Литература

1. Жлоба А. А. Лабораторная диагностика при гипергомоцистеинемии // Клинико-лабораторный консилиум. 2009; 1 (26): 49–60.
2. Herrmann W., Obeid R. Homocysteine: a biomarker in neurodegenerative diseases // Clin. Chem. Lab. Med. 2011; 49 (3): 435–441.
3. Ueland P. M., Vollset S. E. Homocysteine and Folate in Pregnancy // Clinical Chemistry. 2004; 50 (8): 1293–1295.
4. Hurst R., Bao Y., Ridley S., Williamson G. Phospholipid hydroperoxide cysteine peroxidase activity of human serum albumin // Biochem. J. 1999; 338: 723–728.
5. Разыграев А. В. Активность плазмы крови, устраняющая го-моцистеин с участием пероксида водорода. Перспективы исследования // Клинико-лабораторный консилиум. 2011; 2 (38): 105–108.

6. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999: 459.

7. Burgess R. R. Protein Precipitation Techniques // In: Methods in Enzymology (Burgess R. R. and Deutscher M. P. eds.). Academic Press, 2009: 332–337.

8. Riddles P. W., Blakeley R. L., Zerner B. Ellman's Reagent: 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic Acid) — a Reexamination // Analyt. Biochem. 1979; 94 (1): 75–81.

9. Dawson R. M. C., Elliott D. C., Elliott W. H., Jones K. M. Data for biochemical research (third edition). Oxford: Oxford Science Publications, OUP, 1986: 580.

10. Jacobsen D. W. Cellular mechanisms of homocysteine pathogenesis in atherosclerosis // Homocysteine in Health and Disease (Carmel R. and Jacobsen D. W. eds.). New York: Cambridge University Press, 2001: 510.

11. Madonna R., De Caterina R. Homocysteine and Endothelial Dysfunction // In: Endothelial Dysfunctions and Vascular Disease (De Caterina R. and Libby P. eds.). Blackwell Publishing, 2007: 129–139.

#### Данные для корреспонденции:

Разыграев Алексей Вячеславович, к. б. н.,

научный сотрудник лаборатории биохимии с клинико-диагностическим отделением

НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН,

199034 Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3;

тел.: (812) 328-98-05, факс: (812) 328-23-61, e-mail: alexeyrh@mail.ru



#### ПО ВОПРОСАМ СОТРУДНИЧЕСТВА ПРОСИМ ОБРАЩАТЬСЯ:

- ПУБЛИКАЦИЯ МАТЕРИАЛОВ  
в научно-практическом журнале  
«Клинико-лабораторный консилиум»

**Эмануэль Владимир Леонидович**

Тел. 8-905-229-60-22,

e-mail: ejvcons@mail.ru

- РЕКЛАМНЫЙ ОТДЕЛ:

**Венкович Татьяна Анатольевна**

**Морозова Ирина Александровна**

Тел./ф: (812) 600-22-74,

e-mail: akvatest@mail.ru

## ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ В МЕДИЦИНЕ

**В. А. ДЮК, А. А. КОНЧАКОВ**

Санкт-Петербургский институт информатики и автоматизации РАН, Санкт-Петербург

**Резюме.** *Анализируется системная сложность медицины и рассматривается специфика медицинских данных, которые используются при создании диагностических моделей. Особо обращается внимание на современную концепцию «русел и джокеров», которая зародилась в среде специалистов по синергетике и определяет особенности построения моделей для объектов со сложной системной организацией. Описываются современные подходы интеллектуального анализа данных (Data Mining) к построению диагностических моделей. Отмечается, что обилие различных подходов, методов и алгоритмов апеллирует к вопросу о способах оценки их эффективности, которые должны учитывать специфику конкретных предметных областей. Дается характеристика известным способам оценки эффективности диагностических моделей, основанным на анализе таблиц сопряженности (ошибка классификации, чувствительность и специфичность модели) и на анализе кривой ошибок (ROC-кривой). Рассматриваются современные подходы к оценке качества моделей в медицине, в частности, основанные на концентрированной кривой ошибок (CROC). В качестве оценки эффективности диагностической модели, удовлетворяющей тезису о необходимости точной диагностики в медицине, предлагается использовать значение полноты модели, при которой ее точность не ниже заданного граничного значения.*

**Ключевые слова:** медицина, диагностическая модель, оценка эффективности.

## DIAGNOSTIC MODELS IN MEDICINE

**V. A. DUK, A. A. KONCHAKOV**

Saint-Petersburg Institute of Informatics and automatization, Russian academy of sciences, Saint-Petersburg

**Summary.** *Analysis of systemic complexity in medicine is performed. Specificity of medical data used in diagnostic models is discussed. Special attention is driven to modern concept of «channels and jokers», which was born among the synergetics specialists and determines peculiarities of models construction for objects with complex systemic organization. Modern approaches to intellectual Data Mining and construction of diagnostic models are described. Lots of different approaches, methods and algorithms leads to the necessity of the efficacy evaluation. This evaluation should take into attention the specificity of different fields. The article discusses known methods of evaluation of diagnostic models efficacy. The role of contingency tables (classification mistake, sensitivity and specificity of model) and curve of mistakes analysis are also discussed. The article also concerns modern approaches to models quality evaluation in medicine, including those based on concentrated curve of mistakes (CROC). For evaluation of diagnostic model efficacy which can be used for precise diagnostics in medicine and follows necessary criteria we can use the “complexity of model” index. In this case the accuracy should not be lower the borderline index.*

**Key words:** medicine, diagnostic model, evaluation of efficacy.

### 1. Системная сложность объектов медицины

Медицина, как и многие другие науки, опирается в своем развитии на эмпирические данные, их анализ и обобщение. Информационный прорыв в медицине начался с середины двадцатого века, когда технические средства стали предоставлять исследователям все возрастающий поток данных об объектах исследования. В конце прошлого века в связи со стремительным совершенствованием микроэлектроники и компьютерной техники этот поток стал подобен лавине.

Возрастание потока информации поставило много новых и дополнительных вопросов о методах ее обра-

ботки. С позиций специалистов по прикладной статистике в задачах исследования живых систем, как в фокусе, оказались сконцентрированы практически все проблемы анализа данных. При решении задачи поиска взаимосвязи комплекса измерений с целевыми переменными (диагностическими или прогностическими) обращает на себя внимание ряд особенностей анализируемых данных [1]:

- Высокая размерность данных;
- Разнотипность данных;
- Неопределенность исходного описания;
- Нечеткость внешних критериев;

- Большое количество «шумящих» и дублирующих признаков;
- Неоднородность классов объектов;
- Пропущенные значения;
- Резко отклоняющиеся значения (выбросы);
- Количество признаков может значительно превышать число объектов;
- Общая и структурная асимметрия классов объектов исследований;
- Наличие русел и джокеров разной, заранее неизвестной структуры с неизвестной локализацией.

Особо отметим современную концепцию «русел и джокеров», которая зародилась в среде специалистов по синергетике и определяет особенности построения моделей для объектов со сложной системной организацией [2]. Применительно к задачам анализа данных «русла» представляют собой подпространства общего пространства описания объектов, в которых можно построить модели, с высокой точностью отражающие устойчивые взаимосвязи в данных. «Джокеры» — области пространства описания, где следует ждать неожиданностей и полагаться на случай. Поиск «русел» и «джокеров» связан с огромным перебором в исходном пространстве описания возможных подпространств и моделей.

Специфика медицинских данных обусловила отнесение задачи разработки и развития методов анализа таких данных к разряду важнейших факторов решения фундаментальных проблем медицины.

Поиск, описание и структурирование закономерностей в данных о системно сложных объектах требуют особых математических подходов, а также критериев оценки диагностических и прогностических моделей. Наиболее активно такие подходы в настоящее время развиваются в рамках направления, получившего название «Data Mining».

## 2. Интеллектуальный анализ данных (Data Mining)

К настоящему времени по теме Data Mining написаны десятки книг. Количество статей тоже весьма велико — в поисковике Google в период написания данной статьи на это словосочетание выдавалось примерно 28 500 000 ссылок. Кратко охарактеризуем основные аспекты этого обширного направления в анализе данных.

В связи с совершенствованием технических средств для получения, записи и хранения информации на специалистов обрушились колоссальные объемы разнородных данных. Вместе с тем, традиционная математическая статистика оказалась не способной обеспечить продуктивное решение ряда актуальных задач из различных предметных областей (поиск закономерностей в многомерных данных, построение диагностических и прогностических моделей, выявление сложных неперiodических паттернов в динамических рядах и др.). Одна из причин — концепция усреднения по выборке, приводящая к операциям над фиктивными величинами. Кроме того, практически отсутствуют аналитические кри-

терии для оценки достоверности взаимосвязей и регулярностей в многомерных данных и др.

Направление Data Mining родилось как ответ на сложившуюся проблемную ситуацию. В настоящее время термин «Data Mining» (раскопка данных) является синонимом появившегося в 1989 году термина «обнаружение знаний в базах данных» (Knowledge Discovery in Databases — KDD). В русском языке область, очерченная вышеупомянутыми терминами, нередко обозначается словосочетанием «Интеллектуальный анализ данных» (ИАД).

Исходное определение дал наш бывший соотечественник Григорий Пятецкий-Шапиро:

«Data mining — это процесс обнаружения в сырых данных ранее неизвестных нетривиальных практически полезных и доступных интерпретации знаний, необходимых для принятия решений в различных сферах человеческой деятельности» (G. Piatetsky-Shapiro).

В настоящее время Data Mining существует в двух ипостасях. Ряд специалистов делает акцент на обработке сверхбольших объемов данных. Здесь предъявляются повышенные требования к быстродействию алгоритмов, естественно, в ущерб оптимальности результатов. Другая группа специалистов, к которой принадлежат авторы статьи, в контексте задач медицинской информатики концентрирует внимание на глубине раскопки данных и точности моделей, отражающих связи в данных. В понимании второй группы основные отличия методов Data Mining следующие:

- Data Mining — это многомерные задачи — поиск связи между значением целевого показателя и набором значений группы других показателей базы данных.
- Методы Data Mining способны обрабатывать разнородную информацию, то есть показатели могут быть представлены количественными, качественными и текстовыми переменными.
- Методы Data Mining в отличие от традиционных статистических методов не претендуют на поиск взаимосвязей, характерных для полного объема данных (всей выборки). Ищутся правила, связывающие значения показателей, для подвыборки данных (см. выше «Русла» и «Джокеры»). При этом правила всегда высокоточные, а не «размытые» по всей выборке, общие и неточные статистические тенденции.
- Алгоритмы Data Mining производят поиск указанных выше подвыборки данных и точных взаимосвязей для этих подвыборки в автоматическом режиме.

Таким образом, ключевые слова Data Mining — точность, многомерность, разнотипность данных, автоматический поиск. Здесь, конечно, еще нужно добавить важное требование интерпретируемости получаемого результата, особенно актуальное для медико-биологических исследований.

Методы ИАД имеют много общего с методами решения задач классификации, прогнозирования, диагностики и распознавания образов. Но одной из их главных отличительных черт, как отмечалось выше, является функция интерпретации закономерностей, кладущихся в основу правил вхождения объектов в классы эквивалентности. Поэтому здесь большое распространение получили логические методы.

Другие методы ИАД для построения диагностических и прогностических моделей имеют менее прозрачную интерпретацию. Сюда относятся, например, байесовские классификаторы, дискриминантный анализ, нейросетевой подход, метод ближайших соседей, метод опорных векторов, генетические алгоритмы и др. Как показала практика последнего десятилетия, в ряде задач требование интерпретируемости результатов стало отступать на задний план. Акцент стал делаться на стабильности получаемых решений. На передний план начали выходить методы работы с комитетами, содержащими сотни и тысячи методов и алгоритмов. Как выяснилось, подобные комитеты (часто создаваемые с помощью процедур бустинга и эбгинга), состоящие даже из «слабых» алгоритмов, способны превосходить по точности изолированные «сильные» алгоритмы, нацеленные на поиск глубоких закономерностей в массивах данных. Эта тенденция современного ИАД нуждается в самостоятельном рассмотрении.

В целом, как было отмечено выше, в области интеллектуального анализа данных за последнее десятилетие произошли существенные изменения. Слово «интеллектуальный» теперь, скорее, нужно воспринимать в контексте автоматического построения классифицирующих и прогнозирующих моделей. Поиск индивидуально сильных методов и алгоритмов для основной массы специалистов ИАД стал не столь привлекательным — их интересы сместились в сторону умений работать с большими коллективами «слабых» методов и алгоритмов.

Вместе с тем, проблема построения «сильных» моделей, на наш взгляд, не потеряла своей актуальности. Очевидно, сильные модели более пригодны для интерпретации и объединяются в менее громоздкие коллективы для достижения эффективных результатов в задачах классификации и прогнозирования.

Обилие различных подходов, методов и алгоритмов апеллирует к вопросу о способах оценки их эффективности, которые, по-видимому, должны учитывать специфику конкретных предметных областей. Ниже мы рассмотрим различные оценки с позиций их адекватности задачам и системной сложности объектов медицинской диагностики.

### 3. Базовые оценки эффективности диагностических моделей

Задача диагностики заключается в разбиении множества объектов на классы. Мы будем рассматривать случай, когда количество классов равняется двум. Для

удобства, так как рассматривается задача медицинской диагностики, назовем эти классы «Больные» и «Здоровые».

Диагностическая модель, которая создается с применением различных математических методов, осуществляет отображение  $\varphi: X \rightarrow Y$ , где  $X$  — множество описаний объектов,  $Y$  — конечное множество номеров (имен, меток) классов. Диагностическая модель строится на обучающем (тренировочном) множестве объектов, и ее обобщающая способность оценивается на тестовом (контрольном) множестве с помощью известных процедур стратификации и различных вариантов перекрестной проверки [3, 4].

Часто исходная информация для оценки качества диагностической модели представляется в виде четырехпольной таблицы сопряженности (табл. 1). В этой таблице используются следующие обозначения:

- TP (True Positives) — верно классифицированные положительные примеры;
- TN (True Negatives) — верно классифицированные отрицательные примеры;
- FN (False Negatives) — положительные примеры, классифицированные как отрицательные (ошибка I рода);
- FP (False Positives) — отрицательные примеры, классифицированные как положительные (ошибка II рода).

**Таблица 1. Таблица проверки качества диагностической модели**

Модель	Фактически	
	Болен	Здоров
Болен	TP (верно отнесен к классу «Болен»)	FP (Ошибка второго рода)
Здоров	FN (Ошибка первого рода)	TN (Верно отвергнута болезнь)

Ошибки первого и второго рода являются взаимно-симметричными. Если поменять местами классы, то ошибки первого рода превратятся в ошибки второго рода и наоборот. Тем не менее, в контексте диагностики какого-либо заболевания наиболее часто используется вышеприведенная форма таблицы.

Для оценки эффективности диагностической модели используются следующие показатели:

Ошибка классификации:

$$P_e = \frac{FP+FN}{TP+TN+FP+FN}$$

Доля истинно положительных примеров в процентах (True Positives Rate):

$$TPR = \frac{TP}{TP + FN} 100\%.$$

Доля ложно положительных примеров в процентах (False Positives Rate):

$$FPR = \frac{FP}{TN + FP} 100\%.$$

В медицине распространено применение оценок «чувствительности» и «специфичности»:

- Чувствительность модели Se совпадает с TPR;
- Специфичность модели Sp определяется как  $(100 - FPR)$ .

Модель с высокой чувствительностью часто дает истинный результат при наличии заболевания. Наоборот, модель с высокой специфичностью чаще дает истинный результат при отсутствии заболевания. Таким образом, в медицине рассматриваемые показатели имеют следующую интерпретацию:

- чувствительный диагностический тест проявляется в гипердиагностике — максимальном предотвращении пропуска больных;
- специфичный диагностический тест диагностирует только доподлинно больных. Это важно в случае, когда, например, лечение больного связано с серьезными побочными эффектами и гипердиагностика пациентов нежелательна.

Более релевантной оценкой, учитывающей, в частности, встречающуюся асимметрию классов, является, например, величина среднего риска, при расчете которой учитываются стоимости ошибок FP и FN. Вместе с тем, наибольшее распространение в настоящее время получили инвариантные к стоимости ошибок оценки, связанные с построением кривой ошибок.

Кривая ошибок или ROC-кривая (Receiver Operating Characteristic, ROC) — графическая характеристика качества бинарного классификатора, зависимость доли верных положительных классификаций от доли ложных положительных классификаций при варьировании порога решающего правила (рис. 1).

Представление о кривой ошибок предполагает, что диагностическая модель может быть представлена в виде суммы дискриминантной функции  $f(x, w)$  и порога  $w_0$ , где  $w$  — вектор параметров, определяемый по обучающей выборке. При таком представлении изменение значения порога монотонно связано с изменением значений специфичности и чувствительности.

Чем круче кривая изгибается к верхнему левому углу, тем выше качество модели. Наоборот, чем ближе кривая к диагональной прямой, тем модель менее эффективна. Для идеального классификатора график ROC-кривой проходит через верхний левый угол, где доля истинно положительных случаев составляет 100%, а доля ложно положительных примеров равна нулю. Диагональная линия соответствует полностью случайной классификации.

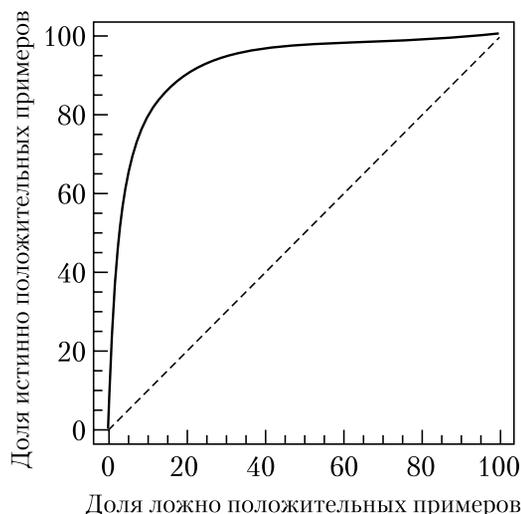


Рис. 1. Кривая ошибок

Распространенная количественная оценка ROC-кривой заключается в расчете площади под кривой AUC (Area Under Curve). Величина этой оценки может меняться от 0 до 1, но обычно говорят об изменениях от 0,5 («бесполезный» классификатор) до 1 («идеальная» модель).

С помощью кривой ошибок нередко решается задача нахождения оптимального порога отсека (optimal cut-off value), значение которого влияет на соотношение чувствительности Se и специфичности Sp. Критерии для выбора порога отражают предпочтения такого соотношения.

#### 4. Новые оценки качества диагностических моделей в медицине

Базовые оценки широко обсуждались и продолжают обсуждаться в научной литературе. Была предложена следующая экспертная шкала для значений AUC [5, 6] (табл. 2).

Таблица 2. Экспертная шкала для значений AUC

Интервал AUC	Качество модели
0,9–1,0	Отличное
0,8–0,9	Очень хорошее
0,7–0,8	Хорошее
0,6–0,7	Среднее
0,5–0,6	Неудовлетворительное

Первая верхняя строчка в таблице 2, по-видимому, интуитивно приемлема с позиций точности для многих задач медицинской диагностики. Вторая строчка в зависимости от формы кривой ошибок, возможно, тоже приемлема. Вместе с тем, с положительными оценками

качества модели в последующих строчках (кроме последней) вряд ли, на наш взгляд, можно согласиться.

Вероятностный подход полезен для описания массовых явлений, где каждый объект рассматривается как реализация некоторой случайной величины и когда требуется отразить в модели общие статистические тенденции того или иного процесса, например, эпидемиологического. Но, если объектом нашего внимания является конкретный человек со своей индивидуальностью, то диагностика у него какого-либо заболевания с вероятностью, скажем, 0,7, — это, мягко говоря, очень «слабый» результат.

«Медицине нужны точные диагностические модели» — данный тезис является основанием для разработки и использования новых критериев оценки таких моделей.

Один из таких новых критериев основан на построении «концентрированной кривой ошибок» (concentrated ROC — CROC). CROC получают монотонным преобразованием, усиливающим начальный участок ROC-кривой, где у моделей относительно невысокий уровень ошибок. Например, в работе [7] предлагаются преобразования следующего вида:

$$f(x) = \frac{1 - e^{-\alpha x}}{1 - e^{-\alpha}}, \quad f(x) = x^{1/(\alpha+1)}, \quad f(x) = \frac{\log(1 + \alpha x)}{\log(1 + \alpha)},$$

где  $\alpha$  — параметр усиления.

Авторы [7] приводят обширный обзор работ, связанных с трансформацией ROC-кривой, и дают ряд выразительных примеров, демонстрирующих полезность CROC для сравнительной визуальной и количественной AUC [CROC] оценки эффективности различных диагностических моделей.

Подходы, основанные на использовании CROC, естественным образом приводят к тому, что решения о принадлежности к диагностируемому классу должны приниматься только для части объектов, попадающих в заданный интервал малых значений FPR. Другая часть объектов диагностируемого класса относится к зоне неопределенности, в которой происходит отказ от принятия решений.

Отказ от принятия решений присущ также ряду случаев, когда невозможно построить кривую ошибок. В этих случаях (например, из-за малых объемов выборок или из-за дискретности откликов модели) объекты не ранжируются по степени принадлежности к диагностируемому классу, и на вопрос о такой принадлежности даются ответы «да» и «не знаю».

Категория «отказ от принятия решений», на наш взгляд, является принципиальной в задачах медицинской диагностики. Она отражает системную сложность объектов медицины, наличие «русел» и «джокеров» в описаниях объектов, о которых говорилось в первой части статьи. Посредством этой категории реализуется принцип: «либо точные решения, либо отказ от приня-

тия решений», удовлетворяющий тезису о необходимости точной диагностики в медицине.

Введение данной категории в диагностическую модель для двух классов (трехальтернативная модель) приводит к построению следующей таблицы сопряженности для представления исходной информации об эффективности диагностики (табл. 3).

**Таблица 3 . Таблица результатов трехальтернативной диагностики**

Модель	Фактически	
	Болен	Здоров
Болен	TP	FP
Здоров	FN	TN
«Отказ от принятия решения»	RP	RN

Распространенная оценка результатов подобной таблицы в статистической теории принятия решений связана с введением величин потерь для ошибок и отказов и вычислением функции средних потерь [4]. Вместе с тем, на наш взгляд, более продуктивной для сравнения и наглядной для интерпретации является оценка, основанная на вычислении точности и полноты диагностической модели.

$$P_m = \frac{TP}{TP + FP},$$

$$\xi_m = \frac{TP}{TP + FN + RP}.$$

Точность  $P_m$  совпадает с чувствительностью Se и показывает, в какой мере можно доверять диагнозу, сделанному на основе модели. Полнота  $\xi_m$  равна доле больных, которой врач может правильно поставить диагноз, пользуясь данной диагностической моделью. Очевидно, точность и полнота имеют понятную интерпретацию, отражающую клиническую практику.

Адекватной оценкой эффективности диагностической модели, удовлетворяющей тезису о необходимости точной диагностики в медицине, по нашему мнению, может служить значение полноты  $P_m$ , при котором точность  $\xi_m$  не ниже заданного граничного значения  $\xi_{гр}$ . При сравнении различных моделей или при подборе параметров какой-либо модели предпочтение отдается варианту с максимальной полнотой  $P_m$  и  $\xi_m \geq \xi_{гр}$ .

Предлагаемая оценка эффективности диагностической модели на основе полноты и точности близка по смыслу к оценкам на основе концентрированной кривой ошибок CROC, но имеет более широкую область применения, так как включает ситуации, когда кривую

ошибок по тем или иным причинам невозможно построить.

## 5. Выводы

Основной тезис данной работы, служащий предпосылкой для разработки новых оценок эффективности диагностических моделей, — «медицине нужны точные диагностические модели». В задачах медицинской диагностики нередко бывает правильнее отказаться от принятия решения для определенной доли объектов, чем ставить сомнительные диагнозы. Поэтому оценка эффективности диагностической модели должна учитывать категорию «отказ от принятия решения».

В качестве оценки эффективности диагностической модели, удовлетворяющей тезису о необходимости точной диагностики в медицине, предлагается использовать значение полноты модели, при которой ее точность не ниже заданного граничного значения.

### Данные для корреспонденции:

Дюк Вячеслав Анатольевич, ведущий научный сотрудник,  
Санкт-Петербургский институт информатики и автоматизации РАН,  
e-mail: duke@gmail.com

## Литература

1. Дюк В. А., Эмануэль В. Л. Информационные технологии в микро-биологических исследованиях. СПб.: Питер, 2003: 525.
2. Малинецкий Г. Хаос. Тупики, парадоксы, надежды // Компьютерра. 1998: 47.
3. Эфрон Б. Нетрадиционные методы многомерного статистического анализа. М.: Финансы и статистика, 1988: 263.
4. Айвазян С. А., Буштабер В. М., Енюков И. С., Мешалкин Л. Д. Прикладная статистика. Классификация и снижение размерности. М.: Финансы и статистика, 1989: 607.
5. Hanley J. A., McNeil B. J. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve // Radiology. April 1982; 143 (1): 29–36.
6. Zweig M. H., Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: A fundamental evaluation tool in clinical medicine // Clinical Chemistry. April 1993; 39 (4): 561–577.
7. Swamidass S. J., Azencott C., Daily K., Baldi P. A CROC stronger than ROC: measuring, visualizing and optimizing early retrieval // Bioinformatics. 2010; 26 (10): 1348–1356.

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](http://www.kostaprint.ru)

## КОНСИЛИУМ У ПОСТЕЛИ БОЛЬНОГО

### ОБЗОР СИНДРОМОВ МИКРОДЕЛЕЦИЙ, ПРОТЕКАЮЩИХ С СИМПТОМАТИЧЕСКОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ

М. А. БУЛАТНИКОВА<sup>1</sup>, А. А. ВАСИЛИШИНА<sup>1, 2</sup>, Е. А. КОТЕЛЕВСКАЯ<sup>1, 2</sup>, В. И. ЛАРИОНОВА<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Клиника ООО «Покровский банк стволовых клеток»

<sup>2</sup> СЗГМУ им. И. И. Мечникова

**Резюме.** Представление о синдромах микроделеций и микродупликаций как одной из ведущих причин умственной отсталости, задержки психомоторного и речевого развития стало общепризнанным. В настоящее время синдромы микроделеций и микродупликаций также являются наиболее исследованной причиной аутизма и расстройств аутистического спектра. Таким образом, поражение нервной системы обычно является ведущим проявлением известных синдромов микроделеций. В то же время проблеме хромосомных микроперестроек как причине тяжелых эпилептических синдромов младенчества и детства уделялось недостаточное внимание. За последнее десятилетие представления о синдромах микроделеций и микродупликаций пополнились описаниями множества новых синдромов, некоторые из которых являются единичными наблюдениями. Вместе с тем были значительно расширены представления о клинических проявлениях уже известных синдромов хромосомных микроделеций. Было показано, что тяжелое течение симптоматической эпилепсии для некоторых из синдромов микроделеций является характерным. В других случаях синдромы хромосомных микроделеций осложняются эпилепсией, но при этом течение эпилептического синдрома имеет отличительные особенности. Освещены наиболее распространенные синдромы микроделеций, в структуре которых симптоматическая эпилепсия может принимать тяжелое течение или имеет особенности, значимые для клинического этапа диагностики. Предлагается обзор современного состояния методов диагностики. Более детально рассмотрены особенности течения эпилепсии у больных синдромом 1p36. Приведены клинические примеры известных синдромов микроделеций с симптоматической эпилепсией, с обоснованием выбора метода диагностики.

**Ключевые слова:** микроделеция, хромосомные микроперестройки, симптоматическая эпилепсия, 1p36, 17p21, 2p37, FISH, MLPA, arrayCGH.

## CONSILIUM AT PATIENT'S WARD

### REVIEW OF MICRODELETIONS SYNDROMS WITH SYMPTOMATIC EPILEPSY

M. A. BULATNIKOVA<sup>1</sup>, A. A. VASILISHINA<sup>1, 2</sup>, E. A. KOTELEVSKAYA<sup>1, 2</sup>, V. I. LARIONOVA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Clinic "Stem cells bank Pokrovski"

<sup>2</sup> State Budget Educational Institution of Higher Professional Education "North-West Medical University" Ministry for Health Care and Social Development, Saint-Petersburg

**Summary:** Consideration about microdeletions and microduplications syndromes as one of the leading causes of mental retardation, delay of psychomotoric and speech development is now recognized by all scientists. Nowadays microdeletions and microduplications syndromes are the most well known cause of autism and autism-related disorders. Thus, affection of nervous system is usually the main manifestation of known microdeletions syndromes. At the same time not much attention is paid to the role of chromosome microchanges as a cause of severe epileptic syndromes in infancy and childhood. During last decade multiple new syndromes were described and consideration about clinical manifestation of known microdeletions syndromes became much wider. It was shown that for some syndromes typical is the severe course of symptomatic epilepsy. In others epilepsy becomes a complication only in some cases, but course of the epileptic syndrome has some specific peculiarities. The article discusses the most frequent microdeletions syndromes in which symptomatic epilepsy can have either severe course of some clinically significant peculiarities important in diagnostic process. The article presents the review of modern diagnostic methods. More detailed description is given for peculiarities of epilepsy course in patients with syndrome 1p36. Clinical examples of known microdeletions syndromes with symptomatic epilepsy are given. In all cases choice of diagnostic methods is discussed.

**Key words:** microdeletion, chromosomes microchanges, symptomatic epilepsy, 1p36, 17p21, 2p37, FISH, MLPA, arrayCGH.

Синдромы микроделений и микродупликаций — хромосомные микроперестройки протяженностью менее пяти мегабаз, то есть делеции и дупликации, не определяемые при стандартном кариотипировании [1]. Они являются одной из ведущих причин умственной отсталости и задержки психомоторного и речевого развития [1, 2]. Это также наиболее исследованная причина аутизма и расстройств аутистического спектра [3]. Известны синдромы микроделений и микродупликаций, выступающие причиной задержки физического развития, дисплазии соединительной ткани, специфических ортопедических расстройств, ускоренных темпов роста, других эндокринных нарушений, синдрома вялого ребенка, множественных пороков органов и систем органов, пороков головного мозга [1–3]. Несмотря на то, что поражение нервной системы обычно является ведущим проявлением классической хромосомной патологии, синдромы *хромосомных микроперестроек* редко рассматриваются эпилептологами в качестве возможной причины тяжелых эпилептических синдромов младенчества и детства. Между тем, еще в 2002 году, по данным исследования, охватившего 400 наблюдений хромосомных изменений, в том числе микроделений и микродупликаций, у больных, страдающих симптоматической эпилепсией, было выявлено по крайней мере восемь хромосомных заболеваний, ассоциированных с тяжелым течением симптоматической эпилепсии: синдром Вольфа–Хиршхорна (делеция короткого плеча четвертой хромосомы), делеции субтеломерной области 17p13.3, в том числе случаи синдрома Миллера–Дикера, синдром Ангельмана, субтеломерные делеции 1pter и 1qter, кольцевые хромосомы 14 и 20 [5]. За последнее десятилетие представления о синдромах микроделений и микродупликаций значительно возросли, дополнившись описаниями новых синдромов, часть из которых представлена единичными наблюдениями. Представления об уже известных синдромах хромосомных микроделений также были значительно расширены. Среди новых синдромов микроделений, ассоциированных с симптоматической эпилепсией, следует отметить микроделецию региона 15q13.3, 2p37.1, 17q21.31 и 16p11 [6–8]. Известно, что от 20 до 40% случаев кардио-вело-фациального синдрома, синдрома Смит–Магенис, синдрома Фелан–МакДермид, синдрома Клеффстры также осложняются симптоматической эпилепсией, особенности которой остаются изученными недостаточно [6–7].

Рассматриваются несколько предполагаемых механизмов эпилептогенеза при синдромах микроделений.

1. Нарушение нормальной миграции нейронов в процессе органогенеза и формирования коры головного мозга, ведущее к формированию пороков и микроаномалий строения и микроструктуры коры головного мозга, как диффузного, так и фокального характера. Подобные изменения мы можем наблюдать у больных синдромами микроделений субтеломерных регионов 1p36 и 17p13.3,

а также в части случаев кардио-вело-фациального синдрома [9–13].

2. Нарушение формирования нейрональных ансамблей, роста и формирования должной архитектуры дендритов, синапсов. Предполагается, что такие изменения являются частью патогенетической цепи при синдромах Фелан–МакДермид, Смит–Магенис [11, 13].
3. Нарушение нормальной работы синапса, процессов формирования везикул, экзоцитоза и эндоцитоза. Предполагается как возможный механизм эпилептогенеза при синдроме Смит–Магенис [13].
4. Нарушение структуры и функции рецепторов. Является доказанным изменение чувствительности ГАМК-рецепторных сайтов, взаимодействующих с вальпроатами у больных синдромом Ангельмана. Предполагается роль в эпилептогенезе у больных синдромом 1p36 [14–16].

В последних трех случаях макроструктурные изменения, видимые при проведении МР-исследования, могут отсутствовать.

Установление точных механизмов эпилептогенеза при синдромах микроделений для каждого конкретного заболевания требует дальнейшего изучения.

Ниже будут рассмотрены наиболее распространенные синдромы микроделений, для которых характерна симптоматическая эпилепсия с тяжелым течением, а также особенности течения эпилепсии при этих синдромах.

Синдром Ангельмана — наиболее изученный синдром, ассоциированный с микроделением и выступающий причиной тяжелой фармакорезистентной симптоматической эпилепсии. Поскольку клиническая картина синдрома Ангельмана достаточно подробно рассмотрена в литературе, но, тем не менее, до сих пор имеет место гиподиагностика, мы хотим кратко остановиться преимущественно на имеющих диагностическое значение особенностях эпилептического синдрома при синдроме Ангельмана, а также некоторых возможных причинах диагностических ошибок [15, 17].

Современные критерии клинической диагностики синдрома Ангельмана основаны на исследованиях Williams, который разделил симптомы синдрома Ангельмана на постоянные (более 80% случаев), частые (50–80% случаев) и ассоциированные (30–50%). Важно помнить, что все краниофациальные особенности синдрома Ангельмана в настоящее время относятся к ассоциированным признакам. Признаками первого порядка являются нозоспецифическое поведение больных (частые эпизоды улыбки и смеха, приподнятое настроение), грубая задержка психомоторного развития с отсутствием речи или же грубой дислалией, а также некоторые моторные особенности больных: атаксия, сопровождаемая необычными колебательными движениями туловища вокруг вертикальной оси при сидении и ходьбе; движения рук, напоминающие тремор, стереотипии

взмахов рук, хлопков при эмоциональном возбуждении [15–16].

Симптоматическая эпилепсия относится к частым проявлениям синдрома [15–17, 18]. Наиболее характерными типами припадков являются атипичные абсансы и атоничные абсансы. Могут встречаться у больных и другие типы припадков — тонические, тонико-клонические, фокальные. Наиболее характерными ЭЭГ паттернами синдрома Ангельмана являются высоковольтная трехфазная активность с высоким индексом, производящая впечатление штампованной, и высоковольтная активность пик — медленная волна с частотой около 2 Гц, преобладающая во фронтальных или фронтальных и окципитальных отведениях. Данные два паттерна могут сменять друг друга на протяжении записи [16–18]. Схожий со вторым типом паттерн эпилептиформных изменений может наблюдаться при эпилептической энцефалопатии Леннокса–Гасто, для которой также характерна тяжелая задержка или даже регресс психомоторного развития и наличие атипичных, атонических абсансов в сочетании с тоническими припадками. Это может послужить причиной диагностических ошибок, вероятность которых увеличивается вследствие того, что особенности поведения, характерные для синдрома Ангельмана, на фоне массивной антиэпилептической терапии могут приобретать стертый характер. Препараты бензодиазепинового ряда — клоназепам и клобазам являются препаратами выбора при резистентности к препаратам первой линии. Такая резистентность наблюдается достаточно часто и обусловлена изменением свойств ГАМК А рецептора по отношению к препаратам вальпроевой кислоты [15–16, 18].

Среди обусловленных субтеломерными микроделециями синдромов наиболее распространенным является синдром микроделеции области 1р36. По современным данным, частота микроделений в данной области составляет 1 на 5000 живых новорожденных. Субтеломерные делеции 1р36 различной протяженности и локализации выявляются у 0,5–1,2% больных с задержкой психомоторного развития и неспецифической умственной отсталостью [19–20]. Клинические проявления микроделеции 1р36 отличаются широким полиморфизмом. Наиболее характерными признаками являются тяжелая задержка психомоторного развития и тяжелое или умеренное слабоумие, отсутствие речи или использование отдельных слов, характерный комплекс краниофациальных аномалий, пороки сердца, пороки развития головного мозга, множественные пороки внутренних органов, мышечная гипотония, и в 50% случаев симптоматическая эпилепсия, часто с ранним дебютом и тяжелым течением. Характерными особенностями габитуса детей являются низкий рост, диспластичное телосложение, короткие нижние конечности, брахиоцефалия, микроцефалия, выступающие лобные бугры, прямая линия бровей, глубоко посаженные глаза, умеренный птоз, широкое и плоское основание спинки носа, низко посажен-

ные уши, часто выступающие или необычной формы, с редуцированной мягкой мочкой, удлинненный фильтр, тонкая верхняя губа. Характерен крупный, поздно закрывающийся передний родничок [19–20].

Имеются данные о различиях в проявлениях краниофациальных аномалий у больных с дистальными и проксимальными делециями 1р36. У больных с делециями, захватывающими исключительно дистальные отделы субтеломерной зоны 1р36, практически всегда имеет место микроцефалия, более ярко выражены классические признаки: прямые брови, атрофия мягкой мочки и выступающий подбородок. Выступающие лобные бугры и широкий родничок могут отсутствовать. При проксимальных делециях характерна голова брахиоцефалической формы, часто с нормальной окружностью, ушные раковины диспластичны, низко посажены, имеют необычную форму, которая может варьировать [19–20].

У детей с делецией 1р36 могут наблюдаться кардиомиопатия, пороки желудочно-кишечного тракта, в том числе пилорический стеноз, атрезия или неправильное положение ануса, различные пороки почек, пилорический стеноз, гастроэзофагеальный рефлюкс, пороки развития мочеполовой системы и наружных гениталий и другие пороки внутренних органов и скелетно-мышечной системы. К более редким симптомам относятся снижение слуха, глазные болезни, сколиоз, изменение формы грудной клетки, дополнительные ребра, брахикамптодактилия [19–20].

К характерным особенностям МРТ головного мозга относятся смешанная заместительная гидроцефалия с расширенными желудочками головного мозга, изменения лобно-височной коры, напоминающие атрофические. Могут наблюдаться единичные или множественные участки фокальной кортикальной дисплазии, битемпоральная полимикрогирия [9, 11, 19].

По данным одного из исследований, направленного на изучение особенностей течения симптоматической эпилепсии у больных с субтеломерными микроделециями 1р36 и включающего клинические наблюдения синдрома 1р36 у 51 пациента, эпилепсия наблюдалась у 23 больных (58,2%). Средний возраст дебюта ее составил 2,75 года. Наиболее часто эпилепсия манифестировала сложными фокальными, миоклоническими и тоническими приступами. У 20 пациентов (21,9%) эпилепсия протекала в форме симптоматической эпилептической энцефалопатии Веста (инфантильные спазмы, гипсаритмия). У всех больных данной группы, кроме двух, лечение высокими дозами оральных стероидов было эффективно, что выражалось в ремиссии или существенном снижении частоты приступов, у двух пациентов наблюдалась фармакорезистентность. 20,9% пациентов страдали фармакорезистентной эпилепсией с полиморфными приступами: тоническими и тонико-клоническими в сочетании с миоклоническими приступами, атоническими, атипичными и астатическими

абсансами. На ЭЭГ у этих больных были зарегистрированы как фокальные, так и мультифокальные и генерализованные разряды в форме пиков, спайков, полиспайков, также в ряде случаев наблюдались необычные паттерны фоновой активности. В другом исследовании, включавшем группу из 24 больных с установленными микроделециями в 1p36 регионе, было выявлено, что у 80% больных с симптоматической эпилепсией наблюдались инфантильные спазмы и паттерн гипсаритмии на ЭЭГ, т.е. симптоматический синдром Веста [11, 19–21].

Характерными МРТ-находками для больных симптоматической эпилепсией с делецией субтеломерной области 1p36 являются двухсторонняя перисильвиарная полимикрогирия и перивентрикулярная узловатая гетеротопия, а также аномалии строения левого бокового желудочка [9, 11, 19].

Имеются данные о связи делеции гена, кодирующего субъединицы вольтаж-зависимых калиевых каналов (KCNAВ2), с наличием и типом течения симптоматической эпилепсии. Делеции области, включающей KCNAВ2, ассоциированы с ранним дебютом эпилепсии и тяжелым течением. В частности, только у больных с делециями KCNAВ2 выявлено течение в форме эпилептической энцефалопатии Веста. Также предполагается возможная роль в патогенезе тяжелых форм эпилепсии гена KCNA2A, кодирующего дельта субъединицу дельта ГАМК-рецептора (GABBRD) [14, 16, 22].

Таким образом, хотя эпилепсия не является постоянным симптомом микроделеции 1p36, но она наблюдается у более чем половины больных и, как правило, приобретает тяжелое течение.

Сочетание частых приступов или эпилепсии, протекающей по одному из вариантов эпилептической энцефалопатии, с пороками сердца и кардиомиопатией формирует замкнутый круг, когда один синдром приводит к постепенной декомпенсации другого, а возможности врача в выборе препаратов жестко ограничены имеющимися противопоказаниями. Следовательно, ведение больного с эпилепсией, обусловленной синдромом 1p36, должно проводиться группой специалистов с учетом всех особенностей синдрома и при максимально полном контроле над функциями внутренних органов. Кроме того, следует подчеркнуть необходимость ранней лабораторной диагностики синдрома 1p36 до появления многих характерных клинических признаков, формирующихся в более позднем возрасте, таких как длинные прямые брови, глубоко посаженные глаза, низкорослость. Поэтому при наличии множественных стигм дисэмбриогенеза, в том числе краниофациальных аномалий, необходимо обследование ребенка на наличие делеции в области 1p36.

Специфических протоколов лечения симптоматической эпилепсии при синдроме 1p36 не разработано, и для уточнения как особенностей течения, так и чувствительности к противозэпилептическим препаратам

этой когорты больных требуются дополнительные исследования [19–20].

Микроделеция 17q21.31 захватывает субтеломерную зону короткого плеча 17-й хромосомы и характеризуется задержкой психомоторного и психоречевого развития, классической лиссенцефалией и ее abortивными формами — пороками головного мозга с нарушением структуры коры головного мозга и взаиморасположения слоев. Идентифицирована связь протяженных делеций 17q21.31 с синдромом Миллера–Дикера, описанным впервые Миллером еще в 1963 г. [9, 10, 23].

Классический фенотип больных синдромом Миллера–Дикера включает микроцефалию, выступающий затылок, узкий лоб, маленький узкий нос, гипоплазию средней порции лица, тонкую верхнюю губу, маленький подбородок. Дальнейшие исследования показали другие возможные варианты фенотипа больных. Следует обратить внимание на часто встречающуюся форму, характеризующуюся высоким лбом и выступающими лобными буграми, коротким, но широким носом с развернутыми вперед ноздрями [23].

Около 90% больных с клинической картиной синдрома Миллера–Дикера характеризуются тяжелой задержкой психоречевого развития, и только около 10% легкой или умеренной степенью интеллектуальных нарушений. Речь отсутствует в 75% случаев, в 25% ограничена отдельными словами. При синдроме Миллера–Дикера возможна постепенная смена мышечной гипотонии спастическим тетрапарезом, охарактеризованы варианты с ранним формированием спастического паралича. Синдром Миллера–Дикера — одна из известных редких причин симптоматического синдрома Веста [9, 23].

Делеции малого объема могут проявляться лиссенцефалией или пахигириями без характерных для синдрома Миллера–Дикера краниофациальных микроаномалий. Случаи изолированной лиссенцефалии, ее abortивных форм и иные фенотипические варианты микроделеций данной субтеломерной области имеют варибельные проявления, как в отношении степени задержки психомоторного развития, так и тяжести эпилепсии и характера ассоциированных расстройств и краниофациальных микроаномалий [23].

В ходе последующих исследований было показано, что лиссенцефалия и ее abortивные формы обусловлены делециями, захватывающими ген LIS1, отвечающий за этапы миграции нейронов, необходимые для формирования нормальной структуры коры головного мозга. Классическая лиссенцефалия также может быть обусловлена мутациями и делециями внутри гена LIS1, мутация гена LIS1 является следующим этапом, при отсутствии делеций с захватом всего гена [9, 10, 23].

Симптоматическая эпилепсия осложняет течение до 58% установленных случаев микроделеций области 17p.13.1. Возраст дебюта и течение эпилепсии варьируют в широких пределах от единичных приступов в те-

чение жизни до тяжелых случаев эпилептических энцефалопатий (включая синдром Веста с классической гипсаритмией) с ранним началом в первые месяцы жизни ребенка. В настоящее время не установлено специфической чувствительности больных к той или иной группе противосудорожных препаратов, и назначение их проводится в соответствии с типом приступов [23–24].

Интерстициальная делеция 2q.23.1 характеризуется тяжелой задержкой психомоторного развития, фармакорезистентной эпилепсией, расстройствами поведения аутистического спектра. Пациенты часто характеризуются приподнятым фоном настроения, что позволяет изначально ошибочно расценивать эти клинические признаки как проявления синдрома Ангельмана. Частыми находками являются задержка роста, брахидактилия, клинодактилия пятого пальца [23]. Кроме того, имеется также характерный комплекс краниофациальных микроаномалий, который не является патогномичным, так как эти признаки присущи и другим синдромам микроделений, которые протекают с тяжелой ЗПМР. Наиболее характерными особенностями являются брахицефалия, высокий лоб, тонкие аркообразные брови, различные нарушения строения глаз, носа, внутреннего уха, широкий приоткрытый рот. К менее постоянным признакам относятся микроцефалия, плоский затылок, гипоплазия средней порции лица, тонкая верхняя и тонкая и частично-эвертированная нижняя губа, нарушения прикуса, широко расставленные зубы [23].

Симптоматическая эпилепсия осложняет до 98% случаев и имеет тяжелое фармакорезистентное течение [23].

Развитие симптоматической эпилепсии и расстройства аутистического спектра, как и тяжелую задержку психомоторного и психоречевого развития, связывают с делецией гена MBD5. Этот ген играет важную роль в регуляции метилирования ДНК в ЦНС. Следовательно, нарушение его функции ведет к значительным нарушениям регуляции развития ЦНС [8, 23, 24].

Имеются немногочисленные данные о прогрессирующей атаксии и потере приобретенных навыков речи после четырех лет у больных с микроделением 2q23.1 с захватом гена MBD5, что может указывать на течение данного синдрома как нейродегенеративного заболевания [8, 24].

Микроделении в области 17q21.31 проявляются задержкой психомоторного и речевого развития, умственной отсталостью, варьирующей по степени тяжести, а также патогномичным комплексом краниофациальных микроаномалий и, часто, нарушениями скелетно-мышечной системы. 55% случаев сопровождаются симптоматической эпилепсией. Краниофациальные микроаномалии образуют характерный, хорошо распознаваемый в классических случаях симптомокомплекс. Характерны высокий и широкий лоб, глубоко посаженные крупные или, наоборот, выпуклые глаза. Часто на-

блюдается птоз, иногда блефарофимоз. Нос крупный, грушевидный или трубчатый. Также характерны длинный фильтр, тонкая верхняя и инвертированная нижняя губа. Среди ассоциированных с синдромом микроаномалий диагностическое значение имеют тонкие длинные пальцы кисти, в ряде случаев с уменьшением мышечной массы, страбизм, гиперметропия. К характерным поведенческим особенностям больных также относят выраженные экстравертные черты: приветливость, общительность [25–26].

Особенностью течения эпилепсии при 17q21.31 является высокая частота дебюта с фебрильных приступов [25–26].

Изменения со стороны головного мозга при нейровизуализации обычно представлены расширением боковых желудочков, различного характера дисгенезиями мозолистого тела, также сообщается об аномальной структуре *gyrus cyngularis* [25–26].

Показано, что клинические проявления этой микроделении очень схожи с таковыми, которые формируются вследствие мутации гена KANSL1 (также известен под названием KIAA1267), расположенного в локусе 17q21.31. Эти данные легли в основу представления о синдроме 17q21.31 как патогенетически обусловленном недостаточностью экспрессии гена KANSL1 [27–28].

Функции KANSL1 изучены недостаточно. В частности, мутации KANSL1 вызывают ухудшение формирования памяти в экспериментах на *drosophila melanogaster* [27–28].

Микроделении 15q13.3 были первоначально охарактеризованы Sharp в 2008 г., как ассоциированные со снижением когнитивных функций легкой степени тяжести и генерализованной эпилепсией. Дальнейшие исследования показали, что делеции в этой области характеризуются очень широким клиническим полиморфизмом, который проявляется в вариабельности поведенческих нарушений и краниофациальных микроаномалий. Значительный клинический полиморфизм может определяться даже среди членов одной семьи — носителей одной делеции. Делеция 15q13.3 часто является семейной и наследуется преимущественно по материнской линии, что позволяет предполагать, что механизмы наследования этого синдрома изучены недостаточно. Наиболее характерными для синдрома 15q13.3 делеции являются мягкие и умеренные когнитивные нарушения. Выраженные когнитивные нарушения с нарушениями навыков самообслуживания характерны только для делеции в гомозиготном состоянии. В то же время, в настоящее время описаны многочисленные случаи расстройств аутистического спектра, синдрома Аспергера, психоэмоциональных расстройств у носителей этой делеции. Описаны практически все типы эпилептических приступов [6–7].

Отдельного внимания заслуживают особенности течения эпилепсии у больных синдромом Смит–Маге-

нис. Синдром Смит–Магенис — одна из наиболее частых и изученных интерстициальных микроделений, встречающаяся в популяции не реже 1 на 25 000 случаев. Основным диагностическим критерием является ассоциация между задержкой психомоторного и психоречевого развития, патогномичным комплексом краниофациальных микроаномалий, нарушениями ночного сна, нарушениями поведения, часто с элементами аутоагрессии и аутостимуляции, необычными стереотипиями, нарушениями скелетно-мышечной системы и, часто, нарушениями со стороны внутренних органов и органов чувств [28].

Патогномичный комплекс краниофациальных аномалий включает брахицефалию, высокий и широкий лоб с выступающими лобными буграми, глубоко посаженные глаза, гипоплазию средней порции лица, укороченный нос и частично-эвертированную тентообразно нависающую верхнюю губу. Со стороны скелетно-мышечной системы характерны низкий рост, брахидактилия [28–29].

Нарушения ночного сна обычно дебютируют после двух лет. Характерна инверсия нормального циркадного ритма, с фрагментацией ночного сна и эпизодами чрезмерной дневной сонливости. С медианой в этом же возрасте дебютируют расстройства поведения. Среди других возможных осложнений — полинейропатия и снижение слуха, другие болезни ЛОР-органов. Для больных характерен низкий хриплый оттенок голоса.

Симптоматическая эпилепсия осложняет течение не более 25–50% случаев. В то же время до 50% больных синдромом Смит–Магенис при регистрации ЭЭГ характеризуются грубой эпилептиформной активностью. Таким образом, у большой когорты больных синдромом Смит–Магенис регистрируется эпилептиформная активность при отсутствии приступов. Эта особенность детей с синдромом Смит–Магенис напоминает клинко-электрографическую диссоциацию, свойственную синдрому Ангельмана. Возможно, она также может быть полезна в диагностической работе, но в то же время может служить причиной ошибочного диагноза — эпилептическая энцефалопатия, манифестирующая когнитивными расстройствами или расстройствами поведения [28–29].

Таким образом, синдромы микроделений представляют собой гетерогенную группу нозологий, некоторые из которых выступают причиной тяжелой симптоматической эпилепсии, другие осложняются эпилепсией лишь в части случаев, но течение эпилептического синдрома принимает характерные особенности. Учитывая, что синдромы микроделений имеют клинические проявления системного характера, требуется мультидисциплинарный подход в выборе тактики ведения пациента. Необходима ранняя диагностика синдромов микроделений, особенности которых должны быть учтены при назначении противосудорожной терапии и других методов лечения.

## Методы диагностики

### микроструктурных хромосомных перестроек

В настоящее время для диагностики микроделеционных и микродупликационных синдромов используется целый ряд лабораторных методов, включающий цитогенетические, молекулярно-цитогенетические и молекулярно-генетические методы.

Размер микроструктурных перестроек составляет в среднем от 0,5 до 5 мегабаз [30–31] и, следовательно, они не могут быть выявлены при обычном цитогенетическом исследовании, которое проводится на дифференциально-окрашенных метафазных хромосомах. Разрешение при данной степени конденсации хромосом составляет 400–500 бэндов на гаплоидный геном, что позволяет выявлять перестройки размером около 10 мегабаз. Однако ряд синдромов, например, синдром 1p36, может быть обусловлен как микроделениями, так и более протяженными делециями (более 5 мегабаз). Кроме того, для многих микроделеционных синдромов описаны случаи, когда потеря участка хромосомы происходит в результате транслокации. Таким образом, стандартное кариотипирование является необходимым этапом в диагностике данной группы синдромов.

Существуют также высокоразрешающие методы хромосомного анализа: анализ прометафазных и профазных хромосом. Уровень разрешения данных методов может достигать 1000 бэндов на гаплоидный геном, что позволяет выявлять делеции и дупликации протяженностью от 3–4 мегабаз [30–31]. Однако кариотипирование высокого разрешения является довольно трудоемким, требует специальных навыков и мало используется в рутинной практике.

Одним из основных методов диагностики микроструктурных перестроек является FISH-анализ (флуоресцентная гибридизация *in situ*) с использованием локус-специфических зондов. Меченые ДНК-зонды наносятся на хромосомные (метафазная FISH) или цитологические (интерфазная FISH) препараты. В результате гибридизации в специальных условиях зонды связываются с комплементарными им участками хромосом. Визуализация проводится с помощью флуоресцентной микроскопии. Для диагностики микроделений обычно используется два зонда: на критический для данной делеции район хромосомы и контрольный зонд на какой-либо другой локус этой же хромосомы. Для аутомсомных локусов в случае делеции на хромосомных препаратах отсутствует флуоресцентная метка в соответствующем предполагаемой делеции локусе одной из гомологичных хромосом, а на интерфазных препаратах в ядре каждой клетки наблюдается по два контрольных сигнала и только один сигнал с основного зонда. FISH-метод позволяет выявлять делеции протяженностью от 100 килобаз [1]. В отличие от делеций большинство дупликаций не выявляется с помощью метафазной FISH, т. к. на хромосомных препаратах сложно различить двойной сигнал или сигнал большей интенсивности в одном локусе.

Для выявления дупликаций необходимо проводить интерфазную FISH [32]. Метод гибридизации *in situ* является таргетным, т. е. исследование проводится, если клинически предполагается какой-то конкретный микроделеционный синдром.

В последнее десятилетие для выявления делеций и дупликаций широко используется метод мультиплексной зависимой от лигирования амплификации зондов (MLPA) [33]. Это молекулярно-генетический метод, который не требует приготовления хромосомных препаратов. Для проведения анализа достаточно небольшого количества ДНК. В одной реакции используется несколько десятков зондов. Каждый зонд состоит из двух олигонуклеотидов. Если на исследуемой ДНК-матрице имеется целевая последовательность, то оба олигонуклеотида гибридизуются с ней рядом друг с другом. В случае полной комплементарности матрице две части зонда сшиваются лигированием. Затем проводится амплификация всех лигированных зондов с помощью меченной универсальной пары праймеров. Каждому зонду соответствует ПЦР-продукт определенной длины, а количество продукта зависит от исходного количества комплементарной зонду последовательности в образце. Далее проводится визуализация на системе капиллярного электрофореза с последующим компьютерным анализом. Метод позволяет выявить избыток или недостаток какого-то материала относительно контрольных образцов ДНК. Используя набор зондов на различные хромосомные локусы, можно проводить скрининг на целый ряд синдромов у пациентов без четкого фенотипа, соответствующего определенному синдрому. Существуют также локус-специфические наборы зондов, позволяющие довольно точно определять протяженность делеции и точки разрыва. Данный метод одинаково чувствителен как к делециям, так и к дупликациям, и может выявлять значительно более мелкие aberrации, вплоть до нескольких нуклеотидов, если перестройка располагается в районе сайта лигирования.

Одной из наиболее современных технологий хромосомного анализа является метод сравнительной геномной гибридизации на чипе (*array CGH*). Суть метода заключается в том, что ДНК пациента и контрольная ДНК метятся различными флуорохромами и в одинаковом соотношении наносятся на чип с зондами, покрывающими весь геном. После гибридизации зондов со смесью ДНК проводятся сканирование чипа и компьютерная обработка флуоресцентных сигналов, что позволяет выявить хромосомные фрагменты, количество которых увеличено или уменьшено относительно контрольной ДНК. Наличие делеции или дупликации подтверждается только тогда, когда три или более соседних зонда дают изменение сигнала. Размер выявляемых перестроек зависит от типа чипа. Максимальное разрешение — около 30 килобаз — можно получить на олигонуклеотидных чипах с высокой плотностью зондов. *Array CGH* сочетает в себе преимущества классического ци-

тогенетического анализа и молекулярных технологий: анализ целого генома, высокое разрешение, возможность автоматизации, скорость выполнения и чувствительность [34]. Однако это довольно дорогостоящий метод. Кроме того, при применении данного метода нередко возникают сложности с интерпретацией результатов. При выявлении у пациента делеций или дупликаций, не описанных ранее, необходимо определить клиническую значимость данной aberrации. Для этого проводится анализ родительского происхождения и биоинформатический анализ больших массивов популяционных данных, т. к. находка может являться вариантом нормы, распространенным в популяции [35].

MLPA и *aCGH* выявляют только несбалансированные хромосомные aberrации, причем в случае дупликации этими методами можно только определить наличие избыточного хромосомного материала, но невозможно определить его локализацию, в отличие от метода FISH. Эти методы, таким образом, не позволяют подтвердить микроструктурные перестройки сложного характера, к примеру, когда область, подвергшаяся дупликации, полностью или частично переносится на другую хромосому.

Данные методы также не подходят для диагностики мозаицизма, который легко выявляется с помощью FISH. С другой стороны, при FISH-диагностике с применением стандартных зондов могут быть пропущены случаи атипичных делеций или дупликаций, которые описаны при многих синдромах микроструктурных перестроек.

Таким образом, каждый из этих методов имеет свои преимущества и ограничения. И во многих ситуациях необходимо использовать сочетание этих методов. Так, например, при выявлении делеции или дупликации скрининговым набором MLPA или методом *aCGH* рекомендуется подтвердить данные результаты с помощью FISH или методом MLPA с использованием набора зондов на конкретный хромосомный локус.

### Клинические примеры

*Больная А., девочка, 2 г. 5 мес.* поступила в неврологическое отделение с жалобами на задержку психомоторного развития, отсутствие самостоятельной ходьбы, в положении сидя часто заваливается назад или в сторону; отсутствие навыков опрятности; судорожные приступы короткой остановки зрения с обмяканием, приступы тонического напряжения конечностей с частотой 1 приступ в 1–3 дня, длительные засыпания, сон с частыми пробуждениями. При первом осмотре сразу обращало на себя внимание гипертоническое поведение ребенка, частые эпизоды немотивированной улыбки и смеха, отсутствие страха перед чужими. При ходьбе — атаксия и тремороподобные движения рук и туловища, характерные для синдрома Ангельмана. На ЭЭГ регистрировалась практически непрерывная медленная активность

пик — медленная волна с частотой 2 Гц, преобладающая во фронтальных и окципитальных отведениях. Эпилептологами состояние было первоначально расценено как синдром Леннокса–Гасто, назначена массивная противэпилептическая терапия препаратами вальпроевой кислоты. Также проводилась дифференциальная диагностика с врожденными нарушениями метаболизма. На этом фоне гипермоторное поведение исчезло, и эпизоды характерного поведения наблюдались только эпизодично. Девочка производила впечатление вялой, апатичной. По данным МРТ регистрировалась легкая гипотрофия лобной коры с обеих сторон. Учитывая наличие постоянных симптомов в анамнезе и множества ассоциированных расстройств, характерных для синдрома Ангельмана (грубые нарушения ночного сна, некоторые характерные краниофациальные аномалии: светлый цвет волос, резко контрастирующий с цветом волос родителей, плоский затылок, высокий лоб, длинные глазные щели, отечность век, редкие зубы), пациентка была направлена на FISH диагностику синдрома Ангельмана. В ходе исследования с использованием специфичных для синдрома Ангельмана флуоресцентных проб была визуализирована делеция в критическом для синдрома Ангельмана регионе 15q11.

Данный случай хорошо иллюстрирует характерную для синдрома Ангельмана особенность — диссоциацию между относительно редкими приступами и практически непрерывной регистрацией эпилептиформной активности, которая может быть расценена как электрический эпилептический статус.

*Больной В.* Поступил на отделение в возрасте 5 суток жизни с диагнозом ВПС: тетрада Фалло. НК0. Задержка внутриутробного развития по типу гипотрофии. Множественные стигмы дисэмбриогенеза. Гипербилирубинемия на фоне рассасывания петехий. При поступлении состояние средней тяжести. При осмотре: множественные микроаномалии, брахицефалия. Неровные края теменных костей по сагитальному шву. Лоб широкий с выступающими лобными буграми, короткие глазные щели, глубоко посаженные глаза, умеренный птоз, широкая плоская переносица, длинный фильтр, тонкая нижняя губа, нависающая над нижней челюстью (рыбий рот). Готическое небо. Уши низко посаженные, диспластичные, с гипоплазией мягкой мочки и завитка, выступающие в стороны. Микрогения. Паучьи пальцы. Пяточные стопы. Окружность головы 30,5 см, окружность груди 29 см.

Наблюдалась мышечная гипотония, гипорефлексия. Над областью сердца — грубый систоло-диастолический шум. Консультирован кардиохирургом, показаний для экстренного хирургического лечения

нет. Обращено внимание на множественные стигмы дисэмбриогенеза.

Перинатальный анамнез отягощен: ребенок от первой беременности, протекавшей без существенных отклонений. Роды первые срочные, с преждевременным излитием околоплодных вод, двукратное обвитие пуповины вокруг шеи, перинеотомия. Апгар 7/8 баллов. По данным гистологии последа — хроническая субкомпенсированная недостаточность плаценты с острыми нарушениями кровообращения, базальный децидуит.

В ходе проведенного лабораторного и инструментального обследования выявлена транзиторная анемия, кариотип 46XY. Результаты ПЦР-исследования крови на распространенные возбудители ВУИ — ВПГ первого и второго типов, ЦМВ, хламидии, микоплазму, токсоплазму отрицательные. Нейросонография — врожденный порок развития — гипогенезия мозолистого тела, вентрикулодилатация за счет височного и затылочного рога. ЭХО сердца — клапанный стеноз ЛА; ДМЖП приточный 4 мм. Сброс слева направо, мышечный апикальный 3 мм, сброс слева направо, рыхлый миокард. УЗИ органов брюшной полости и почек — дисплазия почек, удвоение левой почки. Рекомендована повторная консультация в 6 мес с обсуждением вопроса о хирургическом лечении.

В возрасте 4 месяцев — повторная госпитализация в связи с появлением тонических и тонико-клонических судорог без отведения глазных яблок по 1–3 раза в день, отсутствие самостоятельного сосания на фоне выраженной мышечной гипотонии. С целью исключения наследственных болезней обмена выполнена тандемная масс-спектрометрия (аминацидурии, органические ацидурии, дефекты бета-окисления) — данных за аминацидурии, органические ацидурии, дефекты бета-окисления не получено. По данным ЭХО сердца состояние стабильное без отрицательной динамики. При инструментальном исследовании выявлен пилорический стеноз. Принято решение о консервативном ведении. Назначена противэпилептическая терапия (депакин-хроносфера). Выполнено исследование на распространенные микроделеции. Выявлена делеция 1p36.

В течение недели, несмотря на проводимую терапию, резкое учащение приступов до 20–30 в сутки, начато постепенное введение фенобарбитала без существенного снижения частоты приступов. Ребенок переведен в ОРИТ, где на фоне барбитуратов статус купирован. На фоне улучшения переведен на неврологическое отделение, где в ходе дальнейшего повышения депакина и фенобарбитала, введения в терапевтическую схему топомакса достигнута фармакологическая ремиссия. В то же время на третий день пребывания появились отеки, по данным

рентгенографии грудной полости визуализировано шаровидное сердце. На фоне проводимой терапии — постепенная регрессия отеков. Направлен на консультацию к кардиохирургу, назначена операция по поводу ВПС.

Таким образом, клинические проявления синдромов микроделетий гетерогенны и во всех случаях требуют подтверждения методами цитогенетической или молекулярно-генетической диагностики, даже при наличии классической картины известного синдрома. Выбор метода диагностики должен быть определен конкретной клинической ситуацией, знаниями преимуществ и ограничений современных методов лабораторной диагностики.

#### Литература

1. Кулешов Н. П., Мутовин Г. П., Барцева О. Б., Атаева Дж. М. Молекулярно-цитогенетические методы в диагностике хромосомных болезней // Медицинский научный и учебно-методический журнал. 2007; 37: 66–85.
2. Cooper G. M., Coe B. P., Girirajan S. A copy number variation morbidity map of developmental delay // *Nat. Genet.* 2011 Aug. 14; 43 (9): 838–846. doi: 10.1038/ng.909.
3. Shoukier M., Klein N., Auber B. et al. Array CGH in patients with developmental delay or intellectual disability: are there phenotypic clues to pathogenic copy number variants? // *Clin. Genet.* 2012 Jan 27. doi: 10.1111/j.1399–0004.2012.01850.x. [Epub ahead of print]
4. Muhle R., Trentacoste S. V., Rapin I. The genetics of autism // *Pediatrics.* 2004 May; 113 (5): 472–486.
5. Singh R., Gardner R. J., Crossland K. M. et al. Chromosomal abnormalities and epilepsy: a review for clinicians and gene hunters // *Epilepsia.* 2002 Feb; 43 (2): 127–140.
6. Slavotinek A. M. Novel microdeletion syndromes detected by chromosome microarrays // *Hum. Genet.* 2008 Aug; 124 (1): 1–17. Epub 2008 May 30.
7. Mulley J. C., Mefford H. C. Epilepsy and the new cytogenetics // *Epilepsia.* 2011 Mar; 52 (3): 423–432. doi: 10.1111/j.1528–1167.2010.02932.x. Epub 2011 Jan 26.
8. van Bon B. W., Koolen D. A., Brueton L. The 2q23.1 microdeletion syndrome: clinical and behavioural phenotype // *Eur. J. Hum. Genet.* 2010 Feb; 18 (2): 163–170. Epub 2009 Oct 7.
9. Andrade D. M. Genetic basis in epilepsies caused by malformations of cortical development and in those with structurally normal brain // *Hum. Genet.* 2009 Jul; 126 (1): 173–193. Epub 2009 Jun 18.
10. Guerrini R., Carrozzo R. Epileptogenic brain malformations: clinical presentation, malformative patterns and indications for genetic testing // *Seizure.* 2002 Apr; 11 Suppl A: 532–543; quiz 544–547.
11. Saito Y., Kubota M., Kurosawa K. Polymicrogyria and infantile spasms in a patient with 1p36 deletion syndrome // *Brain Dev.* 2011 May; 33 (5): 437–441. Epub 2010 Aug 13.
12. Matarese C. A., Renaud D. L. Classical (type I) lissencephaly and Miller–Dieker syndrome // *Pediatr. Neurol.* 2009 Apr; 40 (4): 324–325.
13. Paciorkowski A. R., Thio L. L., Rosenfeld J. A. et al. Copy number variants and infantile spasms: evidence for abnormalities in ventral forebrain development and pathways of synaptic function // *Eur. J. Hum. Genet.* 2011 Dec; 19 (12): 1238–1245. doi: 10.1038/ejhg.2011.121. Epub 2011 Jun 22.
14. Chattopadhyaya B., Cristo G. D. GABAergic circuit dysfunctions in neurodevelopmental disorders // *Front. Psychiatry.* 2012; 3: 51. Epub 2012 May 31.
15. Fiumara A., Pittalà A., Cocuzza M. et al. Epilepsy in patients with Angelman syndrome // *Ital. J. Pediatr.* 2010 Apr 16; 36:31.
16. Heilstedt H. A., Burgess D. L., Anderson A. E. Loss of the potassium channel beta-subunit gene, KCNAB2, is associated with epilepsy in patients with 1p36 deletion syndrome // *Epilepsia.* 2001 Sep; 42 (9): 1103–1111.
17. Galván-Manso M., Campistol J., Conill J. et al. Analysis of the characteristics of epilepsy in 37 patients with the molecular diagnosis of Angelman syndrome // *Epileptic Disord.* 2005; 7: 19–25.
18. Williams C. A., Angelman H., Clayton-Smith J. et al. Angelman syndrome: consensus for diagnostic criteria. Angelman Syndrome Foundation // *Am. J. Med. Genet.* 1995 Mar 27; 56 (2): 237–238.
19. Battaglia A. Del. 1p36 syndrome: a newly emerging clinical entity // *Brain Dev.* 2005 Aug; 27 (5): 358–361.
20. Battaglia A., Hoyme H. E., Dallapiccola B. et al. Further delineation of deletion 1p36 syndrome in 60 patients: a recognizable phenotype and common cause of developmental delay and mental retardation // *Pediatrics.* 2008 Feb; 121 (2): 404–410.
21. Slavotinek A., Shaffer L. G., Shapira S. K. et al. Monosomy 1p36 // *J. Med. Genet.* 1999 Sep; 36 (9): 657–663.
22. Heilstedt H. A., Burgess D. L., Anderson A. E. Loss of the potassium channel beta-subunit gene, KCNAB2, is associated with epilepsy in patients with 1p36 deletion syndrome // *Epilepsia.* 2001 Sep; 42 (9): 1103–1111.
23. Talkowski M. E., Mullegama S. V., Rosenfeld J. A. et al. Assessment of 2q23.1 microdeletion syndrome implicates MBD5 as a single causal locus of intellectual disability, epilepsy, and autism spectrum disorder // *Am. J. Hum. Genet.* 2011 Oct 7; 89 (4): 551–563. doi: 10.1016/j.ajhg.2011.09.011.
24. Noh G. J., Graham J. M. Jr. 2q23.1 microdeletion of the MBD5 gene in a female with seizures, developmental delay and distinct dysmorphic features // *Eur. J. Med. Genet.* 2012 Jan; 55 (1): 59–62. Epub 2011 Oct 24.
25. Koolen D. A., Sharp A. J., Hurst J. A. Clinical and molecular delineation of the 17q21.31 microdeletion syndrome // *J. Med. Genet.* 2008 Nov; 45 (11): 710–20. Epub 2008 Jul 15.
26. Dubourg C., Sanlaville D., Doco-Fenzy M. Clinical and molecular characterization of 17q21.31 microdeletion syndrome in 14 French patients with mental retardation // *Eur. J. Med. Genet.* 2011 Mar-Apr; 54 (2): 144–151. Epub 2010 Nov 20.
27. Zollino M., Orteschi D., Murolo M. et al. Mutations in KANSL1 cause the 17q21.31 microdeletion syndrome phenotype // *Nat. Genet.* 2012 Apr 29; 44 (6): 636–638. doi: 10.1038/ng.2257.
28. Koolen D. A., Kramer J. M., Neveling K. et al. Mutations in the chromatin modifier gene KANSL1 cause the 17q21.31 microdeletion syndrome // *Nat. Genet.* 2012 Apr 29; 44 (6): 639–641. doi: 10.1038/ng.2262.
29. Elsea S. H., Williams S. R. Smith–Magenis syndrome: haploinsufficiency of RAI1 results in altered gene regulation in neurological and metabolic pathways // *Expert Rev. Mol. Med.* 2011 Apr 19; 13: e14.
30. Vieira G. H., Rodriguez J. D., Carmona-Mora P. Detection of classical 17p11.2 deletions, an atypical deletion and RAI1 alterations in patients with features suggestive of Smith–Magenis syndrome // *Eur.*

J. Hum. Genet. 2012 Feb; 20 (2): 148–154. doi: 10.1038/ejhg.2011.167. Epub 2011 Sep 7.

31. *Shaffer L. G., Ledbetter D. H., Lupski J. R.* Molecular cytogenetics of contiguous gene syndromes: mechanisms and consequences of gene dosage imbalance / Ed. C. R. Scriver, A. L. Beaudet, W. S. Sly et al. // *Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, 8th edn, McGraw Hill, New York, USA, Chap. 65, 2001.

32. *Miller D., Shen Y., Harris D.* et al. Genetic testing for developmental delay: keep searching for an answer // *Clinical Chemistry*. 2009; 55 (4): 827–832.

33. *Schouten J. P., McElgunn C. J., Waaijer R.* et al. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification // *Nucleic Acids Res.* 2002; 30 (12): e57.

34. *Shaffer L. G., Bejjani B. A.* A cytogeneticist's perspective on genomic microarrays // *Human Reproduction Update*. 2004; 10 (3): 221–226.

35. *Юров И. Ю., Ворсанова С. Г., Куридная О. С., Сильванович А. П., Юров Ю. Б.* Генетические аспекты психологических и поведенческих нарушений у детей с аутистическими расстройствами и трудностями в обучении: диагностика геномных и хромосомных нарушений с использованием ДНК-микрочипов // *Современные проблемы науки и образования*. 2012; 3; URL: [www.science-education.ru/103-6449](http://www.science-education.ru/103-6449).

36. *Battaglia A.* Commentary: Recognizing syndromes with overlapping features: How difficult is it? Considerations generated by the article on differential diagnosis of Smith–Magenis syndrome by Vieira and colleagues // *Am. J. Med. Genet A*. 2011 May; 155A (5): 986–987. doi: 10.1002/ajmg.a.33956. Epub 2011 Apr 4.

#### **Данные для корреспонденции:**

*Булатникова Марина Алексеевна*, врач-невролог,  
директор ООО «Покровский банк стволовых клеток»  
и руководитель НИЛ клеточных технологий,  
клиника ООО «Покровский банк стволовых клеток»,  
Большой проспект Васильевского острова, 85,  
тел. 8-965-088-26-75; e-mail: [siriusbm@gmail.com](mailto:siriusbm@gmail.com)

## ЛИПОПРОТЕИН (a): НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

**В. В. ВЕЛЬКОВ**  
ЗАО «ДИАКОН»

**Резюме.** Обзор отечественной и иностранной литературы, посвященный анализу последних достижений в области применения измерения плазменных концентраций липопротеина (a) — ЛП (a) для диагностики генетически опосредованных сердечно-сосудистых заболеваний, приводящих к инфарктам миокарда и ишемическим инсультам. Большое внимание уделено патогенетическим свойствам ЛП (a), в особенности его проатерогенным и протромботическим характеристикам. Подчеркивается, что для корректной оценки генетически опосредованных сердечно-сосудистых рисков необходимо сочетание измерения уровней ЛП (a) и высокочувствительного измерения концентрации С-реактивного белка в сочетании с определениями традиционных показателей атеросклероза: общего холестерина, холестеринов, связанных с липидами высокой и низкой плотности, аполипопротеинов В и АI и триглицеридов. Большое внимание уделено применению измерения уровней ЛП (a) для оценки рисков возникновения сердечно-сосудистых осложнений при почечных патологиях и при сахарном диабете.

**Ключевые слова:** липопротеин (a), генетически опосредованные сердечно-сосудистые заболевания, оценка сосудистых рисков, почечные патологии, сахарный диабет.

## LIPOPROTEIN (a): NEW PERSPECTIVES FOR LABORATORY DIAGNOSIS

**V. V. VELKOV**  
Company "Diakon"

**Summary.** Present article contains the review of publications in Russian and foreign medical journals devoted to the analysis of the last information concerning the use of lipoprotein (a) plasma levels investigation in diagnostics of genetically mediated cardiovascular diseases leading to myocardial infarction and ischemic stroke. Special attention is paid to pathogenetic properties of lipoprotein (a), especially proatherogenic and prothrombotic ones. For correct evaluation of genetically mediated cardiovascular risks it is necessary to evaluate several indicators: lipoprotein (a), C-reactive protein determined by methods with high sensitivity, traditional markers of atherosclerosis such as total cholesterol, cholesterol related to high and low density lipoproteins, apolipoproteins B and AI and triglycerides. Special attention is attracted to the role of lipoprotein (a) investigation in evaluation of cardiovascular complications risk in patients with kidneys diseases and diabetes mellitus.

**Key words:** lipoprotein (a), genetically mediated cardiovascular diseases, evaluation of cardiovascular risks, kidneys diseases, diabetes mellitus.

### Строение ЛП (a)

ЛП (a) [Lp (a)], или «липопротеин a малое» — это «опасный родственник плохого» X-ЛПНП. Собственно, ЛП (a) — это X-ЛПНП с «довеском» — большим гликопротеином, который называется апоА — аполипопротеин (a) и который с помощью одной дисульфидной связи ковалентно связан с аполипопротеином апоВ, входящим в состав X-ЛПНП (рис. 1). Как и X-ЛПНП, частица ЛП (a) состоит из холестерина, триглицеридов, апоВ, фосфолипидов и аполипопротеина апоА.

*Синтез ЛП (a)* происходит в печени путем объединения X-ЛПНП и апоА за счет дисульфидной связи. *Катаболизм ЛП (a)*, в отличие от других липопротеинов, происходит в почках, а не в печени.

### Строение апоА

АпоА — гликопротеин, который имеет гомологию с плазминогеном человека и состоит из доменов, назы-

ваемых "kringle" (крендель, *англ.*), которые, собственно, и сходны с аналогичными доменами плазминогена (рис. 1). АпоА состоит из неактивного протеазного домена, одного домена kringle V и разного количества доменов kringle IV. У разных индивидов в гене, кодирующем апоА, может быть разное (от 12 до 51) количество фрагментов ДНК, кодирующих домен апоА. В результате, по размеру белка и по размеру частиц ЛП (a) в популяции наблюдается значительный полиморфизм. Количество доменов "kringle" в апоА, таким образом, предопределяется генетически и может варьировать от 12 до 51. И поэтому молекулярная масса белка апоА у разных лиц может составлять от ~280 до 800 кДа, сейчас известны 34 изоформы ЛП (a).

В апоА домены kringle организованы в особый белковый «мотив», состоящий из трех петлевидных структур, стабилизированных тремя дисульфидными связями. Такой «мотив» содержится также в большом количестве

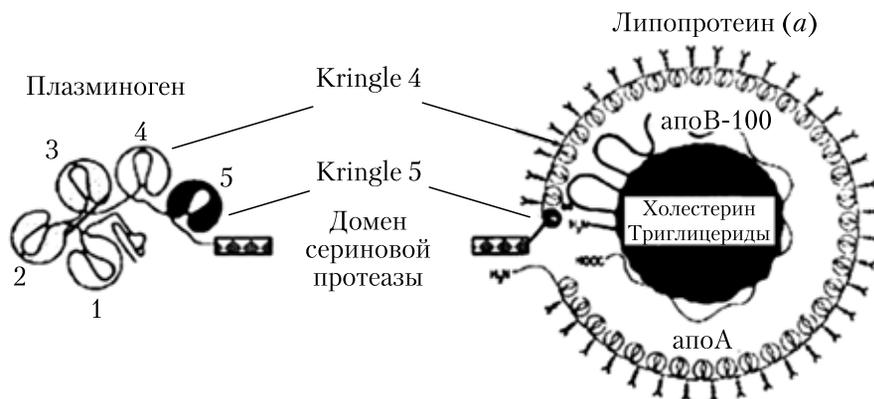


Рис. 1. Схема строения ЛП (a). Слева: строение плазминогена, справа — строение ЛП (a). Аполипопротеин (a) связан с апоВ одной дисульфидной связью

белков, кодируемых генами семейства протромбинов, включающих протромбин, плазминоген, фактор роста гепатоцитов, урокиназу, фактор XII, тканевой активатор плазминогена [1–4]. Напомним, что плазминоген — это предшественник (профермент) плазмина — основного фермента, расщепляющего фибриновые сгустки. Как неожиданно оказалось, размер аполипопротеина (a) определяет концентрацию ЛП (a) в плазме.

#### Чем меньше размер апоА, тем выше уровень ЛП (a)

Действительно, как установлено во многих исследованиях, чем меньше размер апоА, т. е. чем меньше в нем доменов kringle IV, тем выше уровень ЛП (a) в плазме, и наоборот, чем длиннее молекула апоА — тем меньше концентрация ЛП (a). В целом, уровень синтеза апоА определяется тем, как быстро секретируются его изоформы. Меньшие изоформы апоА секретируются быст-

рее, и поэтому уровень ЛП (a) в плазме обратно пропорционален размеру апоА [5, 6].

Таким образом, *уровень ЛП (a) в крови определяется генетически* — длиной гена, кодирующего апоА. Как указывалось, в человеческой популяции существует много аллелей (различных вариантов) гена апоА, которые кодируют разное количество доменов kringle IV. В общем, концентрация ЛП (a) у разных лиц может находиться в диапазоне от <0,1 до >200 мг/дл и варьировать в 1000 раз (рис. 2).

Нормальными считаются уровни ЛП (a) < 14 мг/дл. Но разные аллели гена апоА отличаются не только по количеству участков, кодирующих домены kringle IV, но и по нуклеотидным последовательностям этих доменов. Иначе говоря, разным может быть не только количество доменов, но и их «качество». На данный момент обнаружено около 100 аллелей гена апоА.

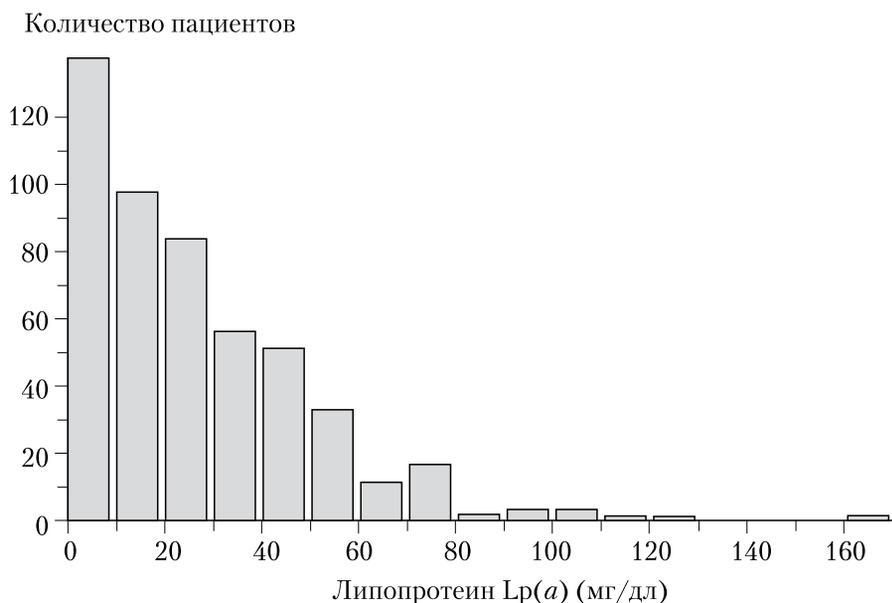


Рис. 2. Распределение уровней ЛП (a) в популяции. Чем выше уровни ЛП (a), тем у меньшего количества лиц они встречаются. Нормальные уровни ЛП (a) < 14 мг/дл

В состав ЛП (*a*), как говорилось, входят Х-ЛПНП и его центральный аполипопротеин В. Влияют ли уровни этих компонентов ЛП (*a*) на его концентрацию? Оказалось, что влияют, но крайне незначительно, максимум на 10%. В целом, общепринято, что *уровень ЛП (a) в плазме более чем на 90% определяется генетически и зависит в основном от скорости биосинтеза apoA, обратно пропорционально зависящей от размера apoA*. С раннего детства концентрация ЛП (*a*) возрастает, достигает плато к зрелости и остается потом практически неизменной. Дальнейшее повышение уровня ЛП (*a*) наблюдается только у женщин в постменопаузе.

Отличие от большинства липидных факторов риска, связанный с повышенными уровнями ЛП (*a*), не зависит ни от возраста, ни от пола, ни от диеты, ни от условий жизни [4, 6, 7]. Однако, как оказалось, факторы, способные повышать уровень ЛП (*a*), все же существуют. Как уже отмечалось, катаболизм ЛП (*a*) происходит в почках.

#### **Ренальные патологии повышают уровень ЛП (*a*) из-за сниженного катаболизма его частиц**

Обнаружено, что у лиц, страдающих хронической почечной недостаточностью, нефротическим синдромом и диабетической нефропатией, а также у пациентов, находящихся на гемодиализе, уровни ЛП (*a*) значительно повышены. Так, при нефротическом синдроме уровень ЛП (*a*) значительно выше (69,1 мг/дл), чем в контрольной группе (18,2 мг/дл). Закономерно, что при ремиссии нефротического синдрома уровни ЛП (*a*) понижались [8, 9].

Более поздние измерения подтвердили эту картину. При почечных заболеваниях из-за нарушений катаболизма ЛП (*a*) его концентрации могут возрастать почти в 5 раз и достигать 100 мг/дл. При снижении скорости клубочковой фильтрации менее 70 мл/мин уровень ЛП (*a*) возрастает еще больше. А у больных с нефропатиями повышенные уровни ЛП (*a*), и особенно его окисленные формы (о них — см. ниже), стимулируют образование свободных радикалов кислорода и тем самым усугубляют прогрессирование хронической почечной недостаточности [7, 10]. Еще в ранних наблюдениях было обнаружено, что к повышению уровней ЛП (*a*) приводит гемодиализ. Это подтверждено и в недавнем исследовании, когда у 30 пациентов, находящихся на гемодиализе, измеряли уровни маркеров атеросклероза, а именно: apoA, apoB, ЛП (*a*), С-реактивного белка и гомоцистеина. Обнаружены следующие их концентрации (пациенты, контрольная группа): гомоцистеин:  $41,9 \pm 19,4$  и  $9,3 \pm 3,5$  мкмоль/л; ЛП (*a*):  $32,5 \pm 31,5$  и  $13,0 \pm 9,7$  мг/дл; hs-CRP  $3,78 \pm 3,21$  и  $2,07 \pm 1,67$  мг/л; apoA/apoB —  $1,46 \pm 0,6$  и  $1,80 \pm 0,9$ ; общий холестерин  $3,56 \pm 0,7$  и  $4,39 \pm 0,5$  ммоль/л; триглицериды:  $1,44 \pm 0,5$  и  $0,85 \pm 0,5$  ммоль/л [11].

В общем, считается твердо установленным, что повышение уровней ЛП (*a*) при почечных патологиях

действительно вызывается нарушением функции почек. Но могут быть и другие случаи, когда к нефропатиям приводят исходно повышенные уровни ЛП (*a*), а не наоборот. Это обнаружилось, когда наблюдали пациентов с недиабетическим нефротическим синдромом, у которых уровень ЛП (*a*) был в среднем 60,4 мг/дл, в контроле 20,0 мг/дл. Однако, что принципиально, у пациентов с нефротическим синдромом доминировали частицы ЛП (*a*) меньшего размера (35,7%), в контрольной группе малых частиц ЛП (*a*) было 24,8%. Это, по мнению авторов, свидетельствует о значительной генетической детерминированности нефротического синдрома, ведь размеры apoA определяются размерами его гена [12].

#### **Физиология ЛП (*a*)**

Несмотря на десятилетия упорных исследований нормальная физиологическая роль ЛП (*a*) до сих пор точно не выяснена. Полагается, что ЛП (*a*) или как-то участвует в метаболизме холестерина и триглицеридов (ибо похож на Х-ЛПНП), или принимает какое-то участие в процессах коагуляции, ибо apoA похож на плазминоген. Или «и то и другое» вместе. Что касается патофизиологической роли, то в этом вопросе ясности больше. ЛП (*a*) может вызывать сердечно-сосудистые заболевания за счет проатерогенного характера, присущего Х-ЛПНП, и стимулировать тромбообразование за счет протромботических свойств аполипопротеина apoA. Убедительно показано и то, и другое. ЛП (*a*) действительно присутствует в атеросклеротических бляшках и принимает участие в тромботических событиях, которые там и происходят. Присутствие это связано с повышенными концентрациями ЛП (*a*), а они, в свою очередь, определяются особенностями гена, кодирующего аполипопротеин (*a*) [1–6, 13, 14].

#### **Проатерогенная активность ЛП (*a*)**

То, что повышенные уровни ЛП (*a*) связаны с ССЗ, убедительно показано, по крайней мере, в 18 проспективных исследованиях. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что высокий уровень ЛП (*a*) — независимый фактор риска атерогенеза и тромбогенеза. Согласно мнению Американской кардиологической ассоциации (American Heart Association), повышенные уровни ЛП (*a*) повышают риск острых коронарных событий на 70% [1–6, 13–15]. И вот как можно кратко суммировать результат многолетних исследований «патогенетических» свойств ЛП (*a*):

- 1) ЛП (*a*) имеет большое сродство к фибронектину и образует комплексы с протеогликанами и глюкозамингликанами экстрацеллюлярного матрикса;
- 2) это приводит к избирательному накоплению ЛП (*a*) в стенках сосудов и к индукции воспалительного процесса;
- 3) более того, ЛП (*a*) — это адгезивный субстрат для моноцитов; активирует воспалительные клетки за счет

взаимодействия с интегрином бета 2-Мас-1. Напомним, что интегрины — это трансмембранные гликопротеины, функционирующие как клеточно-субстратные, так и межклеточные адгезивные рецепторы, которые связывают клетки с их средой;

4) взаимодействие между интегрином Мас-1 и ЛП (а) усиливается в присутствии повышенных уровней гомоцистеина;

5) в результате взаимодействия между ЛП (а) и Мас-1 происходит активация фактора транскрипции, который, в свою очередь, активирует экспрессию генов, вовлеченных в индукцию воспалительного процесса и экспрессию протромботического тканевого фактора (тканевой тромбопластин, фактор III) [16].

Более того, ЛП (а), так же, как и X-ЛПНП, весьма чувствителен к окислительным процессам. А фагоцитоз окисленных форм ЛП (а) и X-ЛПНП ведет к накоплению пенистых клеток и атеросклеротических бляшек. Показано, что повышенные соотношения окисленные фосфолипиды/апоВ и окисленные фосфолипиды/ЛП (а) связаны с заболеваниями коронарных артерий [17, 18]. Обнаружено также и митогенное действие ЛП (а) на гладкомышечные клетки человека, стимулирующее их рост. И чем выше уровень ЛП (а), тем выше такое стимулирующее действие. При этом окисленный ЛП (а) стимулирует пролиферацию клеток сильнее, чем нативный. Существенно, что антиоксиданты пробукол (probucol) и флувастатин (fluvastatin) ингибировали окисление ЛП (а). Авторы полагают, что *окисленные формы ЛП (а) более атерогенны, чем нативные* [19].

#### **Атерогенный эффект ЛП (а) усиливается его способностью переносить окисленные фосфолипиды**

Показано, что повышенные уровни ЛП (а) сильно коррелируют с повышенными концентрациями окисленных фосфолипидов, что, по мнению авторов, говорит о его способности их связывать и переносить [18, 20, 21]. Как показали недавние исследования, с частицами ЛП (а), так же как и с частицами X-ЛПНП, связана ассоциированная с липопротеинами фосфолипаза А2 (ЛПА ФЛА2), основная функция которой — гидролиз окисленных фосфолипидов, которые, в свою очередь, являются медиаторами воспалительного процесса, происходящего при атеросклерозе. Повышенные в плазме уровни окисленных фосфолипидов и ЛПА ФЛА2 связаны с заболеваниями коронарных и периферических сосудов и с атеросклерозом каротиды. Как оказалось, повышенные уровни окисленных фосфолипидов преимущественно связаны с ЛП (а), что повышает его атерогенность [22]. В целом, атерогенность ЛП (а) связана с его способностью:

- 1) активировать интегрин Мас-1, тем самым
- 2) стимулировать привлечение воспалительных клеток к атеросклеротическим бляшкам, и

- 3) стимулировать образование окисленных фосфолипидов, являющихся медиаторами индукции воспаления, которые вызывают проникновение моноцитов в стенки сосудов. Однако этим проатерогенные свойства ЛП (а) далеко не исчерпываются.

#### **ЛП (а) и прогрессирование атеросклеротических бляшек**

Согласно ретроспективным исследованиям, повышенные уровни ЛП (а), а именно  $30 \pm 26$  мг/дл против  $14 \pm 9$  мг/дл, связаны с прогрессированием бляшек в коронарных артериях, ранее не имевших стенозов [23]. Выяснено, что в бляшках накапливаются преимущественно мелкие частицы ЛП (а), содержащие короткие варианты апоА. Обнаружилось это, когда определяли, какие именно изоформы апоА и апоВ присутствуют в атеросклерозных бляшках пациентов, подвергшихся эндалтерэктомии каротиды (удаление эндотелия из каротидной артерии) по поводу тяжелых стенозов. При этом уровни ЛП (а) были выше у женщин (37 мг/дл, контроль 19,3 мг/дл), чем у мужчин, в то время как концентрации апоВ у женщин были ниже. Важно, что *отложения ЛП (а) в бляшках были больше, чем отложения апоВ*. Более того, *в бляшках обнаруживались более мелкие изоформы ЛП (а), чем в плазме*. Однако у женщин с нестабильными бляшками уровни ЛП (а) были повышенными как в бляшках, так и в сыворотке (44,0 мг/дл против 22,3 мг/дл). В целом, как у мужчин, так и у женщин в бляшках избирательно накапливаются более мелкие изоформы ЛП (а), соотношение «мелкие частицы ЛП (а)/крупные частицы ЛП (а)» в бляшках каротиды составляло 1,2, а в сыворотке — 0,5. Подчеркнем, что эта закономерность справедлива как для женщин, так и для мужчин [24].

#### **ЛП (а) — независимый протромботический фактор**

Показано, что апополипротеин (а), находящийся в составе ЛП (а) и имеющий домены kringle IV, гомологичные доменам плазминогена, конкурирует с плазминогеном за места связывания как на фибрине, так и на эндотелиальных клетках и, тем самым, вытесняет плазминоген из мест его связывания [25]. Как уже упоминалось, плазминоген в активной форме расщепляет фибрин для растворения сгустков крови. Активируется плазминоген тканевым активатором плазминогена и активатором плазминогена урокиназного типа. А частицы ЛП (а) за счет наличия в апоА доменов kringle IV:

- 1) ингибируют связывание плазминогена, тем самым
- 2) снижают образование плазмينا, что, в свою очередь,
- 3) снижает фибринолиз, а это ведет
- 4) к повышенному тромбозу.

В целом, все это способствует отложению фибрина и холестерина в местах повреждения сосудов. Более того, ЛП (а) стимулирует синтез эндотелиальными клетками активатора ингибитора плазминогена (РАI-1) и тканевого активатора плазминогена (t-РА). В итоге,

все это снижает фибринолиз за счет уменьшения уровня t-PA, необходимого для активации плазминогена [26].

Кроме этого, исследования *in vitro* продемонстрировали, что ЛП (*a*) и апоА связываются так же и с ингибитором внешнего пути свертывания (tissue factor pathway inhibitor — TFPI). Полагается, что ЛП (*a*) за счет апоА, связывающегося с TFPI, стимулирует тромбообразование [27].

### **ЛП (*a*) способен проникать в спинномозговую жидкость**

Недавно изучены содержание и размеры частиц ЛП (*a*) в СМЖ у пациентов с дисфункцией гематоэнцефалического барьера, как вызванной воспалительными процессами, так и не связанной с воспалениями. Оказалось, ЛП (*a*) присутствовал в СМЖ у пациентов с дисфункцией гематоэнцефалического барьера, независимо от механизма ее патогенеза. Предполагается, что присутствие ЛП (*a*) в СМЖ может распространять его патогенетическое действие и на ЦНС [28].

### **АпоА — положительный (?) реактант острой фазы**

Существенно, что апоА — это белок острой фазы, и его концентрации могут возрастать после хирургических операций, ИМ, инсульта и других повреждений ткани. Поэтому *корректно измерять ЛП (*a*) следует, по крайней мере, через 1 месяц после этих событий, если они имели место*. Так, уровни ЛП (*a*) измеряли у 100 лиц с острофазным ответом (48 пациентов с инфекциями, 25 перенесли хирургические операции, 17 пациентов с опухолями, 10 пациентов с другими патологиями) и в контрольной группе. Показано, что при ОФ уровень ЛП (*a*) был значительно повышен и составлял  $30,0 \pm 28,4$  мг/дл, против  $11,8 \pm 19,3$  мг/дл [29]. Данные о том, что ЛП (*a*) — положительный реактант ОФ, подтверждаются во многих исследованиях. Побочным эффектом бифосфонатов, используемых при лечении злокачественной гиперкальциемии и болезни Педжета (Paget's disease of bone), является индукция ОФ. У 9 лиц (4 мужчины и 5 женщин), которым проводили инфузию бифосфонатами, как оказалось, ЛП (*a*), СРБ и СОЭ возрастали. Уровень ЛП (*a*) достигал максимума на седьмой день [30]. В другой работе уровень ЛП (*a*) измеряли у 80 пациентов, у которых также наблюдали ОФ. Измерялись также и такие белки ОФ, как гаптоглобин, альфа-1-антитрипсин. Уровень ЛП (*a*) в контрольной группе (40 человек) составлял 19,0 мг/дл, у пациентов с ОФ — 35,8 мг/дл. Уровни альфа-1-антитрипсина и гаптоглобина при ОФ составляли 2,709 г/л и 2,631 г/л соответственно, в контроле — 1,422 г/л и 0,956 г/л [31]. После аортокоронарного шунтирования уровень ЛП (*a*) понижался так же, как и уровни других белков ОФ (альфа-1-антитрипсин, альфа-2-макроглобулин) [32].

Однако в некоторых работах были получены противоположные результаты. Так, наблюдался 41 пациент

со злокачественными опухолями и последующей абдоминальной хирургией. Предоперационные уровни ЛП (*a*) и ИЛ-6 сравнивали с таковыми через 5 ч, через 24 ч и через 5 дней после операции. Обнаружено, что уровни ЛП (*a*) изменились так, как будто он негативный реактант ОФ, его уровень через 24 ч после операции снизился на 30%. Более того, оказалось, что уровни ИЛ-6 были обратно пропорциональны уровням ЛП (*a*) [33]. Аналогичные данные получены и в исследовании того, как влияет на ЛП (*a*) сильный острофазный ответ, вызываемый ожогами и сепсисами. Наблюдали 9 пациентов с сепсисом (неотложная терапия) и 4 пациентов с интенсивными ожогами. Во всех изученных случаях уровень ЛП (*a*) резко снижался, и притом параллельно со снижением концентрации X-ЛПНП, в то время как для уровней СРБ наблюдалась прямо противоположная, «зеркальная» картина. У 5 выживших пациентов значения ЛП (*a*) после ожогов и сепсисов были в 5–15 раз ниже, чем те, которые «восстановились» через 16–18 месяцев. Авторы заключают, что при сильном острофазном ответе ЛП (*a*) ведет себя как негативный реактант ОФ [34].

Таким образом, ясно, что ЛП (*a*) как-то связан с ОФ, но как именно, увы, непонятно. Может быть, это зависит от размера апоА? Или от остроты воспалительного процесса? И хотя в научной литературе доминирует мнение, что ЛП (*a*) — все же положительный реактант ОФ, к интерпретации результатов измерения ЛП (*a*) у пациентов с сильной ОФ следует подходить с осторожностью. Тем не менее именно принадлежность ЛП (*a*) к острой фазе проливает, по мнению некоторых авторов, свет на его нормальные функции.

### **Для чего нужен ЛП (*a*)?**

Прежде всего, он вообще может быть не нужен. ЛП (*a*) не является жизненно необходимым. Индивиды с практически нулевой или с исчезающе малой его концентрацией не имеют заметных патологий. Уровни ЛП (*a*) у разных индивидов могут отличаться в 1000 раз. Предполагается, что ЛП (*a*) ускоряет заживление ран, способствует восстановлению поврежденных тканей и поврежденных сосудов. Эта гипотеза базируется на том, что ЛП (*a*) — положительный реактант ОФ, на том, что он узнает большое количество рецепторов, расположенных на поверхности эндотелиальных клеток, макрофагов, фибробластов и тромбоцитов. ЛП (*a*) также связывается с различными компонентами стенок сосудов и субэндотелиального матрикса и повышает пролиферацию гладкомышечных клеток. Полагается, что апоА принадлежит к семейству белков — факторов роста, эволюционировавшему из единого древнего предшественника, имевшего домены типа kringle [35]. Более того, результаты исследований, проведенных на животных, показали, что продукты протеолитического расщепления плазминогена, *аполинопротеина (*a*)* и других белков, содержащих домены, имеют анти-ангиогенные и анти-

опухолевые свойства, как *in vitro*, так и *in vivo*. В частности, фрагменты апоА, образующиеся при его протеолитическом расщеплении природными протеиназами и специфическими опухолевыми редуктазами, поддерживают метастазы в покоящемся (дормантном) состоянии и уменьшают размеры первичных опухолей путем блокирования *in vivo* как неоваскуляризации, так и их роста, что повышает выживаемость животных, несущих первичные злокачественные опухоли человека [36, 37].

### Диагностическое значение повышенных уровней ЛП (а)

Эпидемиологические исследования, касающиеся клинической полезности рутинного определения в плазме уровня ЛП (а), весьма многочисленны и иногда противоречивы. Хотя большое количество исследований показало положительную связь между уровнями ЛП (а) и ССЗ [38–44], тем не менее, есть данные, что если такая связь и существует, то она очень слабая [45], а другие исследователи обнаружили, что никакой связи между уровнями ЛП (а) и ССЗ якобы вообще нет [46–51]. Частично такие противоречия вызваны плохой сходимостью результатов измерений ЛП (а), проводимых различными методами. В настоящее время эта проблема решена с помощью метода иммунотурбидиметрии с латексным усилением, результаты которого от размеров аполипопротеина (а) не зависят [52, 53]. Другая причина противоречивости данных обусловлена гендерными различиями в уровнях ЛП (а), которые не всегда принимались во внимание, а также различиями, связанными с возрастом и с расой [54, 55]. Ситуация к тому же осложнена ранее не известным фактом, что *при хранении замороженных препаратов плазмы ЛП (а) подвержен деградации, причем в разной степени в зависимости от размера его изоформ* [56, 57]. Все это делало корректное сравнение данных разных исследований весьма проблематичным и приводило к необходимости проведения метаанализов различных проспективных исследований [58, 59].

В итоге, благодаря успехам в стандартизации методов определения ЛП (а) и более корректной статистической обработке данных положение о том, что повышенные уровни ЛП (а) — фактор риска сердечно-сосудистых, цереброваскулярных заболеваний, а также заболеваний периферических сосудов, считается четко установленным и общепринятым.

### Повышенный уровень ЛП (а) — наиболее частое генетически опосредованное нарушение метаболизма липидов у лиц с ранними сердечно-сосудистыми заболеваниями

В ранних исследованиях обнаружено, что уровни ЛП (а) (>30 мг/дл) независимо от других факторов риска предсказывают наличие симптоматических и ангиографически выявляемых ССЗ, особенно у пациентов с повышенным уровнем Х-ЛПНП [60]. Затем в проспектив-

ном исследовании, в котором наблюдали 1486 молодых (18 лет) мужчин, было показано, что у людей, родители которых имели сердечно-сосудистые события, уровни апоА значительно повышены. А у мужчин, родители которых сердечно-сосудистых событий не имели, такой корреляции обнаружено не было. Сделан вывод, что родители мальчиков, у которых плазменные уровни ЛП (а) были выше 25 мг/дл, имели инфаркты миокарда в 2,5 раза чаще, чем родители мальчиков с нормальными уровнями ЛП (а). Пожалуй, это было первым убедительным указанием на то, что повышенные уровни ЛП (а) обуславливаются преимущественно генетическими факторами [61, 62]. В другом проспективном исследовании показано, что и у мужчин среднего возраста (40–50 лет) повышенный уровень ЛП (а) — предиктор ОИМ и смертности, независимый от других факторов риска. Генетически предопределяемые уровни ЛП (а) зависят, как выяснилось позже, также и от расы. У белых уровни ЛП (а) ниже, чем у чернокожих. Сделан вывод, что *среднее значение нормального уровня ЛП (а) для мужчин — 14 мг/дл, для женщин — 15 мг/дл. Уровень более 30 мг/дл предлагается считать повышенным*. Широкомасштабные популяционные исследования показали, что примерно 25% населения США имеет повышенные уровни ЛП (а) [38].

В последующем показано, что у лиц с ранними ССЗ повышенные уровни ЛП (а) связаны с предельно высоким коронарным риском только в присутствии повышенных уровней общего холестерина или с повышенным соотношением общих холестерин/Х-ЛПВП. Такой совместный эффект повышенных уровней ЛП (а) и повышения холестерина увеличивал коронарный риск на порядок по сравнению с риском, вызванным только повышением общего холестерина [63]. Более того, повышенные концентрации ЛП (а) увеличивают риски, связанные не только с повышенным общим холестерином, но и риски, связанные с повышенными уровнями Х-ЛПНП и апоВ. Что касается взаимодействия между ЛП (а) и Х-ЛПНП, то, как показано, высокий уровень ЛП (а) снижает антиатерогенный потенциал Х-ЛПВП [64].

Действительно, рост концентрации ЛП (а) еще больше увеличивает сердечно-сосудистые риски, связанные с повышенными уровнями других липидов. В проспективном исследовании, в котором 788 мужчин возрастом от 35 до 65 лет наблюдались в течение 10 лет, обнаружено, что коронарный риск у мужчин с уровнями ЛП (а)  $\geq 20$  мг/дл был в 2,7 раза выше, чем у мужчин с низкими концентрациями ЛП (а). Степень повышения «глобального» сердечно-сосудистого риска, вызванная высокими концентрациями ЛП (а), была особенно выражена у лиц с уровнем Х-ЛПНП  $\geq 4,1$  и Х-ЛПВП  $\leq 0,9$  ммоль/л. Сделан вывод, что *повышенные концентрации ЛП (а) увеличивают коронарный риск, в особенности у мужчин с высокими уровнями Х-ЛПНП и низкими уровнями Х-ЛПВП* [65].

Весьма принципиальны данные о связи коронарных рисков с размерами частиц ЛП (а). Уровни различных

изоформ ЛП (*a*) определяли: 1) у 181 пациента с гиперхолестеринемией, 2) у 83 лиц с нормальными уровнями холестерина, но имевшими ССЗ, 3) у 94 лиц с нормальным холестерином и без ССЗ (контрольная группа). Уровни общего ЛП (*a*) оказались сходными у лиц с гиперхолестеринемией (21,0 мг/дл, 6,6–59,23 мг/дл), причем как имевших ССЗ, так и не имевших ССЗ (18,5 мг/дл, 25–57,25 мг/дл). Однако уровни малых изоформ апоА преобладали у пациентов с гиперхолестеринемией и ССЗ (55%), тогда как у лиц без ССЗ доминировали частицы с апоА больших молекулярных масс (их уровень составлял 62,6%). Авторы полагают, что определение размера частиц ЛП (*a*) является более значимым в диагностике ССЗ у лиц с гиперхолестеринемией, чем определение только уровня ЛП (*a*). Именно *размер частиц ЛП (*a*) является независимым генетическим предиктором ССЗ у пациентов с гиперхолестеринемией* [66].

### ЛП (*a*) и прогрессирование заболеваний коронарных артерий

В проспективном исследовании с помощью ангиографии наблюдали за прогрессированием стенозов у 79 пациентов. Как оказалось, по уровням Х-ЛПНП, Х-ЛПВП и апоВ больные с быстро прогрессирующим стенозом не отличались от пациентов без прогрессирующего стеноза. Однако повышенные уровни ЛП (*a*), равные 25 мг/дл и выше, были найдены у 14 из 21 пациента с быстро прогрессирующими заболеваниями коронарных артерий (67%), и только у 19 из 58 пациентов (33%) с непрогрессирующими заболеваниями коронарных артерий соответствующие средние значения ЛП (*a*) составляли 66 мг/дл и 13 мг/дл [67]. А в недавнем исследовании у людей с ангиографически диагностированным атероматозом (12 пациентов с умеренным атероматозом, 28 — с тяжелым; 7 лиц — контрольная группа) измеряли общий холестерин, триглицериды, Х-ЛПНП, Х-ЛПВП, апоВ, апоА-I и ЛП (*a*). Разница между умеренным и тяжелым атероматозом найдена только в отношении уровней ЛП (*a*). Остальные измеренные параметры у этих двух групп больных достоверно не отличались, уровни ЛП (*a*) были повышены при этом пропорционально степени тяжести атероматоза [68].

### ЛП (*a*), ангиопластика и аортокоронарное шунтирование

Повышение уровня ЛП (*a*), связанное с рестенозом после ангиопластики и с прогрессированием ангиографически подтвержденных заболеваний коронарных артерий имеет серьезное прогностическое значение. Например, у 240 пациентов, перенесших баллонную ангиопластику, измеряли общий холестерин, триглицериды, Х-ЛПНП, Х-ЛПВП, апоВ, апоА-I и ЛП (*a*). Через 4–6 месяцев 49 пациентов (40%) имели рестенозы, у 143 (60%) рестенозов не наблюдалось. У пациентов с рестенозами выявлены повышенные уровни ЛП (*a*). Достоверной разницы по другим измерявшимся показателям

между группами пациентов, имевших и не имевших рестенозов, не обнаружено. В целом, *повышенный уровень ЛП (*a*) — это фактор риска клинического рецидива после чрезкожной транслюминальной баллонной ангиопластики* [69].

### ЛП (*a*) предсказывает кардиориски у женщин

Хотя во многих работах полагается, что повышенные уровни ЛП (*a*) — это фактор кардиориска преимущественно для мужчин, недавние широкомасштабные исследования внесли ясность и в этот вопрос. В результате восьмилетних наблюдений за 32 826 женщинами было зафиксировано 228 острых коронарных событий и обнаружено, что повышенные уровни ЛП (*a*) ( $\geq 30$  мг/дл) в два раза повышают у них риск коронарных событий [44]. В проспективном исследовании 27 791 исходно здоровую женщину наблюдали в течение 10 лет. За этот период произошло 899 сердечно-сосудистых событий. После поправки на традиционные факторы риска, на уровни общего холестерина, Х-ЛПВП, Х-ЛПНП, на наличие или отсутствие диабета и на уровни С-реактивного белка обнаружено, что у женщин с уровнями ЛП (*a*) ( $\geq 44,0$  мг/дл) риск развития ССЗ был в 1,47 раза выше, чем при ЛП (*a*)  $\leq 3,4$  мг/дл. Связь между риском развития ССЗ и повышенными уровнями ЛП (*a*) была выше у женщин с также повышенными уровнями Х-ЛПНП, в этом случае риск составлял 1,81–1,93 [70].

### Является ли повышенный уровень ЛП (*a*) фактором кардиориска у пожилых?

В проспективном исследовании относительно небольшой популяции (наблюдали 343 женщины и 216 мужчин, которым было от 65 лет и более) было показано, что уровень ЛП (*a*)  $\geq 30$  мг/дл действительно связан со смертностью от сосудистых заболеваний (инфаркты и инсульты) [71]. Однако по другим данным, повышенные уровни ЛП (*a*) — независимый фактор риска только для лиц среднего возраста, но не для тех, кому больше 65 лет. Наблюдали мужчин с ангиографически подтвержденным сужением коронарных артерий, из которых 108 были возрастом менее 65 лет, а 66 — старше. Оказалось, повышенные уровни ЛП (*a*) связаны с заболеваниями коронарных артерий у мужчин моложе 65 лет, но не у тех, кто старше [72].

В целом, в данный момент полагается, что связь между повышенными уровнями ЛП (*a*) и кардиорисками снижается по мере старения. Более того, как будет специально показано ниже, у пожилых высокие уровни ЛП (*a*) связаны с долгожительством. В общем, рутинное определение уровней ЛП (*a*) для оценки кардиорисков у пожилых можно считать нецелесообразным.

### ЛП (*a*) и цереброваскулярные заболевания

Многочисленные ранние исследования показали связь между повышенными уровнями ЛП (*a*) и повы-

шенным риском ССЗ, ишемическим инсультом и заболеваниями периферических артерий [73–75]. В недавних, более детальных исследованиях показано, что высокий уровень ЛП (*a*) и низкий уровень апоА-I – независимый фактор риска острого инсульта. Уровни ЛП (*a*) и его изоформ определяли у 163 пациентов (старше 70 лет), впервые перенесших ишемический (неэмболический) инсульт (контрольная группа – 166 лиц). Как оказалось, у перенесших инсульт уровень ЛП (*a*) составлял 12,2 мг/дл, в контроле – 6,4 мг/дл. Более того, у перенесших инсульт преобладали малоразмерные части апоА (44,2%, в контроле 29,5%), а уровень ЛП (*a*) был обратно пропорционален концентрации Х-ЛПВП. Авторы полагают, что определение уровней ЛП (*a*) и размера его частиц позволяет определять риск ишемических инсультов независимо от других факторов риска [76]. В другом исследовании повышенные уровни ЛП (*a*) оказались связанными с риском ишемических инсультов у чернокожих, у белых женщин, но не у белых американцев мужского пола. 14 221 человек (мужчины и женщины, 3647 черных и 10 574 белых), возрастом от 45 до 64 лет, исходно не страдавших ССЗ, наблюдались в течение 13,5 года. За это время произошло 496 инсультов. Оказалось, что уровни ЛП (*a*)  $\geq 30$  мг/дл связаны с высоким риском инсультов у черных мужчин и женщин, у белых женщин, но не у белых мужчин [77].

Интересны результаты работы, в которой измеряли уровни ЛП (*a*) и плазминогена у 253 пациентов с острым ишемическим инсультом (контрольная группа – 63 человека). Обнаружено, что средний уровень ЛП (*a*) значительно повышен у пациентов с инфарктом мозга (20,9 мг/дл) и у пациентов с атеросклерозом магистральных артерий (22,0 мг/дл), контроль – 16,0 мг/дл. Корреляции между уровнями ЛП (*a*) и плазминогена не обнаружено. Сделан вывод, что повышенный уровень ЛП (*a*) – фактор риска ишемического инсульта, в особенности инсульта, вызванного атеросклерозом магистральных артерий [78]. В проспективном исследовании, результаты которого опубликованы в 2007 г., установлено, что у 100 лиц (58 мужчин, 42 женщины, от 18 до 55 лет), у которых впоследствии произошли острые инсульты, уровни ЛП (*a*) повышены. У мужчин с острым ишемическим инсультом средняя концентрация ЛП (*a*) составляла 41 мг/дл против 29 мг/дл. При этом у женщин, перенесших инсульт, и у женщин, не имевших его, концентрации ЛП (*a*) оказались приблизительно одинаковыми. Хотя атеросклероз крупных сосудов более часто встречался у мужчин, чем у женщин, уровни ЛП (*a*) у женщин не являлись причиной ишемического инсульта. Поражение сосудов мелкого калибра и кардиоэмболический инсульт встречались у мужчин и женщин одинаково часто. Авторы полагают, что повышенные уровни ЛП (*a*) связаны с риском ишемических инсультов у мужчин (в возрасте 18–55 лет), но не у женщин [79]. При наблюдении 37 пациентов с первичным антифосфолипидным синдромом обнаружено, что повышенные

уровни апоА, но не ЛП (*a*) предсказывали повторные цереброваскулярные инсульты. Авторы полагают, что определение у инсультных пациентов с антифосфолипидным синдромом концентрации апоА целесообразно для оценки рисков повторных цереброваскулярных событий [80].

### ЛП (*a*) при гемодиализе

О том, что при ренальных патологиях метаболизм ЛП (*a*) нарушен, уже говорилось. Имеют ли диагностическое значение уровни ЛП (*a*), при этом измеряемые? Хорошо известно, что у пациентов, подвергающихся заместительной ренальной терапии, весьма часто встречается дислипидемия, связанная с повышением уровней всех проатерогенных липидов, содержащих апоВ, и снижением антиатерогенного Х-ЛПВП. Патологическая картина еще более усугубляется гемодиализом и такими сопутствующими заболеваниями, как диабет. Более того, у пациентов, находящихся на терминальных стадиях ренальных заболеваний, весьма часто наблюдаются высокие уровни окисленных Х-ЛПНП и ЛП (*a*) [81]. Как указывалось, основными факторами, повышающими концентрацию ЛП (*a*), являются, главным образом, генетические, ренальные патологии и, весьма похоже, острофазный ответ. Уровни ЛП (*a*) и ИЛ-6 измеряли у 60 пациентов с ОФ (СОЭ 50 мм/час), у 60 пациентов, страдавших терминальными стадиями почечных заболеваний и находящихся на гемодиализе более 6 месяцев (СРБ < 4,0 мг/л), контрольная группа – 60 человек. Концентрации ЛП (*a*) в контрольной группе составляли (мг/дл) 22,2 (10,3–36,4), у пациентов с ренальными заболеваниями – 51,1 (30,8–75,5), у больных с ОФ – 54,6 (23,4–74,7), уровни ИЛ-6 были соответственно (пг/мл) в контроле – 1,0 (0,7–1,0), у почечных больных – 2,1 (1,4–3,3), у пациентов с ОФ – 26,2 (15,2–35,6). Хотя концентрация ИЛ-6, которая повышала синтез ЛП (*a*), была выше у пациентов, находящихся на гемодиализе, чем у больных с ОФ, различия в повышенных уровнях ЛП (*a*) между этими группами не обнаружено. Таким образом, значительное повышение уровней ЛП (*a*) у ренальных больных вызвано не индукцией острой фазы, а снижением его катаболизма [82]. Как известно, гемодиализ вызывает ОФ и повышает уровень СРБ [83]. С помощью применения стабильных изотопов показано, что при гемодиализе действительно ниже уровень катаболизма ЛП (*a*), в то время как уровни синтеза (секреции) ЛП (*a*) при гемодиализе сходны с таковыми в контрольной группе. Это еще раз свидетельствует о том, что при гемодиализе повышение плазменного уровня ЛП (*a*) вызвано уменьшением его катаболизма в почках, но не повышением его синтеза в печени [84].

Тем не менее, повышение при гемодиализе уровней ЛП (*a*) имеет серьезное прогностическое значение. Было проведено проспективное исследование 833 пациентов, подвергавшихся гемодиализу. Измеряли как уровни

ЛП (*a*), так и размер апоА. Учитывались последующие случаи фатальных и нефатальных инфарктов миокарда, цереброваскулярные события, периферическая реваскуляризация, гангрена, ампутации конечностей. Как оказалось, *высокие после гемодиализа уровни ЛП (*a*) и большее содержание малых изоформ ЛП (*a*) преимущественно связаны с последующими сердечно-сосудистыми событиями, при этом малые размеры изоформ апоА имели более сильные предикторные характеристики, чем повышенные уровни ЛП (*a*)* [85]. Но влияет ли тип диализа на липидный профиль, в особенности на уровни ЛП (*a*)? Чтобы ответить на этот вопрос, у 40 пациентов, находящихся на гемодиализе (ГД), и у 69 больных, подвергавшихся перитонеальному гемодиализу (ПГ), определяли общий холестерин, Х-ЛПНП, Х-ЛПВП, триглицериды (ТГ), апоА, апоВ и ЛП (*a*). Пациенты, принимавшие статины в течение 6 месяцев перед исследованием, в число наблюдаемых не входили. Как оказалось, уровни указанных показателей при ГД и ПГ были сходными. Отмечено повышение уровней ЛП (*a*) — у обеих групп пациентов. Оно и составляло при ГД —  $43,1 \pm 40$  (мг/дл), а при ПГ —  $46,0 \pm 42,7$  [86]. Отметим также, что у пациентов, находящихся на гемодиализе, с повышенными уровнями ЛП (*a*) связаны также и заболевания периферических артерий.

Таким образом, гемодиализ снижает катаболизм ЛП (*a*), что значительно повышает риск сосудистых событий.

### ЛП (*a*) при ренальных патологиях

Как известно, при нефротическом синдроме весьма часто повышены все типы атерогенных липопротеинов, содержащих аполипопротеин В, это Х-ЛПОНП, Х-ЛППП, Х-ЛПНП и ЛП (*a*). Уровни Х-ЛПВП при этом или не изменяются, или слегка снижены. Одновременно повышаются показатели соотношений «холестерин/триглицериды» и «фосфолипиды/белки». Происходят также и большие изменения в концентрациях аполипопротеинов А-I, А-IV, В, С и Е. Таким образом, при нефротическом синдроме катаболизм липопротеинов нарушается, в особенности катаболизм ЛП (*a*), который в норме именно в почках и должен проходить. Однако большое внимание, которое уделяется участию ЛП (*a*) в ренальных патологиях, обусловлено не только этим. Оказывается, с ренальными патологиями сильно связаны именно мелкие изоформы ЛП (*a*) [88, 89]. Может быть, именно они являются причиной некоторых почечных патологий?

У 47 пациентов с первичными ренальными заболеваниями и у 15 с диабетической нефропатией измеряли как уровни ЛП (*a*), так и размер апоА. У больных с нефротическим синдромом уровни ЛП (*a*) составляли  $69 \pm 10$  мг/дл, против  $18 \pm 2$  в контрольной группе. Уровни ЛП (*a*) коррелировали с концентрациями общего холестерина и Х-ЛПНП и не коррелировали с креатинином, альбумином и протеинурией. У ренальных

больных превалировали мелкие изоформы ЛП (*a*). Весьма существенно, что у 9 больных после ремиссии, вызванной иммуносупрессантами, уровни ЛП (*a*) существенно снизились, а именно с  $90 \pm 15$  до  $31 \pm 8$  мг/дл. Поскольку ремиссия нефротического синдрома приводила к снижению ЛП (*a*), авторы полагают, что *нефротический синдром действительно приводит к повышению ЛП (*a*)* [9].

По-видимому, измерение *уровней ЛП (*a*) при ренальных патологиях, а также до и после гемодиализа позволяет оценить риск последующих сосудистых событий*. Итак, повышение ЛП (*a*) — это результат нарушения функции почек. Являются повышенные уровни ЛП (*a*) при диабете его результатом или, по крайней мере, одной из его причин? К сожалению, это неясно.

### ЛП (*a*) и сахарный диабет первого типа

Действительно, уровни ЛП (*a*) у детей и взрослых с СД 1 значительно повышены, и притом сходным образом, и составляли  $20,1 \pm 11,7$  мг/дл соответственно, в контрольной группе  $9,8 \pm 2,9$  мг/дл [90]. Проспективное исследование 429 пациентов показало, что *при СД 1 уровни ЛП (*a*) выше 30 мг/дл связаны с удвоенным риском сердечно-сосудистых осложнений, включавших заболевания коронарных и периферических артерий, а также и цереброваскулярные заболевания. При этом на данную корреляцию не влияли ни повышенные уровни Х-ЛПНП, ни пониженные концентрации Х-ЛПВП* [91].

### ЛП (*a*) при сахарном диабете второго типа

Уровень ЛП (*a*) у пациентов с СД 2 —  $23,6 \pm 15,7$  мг/дл, в контрольной группе  $17,2 \pm 11,6$  [92]. При исследовании 587 пациентов с СД 2 обнаружилась положительная корреляция между повышенными уровнями ЛП (*a*) ( $> 20$  мг/дл) и показателями толщины интимы медиа, свидетельствовавшими об атеросклерозе сонных артерий ( $> 1,1$  мм) [93]. Интересны результаты исследования связи полиморфизма ЛП (*a*) с бессимптомными, ангиографически выявляемыми ССЗ у 1323 больных с СД 2. Выяснилось, что у пациентов с выявленными ССЗ уровни ЛП (*a*) составляли  $21,7 \pm 17,7$  мг/дл, у больных без ССЗ  $15,2 \pm 19,0$ . Изоформы ЛП (*a*) у пациентов с ССЗ были более мелкими. Авторы полагают, что *при СД 2 повышенные уровни ЛП (*a*), сопряженные с его мелкими изоформами, — предиктор ССЗ* [94]. В своей следующей работе эти же авторы пытались установить связь между частотой рестенозов после имплантации внутрикоронарных стентов Palmaz-Schatz и уровнями ЛП (*a*) у 102 больных СД 2. Наблюдения проводили в течение 6 месяцев после стентирования, 7 больных скончались. Из 95 больных рестенозы наблюдались у 37 (38,9%) и отсутствовали у 58 пациентов (61,1%). Уровни ЛП (*a*) были выше в группе с рестенозами ( $25,1 \pm 14,4$  мг/дл), чем в группе без рестенозов ( $21,3 \pm 14,6$  мг/дл), но эта разница была статистически недостоверна. И хотя в группе

с рестенозами малые изоформы ЛП (а) встречались с частотой 75,7%, а в группе без рестенозов — 55,1%, авторы полагают, что повышенные уровни ЛП (а) и малые его изоформы навряд ли могут быть предикторами рестенозов у пациентов с СД 2 [95].

Особо отметим исследования, в которых связи между уровнями ЛП (а) и СД 2 не обнаружено. При изучении 86 пациентов с СД 2, но без ССЗ (в контрольной группе 44 человека), не выявлено достоверных различий по уровням общего холестерина, Х-ЛПНП и ЛП (а), однако обнаружена положительная связь между уровнями ЛП (а) и пролиферативной диабетической ретинопатией. Авторы полагают, что хотя СД 2 и не повышает уровни ЛП (а), его повышенные концентрации у таких пациентов — фактор высокого риска ретинопатии [96]. В другом исследовании наблюдались 62 пациента с СД 2 и 67 их ближайших нормогликемических генетических родственников. Контрольная группа — 45 лиц без случаев диабета в семейной истории. Дислипидемия (высокие уровни триглицеридов и низкие Х-ЛПВП) обнаружена у диабетиков и у их родственников. Разницы в уровнях общего холестерина между тремя группами не выявлено. Достоверных отличий в уровнях ЛП (а) между этими тремя группами также не найдено. Однако обнаружена положительная корреляция между уровнями ЛП (а) у диабетиков и их потомков, что, по мнению авторов, указывает на генетическую детерминированность уровней ЛП (а) при СД 2 [97]. Отметим, что генетическая детерминированность уровней ЛП (а) имеет место не только при СД 2, но практически всегда.

Совершенно неожиданным оказался результат недавнего исследования 557 пациентов, страдающих заболеваниями коронарных артерий, среди которых были и больные СД 2. Всем этим больным делали коронарную ангиографию и затем наблюдали 4 года. Оказалось, что у 136 больных, страдавших СД 2, уровни ЛП (а) были *значительно ниже* — 11 (0,8–30) мг/дл, чем у не диабетиков — 16 (0,8–51) мг/дл. Проспективное наблюдение показало, что ЛП (а) — сильный и независимый предиктор ССЗ у лиц, не страдающих СД 2. Причины, приводящие при СД 2 к понижению уровней ЛП (а), авторам не ясны [98].

Складывается впечатление, что при СД уровни ЛП (а) весьма часто могут быть повышенными, однако приводит ли СД 2 к повышению ЛП (а), или ЛП (а) может как-то участвовать в возникновении и развитии СД 2 — ясности нет. Но то, что повышенный ЛП (а) при СД 2 весьма связан с риском диабетической ретинопатии — сомнений, похоже, не вызывает.

### **ЛП (а) — фактор риска ретинопатии при СД 2**

То, что уровень ЛП (а) — это независимый от других факторов риска индикатор риска диабетической ретинопатии у пожилых мужчин с СД 2, показано достаточно давно [92, 99]. Так, уровни ЛП (а) у пациентов с СД 2 без ретинопатии составляли  $23,6 \pm 15,7$  мг/дл, в контро-

ле  $17,2 \pm 11,6$  мг/дл. Однако у пациентов с ретинопатией —  $25,0 \pm 14,4$  мг/дл, у больных с пролиферативной ретинопатией —  $29,4 \pm 16,2$  мг/дл [100]. Детальные исследования, включавшие определение концентраций ЛП (а) и размеров его частиц, выявили существенные закономерности. Чем выше тяжесть ретинопатии (простая, препролиферативная, пролиферативная), тем выше уровень ЛП (а) и тем меньше размер его частиц [101]. Весьма впечатляют опубликованные в 2007 году данные о сравнении уровней ЛП (а) у 100 пациентов с СД 2 и ретинопатией и у 100 пациентов с СД 2, но без таковой. Средний статистически достоверный уровень ЛП (а) у пациентов с ретинопатией составлял 68,5 мг/дл, без ретинопатии — 25,1 мг/дл. При непролиферативной ретинопатии ЛП (а) был 63,69 мг/дл, а при пролиферативной — 104,1 (!) [102].

Было высказано предположение, что при СД 2 повышенные концентрации ЛП (а) могут вызывать окклюзию капилляров сетчатки [103]. Действительно, частицы ЛП (а) имеют тенденцию агрегировать, и чем меньше их размер, тем выше их способность к агрегации и васкулярной окклюзии. Показано, в частности, что при закупорке артерий сетчатки уровни ЛП (а) повышены [104, 105].

### **ЛП (а), СД 2 и микроваскулярные заболевания**

В недавнем исследовании 213 пациентов с СД 2 и заболеваниями периферических артерий обнаружены уровни ЛП (а), составлявшие в среднем 76 мг/дл, в контроле (213 больных с СД 2, но без указанного осложнения) — 47 мг/дл. При этом у больных с осложнениями доля частиц ЛП (а) малого размера составляла 41%, в контроле — 26%. После соответствующих поправок сделан вывод, что *уровень ЛП (а) выше, чем 19,5 мг/дл, и доминирование его мелких частиц — предиктор заболеваний периферических артерий при СД 2* [106].

### **ЛП (а) — предиктор смертности при СД 2, осложненном заболеваниями периферических артерий**

Действительно, при наблюдении 700 пациентов (средний возраст 73 года), страдавших заболеваниями периферических артерий, найдено, что при среднем уровне ЛП (а), равном 36 мг/дл, и инсулин-зависимом СД 2 риск смертности возрастает в 3 раза по сравнению с таковым у больных с инсулин-независимым СД 2, или по сравнению с лицами, не имеющими СД. При уровнях ЛП (а) ниже 36 мг/дл СД 2 не был сопряжен с повышенным риском смертности. Авторы полагают, что *у пациентов с инсулин-зависимым СД 2 и заболеваниями периферических артерий при уровнях ЛП (а) выше 36 мг/дл сильно повышен риск смертности. У пациентов с инсулин-независимым диабетом СД 2 и уровнем ЛП (а), равным 36 мг/дл, риск смертности такой же, как у пациентов с заболеваниями периферических артерий, но без диабета* [107].

### ЛП (а) — индикатор ригидности артерий при СД 2

Оказывается, что скорость распространения пульсовой волны аорты у пожилых пациентов с СД 2 (65 лет и старше) положительно коррелирует с уровнями ЛП (а). Отмечена также и положительная связь между уровнями ЛП (а), фибриногена, сиаловых кислот, аполипопротеина В и показателями соотношений апоВ/апоА-I. Однако корреляция между уровнями ЛП (а) и скоростью распространения пульсовой волны аорты не зависела ни от возраста, ни от пола, ни от уровня гликированного гемоглобина, ни от уровня мочевоы кислоты в плазме, ни от диабетической нефропатии, ни от терапии препаратами, направленными на снижение липидов. Полагается, что *повышенный уровень ЛП (а) — независимый индикатор ригидности аорты у пожилых пациентов, страдающих СД 2* [108].

### ЛП (а) и рак

О возможной протективной роли ЛП (а) в развитии злокачественных новообразований уже говорилось. Как известно, без достаточного высокого уровня ангиогенеза злокачественные клетки не способны пролиферировать до клинически заметных опухолей и затем метастазировать. Ангиостатины и белки, связанные с ними, — это семейство специфических ингибиторов ангиогенеза, в список которых входят плазминоген и ЛП (а). Антиангиогенная активность этих двух белков обеспечивается доменами kringle; апоА имеет один домен kringle V и от 12 до 51 доменов kringle IV. Опыты на лабораторных животных показали, что продукты расщепления апоА имеют антиангиогенные и противоопухолевые свойства как *in vitro*, так и *in vivo* [109]. Данные об изменении уровней ЛП (а) при злокачественных заболеваниях неизвестны.

Действительно ли ЛП (а) может оказывать ангиостатический эффект при развитии злокачественных новообразований — также неизвестно, но разработки на основе апоА лекарственных препаратов, предназначенных для блокирования ангиогенеза, по некоторым данным, уже интенсивно ведутся.

### ЛП (а) в педиатрии

При изучении уровней ЛП (а) в популяции из 2010 детей (8–12 лет) было установлено, что у них уровни ЛП (а) такие же, как и у взрослых. Около 20% детей имели ЛП (а) выше 30,0 мг/дл, что характерно и для популяций взрослых. Повышенные уровни ЛП (а) наблюдаются у детей с ожирением, с СД 1, с заболеваниями почек, с гиперхолестеринемией и сопряжены с риском ССЗ [110]. Так, при СД 1 у детей (8–11 лет) так же, как и у взрослых, уровни Х-ЛПНП и ЛП (а) были повышены и составляли (как у взрослых, так и у детей)  $113,2 \pm 26,0$  мг/дл (Х-ЛПНП) и  $20,1 \pm 11,7$  мг/дл (ЛП (а)), соответственно, в контрольных группах  $90,4 \pm 14,3$  мг/дл и  $9,8 \pm 2,9$  мг/дл. Уровни Х-ЛПВП, общего холестерина

и триглицеридов были сходны с контрольными показателями [90].

Повышены уровни ЛП (а) и у детей с ожирением. Так, измерения ЛП (а) у 837 ожиревших детей препубертатного возраста (442 девочки, 395 мальчиков от 6 до 8 лет) показали, что уровни ЛП (а)  $> 30$  мг/дл являются фактором риска ССЗ даже после поправки на традиционные факторы риска, на случаи ССЗ в семейной истории и на коронарные риски у родственников не старше 50 лет. В целом показано, что *у детей с ожирением и со случаями ССЗ в семейной истории уровни ЛП (а) самые высокие ( $32,07 \pm 1,2$  мг/дл) по сравнению с детьми, не имевшими избыточного веса, но имевшими случаи ССЗ в семейной истории ( $27,19 \pm 0,8$  мг/дл)*. Обе указанные группы детей имели уровни ЛП (а) более высокие, чем дети без ожирения и без ССЗ в семейной истории [111].

Однако повышенным уровень ЛП (а) может быть и у детей, у которых имелись нарушения внутриутробного развития и/или у которых при рождении был пониженным вес. Так, сравнивали уровни ЛП (а) у 50 новорожденных, имевших пониженный вес, и у нормальных новорожденных. Обнаружилось, что у детей с пониженным весом уровни ЛП (а) были  $22,3 \pm 22,1$  мг/дл, в норме  $10,9 \pm 7,6$  мг/дл. В дальнейшем, уже в подростковом возрасте, у 14 из 50 детей, родившихся с пониженным весом, и только у 1 из 21 ребенка контрольной группы уровни ЛП (а) были повышены ( $>30$  мг/дл). Авторы полагают, что нарушения развития плода могут повлиять на уровни ЛП (а) в дальнейшей жизни [112]. В другом исследовании при изучении уровней ЛП (а) в сыворотке 666 белых и чернокожих новорожденных со сниженным весом обнаружена закономерность, согласно которой уровни ЛП (а) повышались с уменьшением веса новорожденных. При этом у чернокожих новорожденных уровни ЛП (а) были выше [113].

При нефротическом синдроме у детей повышенные ( $> 30$  мг/дл) уровни ЛП (а) связаны преимущественно с гипоальбуминемией. При ремиссии заболевания уровни ЛП (а) снижаются [114, 115].

Является ли повышенный уровень ЛП (а) фактором риска тромбозмболических заболеваний вен у детей? В проспективном исследовании, включавшем 186 детей, найдено, что уровни ЛП (а)  $> 30$  мг/дл — фактор риска тромбозмболии вен в детстве. Авторы полагают, что *определение ЛП (а) должно быть включено в скрининг казуативных факторов у детей с тромболитическими событиями вен* [116].

### ЛП (а) и долгожительство

Общепринято, что уровни ЛП (а) выше 35 мг/дл связаны с риском ССЗ и ишемических инсультов и, как результат, с повышенной смертностью. С другой стороны, давно известно, что у весьма пожилых лиц повышенные уровни ЛП (а) связаны с долгожительством. Это доказано многочисленными эпидемиологическими дан-

ными, согласно которым у лиц, доживших до 100 лет, преимущественно высокие уровни ЛП (*a*). Этот парадокс долгое время не давал покоя исследователям, тщетно пытавшимся совместить эти взаимоисключающие факты, и даже назвавшем ЛП (*a*) «иллюзорным фактором кардиоваскулярного риска» [1]. Действительно, у 102 лиц в возрасте 83 года и старше (не имевших признаков физических и ментальных нарушений) уровни ЛП (*a*) оказались выше, чем в среднем по популяции [117]. Неожиданно также обнаружилось, что у лиц столетнего возраста снижены уровни Х-ЛПНП (103 против 115 мг/дл), но повышены уровни ЛП (*a*) (17,5 против 4,5 мг/дл). При этом большая часть долгожителей имели уровни ЛП (*a*) > 20 мг/дл [118]. У 109 лиц, средний возраст которых составлял 101,5 ± 2,4 года (возраст контрольной группы 39,4 ± 7,2 лет), уровни ЛП (*a*) были соответственно 33,0 ± 42,0 и 22,0 ± 27,0 мг/дл. У пожилых лиц преобладали мелкие изоформы ЛП (*a*) [119]. В среднем до 100 лет доживает 1 человек из 10 000 [120]. Поэтому навряд ли стоит рассматривать повышенные при рождении уровни ЛП (*a*) как предиктор долгой жизни. Скорее наоборот.

#### У кого и когда следует измерять ЛП (*a*)

Прежде всего следует помнить, что при прямом определении Х-ЛПНП и иммунотурбидиметрическом измерении апоВ в результаты измерений входят соответственно и концентрации ЛП (*a*) и апоА. При расчетном определении Х-ЛПНП в результат также входят и концентрации ЛП (*a*) [121]. Поэтому при весьма высоких уровнях Х-ЛПНП и апоВ целесообразно определять, какой вклад в них вносит генетически опосредованное повышение концентрации высокоатерогенного и про-тромботического ЛП (*a*) и апоА. Это принципиально для выбора правильной и экономически оправданной терапии.

В целом, ЛП (*a*) — это фактор риска и предиктор:

- генетической предрасположенности к сердечно-сосудистым и микрососудистым заболеваниям;
- генетически опосредованных острых коронарных событий;
- генетически опосредованных ишемических инсультов.

Самое важное в измерении концентрации ЛП (*a*) в том, что его результат может указывать на *генетический*

риск будущих сердечно-сосудистых событий у лиц, в данный момент практически здоровых. Тем не менее, несмотря на то, что существует весьма достоверная и высокая связь между уровнями ЛП (*a*) и риском ССЗ, — измерение ЛП (*a*) для тотального скрининга на генетическую предрасположенность к ССЗ не оправдано.

Измерять уровни ЛП (*a*) следует:

- у пациентов с ранними случаями ССЗ;
- у тех, у кого в семейной истории часты случаи ССЗ (подозрение на генетическую предрасположенность);
- у тех, кому поставлен диагноз ССЗ и у кого нет традиционных факторов риска;
- у тех, у кого гиперхолестеринемия не снижается при терапии статинами;
- у пациентов с ренальными заболеваниями;
- у тех, кому назначена ангиопластика;
- у тех, кому назначено аортокоронарное шунтирование;
- при СД 1 и 2 типа.

Референсные значения ЛП (*a*):

целевой уровень: < 14 мг/дл;

пограничный риск: 14–30 мг/дл;

высокий риск: 31–50 мг/дл;

очень высокий риск: > 50 мг/дл [59].

Подробная информация о иммунотурбидиметрическом измерении концентрации ЛП (*a*) дана в монографии «Турбидиметрия в лабораторной практике», авторы Долгов В. В., Шевченко О. П., Шарышев А. А., Бондарь В. А. [122, с. 136–138].

И еще одно важное положение: из-за того, что уровни ЛП (*a*) предопределяются генетически, понизить их практически невозможно ни изменением диеты, ни снижением веса, ни обычно применяемыми препаратами (статинами). Некоторый положительный эффект был отмечен, вроде бы, при применении никотиновой кислоты и гормонозаместительной терапии, но эти данные нуждаются в серьезном подтверждении. Препараты, снижающие уровни ЛП (*a*), пока не известны, и поэтому неизвестно, приведет ли снижение уровней ЛП (*a*) к снижению кардиорисков [7].

*Список литературы имеется в редакции.*

#### Данные для корреспонденции:

Вельков Василий Васильевич, к. б. н.,

директор по науке ЗАО «ДИАКОН»,

142290, Московская обл., г. Пущино, пр. Науки, 5, тел.: (905) 501-82-05,

e-mail: vvv@diakonlab.ru

## СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О ЦЕЛИАКИИ

**Н. В. ВОХМЯНИНА**

ГКУЗ Диагностический центр (медико-генетический), Санкт-Петербург

**Резюме.** В статье рассмотрены вопросы распространенности целиакии. Освещены подходы к систематизации клинической симптоматики целиакии. Отмечено, что в настоящее время такие клинические симптомы целиакии как боли в животе, раннее начало остеопороза, усталость, слабость, необъяснимая анемия, диарея, запоры, дефицит витаминов, газообразование, синдром раздраженного кишечника, потеря в весе признаны общими для всех возрастных групп. Дальнейшая систематизация привела к классификации целиакии, в основу которой положены манифестные формы, с учетом клинических и морфологических проявлений.

Обсуждается новая нозологическая форма — глютенная чувствительность (*gluten sensitivity, GS*). Подробное изучение этого заболевания и проведенная сравнительная характеристика с целиакией показали, что для *GS* не характерны аутоиммунные заболевания, которые, как правило, ассоциированы с целиакией.

Отмечен мультисистемный фенотип целиакии, трудности в диагностике объяснены ее полигенностью, что подтвердил полногеномный анализ ассоциаций (*Genome Wide Association Studies — GWAS*).

**Ключевые слова:** целиакия, глютенная чувствительность, мультисистемный фенотип, полигенность.

## MODERN CONSIDERATIONS ABOUT CELIAC DISEASE

**N. V. VOCHMYANINA**

State Institution of Health Care (Medical genetical), St. Petersburg

**Summary.** The article discusses problems of prevalence of celiac disease. Systemic approach to clinical syndromes of celiac disease is discussed. In modern time the symptoms like abdominal pain, early osteoporosis, tiredness, weakness, unexplained anemia, diarrhea, constipations, vitamins deficiency, meteorism, irritable bowels syndrome, weight loss are considered to be common for all age groups. Further systematization lead to classification based on manifestations, including clinical and morphological ones.

New nosological form is discussed — gluten sensitivity (*gluten sensitivity, GS*). The investigation of this condition and differentiation diagnosis with celiac disease showed that for *GS* autoimmune diseases are not typical. However, they are usually associated with celiac sprue.

Multisystemic phenotype of celiac disease is also described, but there are some difficulties in its diagnosis because of its polygenic nature, confirmed by complete by *Genome Wide Association Studies — GWAS*.

**Key words:** celiac disease, gluten sensitivity, multisystem phenotype, multigenic inheritance.

Целиакия (*coeliacia; греч. koilikos* — кишечный, страдающий расстройством кишечника; син.: глютенная болезнь, глютенная энтеропатия, нетропическая спру и др., *англ.* — *coeliac disease*; шифр по МКБ-Х К 90.0) — хроническое заболевание, которое характеризуется отсутствием толерантности к растительным белкам определенных злаковых культур (пшеница, рожь, ячмень), приводящее к развитию атрофической энтеропатии у лиц с наследственной предрасположенностью.

Долгое время считалось, что целиакии подвержены только европейцы с определенным фенотипом (белокурые волосы и голубые глаза) и что она является детской болезнью, манифестируя в первые годы жизни. Результаты проведенных скрининговых исследований опровергли это утверждение, подтвердив разный возраст манифестации и высокую частоту этого заболевания.

Так, европейская распространенность целиакии сегодня составляет 1% больных в популяции. У женщин целиакия встречается чаще, чем у мужчин (соотношение 2:1), у детей частота целиакии у мальчиков и девочек приблизительно одинакова. Такую же высокую частоту целиакии подтвердили эпидемиологические исследования, проведенные в странах Ближнего Востока и Северной Африки, показав общую тенденцию в распространенности глютенной энтеропатии, независимо от географического местоположения и социально-экономического развития страны (табл. 1). Исключение составило население Алжира (арабо-берберская популяция), у которого была зарегистрирована самая высокая в мире частота целиакии (5,6%). Распространенность кровного родства и, как следствие, HLA-генотипов, ассоциированных с целиакией, характер питания (большое коли-

чество и длительное потребление мучных продуктов), социально-экономические проблемы потенциально объяснили установленную частоту в этой популяции.

**Таблица 1. Распространенность целиакии в европейских странах и странах Ближнего Востока и Северной Африки**

Популяция	Частота распространенности целиакии (%)
Финляндия	2,0
Италия	1,2
Северная Ирландия	0,9
Германия	0,3
США	0,75
Австралия	0,5
Новая Зеландия	1,2
Бразилия	0,5
Аргентина	0,6
Египет	0,53
Ливия	0,79
Тунис	0,6
Иран	0,88
Турция	0,6
Индия	0,7
Алжир (арабо-берберы)	5,6

Немногочисленные публикации, посвященные распространенности целиакии в странах Центральной Африки и Дальнего Востока (Япония, Китай, Корея, Конго, Нигерия и др.), указывают на низкую частоту целиакии в этих странах. Однако представленная частота, по всей вероятности, не отражает реальный уровень болезни из-за другого характера питания, в котором злаки, главным образом, представлены преимущественно просом и рисом. Кроме этого, проведенные исследования, выполненные на небольших выборках, не могут достоверно отражать полученные выводы и требуют своего продолжения. Что касается распространенности целиакии в России, то массовых исследований до сих пор не проводилось. По мнению отдельных авторов, частота целиакии в России не отличается от европейской и может составлять 1 : 250–1 : 100.

Изучение распространенности целиакии у детей и подростков показало более высокую частоту по сравнению со взрослыми. Так, массовый скрининг, проведенный в Испании, утвердил среднюю распространенность целиакии в популяции в целом как 1 : 204, частоту у детей 1 : 71, у взрослых в пять раз ниже — 1 : 357.

Эти результаты подтвердили ранее полученные выводы, что для детской целиакии характерна классическая манифестная форма, у которой клиническая симптоматика очерчена более четко и в связи с этим она легче и чаще распознается, в отличие от взрослых, для которых характерно нетипичное проявление болезни [1].

Анализ распространенности целиакии также показал, что она неуклонно повышается в развитых странах. Например, распространенность целиакии удвоилась в Финляндии в течение последних двух десятилетий (1,05% в 1978–1980 и 1,99% в 2000–2001) [2]. Увеличение частоты было также зарегистрировано и в американской популяции: как подтвердил проведенный анализ, она возрастает приблизительно в два раза за каждые 15 лет (рис. 1), что не может быть объяснено только улучшением диагностики целиакии. Изучение этого факта предположительно показало, что на возрастание распространенности целиакии прежде всего влияют изменившиеся характер питания, качество пшеничного теста и длительность его брожения, другие микрофлора кишечника и кишечные инфекции, загрязнение окружающей среды, которые в целом воздействуют на состояние иммунной системы и способствуют развитию целиакии.

Проведенные эпидемиологические исследования целиакии выявили также связь распространенности целиакии со степенью выраженности клинических проявлений, изучение которых определило мультисистемный фенотип глютенной энтеропатии.

Чрезвычайный клинический полиморфизм привел к попыткам систематизировать клиническую симптоматику целиакии, например, с выделением типичных и атипичных проявлений (табл. 2). Предложено также деление клинических симптомов на основные и дополнительные [2], на гастроинтестинальные и экстраинтестинальные [3], на клиническую симптоматику взрослой и детской целиакии [4]. Разделение клинических проявлений с учетом возрастных особенностей (целиакия взрослых и детская целиакия) сегодня представляется условным, так как клиническая картина целиакии

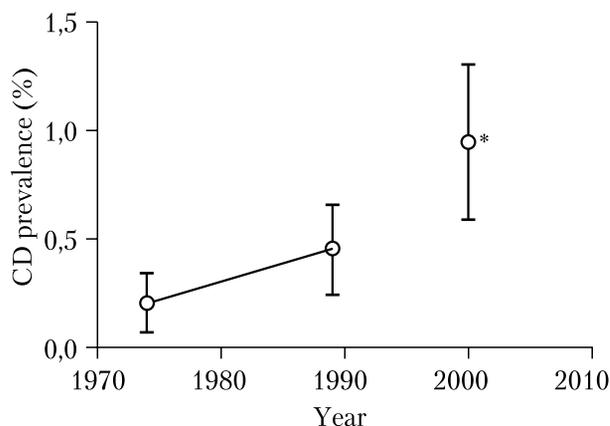


Рис. 1. Тенденция увеличения распространенности целиакии в европейских странах

Таблица 2. Пример систематизации клинических проявлений и ассоциированных с целиакией заболеваний

Типичные клинические проявления	Атипичные клинические проявления	Ассоциированные аутоиммунные заболевания	Ассоциированные генетические болезни
Хроническая диарея	Анемия (дефицит железа, В12, фолиевой кислоты)	Аутоиммунный тиреоидит	IgA-нефропатия
Плохая прибавка в весе	Низкий рост	Аутоиммунный гепатит	Синдром Дауна
Вздутие живота	Остеопения/остеопороз	Аутоиммунный холангит	Синдром Тернера
Мышечная гипотония	Повышение печеночных трансаминаз	Инсулинозависимый сахарный диабет	Синдром Вильямса
Потеря аппетита	Герпетический дерматит	Первичный билиарный цирроз	IgA-селективный дефицит
Изменение в поведении (агрессивность, раздражительность)	Гипоплазия зубной эмали	Псориаз	
	Рецидивирующий афтозный стоматит	Первичный склерозирующий холангит	
	Рецидивирующие боли в животе, рвота, запор	Астенический бульбарный паралич	
	Мигрень, полинейропатия	Синдром Шегрена	
	Мозжечковая атаксия, эпилепсия		
	Задержка полового созревания, выкидыши, бесплодие		

у взрослых и детей имеет много общего. В настоящее время такие клинические симптомы целиакии, как боли в животе, раннее начало остеопороза, усталость, слабость, необъяснимая анемия, диарея, запоры, дефицит витаминов, газообразование, синдром раздраженного кишечника, потеря в весе, признаны общими для всех возрастных групп [5].

Дальнейшая систематизация привела к классификации целиакии, в основу которой положены манифестные формы, с учетом клинических и морфологических проявлений.

*Типичная (классическая) форма* целиакии имеет мультисистемный фенотип с преобладанием кишечных (гастроинтестинальных) симптомов. Кишечная симптоматика характеризуется прежде всего патологическим характером стула (обильный зловонный светлый стул), диареей, болями в животе, увеличением окружности живота, рецидивирующей рвотой, нарушением аппетита, отставанием в массе тела и росте. Как правило, манифестирует в детском возрасте. Высокая частота типичной формы целиакии зарегистрирована в возрастной группе детей от шести месяцев до двух лет, что связывают с началом введения прикорма и переходом на питание с содержанием глютена. Характерны положительные серологические тесты с присутствием гистологических изменений в слизистой тонкого кишечника.

*Атипичная форма* манифестирует у детей старших возрастных групп и взрослых. Характерно преобладание экстраинтестинальных симптомов над гастроинтестинальными. Экстраинтестинальные симптомы часто бывают представлены артралгиями, остеопенией/остеопорозом, задержкой роста, полового развития, артритами, гипоплазией зубной эмали, атопическим дерматитом, утомляемостью, слабостью, неврологическими нарушениями, анемиями. Так же, как для типичной формы, характерны положительные серологические тесты с присутствием гиперрегенераторной атрофии слизистой оболочки тонкого кишечника.

*Молчащая, или скрытая (silent), форма* протекает без клинических проявлений или с минимальной клинической симптоматикой. Характерны положительные серологические тесты с типичными морфологическими изменениями в слизистой тонкого кишечника. Часто выявляется в группах риска.

*Латентная форма* характеризуется положительными сывороточными тестами без явных признаков повреждения слизистой тонкого кишечника и без клинических проявлений, типична для взрослых, у которых в прошлом была атрофия ворсинок. Чаще встречается у женщин.

*Потенциальная форма* характеризуется положительными значениями сывороточных маркеров при нор-

мальной морфологической картине слизистой оболочки тонкого кишечника, клиническая симптоматика минимальна. Чаше встречается у ближайших родственников больных целиакией, а также у пациентов с аутоиммунной патологией и болезнью Дауна.

Приведенная классификация целиакии не является официальной и общепринятой. До сих пор вносятся предложения по ее усовершенствованию. Так, некоторые авторы предлагают за классификационную основу целиакии взять степень тяжести болезни (легкая, средняя, тяжелая), что аргументируется клинической условностью при разделении манифестных форм и едином подходе к лечению (Ревнова М. О., 2005). Близко к этой позиции стоит предложение других авторов объединить молчащую, латентную и потенциальную формы, как похожие манифестные формы, в одну субклиническую форму (Mohammad Rostami Nejad et al., 2011). Были также внесены предложения (Tropcone R., 2010) о разделении целиакии на бессимптомную и симптоматическую формы. Однако, несмотря на предпринимаемые попытки систематизировать многочисленные клинические формы целиакии и облегчить ее выявление, количество атипичных и субклинических форм продолжает увеличиваться. В настоящее время установлено, что недиагностируемые формы соотносятся с явными, как 7:1,

при разбросе показателей от 5:1 до 13:1, что в процентном отношении составляет 59% в клинической структуре взрослой ЦЛ и до 40% – в детской. Попытка объяснить этот факт и разобраться в сложившейся ситуации привела к появлению новой нозологической формы – глютеночувствительности (gluten sensitivity, GS). Подробное изучение этого заболевания и проведенная сравнительная характеристика с целиакией (Fasano A. et al., 2011) показали, что для GS не характерны аутоиммунные заболевания, которые, как правило, ассоциированы с целиакией. Кроме этого, клинические проявления не имеют такого широкого полиморфизма, как при целиакии и, в основном, представлены кишечной симптоматикой (диарея, газообразование, боли в животе, потеря в весе). Изучение причин манифестации глютеночувствительности показало, что при этом заболевании, в отличие от целиакии, нет нарушений в барьерной функции кишечного эпителия, пептиды глютена не проникают в собственную пластинку слизистой тонкого кишечника и не вызывают развитие адаптивного иммунного ответа, приводящего к диффузной энтеропатии. Сегодня предположительно установлено, что развитие этого заболевания поддерживают в основном механизмы врожденной иммунной системы, которые определяют другие нарушения и, следовательно, другие диагности-

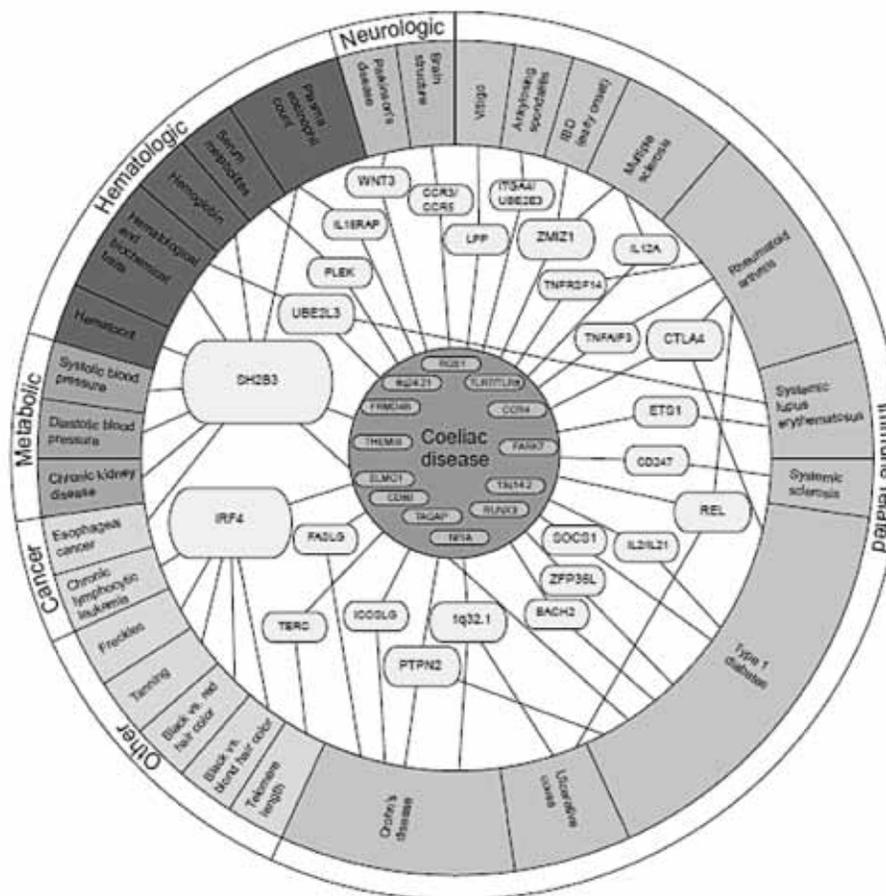


Рис. 2. Влияние не-HLA-генов на формирование мультисистемного фенотипа целиакии

ческие маркеры. Этим объясняют характерные для GS отрицательные значения специфичных для целиакии сывороточных и морфометрических маркеров. В настоящее время установлена частота GS, которая намного выше целиакии и составляет 6% в популяции.

Мультигенный фенотип целиакии и трудности в диагностике были объяснены ее полигенностью, что подтвердил полногеномный анализ ассоциаций (Genome Wide Association Studies – GWAS). Целиакия сегодня – это комплексное, полигенное заболевание, развитие которого контролируется множественными взаимодействиями факторами как генетической, так и средовой природы. В отличие от моногенных болезней, при которых происходит повреждение одного гена с полной потерей его функций, при полигенных заболеваниях обычно отмечаются только количественные изменения функции генома, обусловленные неблагоприятными аллельными вариантами генов, продукты которых контролируют те или иные метаболические процессы. Это подтвердил полногеномный анализ, который выявил ассоциированные с целиакией определенные SNP (single nucleotide polymorphism – однонуклеотидные полиморфизмы) и доказал их влияние на экспрессию не только близлежащего гена (cis-eQTL; expression quantitative trait locus mapping, генетическая карта количественной особенности экспрессии локуса), но и на экспрессию генов в других локусах (trans eQTL). Так, на примере ассоциированного с целиакией SNP rs653178 (xp12), было показана возможность воздействия на работу не только гена SH2B3 (cis), но и целого ряда генов, находящихся на других хромосомах (trans) и ассоциированных с другими мультифакторными заболеваниями. Большинство генетических ассоциаций выявлено в некодирующих участках ДНК (81%), которые прежде всего связаны с иммунной системой, являясь регуляторными, что объяснило их влияние на многочисленные клинические изменения, происходящие при развитии целиакии. Полученные результаты также показали общность генетических нарушений с другими мультифак-

торными заболеваниями (рис. 2). В настоящее время выявлено 39 генетических локусов, 115 различных генов, ассоциированных с целиакией. Выявленные гены можно разбить на группы, влияющие на:

- кишечный барьер,
- NFKB-активизацию, с дальнейшей выработкой провоспалительных цитокинов,
- T-клеточную пролиферацию и активизацию,
- продукцию цитокинов и их активацию,
- клеточную миграцию,
- передачу клеточных сигналов.

Было установлено, что все выявленные гены вносят незначительную долю в наследственную предрасположенность к целиакии, суммарно увеличивая риск всего на 14%, тем самым подтвердив, что HLA-гены являются самыми значимыми, основными генами, определяющими наибольший вклад (40%) в наследственную предрасположенность и без которых развитие целиакии представляется маловероятным [6].

Таким образом, развитие целиакии зависит от сочетания большого числа малых эффектов, которые определяют варианты экспрессии многочисленных генов.

#### Литература

1. Collin P. Should adults be screened for celiac disease? What are the benefits and harms of screening? // *Gastroenterology*. 2005; 128 (4 Suppl 1): 104–108.
2. Ревнова М. О. Целиакия у детей: клинические проявления, диагностика, эффективность безглютеновой диеты: автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. СПб., 2005: 39.
3. D'Angelo C. [et al.]. Celiac Disease // *N. Engl. J. Med.* 2008; 358: 747–749.
4. Fasano A. Sonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in celiac disease // *Lancet*. 2000; 355: 1518–1519.
5. Lorand L. Crosslinks in blood: transglutaminase and beyond // *The FASEB J.* 2007; 21: 1627–1632.
6. Cluysenaer O. J. J., van Tongeren J. H. M. Malabsorption in coeliac sprue // *The Hague Martnus Nijhoff Medical Division*. 1977: 1–4.

#### Данные для корреспонденции:

Вохмянина Наталья Васильевна, к. м. н.,  
 заведующая биохимической лабораторией  
 ГКУЗ Диагностический центр (медико-генетический).  
 СПб., ул. Тобольская, 5, (812) 294-70-00;  
 e-mail: spbnat@yandex.ru

**XVI Форум  
«НАЦИОНАЛЬНЫЕ ДНИ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ РОССИИ – 2012»**

2–4 октября 2012 г. в Москве в СК «Олимпийский» состоялся XVI форум «Национальные дни лабораторной медицины России – 2012», организованный Научно-практическим обществом специалистов лабораторной медицины и Медицинским маркетинговым агентством «ММА-ЭКСПО» при поддержке Российской академии медицинских наук.

Программа Форума включала научно-практическую конференцию «Реальные клинико-диагностические лабораторные услуги: степень соответствия современным стандартам лабораторной медицины, качество, себестоимость и цена» и специализированную выставку «Интерлабдиагностика–2012».

В мероприятиях Форума приняли участие 2258 специалистов лабораторной медицины, клинических дисциплин, организаторы здравоохранения, представители научных и образовательных учреждений, медицинских страховых организаций, медицинской промышленности, а также других государственных и негосударственных учреждений, работающих в сфере лабораторной медицины, в том числе 2178 специалистов из 72 регионов России и 19 стран ближнего и дальнего зарубежья. Лабораторные сообщества стран ближнего и дальнего зарубежья представляли 80 участников из 19 стран, в том числе: 23 из Казахстана, 15 из Украины, 14 из Беларуси, 5 из Германии, 3 из США, по 1–2 специалиста представляли Азербайджан, Бельгию, Великобританию, Венгрию, Италию, Мексику, Нидерланды, ОАЭ, Таджикистан, Финляндию, Францию, Чехию, Швейцарию и Швецию.

Кроме того, 736 специалистов представляли 101 профильную медицинскую компанию на стендах специализированной выставки «Интерлабдиагностика-2012». Большое внимание и профессиональный интерес участников вызвали продемонстрированные на выставке современное лабораторное оборудование, изделия, материалы и прогрессивные технологии. Многие компании-экспоненты приняли активное участие в научной программе Форума, их представители выступили с докладами или провели самостоятельные симпозиумы, посвященные новым клинико-лабораторным технологиям и средствам лабораторного анализа. Также в работе выставки приняли участие представители 14 профессиональных медицинских издательств.

В научную программу конференции было включено свыше 140 докладов, представленных на 34 заседаниях различной тематики и формата, проводившихся параллельно в трех конференц-залах. Доклады были представлены коллегами из 21 региона России и 8 зарубежных стран. Конференцию приветствовал член совета Европейской федерации клинической химии и лабораторной медицины профессор П. Шуфф-Вернер, выступивший с докладом о положении дел с возмещением расходов на лабораторные анализы в Германии и других странах Европы.

На конференции обсуждались многие актуальные вопросы организации, экономики, контроля качества, кадрового обеспечения лабораторной службы медицинских организа-

ций, что позволило выработать и согласовать ряд конкретных предложений, включенных в резолюцию конференции. Эти предложения будут направлены от имени Общества в федеральные органы исполнительной власти — Минздрав, Минобрнауки, Минпромторг, Минюст, Росстандарт.

Важным направлением работы конференции была забота о совершенствовании диагностической эффективности лабораторий в сферах кардиологии, онкологии, ревматологии, критических состояний, в том числе путем более содержательного лабораторного обеспечения стандартов медицинской помощи и обеспечения активного взаимодействия с руководителями медицинских организаций и Территориальными фондами обязательного медицинского страхования.

Большое внимание было уделено вопросам совершенствования лабораторной аналитики, как через представление новых технологий и конкретных методик исследований, так и через стандартизацию применяемых лабораторных технологий.

В серии заседаний под общим названием «День гемостаза» обсуждались актуальные аспекты исследований системы свертывания крови и фибринолиза. Заседания в рамках «Дня микробиологии» позволили участникам Форума познакомиться с рядом новых возможностей совершенствования методов идентификации и определения антибиотикочувствительности микроорганизмов. Участникам конференции был представлен сборник стандартизованных технологий общеклинических, гематологических, цитологических исследований, одобренных на предшествующем форуме, и были обсуждены новые проекты стандартизованных технологий в 5 областях лабораторной медицины. Стандартизованные технологии «Иммунофенотипирование лимфоцитов методом проточной цитометрии» и «Бактериологический анализ мочи» были рекомендованы к предпочтительному применению.

XVI Форум «Национальные дни лабораторной медицины России» стал знаковым событием для всего лабораторного сообщества, отразив общее стремление найти пути решения накопившихся проблем и продемонстрировав реальный действенный потенциал для дальнейшего развития и совершенствования лабораторного обеспечения медицинской помощи.

С текстом итоговых документов, презентациями докладов, каталогом участников выставки и фотоальбомом XVI Форума можно ознакомиться на сайте ММА-ЭКСПО ([www.mma-expo.ru](http://www.mma-expo.ru)) и сайте Научно-практического общества специалистов лабораторной медицины ([www.labmedicina.ru](http://www.labmedicina.ru)).

Конференция приняла решение поручить Правлению Общества и постоянно действующему Организационному комитету Форума «Национальные дни лабораторной медицины России» приступить к подготовке очередного XVII Форума «Национальные дни лабораторной медицины России – 2013» и специализированной выставки «Интерлабдиагностика-2013», проведение которых намечено на 1–3 октября 2013 года в Москве, в СК «Олимпийский».

**Состав участников  
XVI Форума «Национальные дни лабораторной медицины России – 2012»  
(2–4 октября 2012 г., Москва, СК «Олимпийский»)**

Всего 2994, в том числе:

- Участники выставки — 736 (всего компаний-экспонентов 101)
- Участники конференции — 2258:
  - Российская Федерация — 2178 (72 региона):
  - Москва — 1252
  - Московская область — 178
  - Другие регионы РФ — 748
  - Ближнее и дальнее зарубежье — 80

**Зарубежные участники**

№	Страна	Количество
1	Азербайджан	1
2	Беларусь	14
3	Бельгия	2
4	Великобритания	2
5	Венгрия	1
6	Германия	5
7	Италия	2
8	Казахстан	23
9	Мексика	1
10	Нидерланды	1
11	ОАЭ	1
12	США	3
13	Таджикистан	1
14	Украина	15
15	Финляндия	1
16	Франция	2
17	Чехия	2
18	Швейцария	1
19	Швеция	2
<b>Итого:</b>		<b>80</b>

**Российская Федерация**

№	Регион	Количество
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
1	Алтайский край	18
2	Амурская область	3
3	Архангельская область	7
4	Астраханская область	2

1	2	3
5	Белгородская область	7
6	Брянская область	3
7	Владимирская область	18
8	Волгоградская область	11
9	Вологодская область	6
10	Воронежская область	16
11	Еврейская автономная область	–
12	Забайкальский край	5
13	Ивановская область	6
14	Иркутская область	11
15	Кабардино-Балкарская Республика	–
16	Калининградская область	2
17	Калужская область	22
18	Камчатский край	6
19	Карачаево-Черкесская Республика	–
20	Кемеровская область	5
21	Кировская область	10
22	Костромская область	3
23	Краснодарский край	24
24	Красноярский край	29
25	Курганская область	–
26	Курская область	2
27	Ленинградская область	22
28	Липецкая область	1
29	Магаданская область	–
30	Москва	1252
31	Московская область	178
32	Мурманская область	3
33	Нижегородская область	37
34	Новгородская область	2
35	Новосибирская область	16
36	Омская область	5
37	Оренбургская область	8
38	Орловская область	4
39	Пензенская область	11
40	Пермский край	5
41	Приморский край	16
42	Псковская область	4
43	Республика Адыгея	–
44	Республика Алтай	–
45	Республика Башкортостан	19
46	Республика Бурятия	1
47	Республика Дагестан	4
48	Республика Ингушетия	3
49	Республика Калмыкия	1

1	2	3
50	Республика Карелия	–
51	Республика Коми	2
52	Республика Марий Эл	3
53	Республика Мордовия	4
54	Республика Саха (Якутия)	13
55	Республика Северная Осетия — Алания	3
56	Республика Татарстан	19
57	Республика Тыва	–
58	Республика Хакасия	–
59	Ростовская область	23
60	Рязанская область	12
61	Самарская область	29
62	Санкт-Петербург	88
63	Саратовская область	11
64	Сахалинская область	2
65	Свердловская область	26
66	Смоленская область	13
67	Ставропольский край	17
68	Тамбовская область	7
69	Тверская область	12
70	Томская область	9
71	Тульская область	10
72	Тюменская область	8
73	Удмуртская республика	7
74	Ульяновская область	1
75	Хабаровский край	4
76	Ханты-Мансийский а/о	6
77	Челябинская область	20
78	Чувашская Республика	9
79	Чукотский автономный округ	–
80	Ямало-Ненецкий а/о	–
81	Ярославская область	27
82	Чеченская Республика	1
83	Ненецкий автономный округ	2
<b>Итого:</b>		<b>2178 (72 региона)</b>

**XVI ФОРУМ «НАЦИОНАЛЬНЫЕ ДНИ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ РОССИИ-2012»**

Решение

Общероссийской научно-практической конференции  
«Реальные клинико-диагностические лабораторные услуги: степень соответствия  
стандартам лабораторной медицины, качество, себестоимость и цена»  
(Москва, 2–4 октября 2012 г.)

В целях повышения эффективности применения современных аналитических и диагностических возможностей лабораторной медицины для совершенствования охраны здоровья граждан Российской Федерации участники общероссийской научно-практической конференции считают необходимым:

1. Одобрить стандартизованные технологии выполнения следующих видов диагностических лабораторных исследований и рекомендовать их для предпочтительного применения в клинико-диагностических лабораториях:

- а) иммунофенотипирование лимфоцитов с помощью метода проточной цитометрии;
- б) бактериологический анализ мочи.

2. Одобрить проект стандартизованной технологии «Метод жидкостной цитологии» и поручить разработчикам представить его, после доработки, на рассмотрение Правления Общества.

3. Одобрить предложение участников симпозиального заседания «Стандартизация методов исследования системы гемостаза» о создании рабочей группы по подготовке проекта «Стандартизованные технологии коагулологических анализов» и публикации проекта в журнале «Клиническая лабораторная диагностика» для широкого общественного обсуждения.

4. Одобрить предложение участников симпозиального заседания «Стандартизация молекулярно-биологических методов диагностики инфекций, передаваемых половым путем» о создании под руководством академика РАН В. И. Покровского рабочей группы по разработке стандартизированной технологии лабораторного анализа вирусной нагрузки ВИЧ и вирусных гепатитов В, С и D с использованием молекулярно-биологических технологий, в составе, предложенном участниками заседания.

5. Поручить Правлению Общества продолжить работу по организации разработки стандартизованных и гармонизированных методик клинических лабораторных исследований, включая сотрудничество с рабочими группами Международной Федерации клинической химии и лабораторной медицины.

6. Одобрить проект методических рекомендаций по ведению преаналитического этапа лабораторных исследований

в условиях централизованного их выполнения. Направить проект на рассмотрение в Министерство здравоохранения РФ с просьбой ввести в действие данные рекомендации как ведомственный нормативный документ.

7. Принимая во внимание повышение сложности современных методов лабораторных исследований и требований к условиям их выполнения, а также возросшее клинико-диагностическое значение правильного использования лабораторной информации:

- а) просить Министерство здравоохранения РФ разработать и утвердить «Порядок безопасного лабораторного обеспечения медицинской помощи», определяющий требования к ведению и обеспечению качества преаналитического, аналитического и постаналитического этапов лабораторных исследований и обязательный для выполнения медицинскими организациями всех форм собственности во всех регионах страны;
- б) в связи с подготовкой проекта Федерального закона «Об обращении медицинских изделий» обратиться (совместно с Ассоциацией российских производителей средств лабораторного анализа) в Минпромторг РФ с предложением содействия в неотложной разработке требований к конструированию, изготовлению и техническому обслуживанию медицинских изделий для диагностики *in vitro*, обеспечивающих минимальный риск получения недостоверных результатов при их применении;
- в) просить Технический комитет по стандартизации № 380 и Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт) рассмотреть проект ГОСТ Р ИСО/МЭК 17043 «Оценка соответствия — Общие требования к испытаниям профессиональных умений (внешней оценке качества)» для регламентации проведения на современном уровне внешней оценки качества выполнения различных видов лабораторных исследований в интересах повышения надежности их результатов и безопасности клинического применения лабораторной информации;
- г) просить Росстандарт сосредоточить основное внимание служб метрологического контроля на стадии раз-

работки и разрешения к применению оборудования для клинико-диагностических лабораторий, поскольку основные вопросы, связанные с обеспечением точности лабораторных исследований в клинико-диагностических лабораториях, решаются применением стандартизованных аналитических технологий и осуществлением повседневного внутрилабораторного контроля качества и систематической внешней оценки качества исследований.

8. В связи с тем, что в ряде утвержденных стандартов и протоколов ведения пациентов по отдельным видам патологии клинические лабораторные исследования представлены недостаточно адекватно (по сравнению с рекомендациями ведущих международных профессиональных организаций):

- а) просить Министерство здравоохранения РФ максимально ускорить решение вопроса о восстановлении должности главного (внештатного) специалиста Министерства здравоохранения РФ по клинической лабораторной диагностике и деятельности координационной комиссии по клинической лабораторной диагностике;
- б) просить Министерство здравоохранения РФ ввести специалистов лабораторной медицины в состав экспертных советов по разработке и пересмотру стандартов и протоколов ведения больных с различными видами патологии;
- в) рекомендовать региональным отделениям Научно-практического общества специалистов лабораторной медицины тесно сотрудничать с территориальными органами Фонда обязательного медицинского страхования в отношении коррекции применения стандартов и протоколов ведения пациентов по отдельным видам патологии, имея в виду обеспечение адекватной роли и места клинических лабораторных исследований;
- г) обратиться в Федеральный фонд обязательного медицинского страхования с предложением о разработке (с привлечением лабораторных специалистов) тарифов по возмещению расходов на медицинские лабораторные услуги с учетом свойств и требований применяемых аналитических технологий.

9. Считать недопустимой сложившуюся в последнее время практику правовой, образовательной и материальной дискриминации сотрудников клинико-диагностических лабора-

торий с высшим немедицинским образованием, которые в настоящее время составляют большинство среди всех сотрудников КДЛ с высшим образованием. Просить Министерство здравоохранения РФ издать документ, восстанавливающий возможность аттестации специалистов с высшим немедицинским образованием на квалификационную категорию, утраченную после выхода в свет приказа Минздравсоцразвития РФ № 808н от 23.09.2011 г.

10. С целью прекращения дискриминации опытных специалистов просить Министерство здравоохранения РФ дополнить содержащиеся в приказе Минздравсоцразвития РФ № 541н от 23.07.2010 г. положения о сохранении должности «врач-лаборант» для специалистов с высшим немедицинским образованием, принятых на эту должность до 1 октября 1999 г., пунктом о сохранении за ними всех обязанностей и прав врача клинической лабораторной диагностики, включая продление имеющегося сертификата.

11. Обратиться в Министерство образования и науки РФ и Министерство здравоохранения РФ с рекомендациями:

- а) ввести в подготовку в университетах биологов, микробиологов, биохимиков, биофизиков и генетиков медико-биологическое направление, имея в виду последующую работу выпускников в сфере лабораторной медицины при соответствующей профессиональной переподготовке в медицинских образовательных учреждениях;
- б) ввести в программу подготовки специалистов лабораторной медицины в образовательных медицинских учреждениях аспекты клинико-экономического анализа.

12. Просить Министерство юстиции РФ зарегистрировать создание в составе Общества 11 новых региональных отделений — в республиках Алтай, Дагестан, Калмыкия, Марий-Эл, Саха, Северная Осетия–Алания, г. Сургут Ханты-Мансийского автономного округа, Иркутской, Ленинградской, Смоленской областях, а также Ассоциации специалистов лабораторной медицины Омской области.

13. Поручить Правлению Общества и постоянно действующему Организационному комитету Форума «Национальные дни лабораторной медицины России» приступить к подготовке очередного XVII Форума «Национальные дни лабораторной медицины России – 2013» и специализированной выставки «Интерлабдиагностика – 2013» (01–03 октября 2013 г., Москва, СК «Олимпийский»).

Председатель Правления  
Научно-практического общества  
специалистов лабораторной медицины  
профессор

Секретарь редакционной комиссии  
научно-практической конференции

04 октября 2012 г.

*В. В. Меньшиков*

*Л. М. Пименова*

Дайджест о семинаре фирмы Beckmen Coulter на тему  
«СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ»  
XVI Форум «НАЦИОНАЛЬНЫЕ ДНИ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ РОССИИ – 2012»

А. З. Винаров<sup>1</sup>, В. Л. Эмануэль<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ «Уронефрологии и репродуктивного здоровья человека»

Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова, профессор, Москва

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. ак. И. П. Павлова, профессор, д. м. н.

*В России, как и во всем мире, отмечается существенное увеличение количества заболеваний раком предстательной железы. Коварство заболевания такого характера заключается, как известно, в его бессимптомности на начальном этапе.*

*Иронически звучит известная фраза: «Если Вы чувствуете себя хорошо, не волнуйтесь! Это скоро пройдет!» Вместе с тем, современные медицинские технологии позволяют избавиться от недуга при своевременном начале лечения.*

*Воплощается в жизнь мудрость китайской поговорки: «Болезнь нужно лечить за три года до ее появления, а не за три дня до смерти». Иначе говоря, тот хорошо лечит, кто хорошо диагностирует.*

*Под этим девизом в рамках XVI форума «Национальные дни лабораторной медицины России – 2012» прошел семинар фирмы Beckmen Coulter на тему «Современные подходы к ранней диагностике рака предстательной железы». На семинаре был представлен новый формат ранней диагностики рака предстательной железы — своеобразный биохимический «эндоскоп» — индекс здоровья простаты **phi** или ф.*

Главный редактор журнала «Клинико-лабораторный консилиум»,  
профессор Эмануэль Владимир Леонидович

2 октября в Москве в рамках XVI Форума «Национальные дни лабораторной медицины России – 2012» под председательством директора НОЦ «Институт лабораторной медицины», заведующего кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, профессора В. Л. Эмануэля и заместителя директора по науке НИИ нефроурологии и репродук-

тивного здоровья человека Первого МГМУ им. И. М. Сеченова профессора А. З. Винарова состоялась секция «Современные подходы к ранней диагностике рака предстательной железы». Урологическое сообщество было также представлено в лице секционных докладчиков: доктора Massimo Lazzeri, MD-PhD, отделение урологии Университета Вита-Салют Сан Рафаэль г. Милана (Италия), доцента кафедры урологии МГМСИ, к. м. н.



А. В. Говорова, главного уролога Восточно-Казахстанской области Республики Казахстан Н. К. Куандыкова, врача-уролога М. Н. Пешкова (МГУ им. Ломоносова, НИИ физико-химической медицины ФМБА России). В настоящей публикации предлагаем вашему вниманию обзор прошедшего заседания, вызвавшего живой интерес и обсуждение среди участников конференции.

Актуальность проблемы ранней диагностики рака предстательной железы (РПЖ) в Российской Федерации не вызывает сомнения. Согласно данным главного онколога России академика В. И. Чиссова, прирост заболеваемости РПЖ в Российской Федерации за период 2000–2010 гг. составил 155%. При этом доля пациентов с локализованными формами (I–II стадия) в структуре выявляемого РПЖ не превышает 45% [1]. Заметим, что в странах с масштабным тестированием мужчин на уровень простат-специфического антигена (ПСА) доля локализованного РПЖ достигает 85% и метастатический РПЖ составляет всего около 4% против 18% в Российской Федерации [1, 2].

Мировой опыт использования определения ПСА с целью ранней диагностики РПЖ был проанализирован в докладе А. В. Говорова. Опубликованные в марте этого года результаты Европейского рандомизированного исследования скрининга рака простаты (ERSPC) [3] по итогам 11-летнего наблюдения свидетельствуют о снижении смертности в группе скрининга на 21%. С учетом поправки на мужчин, отказавшихся в дальнейшем от участия в скрининге (14%), снижение смертности для мужчин, действительно прошедших скрининг, составило 29%. Авторы исследования особо выделяют снижение относительного риска смерти от РПЖ на 38% на 10–11 году от начала наблюдения. Согласно анализу данных подгруппы Göteborg, с медианой наблюдения 14 лет, снижение относительного риска смерти от РПЖ составило 44%, а с поправкой на мужчин, отказавшихся в дальнейшем от участия в скрининге, — 56% [4].

Вместе с тем, в мае 2011 г. организация US Preventive Service Task Force (USPSTF) дала заключение не рекомендовать американским мужчинам определение ПСА с целью скрининга. Свою роль в этом сыграли опубликованные в 2009 году [5] результаты американского рандомизированного исследования PLCO (Prostate, lung, colon, ovary screening trial), не зафиксировавшего различий в уровне смертности между контрольной и скрининговой группами. Однако, согласно мнению Американской ассоциации урологов и авторитетных экспертов в этой области [6, 7], американское исследование PLCO обладает рядом существенных ограничений. Прежде всего, это более короткое время наблюдения — медиана наблюдения составила только 7 лет. В силу широкой распространенности теста на ПСА в США, 44% мужчин, принявших участие в исследовании, до начала рандомизации уже проходили тестирование на уровень ПСА. Загрязнение контрольной группы составило 52%, то есть у 52% мужчин из контрольной группы вопреки протоколу исследования фактически измерялся уровень ПСА. Количество мужчин, принявших участие в американском исследовании, было почти в два раза меньше, чем в европейском, при этом доля мужчин, согласившихся на биопсию по показаниям, была также значительно

ниже, чем в европейском исследовании: 40% против 86% соответственно. В целом, полученные показатели смертности от РПЖ в исследовании PLCO были существенно ниже таковых, полученных в ERSPC: 2,0 при скрининге и 1,7 в контрольной группе, тогда как в ERSPC 3,3 и 4,3 соответственно [5].

Доктор А. В. Говоров отметил, что практически сразу же Американская ассоциация урологов выпустила заявление о несогласии с рекомендациями USPSTF, подчеркивающее, что при должной интерпретации определение ПСА дает важную информацию для диагностики, стадирования, оценки риска и мониторинга РПЖ.

Вместе с тем, надо признать, что низкая специфичность теста на определение общего ПСА приводит к большому количеству необязательных биопсий (69% по 1 этапу ERSPC [3]). Существенным негативным моментом в ходе скрининга РПЖ является гипердиагностика — выявление неагрессивного, клинически незначимого РПЖ, не влияющего на продолжительность жизни пациента. С целью минимизации отрицательных последствий скрининга рекомендуется совместное использование определения уровня ПСА с другой максимально доступной информацией о пациенте, включая возраст, расу, семейный анамнез, результаты пальцевого ректального исследования (ПРИ), объем простаты, результаты трансректального ультразвукового исследования (ТРУЗИ) и др. Прогрессивным подходом считается использование номограмм — калькуляторов риска, разрабатываемых на основе статистической обработки большого массива данных. Они позволяют урологу оценить индивидуальную вероятность выявления РПЖ у конкретного пациента на основе совокупности вводимых в калькулятор параметров. Эффективным счетчиком риска признан калькулятор, разработанный на основе данных Европейского рандомизированного исследования скрининга рака простаты (ERSPC), прошедший внешнюю валидацию [8]. Он находится в свободном доступе в Интернете <http://www.prostatecancer-riskcalculator.com>, в том числе и на русском языке <http://www.prostatecancer-riskcalculator.ru>. В настоящее время представлены два вида калькулятора для использования пациентами, а также 4 вида счетчиков риска обнаружения РПЖ для врачей. Доктор А. В. Говоров привел наглядные примеры, каким образом получаемая с помощью калькулятора индивидуальная вероятность наличия РПЖ помогает урологу принять адекватное решение о назначении биопсии. В скором времени ожидается выход обновленной версии калькулятора риска, позволяющей оценить индивидуальную вероятность наличия у пациента клинически незначимого, не требующего немедленного лечения РПЖ, в том числе с использованием нового онкомаркера [-2]проПСА, а также оценить будущий риск развития РПЖ в течение следующих 4 лет.

Перспективным направлением в ранней диагностике РПЖ являются разработка и внедрение новых маркеров, обладающих большей специфичностью и способных дифференцировать клинически незначимые формы РПЖ от агрессивных форм. В частности, многообещающие результаты получены для нового онкомаркера [-2]проПСА — изоформы свободного ПСА, представленные в докладе Massimo Lazzari (Италия). На основе нового онкомаркера компания Бекмен Кюльтер

разработала Индекс Здоровья Простаты (*phi* или  $\phi$ ) — расчетный показатель, автоматически выдаваемый анализаторами серии Access при одновременном определении трех тестов в сыворотке крови — [-2]проПСА, общего и свободного ПСА. В 2010 году в различных журналах появились публикации трех научных коллективов [9, 10, 11], свидетельствующие, что % [-2]проПСА (доля [-2]проПСА во фракции свободного ПСА, выраженная в процентах) и *phi* являются более точными предикторами РПЖ, чем общий ПСА и свободный ПСА. Опубликованные в 2011 году статьи Guazonni [12] и Catalona [13] с соавторами подтвердили, что *phi* в диапазоне общего ПСА 2,0–10 нг/мл (калибровка Hybritech) обладает лучшей специфичностью и точностью при раннем выявлении РПЖ у мужчин при первичной биопсии, что дает возможность снизить количество необязательных биопсий. Схожие данные были получены докладчиком Lazzeri с соавторами для мужчин, подвергавшихся повторной биопсии [14].

В исследовании Catalona [13] было также показано, что по мере увеличения Индекса Здоровья Простаты увеличивается риск наличия РПЖ. В частности, для мужчин со значениями *phi* выше 55 риск наличия РПЖ возрастал в 4,7 раза по сравнению с мужчинами, у которых показатель *phi* был ниже 25 (калибровка Hybritech). Определение Индекса Здоровья Простаты позволяет отнести пациента к группе низкого, среднего или высокого риска. Номограммы с *phi* могут помочь врачу в принятии решения о биопсии, предоставляя более точную оценку индивидуального риска РПЖ [15]. Именно такой подход к переходу от статистических научных данных к клинической практике использования Индекса Здоровья Простаты был рекомендован доктором Lazzeri, продемонстрировавшим пример из своей клинической практики.

Далее в докладе Lazzeri были представлены результаты ряда исследований с целью изучения перспектив использования [-2]проПСА и *phi* в разных направлениях в качестве комплексного маркера, способного решать комплекс задач, в том числе: дифференцировать больных РПЖ от здоровых мужчин, агрессивные формы РПЖ от клинически незначимых форм рака, выбирать правильную стратегию между радикальным лечением и активным наблюдением, а также давать прогноз и возможность мониторинга пациентов группы риска и пациентов с РПЖ. В частности, согласно данным работы [16], появившимся в печати в 2011 году, пациенты группы активного наблюдения с последующим неблагоприятным исходом биопсии имели изначально более высокое значение *phi*. В работе Tosoian с соавторами в 2012 г. было показано [17], что для мужчин группы активного наблюдения *phi* улучшает предсказание реклассификации биопсии во время наблюдения. Основываясь на результатах своих исследований о более значительном увеличении годового процента прироста уровня [-2]проПСА с возрастом у мужчин, у которых впоследствии был выявлен РПЖ, авторы работы предполагают, что отслеживание скорости возрастания уровня [-2]проПСА может быть полезным в выявлении мужчин с РПЖ [18]. Предсказательная способность [-2]проПСА и *phi* оценивалась также в работе Guazonni с соавторами [19], исследовавших 350 мужчин с локализованным раком простаты и радикальной простатэктомией. Было установлено, что Индекс Здоровья

Простаты, получаемый на основе предоперационного определения трех онкомаркеров, является более точным предиктором таких характеристик РПЖ, определяемых при радикальной простатэктомии, как клинической стадии рТ3, суммы баллов по Глисону > 7, возрастания суммы баллов по Глисону > 7, малого объема опухоли. При этом *phi* не коррелировал с возрастом, весом простаты, объемом простаты по ТРУЗИ и объемом аденомы по ТРУЗИ.

Большой интерес представляет работа Gadda с соавторами [20], изучавших группу из 664 пациентов, 177 (26,7%) из которых имели гистологически подтвержденное хроническое воспаление предстательной железы, 221 (33,3%) — доброкачественную гиперплазию без воспаления, а 266 мужчин (40%) — подтвержденный диагноз РПЖ. Медианы % [-2]проПСА (2,07) и *phi* (51) для группы пациентов с РПЖ существенно отличались от медиан для двух других групп (1,46 и 34 соответственно). При этом не было установлено статистических различий между медианами % [-2]проПСА и *phi* для группы пациентов с хроническим воспалением и группы с доброкачественной гиперплазией простаты без воспаления. Авторы делают вывод, что Индекс Здоровья Простаты и % [-2]проПСА могут быть полезными при принятии клинического решения о биопсии, предотвращая ненужные биопсии у пациентов с хроническим воспалением и повышенным уровнем общего ПСА.

Тест Access [-2]проPSA соответствует требованиям европейской директивы 98/79/ЕС для *in vitro* диагностики, имеет регистрационное удостоверение Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения РФ. С июля 2012 года тест на [-2]проПСА и Индекс Здоровья Простаты (*phi*) выполняется в московской лаборатории «Научный Центр ЭФИС» ([www.efis.ru](http://www.efis.ru)).

В ходе секционного заседания было заслушано сообщение главного уролога Восточно-Казахстанской области Республики Казахстан Н. К. Куандыкова о пилотном проекте скрининга РПЖ в Восточно-Казахстанском регионе, стартовавшем в июле 2012 г. Причинами для разработки проекта послужили крайне высокая доля пациентов с РПЖ, выявляемых на 3–4 стадии (до 80%), низкая 5-летняя выживаемость пациентов с РПЖ (30,6%) в Республике Казахстан [21]. Проект ставит своей задачей обеспечить раннюю диагностику больных с РПЖ и внедрить малоинвазивные методы лечения таких пациентов с целью снижения смертности и повышения качества жизни. Разработка проекта проходила в сотрудничестве с координаторами Европейского рандомизированного исследования скрининга рака простаты (ERSPC) профессором F. Schröder и доктором M. Roobol. В рамках пилотного проекта планируется обследовать целевую группу мужчин (147 302 человека) в возрасте 46–64 лет с интервалом скрининга 1 раз в два года. В качестве метода скрининга был выбран тест на определение общего ПСА Access Hybritech PSA, выполняемый на полностью автоматических иммунохемилюминесцентных анализаторах Access 2 (производитель Beckmen Coulter). Это гарантирует высокую точность измерения и воспроизводимость результатов, а также дает возможность сопоставления получаемых результатов с данными ERSPC, использующего этот метод, и, соответственно, эффективного

применения калькулятора риска ERSPC. Пациентам с уровнем общего ПСА в диапазоне 4–10 нг/мл (предполагается снижение нижней границы до 2 нг/мл) выполняется измерение в сыворотке крови [-2]проПСА, общего и свободного ПСА для расчета Индекса Здоровья Простаты. Доктором Н. К. Куандыковым был представлен алгоритм обследования, согласно которому у мужчин с общим ПСА в диапазоне 4–10 нг/мл показанием для уточняющей диагностики, а именно проведения ТРУЗИ и секстантной пункционной биопсии, является превышение Индексом Здоровья Простаты порогового значения 25 (калибровка Hybritech).

Важным моментом в реализации проекта стала организация централизованного определения в сыворотке крови маркеров [-2]проПСА, общего и свободного ПСА на базе двух лабораторий, расположенных в крупнейших городах Восточно-Казахстанской области — Усть-Каменогорске и Семее. Взятие крови производится в 33 городских поликлиниках и в 32 ЛПУ региона. Для получения качественных результатов, достоверных значений Индекса Здоровья Простаты крайне важным является жёсткое соблюдение всех необходимых требований преаналитического этапа. Для достижения этой задачи было проведено обучение персонала на местах практики взятия крови с помощью вакуумных систем и правил получения, хранения и транспортировки образцов сыворотки пациента, соблюдению временного и температурного режимов, подготовлены конкретные пошаговые рабочие инструкции для персонала пунктов взятия крови, осуществляется строгий контроль всех этапов.

Доктор Н. К. Куандыков представил предварительные результаты пилотного проекта скрининга РПЖ по состоянию на момент проведения конференции. Он отметил тот факт, что доля мужчин с уровнем общего ПСА выше 4 нг/мл составила 4,4% от всех обследованных мужчин в Семее и 8,3% в Усть-Каменогорске, где проживает больше русских мужчин по сравнению с Семеем. Это согласуется с данными, полученными в ходе исследования скрининга РПЖ в Японии, где уровень ПСА выше 4 нг/мл был определен у 3,4% японцев, то есть у 2330 мужчин из 67 214 человек, принявших участие в скрининге РПЖ, что значительно ниже, чем было показано для мужчин, участвовавших в ERSPC [22].

Программа секции включала важное как для лабораторных специалистов, так и для клиницистов сообщение к. б. н. А. В. Ружанской о практическом значении стандартизации методов определения ПСА. Освещая историю данного вопроса, докладчик отметила, что длительное время в качестве отраслевого стандарта при производстве тест-систем для определения ПСА различными производителями использовался внутренний калибратор Hybritech в связи с тем, что именно компания Hybritech (подразделение Beckmen Coulter с 1997 года) была первой, разработавшей тест-систему, одобренную для использования FDA. Таким образом, данный калибратор играл своего рода роль эталонной единицы при проведении измерений. Однако производители, как правило, использовали антитела различной специфичности. Помимо этого, не все методы определения общего ПСА обладали эквивалентностью, то есть в некоторых тест-системах используемые для производства антитела не были одинаково чувстви-

тельны к ПСА, присутствующему в сыворотке крови в свободной или в связанной с альфа-1-химотрипсином форме. В связи с этим наблюдалась большая вариабельность результатов измерений уровня общего ПСА, получаемых с использованием тест-систем разных производителей [23].

В 1999 году появилась возможность использовать для определения общего ПСА в качестве первичного калибратора стандарт ВОЗ 96/670, содержащий ПСА в свободной и связанной форме в строгом соотношении 10:90 [24]. Однако важно помнить, что стандарт ВОЗ 96/670 обладает более высоким коэффициентом экстинкции, чем стандарт Hybritech. Это приводит к расхождениям в калибровках и к смещению результатов определения ПСА, получаемых с помощью разных калибраторов. В частности, для метода Hybritech было показано, что результаты измерений уровня ПСА в сыворотке крови при использовании калибратора ВОЗ 96/670 будут приблизительно на 20% ниже, чем при использовании внутреннего калибратора Hybritech [25]. У лабораторий, использующих для определения ПСА тест-системы Access 2, есть возможность выбрать прослеживаемость до одного из калибраторов — ВОЗ 96/670 или Hybritech, и результаты измерений будут выдаваться в соответствующей шкале. Необходимо учитывать тот факт, что хорошо известное пороговое значение 4 нг/мл было установлено именно для метода Hybritech в работе доктора Catalona с использованием стандарта Hybritech [26]. В связи с этим докладчик обратила внимание аудитории, что при определении ПСА методом Hybritech с помощью тест-систем Access и калибратора ВОЗ 96/670 необходимо использовать пороговое значение 3,1 нг/мл вместо 4 нг/мл, аналогично 1,6 нг/мл вместо 2 нг/мл. Информация о соответствии клинически важных значений уровня ПСА при разных калибровках содержится в инструкции к набору реагентов на определение общего ПСА Access PSA Beckmen Coulter.

Исключительно важным с практической точки зрения является вопрос о взаимозаменяемости тест-систем от различных производителей. Может сложиться ложное представление, что после внедрения стандарта ВОЗ 96/670 результаты определения ПСА в одной и той же пробе пациента, но тест-системами разных производителей, будут одинаковыми. К сожалению, пока достичь полноценной стандартизации методов не удалось [27], так как, несмотря на улучшение эквивалентности определения и уменьшение вариабельности, остались другие причины расхождения результатов, в том числе: различия в эпитопах антител, матрикс и протоколах исследований. В связи с этим Европейская группа по онкомаркерам рекомендует вместе с результатом пациента выдавать врачу информацию об использованном методе и соответствующие данному методу референсные или пороговые значения. Это крайне необходимо при наблюдении за уровнем ПСА в динамике. Докладчик привела пример, когда на практике возможна ситуация, что, несмотря на получение одинаковых значений ПСА, например 4 нг/мл, при измерениях одной и той же тест-системой, но в разное время, уровень ПСА у пациента может существенно возрасти за время, прошедшее между измерениями. Если при первом измерении лаборатория использовала тест-систему с прослеживаемостью до калибратора Hybritech, а при последующем измерении до калибратора

ра В03, то первоначальное значение 4 нг/мл будет эквивалентно более низкому значению по шкале В03 (например, для метода Hibritech 3,1 нг/мл), и за время между измерениями уровень ПСА фактически увеличился. В связи с этим для правильной интерпретации результатов крайне важно обеспечить постоянство аналитической платформы при наблюдениях за уровнем ПСА в динамике, а также учет используемых стандартов калибровок.

В заключительной части секции выступил молодой ученый М. Н. Пешков с докладом о постгеномных технологиях в диагностике рака предстательной железы. Последние десять лет существенно изменили диагностические и лечебные технологии в исследовании и практике. Геном человека из крупного интернационального проекта превращается в фундамент персонализированной медицины. В докладе изложен позитивный опыт применения новой технологии экспериментальной мышления, приведший к созданию сложной научно-технологической платформы, позволяющей значительно повысить диагностические характеристики (чувствительность, специфичность) традиционного теста на определение ПСА. Представлена практическая мультифакторная экспериментальная модель у пациентов с раком предстательной железы.

#### Литература

1. Чиссов В. И., Русаков И. Г. Заболеваемость раком предстательной железы в Российской Федерации // Экспериментальная и клиническая урология. 2011; 2–3: 6–7.
2. Paquette E. L., Sun L., Paquette L. R. et al. Improved prostate cancer-specific survival and other disease parameters: impact of prostate-specific antigen testing // Urology. 2002, 60 (5): 756–759.
3. Schröder F. H., Hugosson J., Roobol M. et al. Prostate cancer mortality at 11 years of follow-up // New Engl. J. Med. 2012; 366 (11): 981–990.
4. Hugosson J., Carlsson S., Aus G. et al. Mortality results from the Göteborg randomized population-based prostate-cancer screening trials // The Lancet Oncology. 2010; 11 (8): 725–732.
5. Andriole G. L., Crawford E. D., Grub III R. L. et al. Mortality results from randomized prostate-cancer screening trials // New Engl. J. Med. 2009; 360 (13): 1310–1319.
6. Schröder F. H. Stratifying risk — the U.S. Preventive Service Task Force and Prostate Cancer Screening // New Engl. J. Med. 2011; 365 (21): 1953–1955.
7. Djavan B. Screening for Prostate Cancer: Practical analysis of the ERSPC and PLCO trials // Eur. Urol. 2011; 59: 365–369.
8. Roobol M., van Vugt H. A., Loeb S. et al. Prediction of prostate cancer risk: the role of prostate volume and digital rectal examination in the ERSPC risk calculators // Eur. Urol. 2012; 61: 577–583.
9. Jansen F. H., van Schaik R. H. N., Kurstjens J. et al. Prostate-Specific Antigen (PSA) Isoform p2PSA in Combination with Total PSA and Free PSA Improves Diagnostic Accuracy in Prostate Cancer Detection // Euro. Urol. 2010; 57: 921–927.
10. Le B. V., Griffin C. R., Loeb S. et al. [-2] Proenzyme prostate specific antigen is more accurate than total and free Prostate specific antigen in differentiating prostate cancer from benign disease in a prospective cancer screening study // J. Urology. 2010; 183: 1355–1359.
11. Sokoll L. J., Sanda M. G., Feng S. et al. A prospective multicenter National Cancer institute Early Detection Research Net Work Study of [-2]proPSA: improving prostate cancer detection and correlating with cancer aggressiveness // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2010; 19 (5): 1193–1200.
12. Guazonni G., Nava L., Lazzeri M. et al. Prostate specific antigen (PSA) isoforms p2PSA significantly improves the prediction of prostate cancer at initial extended prostate biopsies in patients with total PSA between 2.0 and 10 ng/ml: results of a prospective study in a clinical settings // Eur. Urol. 2010, 60: 214–222.
13. Catalona W. J., Partin A. W., Sanda M. G. et al. A multicentric study of [-2]pro-prostate specific antigen combined with prostate specific antigen and free prostate specific antigen for prostate cancer detection in the 2.0 to 10 ng/ml prostate specific antigen range // J. Urol. 2011; 185 (5): 1650–1655.
14. Lazzeri M., Brihanti A., Scattoni V. et al. Serum index test % [-2]proPSA and Prostate Health Index are more accurate than prostate specific antigen and %fPSA in predicting positive repeat prostate biopsy // J. Urol. 2012; 188 (4): 1137–1143.
15. Lughezzani G., Lazzeri M., Larcher A. et al. Development and internal validation of a prostate health index based nomogram for predicting prostate cancer at extended biopsy // J. Urol. 2012; 188 (4): 1144–1150.
16. Isharwal S., Makarov D. V., Sokoll L. J. et al. ProPSA and diagnostic biopsy tissue DNA content combination improves accuracy to predict need for prostate cancer treatment among men enrolled in an active surveillance program // Urology. 2011; 77 (3): 763.
17. Tosoian J., Loeb S., Feng Z. et al. Association of [-2]proPSA with biopsy reclassification during active surveillance program // J. Urol. 2012; 188 (4): 1131–1136.
18. Rhodes T., Jacobson D. J., McGree M. E. et al. Longitudinal changes of benign prostate-specific antigen in seven years in a community-based sample of men // Urology. 2012; 79 (3).
19. Guazonni G., Lazzeri M., Nava L. et al. Preoperative prostate specific antigen isoforms p2PSA and its derivatives, %p2PSA and Prostate Health Index, predict patalogic outcomes in patients undergoing radical prostatectomy for prostate cancer // Eur. Urol. 2012; 61: 455–456.
20. Gadda G. M., Lazzeri M., Freschi M. et al. Correlation of chronic histologic prostatic inflammation (CHPI) in biopsy specimens with serum isoform [-2]proPSA (p2PSA), %p2PSA and phi (Prostate Health Index) in men undergoing prostate biopsy for suspected prostate cancer // EAU Congress 2012, best poster Prostate Cancer. PSA and related markers.
21. Нургалыев Н. С. Материалы юбилейной научно-практической конференции «Достижения и перспективы развития современной онкологии и радиологии», посвященной 50-летию Казахского научно-исследовательского института онкологии и радиологии, Алма-Ата, Казахстан, ноябрь 2010.
22. Tokunaga M., Yasuda M., Miyakita H. et al. Screening program of prostate cancer at Tokai university hospital: characterization of prostate-specific antigen measurement // Tokay J. Exp. Clin. Med. 2005; 30 (2): 103–110.
23. Semjonow A., Brand B., Oberpenning F., Hertle L. Discrepancies in assays impairs the interpretation of prostate-specific antigen // Urology. 1995; 34: 303–315.
24. Rafferty B., Rigsby B., Rose M., Stamey T. et al. Reference Reagents for Prostate-specific antigen (PSA): Establishment of the First International Standards for Free PSA and PSA (90:10) // Clin. Chem. 2000; 46 (9): 1310–1317.
25. Cook B. The Disconnect between Standartization and Interpretive Criteria // Clin. Lab. News. 2008; 34: 6.
26. Catalona W. J., Smith D. S., Ratliff T. L. et al. Measurement of prostate specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer // New Engl. J. Med. 1991; 324 (17): 1156–1161.
27. Stephan C., Klaas M., Muller C. et al. Interchangeability for Measurements of Total and Free Prostate-specific Antigen In Serum with 5 Frequently Used Assays Combinations: An Update // Clin. Chem. 2006; 52 (1): 59–64.